

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 59500 A1**
- (43) Date de publication : **30.08.2024**
- (51) Cl. internationale : **A23L 3/34; A23L 5/40; C09B 61/00; A23L 3/34; A23L 5/40**
-
- (21) N° Dépôt : **59500**
- (22) Date de Dépôt : **24.02.2023**
- (71) Demandeur(s) : **Université Moulay Ismail, Présidence, Marjane 2, BP: 298, Meknès, 50000 Meknès (MA)**
- (72) Inventeur(s) : **ZAIR Touriya ; DRIOICHE Aziz ; AILLI Atika ; MOUKAID Brahim ; AMALICH Smail ; BOUSTA Dalila**
- (74) Mandataire : **EL AMRAOUI Youssef**
-
- (54) Titre : **Composition comprenant un colorant naturel et un antioxydant naturel et coloration des denrées alimentaires et des produits pharmaceutiques**
- (57) Abrégé : Composition diététique ou pharmaceutique comprenant l'extrait aqueux de Carthame pour son utilisant en tant que colorant naturels nutraceutiques. Selon l'invention, cette composition peut en outre comprendre un extrait d'au moins une deuxième plante issue de la liste 1.

Titre : Composition comprenant un colorant naturel et un antioxydant naturel et coloration des denrées alimentaires et des produits pharmaceutiques

Abrégé : Composition diététique ou pharmaceutique comprenant l'extrait aqueux de Carthame pour son utilisation en tant que colorant naturels nutraceutiques. Selon l'invention, cette composition peut en outre comprendre un extrait d'au moins une deuxième plante issue de la liste 1.

Etat antérieur

- 1 *Carthamus tinctorius* L., plante qui appartient à la famille des Astéracées, contient environ 22750 genres et plus de 1 620 espèces. Le nom Carthame est un emprunt à l'arabe « Qartam » et correspond à une racine sémitique signifiant « teindre ». Le terme est lié aux vertus tinctoriales des fleurs de *Carthamus tinctorius*, aux particularités assez semblables à celles du safran.
- 2 Le carthame est originaire d'Asie du Sud, cultivé au Moyen Âge, en Italie, en France et en Espagne. Il a été introduit aux États-Unis en 1925 à partir de la région méditerranéenne.
- 3 Les feuilles, les fleurs et les graines de carthame ont une importance médicinale et thérapeutique considérable, et les fleurs sont également utilisées pour extraire des colorants pour colorer les textiles et les aliments.
- 4 Les fleurs contiennent une quantité élevée d'acide linoléique d'acide gras polyinsaturé (70 %) et d'acide oléique monoinsaturé (10 %), avec de petites quantités d'acide stéarique.
- 5 Les fleurs de *C. tinctorius* sont traditionnellement utilisées pour les complications cardiovasculaires, cérébrovasculaires et gynécologiques. Quant aux autres activités biologiques liées à son extrait aqueux, il est considéré comme anticoagulant, vasodilatateur, antihypertenseur, antioxydant, neuroprotecteur, immunosuppresseur, anticancéreux, agent ayant des effets inhibiteurs sur la synthèse de mélanine.
- 6 Il a été indiqué que le carthame est efficace pour d'autres affections impliquant les systèmes neurotrophe, cardiotrophe, hématopoïétique et diaphorétique. Concernant la phytochimie de cette plante, des études pertinentes ont identifié un certain nombre de constituants actifs, telles que les flavonols, flavanone, des polyacétylènes, dérivés de la sérotonine, des stéroïdes ainsi que des lignanes glucosides et trachelosides, des quinones, des alcanes diols, des triterpènes alcools, des acides gras et des coumarines.
- 7 Les fleurs produisent des colorants rouges et jaunes, dont le composant principal du colorant rouge est la carthamine. Le colorant jaune du carthame a de nombreux composants, le safflomine A et l'hydroxy safflor B jaune étant les principaux.
- 8 Actuellement, la littérature existante sur le carthame fournit une profonde portée sur les variétés végétales, les principaux constituants et les usages pharmaceutiques principalement basés sur la médecine traditionnelle chinoise et indienne.
- 9 Les inventions antérieures sur le carthame concernent la préparation d'un médicament pour traiter et/ou prévenir une lésion pulmonaire, l'utilisation de cette espèce dans des formulations cosmétiques pour un effet inhibiteur de la production de MMP-1 et pour un effet de biosynthèse du collagène. Ainsi, l'utilisation des huiles de carthame dans des formulations pour un usage diététique comme aromatisant.

