



Office de la Propriété
Intellectuelle
du Canada

Un organisme
d'Industrie Canada

Canadian
Intellectual Property
Office

An agency of
Industry Canada

CA 2170243 C 2005/05/24

(11)(21) **2 170 243**

(12) **BREVET CANADIEN
CANADIAN PATENT**

(13) **C**

(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 1995/06/13
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 1996/01/04
(45) Date de délivrance/Issue Date: 2005/05/24
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 1996/02/23
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 1995/000771
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 1996/000077
(30) Priorité/Priority: 1994/06/27 (94/07867) FR

(51) Cl.Int.⁶/Int.Cl.⁶ A61K 35/30, A61K 7/40, A23L 1/30,
A23L 1/28, A23J 7/00
(72) Inventeur/Inventor:
PONROY, YVES, FR
(73) Propriétaire/Owner:
INSTITUT DE RECHERCHE BIOLOGIQUE, FR
(74) Agent: OGILVY RENAULT

(54) Titre : NOUVELLES UTILISATIONS D'UN COMPLEXE A BASE DE PHOSPHOLIPIDES CEREBRAUX EN
THERAPEUTIQUE ET DANS L'ALIMENTATION
(54) Title: NOVEL THERAPEUTIC AND DIETETIC USES OF A BRAIN PHOSPHOLIPID-BASED COMPLEX

(57) **Abrégé/Abstract:**

La présente invention se rapporte au domaine de la thérapeutique et de la diététique. Elle a plus particulièrement pour objet l'utilisation en thérapeutique ou en diététique de préparations à base de phospholipides extraits de cerveau de porc en vue de compenser ou de ralentir les phénomènes de vieillissement. Les phospholipides cérébraux purifiés sont utilisés seuls ou associés à des excipients, des diluants permettant l'administration par voie orale ou parentérale.





DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ :

A61K 35/30

A1

(11) Numéro de publication internationale:

WO 96/00077

(43) Date de publication internationale:

4 janvier 1996 (04.01.96)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR95/00771

(22) Date de dépôt international: 13 juin 1995 (13.06.95)

(30) Données relatives à la priorité:

94/07867

27 juin 1994 (27.06.94)

FR

(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): INSTITUT DE RECHERCHE BIOLOGIQUE [FR/FR]; 29, rue de Noisy, F-78870 Bailly (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (US seulement): PONROY, Yves [FR/FR]; 1 bis, passage Pilatre-de-Rozier, F-78000 Versailles (FR).

(74) Mandataire: BURTIN, Jean-François; Cabinet GEFIB, 85, rue Anatole-France, F-92300 Levallois-Perret (FR).

(81) Etats désignés: AU, BR, CA, CN, CZ, FI, HU, JP, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, US, VN, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), brevet ARIPO (KE, MW, SD, SZ, UG).

Publiée

2170243

Avec rapport de recherche internationale.

(54) Title: NOVEL THERAPEUTIC AND DIETETIC USES OF A BRAIN PHOSPHOLIPID-BASED COMPLEX

(54) Titre: NOUVELLES UTILISATIONS D'UN COMPLEXE A BASE DE PHOSPHOLIPIDES CEREBRAUX EN THERAPEUTIQUE ET DANS L'ALIMENTATION

(57) Abstract

The therapeutic or dietetic use of a preparation based on phospholipids extracted from pigs' brains for compensating for or delaying ageing is disclosed. The purified brain phospholipids are used alone or combined with carriers and diluents enabling oral or parenteral delivery.

(57) Abrégé

La présente invention se rapporte au domaine de la thérapeutique et de la diététique. Elle a plus particulièrement pour objet l'utilisation en thérapeutique ou en diététique de préparations à base de phospholipides extraits de cerveau de porc en vue de compenser ou de ralentir les phénomènes de vieillissement. Les phospholipides cérébraux purifiés sont utilisés seuls ou associés à des excipients, des diluants permettant l'administration par voie orale ou parentérale.

**NOUVELLES UTILISATIONS D'UN COMPLEXE
A BASE DE PHOSPHOLIPIDES CEREBRAUX
EN THERAPEUTIQUE ET DANS L'ALIMENTATION**

5 La présente invention se rapporte à de nouvelles utilisations d'un mélange de phospholipides d'origine animale en thérapeutique et en diététique.

