

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication : **2 918 846**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **07 05294**

⑤① Int Cl⁸ : **A 23 L 1/30** (2006.01), A 61 K 31/685, 31/66, A 61 P 3/
02

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 20.07.07.

③⑦ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 23.01.09 Bulletin 09/04.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : *ISL INNOVATION SANTE LIPIDES
Société à responsabilité limitée — FR et INSTITUT
NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE
MEDICALE INSERM — FR.*

⑦② Inventeur(s) : ARMAND MARTINE et PIERONI
GERARD.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : SANTARELLI.

⑤④ COMPOSITION ALIMENTAIRE POUR AMELIORER LA DIGESTIBILITE DES LIPIDES ALIMENTAIRES.

⑤⑦ La présente invention concerne le domaine de l'alimentation humaine ou animale et plus particulièrement une composition alimentaire pour améliorer la digestibilité des lipides alimentaires comprenant un ou plusieurs lysophospholipides et/ou phospholipides.

Elle concerne également un aliment contenant la composition alimentaire selon l'invention ainsi qu'un procédé pour améliorer la digestibilité des lipides alimentaires.

FR 2 918 846 - A1



La présente invention concerne le domaine de l'alimentation humaine ou animale et plus particulièrement une composition alimentaire pour améliorer la digestibilité des lipides alimentaires comprenant un ou plusieurs lysophospholipides et/ou phospholipides choisis parmi le lysophosphatidylinositol, l'acide lysophosphatidique oléique, la lysophosphatidylsérine, la lysophosphatidylcholine oléique et la phosphatidyléthanolamine DHA.

C'est aussi un des buts de la présente invention que de disposer d'un aliment contenant la composition alimentaire selon l'invention.

L'invention a encore pour but un procédé pour améliorer la digestibilité des lipides alimentaires.

Le processus de digestion/absorption est complexe mais extrêmement efficace chez le sujet sain avec 98% d'absorption des triglycérides ingérés, 20-60% pour le cholestérol et 50-80%, 80-90% et 50% respectivement, pour les vitamines D, A et E.

Chez les sujets présentant une diminution physiologique de la fonction gastrique (vieillesse), pancréatique (réversible chez le nouveau-né à terme ou prématuré, ou irréversible dans le vieillissement), ou une insuffisance pancréatique d'origine pathologique (pancréatite chronique, mucoviscidose), la biodisponibilité des lipides est par contre très réduite. Les principales causes sont une quantité insuffisante et/ou une mauvaise activité des lipases endogènes, ainsi qu'une mauvaise absorption liée à un défaut de phospholipides et de sels biliaires.

Chez le nouveau-né, l'imaturité pancréatique conduit à une sécrétion en lipase pancréatique et en ions bicarbonates non optimales, et la digestion des lipides dans le duodénum est très réduite du fait d'un manque de lipase et du pH acide du milieu.

D'autre part, l'imaturité hépatique conduit à une sécrétion insuffisante en sels biliaires utiles pour la digestion mais aussi pour l'absorption des lipides (concentration duodénales en sels biliaires : 2 à 3,5 mM). Toutefois, une lipase présente dans le lait maternel, la lipase sels biliaires dépendante ou BSSL, compense l'absence ou la faible activité de lipase pancréatique si le nouveau-né est nourri avec le lait de sa mère.

Dans le cas de la mucoviscidose, la destruction irréversible du pancréas conduit à une absence totale de sécrétion de lipases et d'ions bicarbonate pancréatiques avec un pH très acide du milieu duodénal ce qui altère, du fait de leur précipitation, la fonction des sels biliaires sécrétés néanmoins en quantité quasi normale sauf si il existe une atteinte hépatique associée.

Le même cas de figure est observé dans le cas des pancréatites chroniques. Il est à noter cependant que si les taux de lipase pancréatique sont très faibles chez les nouveau-nés et dans les cas d'insuffisance pancréatique d'origine pathologique, la

lipase gastrique est secrétée en quantité identique ou supérieure aux sujets sains.

Jusqu'à présent les approches visant à corriger les problèmes de mauvaise digestion des lipides alimentaires chez les sujets souffrant de mucoviscidose ou de pancréatite chronique ont abouti à la mise en place d'une supplémentation en enzymes lipolytiques d'origine porcine le plus souvent.

Les suppléments enzymatiques à base de poudre de pancréas de porc ne sont pas toujours efficaces pour plusieurs raisons : 1) destruction des enzymes lors de leur passage dans l'estomac à cause du pH acide ; 2) problème de délitement dans le cas des préparations gastro-protégées car les microsphères ne se solubilisent qu'à pH supérieur à 5,5, pH qui n'est pas toujours atteint dans le duodénum ; 3) pH intraduodéal non favorable à une action optimale de la lipase pancréatique ; 4) effets secondaires tels que la destruction de la muqueuse colique suite à l'administration de doses trop fortes de supplément enzymatique.