Object de l'invention

- 10 Un objet de la présente invention est par conséquent de proposer une nouvelle formule d'un colorant naturels à usages nutraceutiques pour les denrées alimentaires ainsi que les produits pharmaceutiques

Description

Titre de l'invention : Composition comprenant un colorant naturel et un antioxydant naturel et coloration des denrées alimentaires et des produits pharmaceutiques

- 11 La présente invention concerne une nouvelle formule d'un colorant biofonctionnel de l'extrait des fleurs de carthame comme colorant naturel pour les denrées alimentaires et les produits pharmaceutiques et comme inhibiteur de l'absorption intestinale du glucose, ainsi comme agent hépatoprotecteur.
- 12 Le déposant a constaté, de façon surprenante, qu'un extrait aqueux de carthame est utilisable dans une composition diététique ou pharmaceutique pour colorer les denrées alimentaires et les produits pharmaceutiques avec des valeurs ajoutées. Par conséquent la composition selon l'invention peut aussi bien être utilisée en tant que médicament ou complément alimentaire pour lutter contre le diabète et les maladies cardiovasculaires.
- 13 L'extrait aqueux, selon l'invention, peut renfermer en outre une ou plusieurs autres substances naturelles comme les extraits aqueux (écorce, graine, feuille, fleur, stigmate) des plantes suivantes (liste 1) :
- 14 *Calendula officinalis* (feuilles)
- 15 *Capsicum annuum* (fruits)
- 16 *Capsicum frutescens* (fruits)
- 17 *Crocus sativus* (stigmates)
- 18 *Curcuma longa* (Rhizomes)
- 19 *Hibiscus sabdariffa* (fleurs)
- 20 *Illicium verum* (fruits)
- 21 *Papaver rhoeas* (pétales)
- 22 *Rubia peregrina* (racines)
- 23 *Punica granatum* (écorces)
- 24 *Salvia rosmarinus* (Sommités fleuries)
- 25 *Pistacia lentiscus* (feuilles)
- 26 *Salvia officinalis* (feuilles)
- 27 De préférence, l'extrait aqueux selon l'invention, renferme entre 1 à 90 % en poids, de préférence de 50 à 75 % en poids, par rapport au poids de la composition. Cette composition peut renfermer en outre un ou plusieurs extraits aqueux de plantes de la liste 1 entre 1 à 30 %, de préférence de 10 à 25 % en poids, par rapport au poids de la composition.
- 28 Selon l'invention, la composition peut être présentée sous forme de poudre ou toute autre forme connue par l'homme de métier comprenant l'extrait de carthame.
- 29 Cette poudre qui ne contient que les principes actifs, est obtenue par séchage, par atomisation, ou lyophilisation à partir d'extrait aqueux, ou d'extrait hydroalcoolique ou l'extrait par le CO₂.

30 Le but de l'invention est donc de proposer une nouvelle formule d'un colorant naturel pour colorer les denrées alimentaires et les produits pharmaceutiques et utiliser aussi pour lutter contre le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires

31 Le déposant parvient à ce que l'administration par voie orale (per os) via les denrées alimentaires et les produits pharmaceutiques, d'une quantité efficace du mélange d'un extrait aqueux de carthame provoque une réduction du passage des sucres dans le sang et une hypoglycémie ainsi qu'une protection contre les maladies cardiovasculaires.

Mise en œuvre de l'invention

32 La mise en œuvre de l'invention peut se faire sur l'action de chaque extrait (extrait aqueux de carthame, extrait aqueux de grenadier) selon l'invention de colorer des denrées alimentaires ou les produits pharmaceutiques. Ces extraits aqueux peuvent réduire ou inhiber le passage des sucres dans le sang lorsque ces sucres sont administrés par voie orale en même temps que la composition selon l'invention. En outre, ces extraits peuvent prévenir contre les maladies cardiovasculaires en agissant sur les voies intrinsèques et extrinsèques de la coagulation. La mise en œuvre de l'invention peut se faire par l'ajout d'une quantité de la composition contenant les deux extraits afin d'obtenir une coloration jaunâtre. L'effet nutraceutique de cette composition peut se faire d'une part par la mesure de la glycémie totale chez l'homme ou l'animale de laboratoire comme le rat et la souris après l'absorption par voie orale d'une quantité suffisante de la préparation selon l'invention, et d'autre part, par la détermination des temps de prothrombines et des temps de thromboplastines partielles chez l'homme après l'absorption d'une quantité suffisante de la préparation selon l'invention.

33 La composition chimique des fleurs des huiles essentielles (HE) de carthame étudié montre la richesse des HE de cette espèce en Isovalérate de 4,6-décadiyn-1-ol (18,14%) ; acide palmitique (16,70%) ; (Z)-8-décén-4,6-diyn-1-yle 3-méthylbutanoate (13,20%) ; cuminaldéhyde (7,77%) et l'acide linoléique (7,40%).

