



(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 1995/06/12
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 1996/01/04
(45) Date de délivrance/Issue Date: 2007/09/25
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 1996/02/23
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 1995/000770
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 1996/000016
(30) Priorité/Priority: 1994/06/27 (FR94/07868)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *A23L 1/30* (2006.01),
A23J 7/00 (2006.01)
(72) Inventeur/Inventor:
PONROY, YVES, FR
(73) Propriétaire/Owner:
INSTITUT DE RECHERCHE BIOLOGIQUE, FR
(74) Agent: OGILVY RENAULT LLP/S.E.N.C.R.L.,S.R.L.

(54) Titre : NOUVELLES COMPOSITIONS DIETETIQUES A BASE DE PHOSPHOLIPIDES ET LEUR UTILISATION
COMME COMPLEMENT NUTRITIONNEL
(54) Title: NOVEL DIETETIC PHOSPHOLIPID COMPOSITIONS AND USE THEREOF AS A DIETARY SUPPLEMENT

(57) **Abrégé/Abstract:**

La présente invention se rapporte au domaine de la diététique et plus particulièrement à celui des suppléments nutritionnels. Elle a plus spécifiquement pour objet de nouvelles compositions diététiques apportant des acides gras essentiels des séries n-3 et n-6, caractérisées en ce qu'elles contiennent des phospholipides riches en acides gras polyinsaturés à très longue chaîne, présents dans le jaune d'oeuf de poule nourrie avec aliment enrichi en acides gras essentiels des séries n-3 et n-6, en association ou en mélange avec des excipients ou des diluants appropriés pour l'usage alimentaire. Les compositions selon l'invention servent de compléments nutritionnels pour le nourrisson, le jeune enfant et chez le vieillard.



**PCT**ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

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

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A23L 1/30, A23J 7/00	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 96/00016 (43) Date de publication internationale: 4 janvier 1996 (04.01.96)
---	----	--

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR95/00770
(22) Date de dépôt international: 12 juin 1995 (12.06.95)
(30) Données relatives à la priorité:
94/07868 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]; 1bis, 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

2170242

Avec rapport de recherche internationale.

(54) Title: NOVEL DIETETIC PHOSPHOLIPID COMPOSITIONS AND USE THEREOF AS A DIETARY SUPPLEMENT

(54) Titre: NOUVELLES COMPOSITIONS DIETÉTIQUES A BASE DE PHOSPHOLIPIDES ET LEUR UTILISATION COMME COMPLÉMENT NUTRITIONNEL

(57) Abstract

Novel dietetic compositions providing essential fatty acids from series n-3 and n-6 and containing phospholipids rich in polyunsaturated fatty acids having a very long chain and being present in egg yolks from hens given feed enriched with essential fatty acids from series n-3 and n-6, combined or mixed with food-grade carriers or diluents. Said compositions are useful as dietary supplements for infants, toddlers and the elderly.

(57) Abrégé

La présente invention se rapporte au domaine de la diététique et plus particulièrement à celui des suppléments nutritionnels. Elle a plus spécifiquement pour objet de nouvelles compositions diététiques apportant des acides gras essentiels des séries n-3 et n-6, caractérisées en ce qu'elles contiennent des phospholipides riches en acides gras polyinsaturés à très longue chaîne, présents dans le jaune d'œuf de poule nourrie avec aliment enrichi en acides gras essentiels des séries n-3 et n-6, en association ou en mélange avec des excipients ou des diluants appropriés pour l'usage alimentaire. Les compositions selon l'invention servent de compléments nutritionnels pour le nourrisson, le jeune enfant et chez le vieillard.

**NOUVELLES COMPOSITIONS DIETETIQUES
A BASE DE PHOSPHOLIPIDES ET LEUR
UTILISATION COMME COMPLEMENT NUTRITIONNEL**

5 La présente invention se rapporte au domaine de la diététique et en particulier au domaine des suppléments nutritionnels.

La présente invention a plus particulièrement pour objet de nouvelles compositions diététiques destinées à compenser chez le nourrisson, et l'enfant ou chez le vieillard
10 un déficit nutritionnel en acides gras essentiels des séries n-3 et n-6.

Elle a spécifiquement pour objet des compositions diététiques apportant des acides gras essentiels des séries n-3 et/ou n-6 chez des sujets fragiles, malnutris ou dénutris sous une forme facilement utilisables et directement utiles pour le bien-être
15 du sujet.