Pour résoudre une partie de ces problèmes, des anti-acides peuvent être administrés en parallèle aux patients ce qui permet de protéger les suppléments enzymatiques sensibles à la dégradation et d'obtenir un pH intraduodéal plus adéquat ; dans cet ordre d'idée, des recommandations bien précises quant aux doses d'administration maximales de suppléments ont été définies (dose de lipase pancréatique fixée à 4000 IU/g de lipides ingérés sans excéder 10000 IU/kg/jour). De plus, des ions bicarbonate sont rajoutés dans certaines préparations enzymatiques afin de créer un microenvironnement de pH adéquat à l'activité des enzymes (pancrelipase, Pancrecarb, Digestive Care, Bethlehem, PA, USA) ce qui permet de réduire d'un tiers la stéathorrhée.

De nouvelles sources de lipases soit microbienne (Altu-135, Altus Pharmaceuticals, Cambridge, MA, USA), soit gastrique d'origine canine recombinante (Merispase, Meristem, Clermont-Ferrand, France), ont été très récemment testées chez des sujets atteints de mucoviscidose.

La lipase microbienne permet d'augmenter l'absorption des lipides de + 21 à + 33 % suite à l'administration de 25 000 à 100 000 unités par repas. L'administration de lipase gastrique recombinante seule (600 mg/j) permet d'augmenter le taux d'absorption des lipides, qui passe alors de 28% sans supplément à 50% ; ce taux d'absorption est augmenté de +17% quand la lipase gastrique recombinante est administrée en association avec des extraits pancréatiques chez 7 des 11 patients étudiés.

Les résultats obtenus sont très variables du fait des grandes différences physiologiques interindividuelles. Pour améliorer l'absorption des lipides chez les insuffisants pancréatiques, la posologie et le type de supplément efficaces à prescrire ne

peuvent être déterminés qu'en connaissant les réels besoins des patients.

Chez les nouveau-nés nourris avec des substituts de lait maternel, l'utilisation d'un supplément enzymatique à base de lipase de lait maternel (BSSL) est envisagée par certains auteurs.

5 Cette nouvelle génération de suppléments enzymatiques n'est encore qu'à l'essai et n'est donc pas encore opérationnelle, malgré des avancées très prometteuses.

Le développement de stratégies alternatives doit donc être mené en parallèle. A cet égard, par exemple, dans le cas de la mucoviscidose la prescription d'extraits pancréatiques fait partie des prescriptions bien précises recommandées par la Haute
10 Autorité de Santé. Cependant, l'utilisation de tels extraits n'est pas sans poser de problèmes en terme d'adéquation entre le moment de la prise des suppléments et la digestion des lipides du repas [Schall et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr 2006 ; 43 : 651-9].

En effet, parmi les problèmes que l'on peut signaler, figure le fait général que l'on
15 ne peut pas associer les extraits pancréatiques sources d'enzymes lipolytiques avec les aliments sources de lipides sans initier une lipolyse non voulue des lipides conduisant à un produit dégradé impropre à la consommation.

On comprend donc que l'on recherche toujours des solutions plus adaptées pour améliorer la digestibilité des lipides alimentaires chez des sujets le nécessitant.

20 C'est un des buts de la présente invention que de fournir un moyen simple et efficace pour améliorer la digestibilité des lipides, qui surmontent les problèmes des solutions de l'art antérieur. Les phospholipides alimentaires, et sécrétés de façon endogène, pourraient jouer un rôle important dans la digestibilité des lipides alimentaires [Favé et al., Cellular and Molecular Biology 2004 ;50(7) : 815-31] et dans leur absorption
25 [Tso P In Physiology of the Gastrointestinal tract, Jonhson LR (ed), Raven Press, New York, 1994, pp 1867-1908].

Les inventeurs ont étudié différents mélanges de phospholipides mais aussi de lysophospholipides afin de préciser la nature et le mélange de ces molécules les plus aptes à améliorer la digestibilité des lipides alimentaires. De façon inattendue, les
30 lysophospholipides, qui ne sont présents qu'à l'état de traces dans les phospholipides alimentaires ou sécrétés, sont bien plus efficaces à améliorer la lipolyse des lipides.

Parmi les différentes molécules testées les inventeurs ont mis en évidence les propriétés tout à fait particulières du lysophosphatidylinositol, de l'acide lysophosphatidique oléique, de la lysophosphatidylsérine, de la lysophosphatidylcholine
35 oléique et de la phosphatidyléthanolamine DHA dans leurs capacités à permettre une bonne émulsification des lipides mais également à favoriser la lipolyse des émulsions

qui les contiennent.