34 L'identification des composés phénoliques de l'extrait de carthame à l'aide HPLC/UV-ESI-MS a montré la richesse de l'extrait en hydroxysafflor yellow A : (22.4%); anhydrosafflor yellow B (21.2); précarthamine (10.49); carthamidine / isocarthamidine-di-O-glucuronide (6.19); acide 1,3-O-dicaffeoylquinique hexoside (5.47%) ; Cartormine (4.74%); safflomine C (4.66%) et deglucosyl hydroxysafflor yellow A (4.2%).

35 Un exemple de la préparation simplifiée de l'invention se fait par un mélange de la poudre de l'extrait sec aqueux de carthame avec ou sans association avec une deuxième plante parmi les plantes citées dans la liste 1 et obtenue par séchage au four ou par atomisation ou lyophilisation.

Matériels et méthodes utilisés

Activité antimicrobienne

36 L'activité antimicrobienne a été réalisée sur vingt-quatre souches bactériennes (Cocci Gram Positif et Bacille Gram Négatif) et huit souches fongiques (Levures et Moisissures). Ces microorganismes sélectionnés sont pathogènes, connus pour leur forte résistance, leur pouvoir invasif et toxique chez l'Homme. Elles sont fréquemment rencontrées dans de nombreuses infections au Maroc qui posent un problème clinique et thérapeutique. Ces souches ont été isolées à partir du milieu hospitalier : Hôpital Provincial Mohamed V-Meknès. Alors que, l'activité antifongique a été réalisée sur des isolats de la mycothèque du laboratoire de parasitologie mycologie du Centre Hospitalier Ibn Sina – CHIS Rabat. Toutes les souches ont été prélevées sur un stock de glycérol de 20 % à -80°C, rajeunies sur les bouillons Mueller Hinton et Sabouraud et repiquées avant utilisation.

Modèles d'animaux expérimentaux

- 37 L'étude toxicologique a été réalisée sur des souris albinos (mâles et femelles). Les animaux ont été élevés à l'animalerie du Département de biologie de la faculté des sciences Dhar El Mahraz.

Mise en œuvre et essais de la composition tinctoriale

- 38 L'invention est actuellement mise en œuvre sous le nom *Carthamus tinctorius* L. (CT)
- 39 Dans le cadre de l'invention, il est possible de faire une combinaison de l'extrait de carthame, en tout ou partie, par d'autres plantes présentant de tels composés communs ou similaires. Ainsi, qu'il est montré ci-après, cette combinaison de CT et de *Punica granatum*, de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* présente une synergie produisant de meilleurs résultats que l'addition des résultats obtenus individuellement par chacune de ces plantes. Cette synergie est probablement due à la présence de composés communs ou similaires, entre les extraits aqueux de ces deux plantes.
- 40 L'invention propose ainsi une composition comprenant, outre l'extrait aqueux de Carthame, un extrait aqueux d'au moins une deuxième plante issue de la liste 1.

Préparation de l'extrait aqueux total

- 41 Les fleurs de carthame séchées sont broyées de préférence à froid. La poudre est mélangée avec de l'eau bouillante puis laissée en décoction. Le décocté est ensuite filtré puis séché pour obtenir une poudre fine.
- 42 Le même procédé est utilisé pour obtenir la poudre des extraits aqueux de la deuxième plante. Les deux poudres sont mélangées pour obtenir le principe actif. A titre d'exemples non limitatifs mais portant sur un modèle de réalisation de la formulation, le principe actif de la CT peut être réalisé avec une concentration de l'extrait aqueux sec de carthame qui varie entre 10 et 90 % et une concentration de l'extrait aqueux d'une autre plante dans la liste 1 ci-dessus de 10 à 30 %.

Etude de la stabilité de la couleur

- 43 La couleur de la denrée alimentaire préparée a été mesurée après 1, 7, 14, 21, 28 jours de stockage en utilisant la méthode CIELAB (CIE L* a* b*), où le paramètre L* mesure la luminosité sur une plage de 0 à 100, des valeurs positives pour a* indiquent la couleur rouge, les valeurs négatives pour a* indiquent la couleur verte, les valeurs positives pour b* indiquent la couleur jaune et les valeurs négatives pour b* indiquent la couleur bleue. Les mesures spectrophotométriques ont été effectuées en utilisant un colorimètre KEJAN 3nh- NH310, ouverture 8 mm-Chine. Les indices ΔE ont été calculés à partir des mesures, selon la formule :

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

où ΔE_{ab}^* est égal à l'amplitude de la différence de couleur.

Dosage des composés phénoliques totaux

- 44 Les teneurs en polyphénols totaux de la composition CT et des extraits sont déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu. Le dosage proprement dit des composés est donc fait par colorimétrie avec une prise de la densité optique. L'acide gallique est utilisé comme un standard à une longueur d'onde $\lambda = 760\text{nm}$. La lecture de l'absorbance est effectuée contre un blanc (mélange réactionnel sans extrait) à l'aide d'un spectrophotomètre (UV mini-1240) à 760 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à partir d'une gamme de concentration de 50 $\mu\text{g/ml}$. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) et déterminés par l'équation de type $Y = a x + b$ obtenus avec la courbe d'étalonnage.