On sait en effet que :

- les prématurés et les enfants de faible poids à la naissance ont des besoins
20 particuliers qui ne sont pas satisfaits avec les laits artificiels actuels même s'ils contiennent une quantité satisfaisante d'acide linoléique (18:2 n-6) et α -linolénique (18:3 n-3). En effet, l'équipement enzymatique (désaturases et élongases) des prématurés est trop faible pour synthétiser les homologues supérieurs et en particulier, l'acide docosahexaénoïque ou DHA (22:6 n-3), et
25 l'acide arachidonique (20:4 n-6) (M.FOREMAN Am. J. Clin. Nutr. 57(suppl) (1993) 829S).
- un apport de ces deux acides gras apparaît donc primordial pour assurer un développement correct de la vision (P. PEIRANO J. Pediatr. 120 (1992) 168-
30 180), mais aussi des autres fonctions cérébrales chez les prématurés qui ne sont pas nourris au sein. Des essais ont montré que les fonctions photoréceptrices des prématurés n'ont une maturation optimale que si un apport suffisant d'acides gras à longues chaînes polyinsaturés de la série n-3 est réalisé, soit avec du lait maternel, soit avec des huiles de chair de poissons (D.R HOFFMAN Am. J. Clin.
35 Nutr. 57(suppl) (1993) 801-806).

Il a même été mis en évidence une corrélation entre le taux de DHA dans le plasma du nouveau-né et son degré de prématurité, évalué selon des index de

développements psychomoteur et mental (K. BJERVE Am. J. Clin. Nutr. 57(suppl) (1993) 801-806).

5 Diverses sources de DHA ont été proposées, à commencer par l'huile de chair de poissons mais celle-ci a l'inconvénient de contenir une forte proportion d'acide eicosapentaénoïque ou EPA (20:5 n-3) dont la présence peut être dangereuse chez l'enfant et qui normalement ne se trouve pas dans le lait maternel (K. BJERVE).

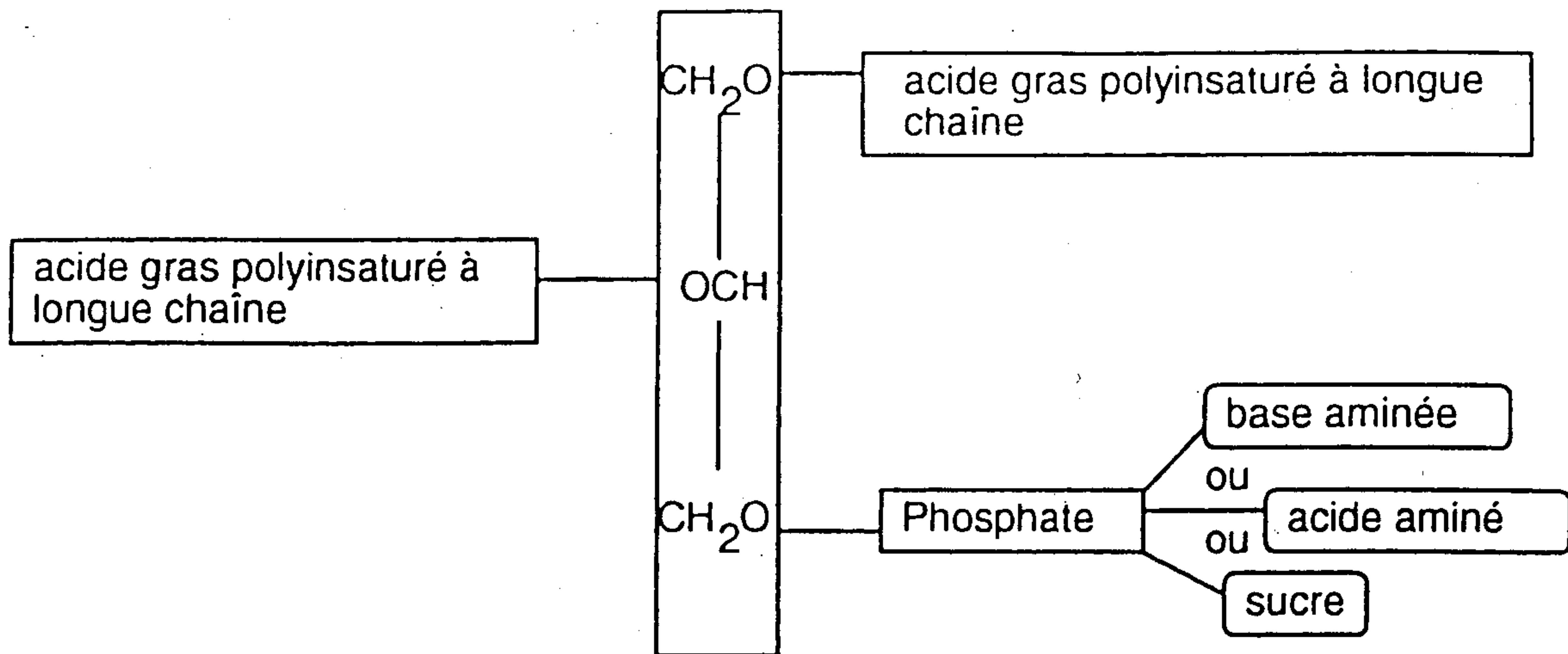
10 Les acides gras essentiels, et en particulier l'acide α -linolénique (18:3 n-3), ont un rôle fondamental pour la maturation cérébrale de l'enfant, mais les carences sont fréquentes. Une carence en acides gras essentiels de la série n-3 engendre une diminution de la teneur en DHA au niveau cérébral (22:6 n-3). Après un apport en acide α -linolénique, la récupération est extrêmement lente (J.M BOURRE Prostaglandins, Leukotrienes and Essential fatty acids 48 (1993) 5-15), tandis qu'un
15 apport en acides gras supérieurs et en particulier en DHA, favorise une récupération rapide (J.M BOURRE J. Neuroch. 60 (1992) 2018-2027).