En particulier, de façon totalement inattendue, en présence des composés de l'invention des émulsions lipidiques normalement très peu hydrolysables par des lipases gastriques peu actives présentent des taux d'hydrolyse tout à fait comparables à ceux mesurés en présence de lipase gastrique humaine native présentant une activité normale c'est-à-dire une activité comparable à celle de la majorité de la population présentant une digestion normale.

C'est sur la base de ces résultats que les inventeurs proposent l'utilisation du lysophosphatidylinositol, de l'acide lysophosphatidique oléique, de la lysophosphatidylsérine, de la lysophosphatidylcholine oléique et de la phosphatidyléthanolamine DHA pour la préparation d'une composition alimentaire destinée à améliorer la digestibilité des lipides.

Comme présenté dans les exemples, l'étude de l'impact de très nombreux phospholipides naturels et de lysophospholipides sur l'efficacité de la lipolyse dans un modèle *in vitro* proche des conditions physiologiques a permis de mettre en évidence les propriétés tout à fait particulières du lysophosphatidylinositol, de l'acide lysophosphatidique oléique, de la lysophosphatidylsérine, de la lysophosphatidylcholine oléique et de la phosphatidyléthanolamine DHA dans leurs capacités à permettre d'une part une bonne émulsification des lipides mais également à favoriser leur lipolyse.

Ainsi le lysophosphatidylinositol, l'acide lysophosphatidique oléique, la lysophosphatidylsérine, la lysophosphatidylcholine oléique et la phosphatidyléthanolamine DHA non seulement permettent à l'émulsion lipidique de présenter la structure la plus apte à être hydrolysée mais également rendent pleinement fonctionnelles des lipases gastriques quasiment inactives.

Dès lors, les inventeurs ont mis au point une composition alimentaire utilisable soit en parallèle de l'alimentation, soit en tant que composant d'au moins un aliment pour améliorer la digestibilité des lipides alimentaires.

Ainsi dans son premier objet, l'invention concerne l'utilisation du lysophosphatidylinositol, de l'acide lysophosphatidique oléique, de la lysophosphatidylsérine, de la lysophosphatidylcholine oléique et de la phosphatidyléthanolamine DHA comme ingrédients alimentaires utilisables comme complément destiné à améliorer la digestibilité des lipides.

Selon l'invention on entend par une amélioration de la digestibilité des lipides alimentaires, une augmentation du taux d'hydrolyse des lipides alimentaires par rapport au taux d'hydrolyse sans apport de la composition selon l'invention.

Les lysophospholipides et phospholipides utilisables selon l'invention peuvent être notamment des composés naturels ou synthétiques, préférentiellement naturels. Par synthétique on entend selon l'invention que les lysophospholipides et phospholipides peuvent être synthétisés par voie chimique ou obtenus à partir d'un organisme naturel
5 ledit organisme ayant été au préalable modifié de tel sorte qu'il produise lesdits lysophospholipides et phospholipides. Les lysophospholipides plus particulièrement peuvent être obtenus aussi par voie enzymatique ; plus spécifiquement encore le lysophosphatidylinositol peut être obtenu par action d'une phospholipase A2, végétale ou animale, sur le 1,2 Diacyl-*sn*-glycéro-3 phospho-(1-D myo-inositol), ou
10 phospatidylinositol, bien représenté dans la fraction phospholipidique des végétaux, telles les graines de soja (*Glycine max*), ou bien animales (foie bovin par exemple).

Selon l'invention ils peuvent être purifiés ou partiellement purifiés. Par partiellement purifié, on entend que les composés selon l'invention ont subi au moins une étape d'extraction à partir de leur source naturelle.

15 Selon l'invention, les lysophospholipides et phospholipides de l'invention peuvent être utilisés seuls ou en mélange. On entend par ces termes, qu'un lysophospholipide peut être utilisé seul, ou avec un ou plusieurs autres lysophospholipides et/ou un phospholipide ; de même, un phospholipide peut être utilisé seul, ou avec un ou plusieurs lysophospholipides.

20 Parmi les composés ci-dessus décrits, on retient plus particulièrement le lysophosphatidylinositol.

La présente invention concerne donc l'utilisation de lysophospholipides et/ou phospholipides pour la préparation d'une composition alimentaire qui présente les avantages suivants :

- 25
- elle peut être utilisée tant en alimentation animale que humaine,
 - elle apporte les éléments nécessaires à une amélioration de l'hydrolyse des lipides alimentaires,
 - elle peut être utilisée en parallèle de l'alimentation, ou en tant que composant d'au moins un aliment,
 - 30 - elle n'a ni odeur ni saveur particulière et n'apporte donc pas de goût additionnel non souhaité,
 - elle est facile à utiliser,
 - elle est utilisable à tous les âges de la vie, des nouveau-nés aux personnes âgées, et chez les sujets sains ou présentant des affections cliniques (troubles
 - 35 gastriques, pancréatite chronique, mucoviscidose, troubles d'absorption des lipides en général).