Activité antioxydante : Test DPPH

45 L'expérience a été effectuée dans un spectrophotomètre UV-visible à la longueur d'onde de 515nm. La solution de DPPH[•] de concentration 6.10^{-5} M est obtenue en dissolvant 2,4 mg DPPH[•] dans 100ml d'éthanol. Les échantillons examinés ont été préparés par dissolution dans l'éthanol pur. Le test s'effectue en mélangeant un volume de 2,8 ml de la solution précédente de DPPH[•] avec 200 µl d'échantillon ou d'antioxydant standard (Acide ascorbique) à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 515nm contre un blanc qui ne contient que de l'éthanol. Le contrôle négatif est constitué de DPPH[•] sans extrait, et les valeurs obtenues sont transformées ensuite en pourcentages d'inhibition

Etude de la toxicité aiguë

46 Nous avons réalisé la toxicité aiguë pour la composition CT. Cette étude a été menée conformément aux lignes directrices de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE).

Etude de la toxicité subaiguë

47 L'étude de la toxicité subaiguë de la composition CT a été réalisée selon la ligne directrice OCDE n°407. Dix-huit souris ont été réparties au hasard en trois groupes (n=6/groupe) et traités pendant 28 jours consécutifs avec la composition CT comme suit :

- Groupe 1 : contrôle négatif (0,9 % NaCl) ;
- Groupe 2 : Composition CT à 300 mg/kg ;
- Groupe 3 : Composition CT à 600 mg/kg ;

Nous avons observé et enregistré les symptômes de toxicité tels que l'apparence générale de l'animal, le poids corporel, le poids relatif des organes, le comportement, la somnolence, la diarrhée, l'agitation ainsi que la mortalité (le cas échéant).

48 Analyse des paramètres biochimiques et hématologiques

A l'issue de la période expérimentale des tests de toxicité aiguë et subaiguë, les animaux ont été anesthésiés au pentobarbital sodique à la dose de 30 mg/Kg avant d'être sacrifiés pour le prélèvement de sang et d'organes. Des échantillons de sang ont été prélevés au niveau du cœur, dans des tubes héparinés et des tubes EDTA pour la détermination des paramètres biochimiques et hématologiques respectivement. Les tubes héparinés sont ensuite centrifugés à 1500 tr/min pendant 10 min, puis introduit dans l'analyseur de chimie clinique ARCHITECT c4000 pour la détermination des paramètres biochimiques tels que : ALT, AST, Phosphatase Alcaline, Cholestérol total, Triglycérides, Protéines Totales, Glycémie, Acide Urique, Urée et Créatinine. Alors que, les paramètres hématologiques (GB, GR, HB, HT et PLQ) ont été déterminés par l'analyseur d'hématologie XT-2000i.

Etude histologique

49 Les tissus des organes des animaux utilisés dans cette étude (Foie, Rein et Rate) ont été préparés pour l'examen des lésions microscopiques. Une solution de formol tamponnée à 10% a été utilisée pour fixer les organes, puis une déshydratation est effectuée à l'aide d'un automate de déshydratation 'Histo-Tek® VP1' pendant 12 heures, avant d'être incorporée dans de la paraffine. Ensuite, les échantillons ont été coupés à une épaisseur d'environ 5 µm à partir du tissu de l'organe, en utilisant un microtome rotatif, puis les lames de verre montées ont été maintenues sur une plaque chauffante (54°C). Pour finir, le protocole de coloration à l'hématoxyline et à l'éosine a été appliqué.

Statistiques

50 Les résultats, montrés sur les figures annexées, sont rapportés en moyenne (M) de mesures plus l'écart type (M ± ET). L'analyse de la variance a un facteur été effectuée

suivi du test de Dunnett grâce au logiciel GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, California USA).

Présentation de l'invention

- 51 Effet de coloration de l'extrait de carthame combiné avec un autre extrait de plante de la liste 1 sur les denrées alimentaires et les produits pharmaceutiques, ainsi que son effet sur l'activité hypoglycémiant et l'activité anticoagulante
- 52 Tableau 1 : Etude antibactérienne des extraits de carthame et de grenadier
- 53 Tableau 2 : Etude antifongique des extraits de carthame et de grenadier
- 54 Tableau 3 : Etude de la stabilité des couleurs des extraits étudiés incorporés dans une matrice animale
- 55 Tableau 4 : Effet de l'administration orale quotidienne de la composition CT sur les poids relatifs du foie, de la rate et des reins des souris normaux
- 56 Tableau 5 : Effet de l'administration orale quotidienne de la composition CT sur les paramètres biologiques des souris
- 57 Figure 1 : Dosage des polyphénols de la composition CT incorporé dans une matrice animale
- 58 Figure 2 : Activité antioxydante via le test DPPH de la composition CT incorporé dans une matrice animale
- 59 Figure 3 : Effet de l'administration orale quotidienne de la composition CT sur la variation du poids corporel des souris normaux
- 60 Figure 4 : Etude histologie des organes prélevés (Foie, Rate et Reins)