De la même façon, lors du vieillissement, les capacités de désaturation et d'élongation des acides gras essentiels sont réduites. On peut donc envisager les
20 effets bénéfiques d'un apport en acides gras polyinsaturés à longue chaîne.

La présente invention consiste à proposer une source d'acides gras de la série n-3 en proportion convenable pour le système nerveux et en particulier riches en DHA (22:6 n-3) et en acide arachidonique (20:4 n-6), sous la forme de phospholipides
25 riches en acides gras de la série n-3.

Ces phospholipides riches en acides gras polyinsaturés à très longues chaînes, sont présents particulièrement dans le jaune des oeufs de poules qui ont été convenablement nourries, en particulier avec des aliments riches en acides gras
30 essentiels des séries n-3 et n-6, à savoir l'acide α -linolénique et l'acide linoléique : graines ou huiles de colza, de soja, de lin, de fruits de Ribes.

Les phospholipides de jaune d'oeuf de poules ont la structure chimique suivante :



- 5 les acides gras sont liés au glycérol, soit par une liaison ester, soit par une liaison éther.

La présente invention a donc pour objet des préparations nutritionnelles à base d'un mélange de phospholipides extraits d'oeuf de poules nourries avec une alimentation
 10 enrichie en huile végétale riche en acides gras polyinsaturés éthyléniques de la série n-3 comme par exemple, l'huile de colza, l'huile de lin ou l'huile de soja ou bien encore enrichie en grains desdites plantes qui apportent la même supplémentation, en association ou en mélange avec un excipient ou un diluant approprié pour permettre l'adjonction à l'alimentation.

15 Dans un aspect, l'invention s'étend à une composition diététique apportant des acides gras essentiels des séries n-3 et n-6 dans l'alimentation de sujets fragiles ou dénutris, caractérisée en ce qu'elle contient des phospholipides de jaunes d'œuf de poule, constitués à 75-80% de phosphatidylcholine et à 15-20% de phosphatidyléthanolamine
 20 estérifiées par un acide gras polyinsaturé à longue chaîne, en association ou en mélange avec des excipients ou des diluants appropriés pour l'alimentation des nourrissons, des enfants, des adolescents ou des personnes âgées.

Dans un autre aspect, l'invention s'étend à un procédé d'obtention de phospholipides
 25 de jaunes d'œuf de poule constitués à 75-80% de phosphatidylcholine et à 15-20% de phosphatidyléthanolamine estérifiées par un acide gras polyinsaturé à longue chaîne,

WO 96/00016

PCT/FR95/000770

3a

caractérisé en ce que les phospholipides sont obtenus par traitement à l'acétone de jaunes d'œuf de poules nourries avec un aliment enrichi en acides gras essentiels, puis par extraction du produit obtenu par un mélange de solvant chloré-alcool.