Par composition alimentaire on entend dans la présente invention, une composition destinée à être administrée à l'Homme ou à l'animal, particulièrement par voie orale, comme ingrédient et/ou complément alimentaire, donc pouvant être utilisée comme partie de l'alimentation journalière normale ou assistée.

5 Ladite composition alimentaire peut se présenter sous forme pulvérulente, sous forme de gélules, de comprimé ou autre forme solide pouvant éventuellement comporter une phase lipidique, aqueuse ou être en solution ou suspension buvable.

10 La composition selon l'invention peut se présenter sous forme pure ou en mélange. Ainsi, elle peut comprendre d'autres composés compatibles avec l'alimentation, choisis parmi des additifs alimentaires admissibles, des excipients, des acidifiants, des anti-agglomérants, des colorants, des arômes, des édulcorants.

Avantageusement, la composition peut être utilisée en parallèle de l'alimentation ou en tant que composant d'au moins un aliment.

15 De façon avantageuse, la composition selon l'invention peut être consommée lors des repas, seule ou comme composant d'au moins un aliment. De façon préférentielle elle sera incorporée ou saupoudrée sur un aliment.

Dans la pratique, les aliments peuvent être des aliments simples ou composés, et peuvent être présentés sous toutes les formes habituelles connues en alimentation humaine et animale, normale ou assistée.

20 Par aliment, on entend au sens de la présente invention, tout aliment pouvant être ingéré, seul ou accompagné, solide, en morceaux, mixé ou liquide, cru ou cuit, préparé ou non, de quelque façon que ce soit, comme par exemple et sans limitation, les viandes et produits à base de viande, les produits de la mer et d'eau douce, les produits à base de protéines texturées, les produits à base d'hydrolysats de protéines animales ou végétales, le lait et les produits laitiers, y compris les laits maternisés, les oeufs et les ovoproduits, les fruits et légumes, les céréales et les produits à base de céréales, les féculents comme les pâtes et le riz, les huiles, les vinaigres et condiments, les sauces et graisses comestibles, les produits sucrés, les confitures, les gelées, les compotes, la pâte à tartiner, les confiseries, les conserves et semi-conserves, les soupes, le café, le
25 thé, les boissons, la pâtisserie, le cacao, le chocolat, les glaces, les substituts de repas, les plats cuisinés et traiteurs frais, surgelés ou stérilisés, le pain et les produits de la panification.

30 Ainsi, la composition selon l'invention peut être un composant d'un aliment sans en perturber le goût et ne constitue pas une contrainte pour l'individu (humain ou animal).
35 Elle ne rappelle pas la prise de médicaments.

La composition alimentaire selon l'invention n'a pas d'interaction avec les autres ingrédients. Elle résiste à la chaleur et au froid ainsi qu'aux variations de température. Elle peut être congelée ou au contraire chauffée sans perdre ses propriétés.

La quantité adéquate de composition alimentaire selon l'invention peut varier en fonction du besoin de l'individu ainsi qu'en fonction du nombre de prises, seul ou en complément d'aliment, qu'un individu déterminé mange au cours de la journée, sachant que la quantité recommandée est d'environ 10 mg à 5 grammes de lysophospholipide et/ou de phospholipide pour une personne de 70kg, préférentiellement de 50 mg à 2 grammes, et de manière particulièrement préférée de 200 mg à 800 mg. Les différentes quantités décrites précédemment correspondent aux quantités nécessaires pour une administration journalière. Dans le cas où l'administration de la composition selon l'invention obéirait à une posologie différente, l'Homme du métier pourra modifier sans difficulté ces quantités pour les ajuster à ladite nouvelle posologie. À titre d'exemple, une composition selon l'invention destinée à une administration par demi-journée comprendra les différents composants décrits précédemment dans une quantité correspondant à la moitié des quantités décrites précédemment. La posologie pourra être également adaptée à la prise alimentaire en matières grasses ainsi qu'au poids de l'individu.