La présente invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation d'un mélange de phospholipides extraits de cervelle de mammifères pour la réalisation de
10 préparations à visée thérapeutique ou nutritionnelle.

Elle a spécifiquement pour objet l'utilisation thérapeutique ou nutritionnelle d'une préparation à base de phospholipides cérébraux extraits de cervelles de porc en vue de compenser ou de ralentir les phénomènes de vieillissement et plus précisément
15 la détérioration mentale, l'hypoxie et le vieillissement cérébral.

Le vieillissement physiologique est accompagné au niveau cérébral :

- 20 • d'une diminution du taux de phospholipides avec apparition de lysodérivés, et ainsi le rapport cholestérol/phospholipide est augmenté, ce qui entraîne une diminution de la fluidité membranaire (G. CALDERINI dans Phospholipids in the nervous system Vol.2 (1985) 11-18 - Raven Press)
- 25 • en outre, les phospholipides membranaires subissent au cours du vieillissement des phénomènes de peroxydations qui altèrent l'activité biologique de ces molécules polyinsaturées (C. DEBY - La biochimie de l'oxygène - La Recherche 22 (1991) 57-64)
- 30 • chez l'animal, il a été en effet observé une augmentation du taux de phospholipase cérébrale au cours du vieillissement et une diminution de la capacité de synthèse des phospholipides (A. GAITI - Phospholipids in the nervous system Vol.2 (1985) 155-161 - Raven Press)
- 35 • enfin, on sait que chez le sujet âgé, on enregistre une diminution de l'activité de la delta-6-désaturase, qui permet la transformation des acides gras essentiels (18:2 n-6 et 18:3 n-3) en acides gras supérieurs et en particulier en DHA (22:6 n-3) (JM BOURRE (1990) 25 354-356).

Dans la maladie d'Alzheimer, on assiste à des phénomènes du même ordre, mais pas totalement identiques.

- il se forme des pigments lipochromes intracellulaires qui contiennent entre autres, des triglycérides, des céphalines, des sphingomyélines et des acides gras polyinsaturés oxydés (H. DABADIE - Cahiers Nut. Diet. XXII (1987) 51-53). Il pourrait s'agir de molécules de phospholipides cérébraux dégradées.
- l'altération du métabolisme des phospholipides dans la maladie d'Alzheimer, ainsi que les altérations membranaires ont d'ailleurs été mises en évidence par G.ZUBENKO (Brain Research 385 (5) (1986) 115-121).
- on trouve également dans les cerveaux des malades une quantité importante de phosphomono et di-ester, ce qui peut signifier soit une lyse, soit un effort de régénération des phospholipides membranaires (J.W PETTEGREW - J. Neuropath. Exp. Neurology (1987) 46 419-430).
- des études de diffraction aux rayons X montrent une désorganisation de la myéline due à une peroxydation des lipides insaturés (L.S CHIA - Biochim. Biophys.Acta 775 (1984) 308-312)
- plusieurs études cliniques en double aveugle contre placebo mettent en évidence l'efficacité de la phosphatidylsérine cérébrale à la dose de 300 mg/jour (L. AMADUCCI - Ann. NY Acad. Sci. 640 (1991) 245-249).

Dans l'ischémie cérébrale et les états d'hypoxie expérimentale, on note une augmentation importante du pool d'acides gras libres et, en particulier, des acides en 20:4 et 22:6, une augmentation des lysodérivés et des diglycérides. De même, plusieurs auteurs font état d'une augmentation du taux de peroxydation des acides gras insaturés. Cette accumulation d'acides gras libres et de composés oxydés altère les fonctions cérébrales (RV DORMAN (Phospholipids in the nervous system Vol.1 (1982) 123-135).

Par ailleurs, on sait depuis longtemps, que l'hypoxie cérébrale entraîne une baisse importante du métabolisme des phospholipides cérébraux (D.A CHTVERIKOV - Nature 212 (1966) 1236-1238 et Y.DJORKIN - Nature 212 (1966) 1239-1240)

L'ensemble de ces éléments montre que les détériorations mentales provoquées par les états hypoxiques sont associées à une dégradation des phospholipides membranaires.