5 Il en résulte que ces phospholipides contiennent, en proportion physiologique, les constituants suivants :

- phosphatidylcholine 75 – 80%
- phosphatidylsérine inférieur à 0.5%
- phosphatidylinositol 0.5 – 1%
- 10 • phosphatidyléthanolamine 15 – 20%
- plasmalogène 1 – 2%
- sphingomyéline 2 – 3%

Ces phospholipides ont ceci de particulier et de spécifique qu'ils sont composés d'une
15 quantité notable d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne telle :

2170242

4

- acide arachidonique 20:4 n-6 de 2 à 6%
- DHA 22:6 n-3 de 3 à 6%
- le rapport $\frac{n-6}{n-3}$ inférieur à 4
- le rapport $\frac{\text{acide arachidonique}}{\text{DHA}}$ compris entre 0,5 et 1,5
- le rapport $\frac{\text{EPA}}{\text{DHA}}$ inférieur à 0,25
- une publication a déjà montré la différence de composition en acides gras des oeufs de poules provenant d'une ferme traditionnelle en GRECE ou d'un élevage industriel et vendus par la grande distribution aux USA (A.P SIMOPOULOS N. Engl. J. of Med. 1989 (16 Nov. 1989) p.1412).

(en mg d'acides gras par gramme)

Acides :

* linoléique	18:2 n-6
* α-linolénique	18:3 n-3
* arachidonique	20:4 n-6
* EPA	20:5 n-3
	22:5 n-3
* DHA	22:6 n-3
$\frac{n-6}{n-3}$	
$\frac{\text{arachidonique}}{\text{DHA}}$	
$\frac{\text{EPA}}{\text{DHA}}$	

Oeufs fermiers grecs	Oeufs industriels US
16	26
6,90	0,52
5,4	5,02
1,2	-
2,8	0,09
6,6	1,09
1,3	19,4
0,82	4,61
0,18	-

D'autres travaux ont confirmé la variabilité de la composition en acides gras dans le jaune d'oeuf de la volaille en fonction de son alimentation.

Par exemple, la richesse des oeufs de ferme grecs en DHA et en acides gras de la série n-3 en général est due à l'alimentation des poules constituée principalement de pourpier connu pour sa richesse en acides gras n-3 (A.P SIMOPOULOS N. Engl. J. of Med. 315 (1986) (13) 833).

5

D'autres auteurs ont confirmé que les oeufs de poules en élevage industriel contenaient de très faibles quantités d'acides gras de la série n-3 et seulement des traces de DHA. Les mêmes auteurs ont proposé d'enrichir la ration des animaux en huiles de poisson afin d'enrichir les oeufs en acides gras n-3 pour améliorer leurs propriétés nutritionnelles. Mais, l'huile de poisson augmente la quantité d'EPA (C20:5 n-3) dans les phospholipides de jaune d'oeuf, ce qui n'est pas souhaitable chez l'enfant et surtout le nourrisson.

10

A titre d'exemple, on peut comparer la teneur en acides gras polyinsaturés à longue chaîne, des oeufs produits par des poules "témoin", recevant une nourriture industrielle classique et des poules recevant la même nourriture, à laquelle on a mélangé 10% d'huile végétale connue pour sa richesse en acide α -linolénique (C18:3 n-3), en particulier le lin ou le colza.

15

acides gras des oeufs de poules en pourcentage du total des acides gras		
	régime témoin	régime huile végétale riche en n-3
18:2 n-6	8,8	10,6
18:3 n-3	0,2	5,5
20:4 n-6	1,8	2,0
20:5 n-3	0	0,2
22:6 n-3	0,8	3,9
Somme n-3	1,3	7,9
Somme n-6	10,7	11,4
<u>n-6</u>	8,2	1,4
n-3		

20

L'utilisation nutritionnelle des phospholipides du jaune d'oeuf de poule a déjà été envisagée, en particulier pour lutter contre les troubles de la sénescence (N.HUBER

Phospholipides (1990) 241-253), mais, dans ces travaux, il est surtout fait état d'un apport en phosphatidylcholine sans égard à la nature des acides gras dont l'apport provoque une fluidification des membranes et active les lymphocytes et les macrophages.

5

Dans ces publications, il n'avait pas été envisagé d'enrichir la ration alimentaire des poules avec des acides gras de la série n-3; il n'avait pas non plus été prévu d'exercer une action de régénération et de construction des membranes neuronales.