La composition selon l'invention peut être utilisée chez les mammifères, plus précisément chez l'homme. Elle peut être administrée ou consommée par les adultes, les enfants et les nouveau-nés. Elle est notamment adaptée pour des sujets souffrant de mauvaise digestion et/ou de mauvaise absorption et/ou désirant accroître leur confort digestif. Les populations concernées sont :

- la population générale recherchant un confort digestif (sportifs, femmes enceintes, etc) ;
- les sujets normaux au cours de certaines phases critiques de la vie : nouveau-nés prématurés ou nés à terme, séniors;
- les sujets souffrant d'insuffisance pancréatique d'origine pathologique recevant ou pas de supplément enzymatique;
- les patients et animaux ayant subi des interventions chirurgicales du tractus digestif (gastrectomies partielles, résection intestinale, ablation d'une partie du pancréas, résection biliaire).
- les patients sous traitement antiacide entraînant une diminution de la production de lipase gastrique.
- les sujets ou animaux présentant des activités lipolytiques diminuées du fait de polymorphismes génétiques ou d'une fragilité structurale d'une lipase digestive.

De façon avantageuse, on peut, selon l'invention, préparer un aliment incorporant une quantité adéquate de la composition alimentaire à cet aliment.

C'est aussi un des buts de la présente invention que de disposer d'un aliment supplémenté, caractérisé en ce qu'il contient au moins une composition alimentaire selon l'invention.

On peut ainsi selon l'invention préparer un plat traditionnel en incorporant, par exemple par saupoudrage, une quantité adéquate de composition alimentaire au plat traditionnel.

Selon un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour favoriser la digestibilité des lipides alimentaires qui consiste à administrer dans le tube digestif, et particulièrement oralement entre 10 mg et 5 grammes de lysophospholipide et/ou de phospholipide selon l'invention, éventuellement tous les jours, par personne, préférentiellement de 50 mg à 2 grammes, et de manière particulièrement préférée de 200 mg à 800 mg. Avantageusement, selon l'invention l'administration pourra être quotidienne.

La présente invention porte également sur un procédé pour préparer un aliment supplémenté en composition alimentaire selon l'invention, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- on dispose d'un aliment,
- on incorpore une quantité adéquate de la composition alimentaire selon l'invention.

Selon ce procédé, l'incorporation de la composition selon l'invention peut être pratiquée par mélange ou saupoudrage de la composition selon l'invention avec ou sur l'aliment déjà préparé. Elle peut être réalisée par incorporation de la composition selon l'invention au cours de la préparation de l'aliment. Elle peut être également prise sous forme de complément alimentaire au cours du repas.

D'autres caractéristiques de l'invention apparaîtront dans les exemples qui suivent, sans pour autant que ceux-ci ne constituent une quelconque limitation de l'invention, ainsi que dans les figures annexées dans lesquelles

- La Figure 1 présente le rendement de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (CT (contrôle), AP, PC L/P, PC P/O, PC DHA, PI, PE DHA, PS, SM, LHO, LHS, LPAp, LPAo, LPCO, LPCS, LPI, LPE, LPS) en présence du suc gastrique d'un sujet codifié BAK ;
- La Figure 2 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse gastrique d'émulsions de trioléine stabilisée par différents types de phospholipides (CT

(contrôle), LPCO, LPCS, LPI, LPE, LPS) en présence de différents sucs gastriques de différents sujets (codes : BAK, FP, HJC et VO) ;

- La Figure 3 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, SM, LPI, LPCO, LPCS, LPE, LPS) dans les conditions physiologiques normales en présence de lipase pancréatique purifiée ou de pancréatine (poudre de pancréas de porc) ;

- La Figure 4 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O (contrôle), PE DHA, SM, LPCO, LPCS, LPI, LPE) par la lipase BSSL stimulée par les sels biliaires dans les conditions normales ;

- La Figure 5 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par le LPI, par comparaison avec PC P/O, dans les conditions d'insuffisance pancréatique en présence de Lipase pancréatique-colipase dépendante (lipase purifiée) à différents pH ;

- La Figure 6 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, PE DHA, SM, LPCO, LPCS, LPI, LPE) par la lipase stimulée par les sels biliaires dans les conditions d'insuffisance pancréatique en présence d'un mélange de sels biliaires purs [Jarvenpaa et al. Pediatrics 1983; 72: 677-683] ;

- La Figure 7 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse gastrique par différents sucs humains des émulsions PC P/O et LPI en présence de lactose et de protéines de lait (émulsions complexes) ;

- La Figure 8 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, LPI et SM), par la lipase pancréatique purifiée en présence de lactose et de protéines de lait (émulsions complexes) ;

- La Figure 9 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, LPI), par la lipase stimulée par les sels biliaires (BSSL) en présence de lactose et de protéines de lait (émulsions complexes) ;

- La Figure 10 présente la relation entre l'amélioration du rendement de lipolyse gastrique par le LPI et l'état de dégradation de l'extrémité N-terminale de lipases gastriques purifiées (A) ou de sucs de différents sujets (B), par comparaison avec le contrôle CT et/ou PC P/O ;

- La Figure 11 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsion de LPI par différentes lipases stimulées par les sels biliaires (1 à 8) dans des conditions normales (A) ou dans des conditions d'insuffisance pancréatique (B), par comparaison avec le contrôle PC P/O ;

5 - La Figure 12 présente les effets de la dose de LPI sur le rendement de lipolyse gastrique de l'émulsion LHO pour deux sucs gastriques appartenant à deux sujets différents (sujets BAK et VF).