Revendications

- 1 Composition tinctoriale comprenant ou moins un colorant naturel et un antioxydant naturel et utilisable comme colorant nutraceutique des denrées alimentaires et des produits pharmaceutiques
- 2 Composition selon la revendication précédente, **caractérisée en ce** que le ou les colorants naturels sont choisis parmi le carthame, le calendula, le piment, la cannelle, le safran, le curcuma, l'hibiscus, la badiane, le pavot, la garance, le maïs, les flavonoïdes, les anthocyanes, les caroténoïdes, les tanins, ainsi que les extraits ou décoctions contenant ces colorants naturels et notamment les extraits issus de carthame, ou leurs mélanges.
- 3 Composition selon la revendication précédente, **caractérisée en ce** que le ou les antioxydants naturels sont choisis parmi le grenadier, le romarin, le pistachier lentisque et la sauge, ainsi que les extraits ou décoctions contenant ces antioxydants naturels et notamment les extraits issus de grenadier.
- 4 Composition selon la revendication 1, pour son utilisation en tant que colorant naturels pour les denrées alimentaires et les produits pharmaceutiques.
- 5 Composition selon la revendication 1, pour son utilisation thérapeutique contre le diabète et les troubles circulatoires
- 6 Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisée en ce** que la teneur en colorant(s) naturel(s) varie de 1 à 90 % en poids, de préférence de 50 à 75 % en poids, par rapport au poids de la composition
- 7 Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisée en ce** que la teneur en antioxydant (s) naturel (s) représente de 1 à 30 %, de préférence de 10 à 25 % en poids, par rapport au poids de la composition
- 8 Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisée en ce** qu'elle comprend au moins un antioxydant supplémentaire, choisi parmi les antioxydants naturels additionnels, ou leurs combinaisons
- 9 Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, **caractérisée en ce** qu'elle comprend de l'eau et éventuellement un ou plusieurs solvants organiques additionnels
- 10 Procédé de coloration consistant à appliquer sur les denrées alimentaires et les produits pharmaceutiques, une composition selon l'une quelconque des revendications précédentes

Tableau 1 :

CMI et CMB ($\mu\text{g/ml}$) Micro-organisme		<i>C. tinctorius</i> (F)		<i>P. granatum</i>	
		CMI	CMB	CMI	CMB
Cocci Gram positif	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5000	5000	5000	5000
	<i>Staphylococcus aureus</i> BLACT	>5000	>5000	600	600
	<i>Staphylococcus aureus</i> STAIML / MRS / <i>mecA</i> / HLMUP/ BLACT.	>5000	>5000	5000	5000
	<i>Streptococcus acidominimus</i>	2500	2500	600	1200
	<i>Streptococcus</i> groupe D	5000	5000	1200	1200
	<i>Streptococcus agalactiae</i> (B)	2500	2500	150	300
	<i>Streptococcus porcinus</i>	5000	5000	5000	5000
	<i>Enterococcus faecalis</i>	2500	2500	300	600
	<i>Enterococcus faecium</i>	5000	5000	5000	5000
Bacille Gram Négatif	<i>Escherichia coli</i> sauvage	5000	5000	2500	2500
	<i>Escherichia coli</i> BLSE	>5000	>5000	5000	5000
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1200	1200	300	600
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2500	2500	2500	2500
	<i>Citrobacter koseri</i>	2500	2500	2500	5000
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5000	5000	300	300
	<i>Proteus mirabilis</i>	2500	2500	1200	1200
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2500	2500	5000	5000
	<i>Pseudomonas fluorescense</i>	2500	2500	1200	1200
	<i>Serratia marcescences</i>	2500	5000	2500	2500
	<i>Sallemonella</i> sp.	1200	2500	1200	1200
	<i>Shigella</i> sp	1200	1200	150	300
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1200	1200	1200	1200
	<i>Pseudomonas putida</i>	2500	2500	600	600
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	300	600	150	300

Tableau 2 :

CMI et CMF ($\mu\text{g/ml}$) Micro-organisme	<i>C. tinctorius</i>		<i>P. granatum</i>	
	CMI	CMF	CMI	CMF
<i>Candida albicans</i>	>5000	>5000	300	600
<i>Candida kyfer</i>	>5000	>5000	5000	5000
<i>Candida krusei</i>	>5000	>5000	300	600
<i>Candida parapsilosis</i>	>5000	>5000	2500	2500
<i>Candida tropicalis</i>	>5000	>5000	>5000	>5000
<i>Candida dubliniensis</i>	>5000	>5000	>5000	>5000
<i>Aspergillus niger</i>	2500	2500	1200	1200
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	>5000	>5000	>5000	>5000