10

Cet apport nutritionnel de phospholipides d'oeufs riches en acides gras polyinsaturés à longues chaînes se justifie en particulier dans les cas suivants :

15

- chez les prématurés et les nourrissons fragiles réputés incapables de réaliser la biosynthèse de ces acides gras spécifiques et indispensables pour le système nerveux central

20

- chez les enfants ou adolescents qui peuvent avoir des retards ou des difficultés scolaires suite à un retard de maturation cérébrale provoqué par une carence en acides gras essentiels
- chez les personnes âgées pour lutter contre le vieillissement cérébral et favoriser la régénération physiologique des membranes.

25

Les phospholipides d'oeuf, riches en acides gras polyinsaturés à longues chaînes, peuvent être utilisés dans les laits infantiles ou bien comme complément nutritionnel, mélangés ou non à d'autres éléments nutritifs comme les vitamines, les sels minéraux ou oligo-éléments et présentés sous forme de poudre, de comprimés, de gélules ou de capsules à croquer ou à avaler.

30

Les phospholipides selon l'invention seront pour cela mélangés ou dilués avec ou dans des adjuvants alimentaires comme des farines, des sucres, des polyols, des saccharides, des matériaux de charge, avec des édulcorants, avec des agents liants, avec des agents aromatisants, avec des agents de sapidité.

35

Comme adjuvants alimentaires, on pourra citer les farines de céréales, les tourteaux de plantes oléagineuses, les autolysats de protéine, les autolysats de levure de bière, les peptones, la caséine, la pectine, les gélatines ou les hydrolysats de gélatine.

Les sucres qui peuvent être incorporés aux compositions selon l'invention sont des sucres digestibles comme le sacharose, le fructose, le maltose ou le lactose ou bien des sucres non digestibles comme le glucose et l'arabinose. On peut ajouter également des dextrines, des amidons modifiés, oxydés ou hydrolysés, des dextrines hydrolysées, des maltodextrines ou des polysaccharides modifiés non digestibles.

Comme matériau de charge, on peut citer des celluloses, des celluloses modifiées, des argiles, des sels minéraux, des protéines non digestibles, des hydrolysats de protéine comme par exemple des hydrolysats de caséine ou de farines de poisson deshuilées et désodorisées.

Comme agent liant, on citera au premier chef des celluloses alcoylées, des carboxyméthylcelluloses réticulées ou non, des carboxyméthylamidon ou des polymères de vinyl pyrrolidone pontés.

La teneur en phospholipides d'oeuf varie selon l'objectif alimentaire. Elle sera plus élevée pour les préparations destinées aux enfants et aux adolescents. Pour les nourrissons et les très jeunes enfants, elle sera plus faible, compte tenu du fait que l'apport nutritif, à cet âge de la vie, est fonction du poids corporel.

Pour les personnes âgées, l'apport en phospholipides d'oeuf sera plus importante car il y a un déficit nutritionnel à compenser et une baisse de l'activité enzymatique qui tend à entraîner une déperdition des éléments de construction biologique essentiels.

Les phospholipides selon l'invention sont préparés de la manière suivante :

- les oeufs de poules, nourries spécialement, sont cassés, les jaunes sont séparés et traités à l'acétone. On obtient ainsi un produit pulvérulent que l'on sèche puis épuise par un mélange de solvant chloré et d'alcool. On recueille ainsi une solution concentrée de phospholipides que l'on précipite par addition d'une cétone. La fraction contenant les phospholipides est séchée et broyée.

Les oléagineux riches en acides gras polyinsaturés de la série n-3 sont principalement les graines ou les huiles de Ribes, de colza ou de lin.

EXEMPLE I**Poudre à incorporer au lait du biberon**

- Phospholipides de jaune d'oeuf de poule alimentée
5 avec un aliment contenant 10% de graines de lin 49,975 g
 - Caséine de lait 100,000 g
 - Acétate de tocophérol 0,025 g
 - Carbonate de calcium 100,000 g
- 10 pour 1000 sachets de poudre contenant 0,05 g de phospholipides de jaune d'oeuf à incorporer au lait du biberon ou à diluer dans un peu d'eau sucrée.

EXEMPLE II

- 15 • Phospholipides de jaune d'oeuf de poule alimentée
avec un aliment contenant 5% d'huile de pépin de cassis..... 2,000 g
- Lécithine de soja 1,000 g
- Acide palmityl-6-L-ascorbique 0,030 g
- Alginate de sodium 1,000 g
- 20 • Eau qsp 100 ml

On réalise ainsi une émulsion laiteuse que l'on peut incorporer au lait du biberon ou diluer dans de l'eau minérale.