- 5 On a donc étudié l'intérêt d'un apport exogène de phospholipides cérébraux dans le but de régénérer les membranes cellulaires ou de freiner leur dégradation lors de processus physiologiques ou pathologiques et d'apporter au cerveau les acides gras spécifiques et, en particulier, les acides en 20:4 n-6 et 22:6 n-3.
- 10 Les phospholipides cérébraux sont caractérisés par le fait qu'ils contiennent une grande proportion d'acides gras à longues chaînes, en particulier de la série n-3. Ils représentent 5% du poids du cerveau et y jouent un rôle structural et métabolique considérable au niveau membranaire (Lipids malnutrition and the developing brain Elsevier 1972).

15

La préparation contient un mélange de phospholipides cérébraux en proportion physiologique telle que :

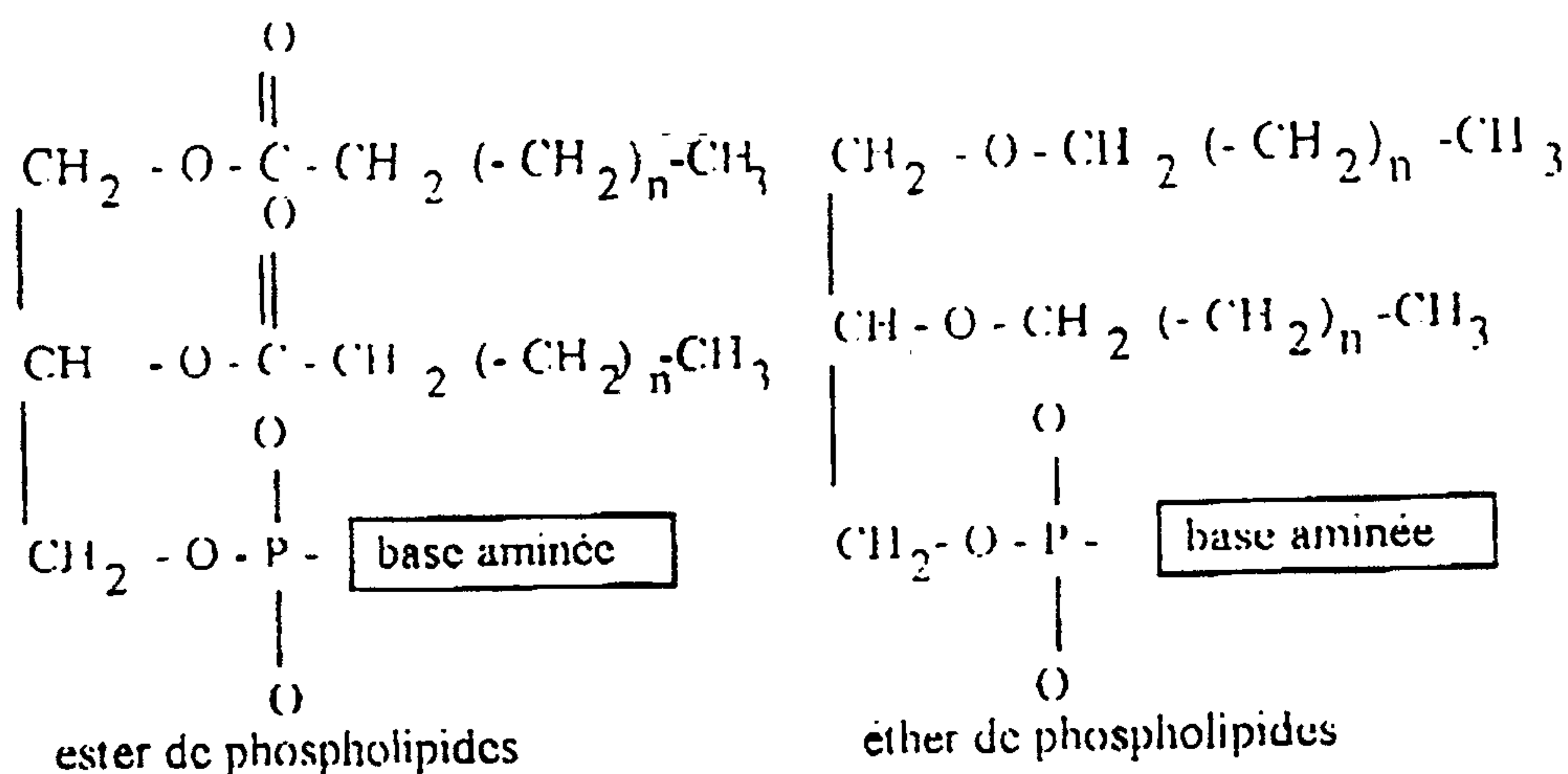
20	- phosphatidylcholine	20 à 30%
	- phosphatidylsérine	17 à 25%
	- phosphatidylinositol	
	- phosphatidyléthanolamine	30 à 40%
	- sphingomyéline	6 à 10%
	- plasmalogène (éther lipide)	5 à 10%