Tableau 3 :

Paramètres	Jours	Echantillon Témoin	Echantillon Carthame	Composition CT
<i>L</i> * (Lightness)	<i>T</i> ₁	82 ± 4,10	68,75 ± 3,44	79,76 ± 3,99
	<i>T</i> ₄₀	82,86 ± 4,14	78,35 ± 3,92	77,61 ± 3,88
<i>a</i> * (Redness)	<i>T</i> ₁	-3,36 ± -0,17	-2,85 ± -0,14	-0,43 ± -0,02
	<i>T</i> ₄₀	-2,68 ± -0,13	-1,44 ± -0,07	-0,36 ± -0,02
<i>b</i> * (Yellowness)	<i>T</i> ₁	1,92 ± 0,10	13,06 ± 0,65	12,42 ± 0,62
	<i>T</i> ₄₀	2,41 ± 0,12	15,46 ± 0,77	12,94 ± 0,65
<i>c</i> *	<i>T</i> ₁	3,87 ± 0,19	13,36 ± 0,67	12,43 ± 0,62
	<i>T</i> ₄₀	3,61 ± 0,18	15,53 ± 0,78	12,95 ± 0,65
<i>h</i> °	<i>T</i> ₁	150,25 ± 7,51	102,3 ± 5,12	92 ± 4,60
	<i>T</i> ₄₀	137,97 ± 6,90	95,32 ± 4,77	91,59 ± 4,58
ΔE		1,2 ± 0,06	9,99 ± 0,50	2,21 ± 0,11

Figure 1 :

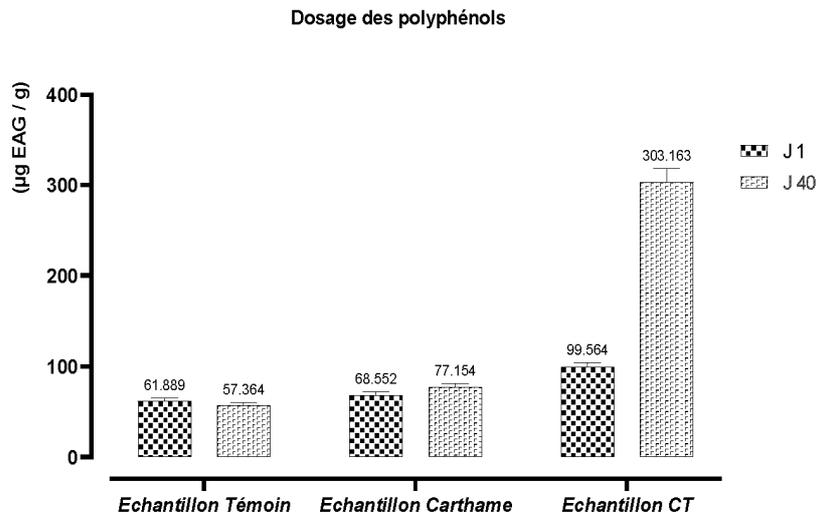


Figure 2 :

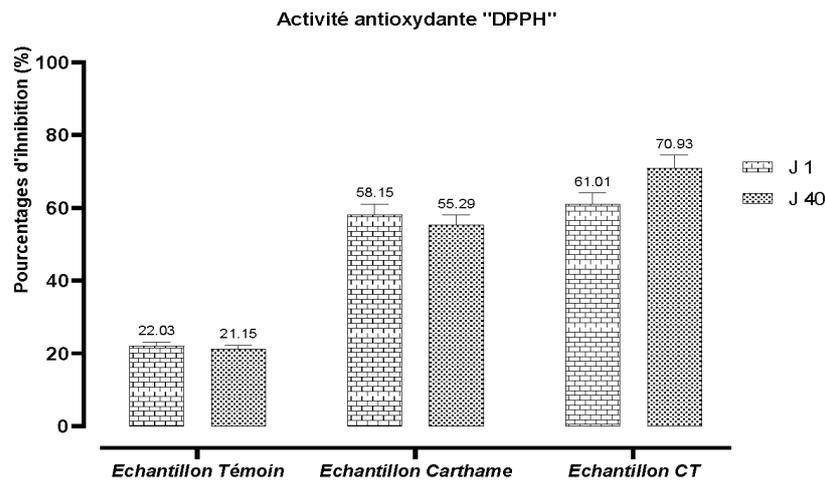


Figure 3 :