EXEMPLE III

- Phospholipides de jaune d'oeuf de poule alimentée
avec un aliment standard contenant 10% d'huile de colza 1,000 g
- Cellulose microcristalline 10,000 g
- 30 • Carbonate de magnésium 2,000 g
- Phosphate tricalcique 2,000 g
- Vitamine E 0,010 g
- Méthylcellulose 10,000 g
- Arôme café 1,000 g
- 35 • Sorbitol 25,000 g
- Maltodextrine qsp..... 100 g

On prépare ainsi des granulés renfermant des lécithines à prendre à chaque repas.

EXEMPLE IV

- Phospholipides de jaune d'oeuf de poule alimentée
5 avec une nourriture standard supplémentée avec des
pépins de cassis broyés 1,000 g
- Lait en poudre écrémé 40,000 g
- Phosphate tricalcique 2,000 g
- Gluconate ferreux 0,400 g
- 10 • Carbonate de manganèse 0,100 g
- Lactate de zinc 0,200 g
- Cellulose microcristalline 10,000 g
- Sorbitol 36,300 g
- Poudre de jus de citron 10,000 g

15

La poudre ainsi obtenue est répartie en sachets de 10 g. Ils sont destinés à être ajoutés à l'alimentation à chaque repas ou à être dilués dans un peu d'eau.

EXEMPLE V

20

- Phospholipides de jaune d'oeuf de poule nourrie
avec une alimentation standard supplémentée avec
10% de graines de lin 25,00 g
- Poudre d'acérola 20,00 g
- 25 • Caséine 25,00 g
- Carbonate de calcium 10,00 g
- Stéarate de magnésium 2,00 g
- Fructose 17,00 g
- Arôme mandarine 1,00 g

30

pour faire des comprimés pesant en moyenne 0,300 g.

REVENDEICATIONS

1. Compositions diététiques apportant des acides gras essentiels des séries n-3 et n-6 dans l'alimentation de sujets fragiles ou dénutris, caractérisées en ce qu'elles contiennent des phospholipides de jaunes d'œuf de poule, constitués à 75-80% de phosphatidylcholine et à 15-20% de phosphatidyléthanolamine estérifiées par un acide gras polyinsaturé à longue chaîne, en association ou en mélange avec des excipients ou des diluants appropriés pour l'alimentation des nourrissons, des enfants, des adolescents ou des personnes âgées.
2. Compositions diététiques selon la revendication 1, caractérisées en ce que les phospholipides de jaunes d'œuf de poules nourries avec un aliment contenant 5% d'huile de pépins de cassis ou 10% de graines de lin ou 10% d'huile de colza.
3. Compositions diététiques selon la revendication 1 ou 2, caractérisées en ce que les phospholipides de jaunes d'œuf de poule contiennent comme acide gras de 2 à 6% d'acide arachidonique (n-6) et de 3 à 6% d'acide docosahexaénoïque (n-3).
4. Compositions diététiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisées en ce que les phospholipides de jaunes d'œuf de poule présentent un rapport (n-6)/(n-3) inférieur à 4.
5. Compositions diététiques selon la revendication 3 ou 4, caractérisées en ce que les phospholipides de jaunes d'œuf de poule présentent un rapport acide arachidonique/acide docosahexaénoïque (DHA) compris entre 0.5 et 1.5.
6. Compositions diététiques selon l'une quelconque des revendications 3 à 5, caractérisées en ce que les phospholipides de jaunes d'œuf de poule contiennent de l'acide eicosapentaénoïque en quantité telle que le rapport acide eicosapentaénoïque (EPA)/acide docosahexaénoïque (DHA) inférieur à 0.25.
7. Compositions diététiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisées en ce que les phospholipides de jaunes d'œuf de poule sont

additionnés d'adjuvants alimentaires, d'agents édulcorants, d'agents liants, d'agents aromatisants et/ou d'agents de sapidité.

8. Compositions diététiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, présentées sous forme de comprimés, de gélules, de capsules, de poudre ou d'émulsion.
9. Procédé d'obtention de phospholipides de jaunes d'œuf de poule constitués à 75-80% de phosphatidylcholine et à 15-20% de phosphatidyléthanolamine estérifiées par un acide gras polyinsaturé à longue chaîne, caractérisé en ce que les phospholipides sont obtenus par traitement à l'acétone de jaunes d'œuf de poules nourries avec un aliment enrichi en acides gras essentiels, puis par extraction du produit obtenu par un mélange de solvant chloré-alcool.