25

Les phospholipides cérébraux ont ceci de particulier, qu'ils sont constitués de phosphoglycérol lié à deux chaînes d'acides gras par une fonction ester ou une fonction éther. Les éthers phospholipidiques, dénommés aussi plasmalogènes, représentent de 5 à 10% de l'ensemble.

30

2170243



Les phospholipides cérébraux ont, en outre, en particulier, qu'ils sont liés à des acides gras dont la distribution est la suivante, et spécifique par rapport à d'autres phospholipides et, en particulier, par rapport aux phospholipides de soja :

-	acide arachidonique	20:4 n-6	7 à 9%
		22:4 n-6	3 à 5%
-	DHA	22:6 n-3	7 à 10 %
10 -	EPA	20:5 n-3	< 1%

Les Demandeurs ont, pour cela, réalisé une étude avec des phospholipides marqués, qui a pu mettre en évidence une migration préférentielle des phospholipides cérébraux vers le cerveau après une administration per os.

Les demandeurs ont pu également montrer que des phospholipides cérébraux riches en acides gras à longues chaînes polyinsaturés, administrés per os à des souris, se fixent en partie au niveau cérébral et, en particulier, dans les membranes synaptiques.

Par ailleurs, plusieurs études cliniques réalisées chez l'homme dans divers types de lésions cérébrales, sont venues confirmer l'intérêt de l'utilisation des phospholipides cérébraux dans ces indications.

- dans 20 cas d'insuffisance circulatoire cérébrale, traités avec un produit contenant uniquement des phospholipides cérébraux à raison de 20 à 40 mg/jour pendant une moyenne de 7 mois, il a été observé :

- une amélioration nette dans 73% des cas aux tests psychométriques WESHLER, REY et BENTON

- les améliorations les plus nettes, ont porté sur la mémorisation et la composante anxieuse fréquente chez ces malades

- la tolérance a été excellente

• dans une étude contrôlée contre placebo, avec paires associées, réalisée chez 26 patients atteints d'hémiplégie, on a observé qu'après 4 mois, la différence est hautement significative entre les deux groupes ($p < 0,0005$) en ce qui concerne l'amélioration des tests psychométriques.

• dans une étude contrôlée contre placebo dans le traitement de la présénescence chez 76 patients d'un âge moyen de 60 ans, l'amélioration sur des critères subjectifs a été statistiquement significative après 3 mois de traitement, en faveur des phospholipides cérébraux (40 mg/jour en deux prises). Les meilleurs résultats sont observés dans les troubles de la mémoire, les troubles de l'attention et de l'efficacité intellectuelle ainsi que l'humeur et l'affectivité. La tolérance clinique et biologique a été excellente.

On a essayé, en outre, un produit associant phospholipides cérébraux, anti-oxydants naturels et de l'huile de poisson dans les troubles du vieillissement cérébral, chez 61 sujets. Après 3 mois de traitement, les expérimentateurs ont enregistré une amélioration nette dans 60 à 75% des cas, dans les items suivants sur "l'échelle d'appréciation clinique en gériatrie" (EACG) :

- mémoire des événements récents
- stabilité émotionnelle
- fatigue
- vivacité d'esprit
- anxiété
- initiative
- dépression

La tolérance clinique a été excellente

Enfin, un essai en ouvert chez 23 malades porteurs de séquelles psycho-intellectuelles de traumatismes crâniens, traités pendant 3 mois avec 30 mg/jour de

phospholipides cérébraux, a permis d'enregistrer une amélioration globale de l'ordre de 63% au test de BENTON. La mémoire et la fatigabilité sont les plus influencées.

5 Ceci prouve donc l'intérêt et l'efficacité des préparations à base de phospholipides de cervelles de porc grâce à leur teneur élevée en acides gras essentiels des séries n-3 et n-6. Il en résulte une amélioration des troubles liés au vieillissement cérébral comme la fatigabilité, la perte d'attention ou la difficulté de l'idéation.