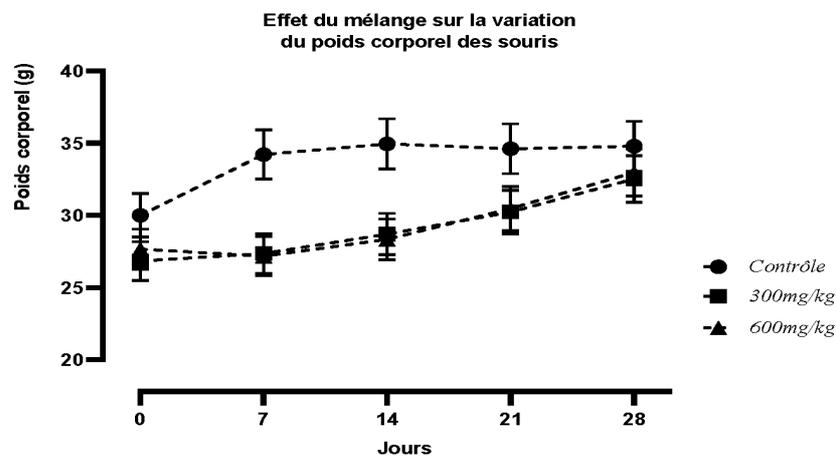


Tableau 4 :

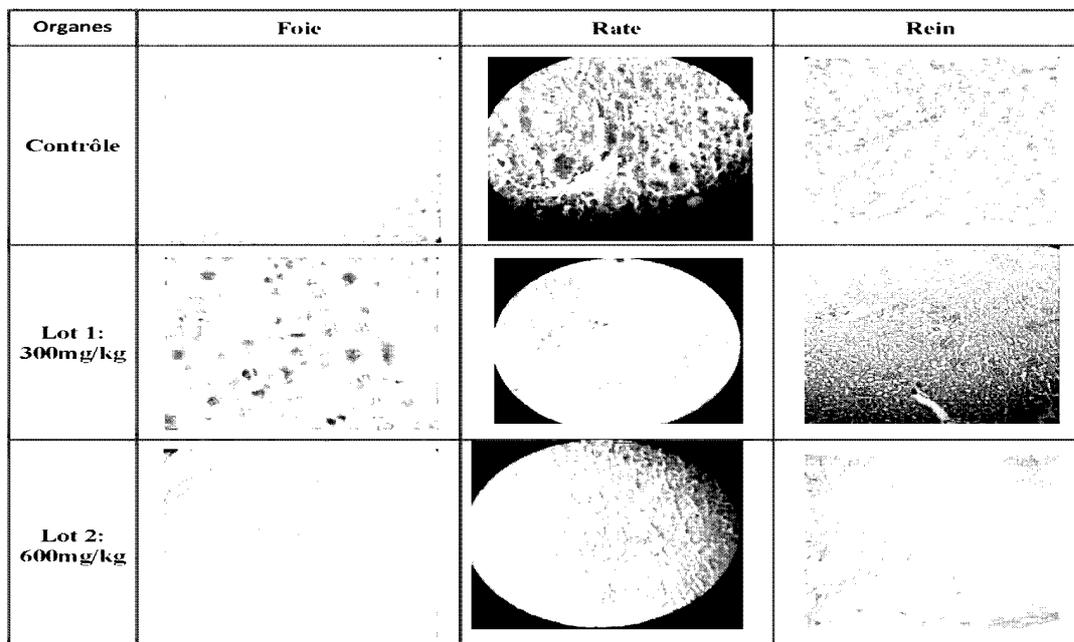
Echantillons	Poids relatifs (g)		
	Foie	Rein	Rate
Contrôle	1,787 ± 0,089	0,574 ± 0,029	0,208 ± 0,010
Lot 1 (300mg/kg)	1,624 ± 0,081	0,446 ± 0,022	0,169 ± 0,008
Lot 2 (600mg/kg)	1,954 ± 0,098	0,610 ± 0,030	0,238 ± 0,012

Tableau 5 :

Effet sur les paramètres biologiques		Contrôle	Lot 1 (300mg/kg)	Lot 2 (600mg/kg)
Paramètres Biochimiques	Glucose (g/L)	1,61 ± 0,08	1,79 ± 0,09	1,52 ± 0,08
	Urée (g/L)	0,31 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,20 ± 0,01
	Créatinine (mg/L)	5,01 ± 0,25	4,19 ± 0,21	4,31 ± 0,22
	ALT (UI/L)	37,00 ± 1,85	58,00 ± 2,90	42,00 ± 2,10
	AST (UI/L)	177,00 ± 8,85	179,00 ± 8,95	185,00 ± 9,25
	Phosphatase alcaline (U/L)	43,00 ± 2,15	38,00 ± 1,90	50,00 ± 2,50
	Acide urique (mg/L)	54,72 ± 2,74	74,71 ± 3,74	41,95 ± 2,10
	Protéine (g/L)	74,12 ± 3,71	76,33 ± 3,82	71,18 ± 3,56
	Cholestérol (g/L)	1,21 ± 0,06	1,50 ± 0,08	0,90 ± 0,05
Triglycéride (g/L)	0,96 ± 0,05	1,11 ± 0,06	0,81 ± 0,04	
Paramètres hématologiques	GB ($\times 10^9$ /L)	7,50 ± 0,38	9,90 ± 0,50	6,40 ± 0,32
	GR ($\times 10^{12}$ /L)	8,79 ± 0,44	8,83 ± 0,44	6,92 ± 0,35
	HB (g/dL)	14,60 ± 0,73	13,60 ± 0,68	12,50 ± 0,63
	HT (%)	42,20 ± 2,11	43,50 ± 2,18	38,40 ± 1,92
	PLQ ($\times 10^9$ /L)	614 ± 30,70	710 ± 35,50	557 ± 27,85