Exemple : Recherche de lysophospholipides et phospholipides améliorant la biodisponibilité des lipides chez des sujets présentant des problèmes de mauvaise digestion et de mauvaise absorption

10

Matériels et Méthodes :

Composés testés : Les composés testés sont les suivants :

CT, mélange de phospholipides d'oeuf utilisé à titre de contrôle, contenant PC, PE, PS, PI et SM ;

15

AP, acide phosphatidique ;

PC L/P, linoléyl palmitoyl phosphatidylcholine ;

PC P/O, palmitoyl oléoyl phosphatidylcholine ;

PC O/P, oléoyl palmitoyl phosphatidylcholine ;

PC DHA/S, DHA stéaroyl phosphatidyl choline ;

20

PC DHA, phosphatidylcholine d'origine aviaire enrichie en DHA ;

PI, phosphatidylinositol ;

PE DHA, DHA phosphatidyléthanolamine ;

PS, phosphatidylsérine ;

SM, sphingomyéline ;

25

LHO, mélange de phospholipides d'origine aviaire proche de la composition du lait maternel ;

LHS, mélange de phospholipides d'origine de soja proche de la composition du lait maternel ;

LPAp et LPAo, acides lysophosphatidiques palmitique ou oléique ;

30

LPCO, oléoyl lysophosphatidylcholine ;

LPCS, stéaryl lysophosphatidylcholine ;

LPI, lysophosphatidylinositol ;

LPE, lysophosphatidyléthanolamine ;

LPS, lysophosphatidylsérine.

35

Méthodes

Les composés ont été testés *in vitro* dans différentes conditions expérimentales

pour leur capacité à favoriser l'action des trois enzymes lipolytiques majeures du tractus digestif, à savoir la lipase gastrique, la lipase pancréatique colipase dépendante, la lipase sels biliaires dépendante (BSSL), et leur isoformes et variants.

Différentes émulsions lipidiques ont été préparées par sonication d'un mélange de
5 trioléine (TO) (98,7%), de cholestérol (0,5%) et de phospholipides (0,8%).

Les tests de lipolyse ont été réalisés *in vitro* dans des conditions mimant la physiologie du tube digestif de l'homme sain ou présentant une insuffisance pancréatique (IP).

La lipolyse gastrique en présence de lipase gastrique a été conduite avec des
10 lipases purifiées ou des sucs gastriques de différents sujets à pH 5,40, à 37°C pendant 60 minutes avec un rapport lipase gastrique (U/mL)/lipides (micromoles de TO) de 2.

La lipolyse intestinale en présence de lipase pancréatique-colipase dépendante (rapport molaire lipase/colipase 1/1) ou d'extrait pancréatique de porc (pancréatine) a été réalisée à pH 7 à 3, 37°C, pendant 15 minutes, avec un rapport lipase pancréatique
15 (U/mL)/micromoles TO de 20, et en présence de bile de porc en quantité suffisante pour une concentration de 2 ou 8 mM en sels biliaires.

La lipolyse intestinale en présence de BSSL a été réalisée à pH 7, à 37°C, pendant 15 minutes, en utilisant un rapport BSSL/TO proche du rapport trouvé dans le lait maternel, en présence de la bile de porc ou d'un mélange artificiel de sels biliaires
20 (proche de la composition en sels biliaires du nouveau-né) en quantité suffisante pour une concentration de 2, 5 ou 8 mM en sels biliaires. Plusieurs variants de BSSL ont été testés, numérotés de 1 à 8.

La lipolyse par les trois principales lipases du tractus digestif a aussi été testée en conditions plus complexes c'est à dire en présence d'émulsions lipidiques additionnées
25 d'un mélange protéino-glucidique dans des proportions que l'on retrouve dans l'alimentation normale ou assistée.

Exemple 1 : Effet de différents phospholipides sur les trois principales enzymes lipolytiques digestives du tractus gastro-intestinal dans les conditions du sujet sain.