10 Les phospholipides de cervelles de porc sont utilisées à des fins thérapeutiques ou nutritionnelles, seuls ou associés à des excipients, des diluants ou des véhicules permettant leur administration par voie per os ou par voie intraveineuse. La teneur en phospholipides cérébraux peut varier dans des proportions très larges, s'échelonnant de 10 mg à 500 mg par prise unitaire.

15 Ces phospholipides cérébraux purifiés peuvent être utilisés seuls ou associés. Ils sont destinés essentiellement à la voie digestive, mais peuvent aussi être utilisés par voie générale :

20 per os sous forme de gélules ou capsules à raison de 40 à 400 mg/jour de phospholipides cérébraux
Ils peuvent être utilement associés à des anti-oxydants naturels comme la vitamine C, la vitamine E, le bêta-carotène, des anti-radicalaires comme le sélénium ou la cystéine, des huiles de poissons riches en EPA et DHA

25 intraveineuse sous forme de suspension aqueuse ou de liposomes

Comme anti-oxydants naturels, on pourra citer l'acide ascorbique et ses sels, le palmitate d'ascorbyle et les tocophérols.

30 Comme agent anti-radicalaire, on pourra citer les dérivés soufrés comme la cystéine, la carboxyméthyl cystéine, le diterbutyl para crésol ou bien encore le métabisulfite de potassium.

35 Les phospholipides de cervelles de porc peuvent être utilisés à des fins nutritionnelles en addition ou en mélange avec des excipients ou des diluents à usage alimentaire comme des farines de céréales, des matières grasses; des supports inertes, des produits chocolatés ou des dérivés du lait.

Les phospholipides cérébraux selon l'invention sont obtenus par épuisement de cervelles de porc prélevées sur des animaux fraîchement abattus selon les modalités suivantes :

5

- les cervelles de porc sont prélevées sur des animaux fraîchement abattus en provenance d'élevages exempts de toutes maladies infectieuses et suivis rigoureusement sur le plan sanitaire par les services vétérinaires.

10

- les cervelles sont immédiatement congelées à -20°C et conservées à cette température.

- les cervelles sont ensuite ramenées à une température comprise entre -5° et 0°, avant passage dans un hâchoir industriel et des broyeurs, de façon à obtenir une

15

- la pâte de cervelle est transférée au sommet d'une chambre d'atomisation dans laquelle l'eau est immédiatement évaporée dans un courant d'air chaud à 190/195°C.

20

- la poudre obtenue est introduite dans un réacteur contenant un mélange d'hydrocarbures aliphatiques à base d'hexane et maintenue sous agitation.

- après filtration, la phase liquide est concentrée sous vide et donne naissance à

25

un extrait brut.

- l'extrait brut est ensuite coulé dans l'acétone en présence d'un anti-oxydant alimentaire.

30

- le précipité obtenu est filtré sous pression d'azote.

- le produit recueilli est séché sous vide et contient les phospholipides cérébraux purifiés.

35

Les exemples suivants illustrent l'invention, sans la limiter en aucune façon :

EXEMPLE I**Gélules de phospholipides de cervelles de porc**

	- Phospholipides cérébraux	200 g
5	- Palmitate d'ascorbyle	12 g
	- Vitamine E	60 g
	- Sorbitol	40 g
	- Gluconate de calcium	25 g
	- Stéarate de magnésium	15 g

10

pour 1 000 gélules

EXEMPLE II**Gélules de phospholipides de cervelles de porc**

15

	- Phospholipides cérébraux	100 g
	- Carbonate de calcium	40 g
	- Carbonate de magnésium	30 g
	- Phosphate de magnésium	30 g
20	- Silice colloïdale	25 g
	- Vitamine E	25 g
	- Talc	15 g

pour 1 000 gélules

25

EXEMPLE III**Gélules de phospholipides de cervelle de porc**

	- Phospholipides cérébraux	100 g
30	- Cellulose microcristalline	50 g
	- Ethylcellulose	15 g
	- Huile de germe de blé	10 g
	- Phosphate tricalcique	50 g
	- Talc	10 g

35

EXEMPLE IV**Suspension aqueuse de phospholipides cérébraux**

	- Phospholipides cérébraux	10 g
5	- Lécithine de soja	5 g
	- Vitamine E	1 g
	- Eau purifiée qsp	1000 ml