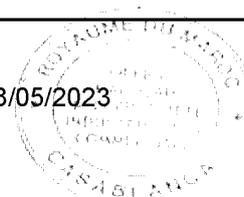
Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM ; n = 3. AST : aspartate transaminase ; ALT : alanine aminotransférase ; GB : Leucocytes ; GR : Hématies ; HB : hémoglobine ; HT : hématoците ; PLQ : plaquette.

Figure 4 :



**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 : 59500	Date de dépôt : 24/02/2023
Déposant : Université Moulay Ismail	
Intitulé de l'invention : Composition comprenant un colorant naturel et un antioxydant naturel et coloration des denrées alimentaires et des produits pharmaceutiques	
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 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 : 18/05/2023
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
6 Pages
- Revendications
10
- Planches de dessin
2 Pages

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : A23L3/34, A23L5/40, C09B61/00

CPC : A23L3/34, A23L5/40, C09B61/00

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	Valrhona: « LE GUIDE DE LA COLORATION SIMPLE ET NATURELLE », FR 32963 – INSIGN 10/2020 - 2020 https://dam.valrhona.com/m/27ea00f987a661d2/	1-10
X	P. DUPAIGNE : « LES COLORANTS ROUGES D'ORIGINE NATURELLE » IFAC Fruits, dec . 1974, vol . 29, n°12, p . 797-814 file:///C:/Users/sadiki/Downloads/CIRADjournals,+document_414541%20(2).pdf	1-10
X	CA3004203A1 ; CHR HANSEN NATURAL COLORS AS [DK] ; 18/05/2017 Page 1	1-10

***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

La revendication 4 est dépendant de la première revendication ne comporte pas des caractéristiques techniques supplémentaires. Elle doit être supprimée.

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

Nouveauté	Revendications 3-10	Oui
	Revendications 1-2	Non
Activité inventive	Revendications aucune	Oui
	Revendications 1-10	Non
Application Industrielle	Revendications 1-10	Oui
	Revendications aucune	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 : Valrhona: « LE GUIDE DE LA COLORATION SIMPLE ET NATURELLE »

1. Nouveauté

Le document D1 divulgue une composition tinctoriale à base de colorant naturel (carthame) et un antioxydant pour son utilisation pour les denrées alimentaires. Ceci correspond à l'objet des revendications 1-2.

Aucun des documents cités ci-dessus ne divulgue l'ensemble des revendications 3-10. Par conséquent, seul 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.

L'objet de la revendication 3 diffère de D1 en ce que l'agent antioxydant utilisé n'est pas le citron. Aucun effet supplémentaire lié à cette différence n'a été divulgué.

Le problème est alors considéré comme étant la fourniture d'une composition tinctoriale alternative pour la coloration des denrées alimentaire et produit pharmaceutique.

Il n'y a aucun effet pertinent lié à la modification de la plante à vertu antioxydante par une autre afin de résoudre le problème. Alors, il serait évident pour l'homme du métier qui cherche à résoudre une formulation alternative de choisir d'autres plantes connues par leur activité antioxydante telle que le grenadier sans faire preuve d'esprit inventif.

Le même raisonnement s'applique aux revendications 4, 6-10.

Par ailleurs, la revendication 5 concerne l'utilisation la présente composition naturelle pour le

traitement du diabète et des maladies cardiovasculaires. Cependant, le déposant n'a fourni ni de procédé posologique de traitement ni méthodologie thérapeutique sur l'utilisation de cette composition ni des données physiologiques et pathologiques sur l'effet de l'utilisation de cette composition comme agent pharmaceutique thérapeutique. Les analyses effectuées sur la modification de la concentration glycémique ou la concentration de prothrombine (tableaux 4, 5 et figure 4) ne peuvent pas prouver une amélioration de l'état pathologique symptomatique aussi bien du diabète ou des maladies cardiovasculaires. Ainsi, l'objet de la revendication 5 n'est pas inventif.

Par conséquent, l'objet des revendications 1-10 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.