30 - **Lipase gastrique (Figures 1 et 2)**

La Figure 1 présente le rendement de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (CT (contrôle), AP, PC L/P, PC P/O, PC DHA, PI, PE DHA, PS, SM, LHO, LHS, LPAp, LPAo, LPCO, LPCS, LPI, LPE, LPS) en présence du suc gastrique d'un sujet codifié BAK.

35 Les résultats des tests de digestion sont présentés à la Figure 1. Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'astérisque (*) souligne les rendements de lipolyse gastrique significativement différents de celui de l'émulsion CT. Moyenne \pm SEM.

Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse gastrique obtenus avec LPAo et LPI sont significativement plus élevés que celui obtenu avec le contrôle.

5 La Figure 2 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse gastrique d'émulsions de trioléine stabilisée par différents types de phospholipides (CT (contrôle), LPCO, LPCS, LPI, LPE, LPS) en présence de différents sucs gastriques de différents sujets (codes : BAK, FP, HJC et VO). Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

10 L'astérisque (*) souligne les rendements de lipolyse gastrique significativement différents de celui de l'émulsion CT. Moyenne \pm SEM.

Ces résultats montrent que le rendement de lipolyse gastrique obtenu avec LPI est significativement plus élevé que celui obtenu avec le contrôle indépendamment de l'origine du suc gastrique.

- Lipase pancréatique-colipase dépendante (Figure 3)

15 La Figure 3 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, SM, LPI, LPCO, LPCS, LPE, LPS) dans les conditions physiologiques normales en présence de lipase pancréatique purifiée ou de pancréatine (poudre de pancréas de porc). Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

20 L'astérisque (*) souligne les rendements de lipolyse pancréatique significativement différents de celui obtenu avec l'émulsion PC P/O.

Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse pancréatique obtenus avec deux formes de lipase pancréatique de porc (lipase pure ou poudre de pancréas) sont significativement plus élevés en présence de LPI et de LPS que celui obtenu avec PC P/O.

- Lipase dépendante des sels biliaires (BSSL) (Figure 4)

30 La Figure 4 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O (contrôle), PE DHA, SM, LPCO, LPCS, LPI, LPE) par la lipase BSSL stimulée par les sels biliaires dans les conditions normales. Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'astérisque (*) souligne les rendements de lipolyse par la BSSL significativement différents de celui obtenu avec l'émulsion PC P/O.

35 Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse par la BSSL obtenus avec PE DHA, LPCO et LPI sont significativement plus élevés que celui obtenu avec PC P/O.

Exemple 2 - Effet activateur du lysophosphatidylinositol (LPI) sur les

enzymes lipolytiques digestives du tractus intestinal dans les conditions d'insuffisance pancréatique.

- Lipase pancréatique-colipase dépendante (Figure 5)

La Figure 5 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par le LPI, par comparaison avec PC P/O, dans les conditions d'insuffisance pancréatique en présence de Lipase pancréatique-colipase dépendante (lipase purifiée) à différents pH. Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse pancréatique obtenus avec le LPI sont significativement plus élevés que ceux obtenus avec PC P/O pour des valeurs de pH intestinal classiquement trouvées chez les insuffisants pancréatiques.

- Lipase dépendante des sels biliaires (BSSL) (Figure 6)

La Figure 6 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, PE DHA, SM, LPCO, LPCS, LPI, LPE) par la lipase stimulée par les sels biliaires dans les conditions d'insuffisance pancréatique en présence d'un mélange de sels biliaires purs [Jarvenpaa et al. Pediatrics 1983; 72: 677-683]. Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'astérisque (*) souligne les valeurs significativement différentes de celle obtenue avec l'émulsion PC P/O.

Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse par la BSSL obtenus avec PE DHA et LPI sont significativement plus élevés que ceux obtenus avec PC P/O.

Exemple 3 - Effet activateur du lysophosphatidylinositol (LPI) sur les trois principales enzymes lipolytiques digestives du tractus gastro-intestinal dans les conditions normales ou d'insuffisance pancréatique en présence d'un milieu complexe (protéines, lipides et glucides alimentaires).

L'effet activateur de LPI est identique voire potentialisé en présence d'un mélange glucidoprotéique pour les trois lipases.

- Lipase gastrique (Figure 7)

La Figure 7 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse gastrique par différents sucs humains des émulsions PC P/O et LPI en présence de lactose et de protéines de lait (émulsions complexes). Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'astérisque (*) indique un rendement de lipolyse gastrique significativement différent de celui obtenu avec l'émulsion PC P/O.

Deux astérisques (**) indiquent le rendement de lipolyse gastrique

significativement différent de celui obtenu avec l'émulsion PC P/O complexe.

Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse gastrique obtenus avec LPI et LPI complexe sont significativement plus élevés comparativement à PC P/O et PC P/O complexe indépendamment de l'origine du suc gastrique.