EXEMPLE V**10 Farine alimentaire à base de phospholipides cérébraux**

	- Phospholipides cérébraux	20 g
	- Caséine	5 g
	- Méthylcellulose	4,5 g
15	- Farine de bananes	71,5 g
	- Vanilline	0,5 g

Les réalisations de l'invention, au sujet desquelles un droit exclusif de propriété ou de privilège est revendiqué, sont définies comme suit :

1. Utilisation des phospholipides cérébraux provenant de cervelles de porc, riches en acides gras à longue chaîne des séries n-3 et n-6, liés par des fonctions ester ou éther, en vue de la réalisation d'un médicament approprié pour régénérer les membranes cellulaires synaptiques ou freiner leur dégradation.
2. Utilisation des phospholipides cérébraux selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits phospholipides forment un mélange contenant de 20 à 30% de phosphatidylcholine.
3. Utilisation des phospholipides cérébraux selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que lesdits phospholipides forment un mélange contenant 17 à 25% de phosphatidylinositol et de phosphatidylsérine.
4. Utilisation des phospholipides cérébraux selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que lesdits phospholipides forment un mélange contenant de 30 à 40% de phosphatidyléthanolamine.
5. Utilisation des phospholipides cérébraux selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que lesdits phospholipides forment un mélange contenant de 6 à 10% de sphingomyéline.
6. Utilisation des phospholipides cérébraux selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que lesdits phospholipides forment un mélange contenant de 5 à 10% de plasmalogène.
7. Utilisation des phospholipides cérébraux selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que lesdits phospholipides cérébraux sont liés à des acides gras constitués de 7 à 9% d'acide arachidonique, de 3 à 5% de l'acide

docosatétranoïque, de 7 à 10% d'acide docosa hexanoïque (DHA), et de moins de 1% d'acide eicosapentanoïque (EPA).

8. Utilisation des phospholipides cérébraux selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, en vue de la réalisation d'un médicament destiné à compenser ou ralentir les phénomènes du vieillissement cérébral.

9. Utilisation des phospholipides cérébraux selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, en vue de la réalisation d'un médicament destiné à compenser ou ralentir la détérioration mentale, l'hypoxie et le vieillissement cérébral.

10. Utilisation des phospholipides cérébraux provenant de cervelles de porc selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans laquelle les phospholipides sont associés à des excipients, des diluants ou des véhicules permettant leur administration par voie per os ou par voie intraveineuse.

11. Utilisation des phospholipides cérébraux provenant de cervelles de porc selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans laquelle le médicament contient, en outre, des agents antioxydants naturels, des agents anti-radicalaires et/ou des huiles de poisson riches en acide eicosapentanoïque (EPA) et en acide docosa hexanoïque (DHA).

12. Utilisation selon la revendication 11, dans laquelle l'agent antioxydant est choisi parmi l'acide ascorbique, les tocophérols et le bêta-carotène.

13. Utilisation selon la revendication 11 ou 12, dans laquelle l'agent anti-radicalaire est choisi parmi le sélénium, la cystéine, la carboxyméthylcystéine et le diterbutylparacresol.

14. Utilisation des phospholipides cérébraux provenant de cervelles de porc tels que définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 7, en vue de la

réalisation d'un complément nutritionnel destiné à compenser ou à ralentir les phénomènes du vieillissement cérébral.

15. Utilisation selon la revendication 14, dans laquelle les phospholipides cérébraux provenant de cervelles de porc sont additionnés de compléments alimentaires ou nutritionnels.

16. Utilisation selon la revendication 15, dans laquelle les compléments alimentaires ou nutritionnels sont constitués par des farines de céréales, des produits lactés, des matières grasses, ou des produits chocolatés.

17. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans laquelle le médicament contient de 10 à 500 mg de phospholipides cérébraux par prise unitaire.

18. Utilisation selon la revendication 17, dans laquelle le médicament contient de 40 à 400 mg de phospholipides en 2 ou 3 prises.

19. Utilisation selon la revendication 14, dans laquelle le complément nutritionnel contient de 10 à 500 mg de phospholipides cérébraux par prise unitaire.

20. Utilisation selon la revendication 19, dans laquelle le complément nutritionnel contient de 40 à 400 mg de phospholipides cérébraux en 2 ou 3 prises.