5 **- Lipase pancréatique (Figure 8)**

La Figure 8 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, LPI et SM), par la lipase pancréatique purifiée en présence de lactose et de protéines de lait (émulsions complexes).

10 Les tests de digestion ont été réalisés à pH 7,00 avec de la lipase pancréatique de porc purifiée en présence de concentrations de sels biliaires normale (8mM, A) ou faible (2 mM, insuffisance pancréatique, B). Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'astérisque (*) indique une valeur significativement différente de celle obtenue sans lactose ni protéine.

15 Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse pancréatique obtenus avec LPI complexe sont significativement plus élevés qu'avec PC P/O complexe en présence d'une faible concentration de sels biliaires.

- Lipase BSSL (Figure 9)

20 La Figure 9 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsions de trioléine, stabilisées par différents types de phospholipides (PC P/O, LPI), par la lipase stimulée par les sels biliaires (BSSL) en présence de lactose et de protéines de lait (émulsions complexes).

25 Les tests de digestion ont été réalisés à pH 7,00 avec de la BSSL humaine de porc purifiée en présence de concentrations de sels biliaires normale (8mM, A) ou faible (2 mM, insuffisance pancréatique, B). Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'astérisque (*) indique une valeur significativement différente entre les deux phospholipides testés.

30 Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse par la BSSL obtenus avec le LPI et le LPI complexe sont significativement plus élevés que ceux obtenus avec PC P/O et PC P/O complexe.

Exemple 4 - Effet activateur du lysophosphatidylinositol LPI sur différentes formes de lipase gastrique humaine et sur différentes formes de BSSL

- Lipase gastrique (Figure 10)

35 La Figure 10 présente la relation entre l'amélioration du rendement de lipolyse gastrique par le LPI et l'état de dégradation de l'extrémité N-terminale de lipases gastriques purifiées (A) ou de sucs de différents sujets (B), par comparaison avec le

contrôle CT et/ou PC P/O. Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

Les lipases gastriques utilisées présentent différents degrés de dégradation de leurs extrémités N-terminales (+), et le nombre de (+) en abscisse croît avec l'importance de cette dégradation. Le LPI est le seul phospholipide qui réactive la lipase
5 gastrique dégradée au niveau de son N-terminal. Plus la lipase est dégradée et plus la réactivation est importante.

- **BSSL (Figure 11)**

La Figure 11 présente les résultats obtenus dans des essais de lipolyse intestinale d'émulsion de LPI par différentes lipases stimulées par les sels biliaires (1 à 8) dans des
10 conditions normales (A) ou dans des conditions d'insuffisance pancréatique (B), par comparaison avec le contrôle PC P/O. L'astérisque (*) indique un rendement de lipolyse significativement différent entre phospholipides. Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'effet activateur du LPI est vérifié pour différents variants de la BSSL mais son
15 efficacité varie selon le type de BSSL dans des conditions normales (A) ou d'insuffisance pancréatique (B).

Exemple 5 - L'effet activateur de LPI est dose dépendant et semble optimal pour une quantité faible soit 0,8% des lipides totaux.

La Figure 12 présente les effets de la dose de LPI sur le rendement de lipolyse
20 gastrique de l'émulsion LHO pour deux sucs gastriques appartenant à deux sujets différents (sujets BAK et VF). Le pourcentage d'hydrolyse figure en ordonnée.

L'astérisque (*) indique une valeur significativement différente de celle de l'émulsion LHO (mélange de phospholipides dans les proportions retrouvées dans le lait
maternel). Le chiffre entre parenthèse indique la proportion entre LHO et LPI.

25 La concentration totale des phospholipides est de 0,8% des lipides totaux.

Ces résultats montrent que les rendements de lipolyse gastrique augmentent avec des concentrations croissantes de LPI (0,1 ; 0,4 et 0, 8 % des lipides totaux) et que l'amplitude de l'augmentation en fonction des plus petites concentrations de LPI est dépendante du sujet (BAK versus VF)

30 **Conclusion**

L'étude de l'impact de différents tensioactifs naturels sur l'efficacité de la lipolyse dans un modèle *in vitro* proche des conditions physiologiques, a permis de mettre en évidence la capacité du LPI à favoriser la lipolyse des émulsions qui le contiennent dans les diverses conditions du tractus digestif (gastrique et duodénale) représentatives à la
35 fois des conditions mimant différents types de repas et d'affections cliniques (nouveau-nés à terme, prématurés, pancréatite chronique, mucoviscidose, personnes âgées).

En particulier, en présence de LPI des émulsions lipidiques normalement très peu hydrolysables par des lipases gastriques peu actives provenant de sujets sécrétant une forme de lipase gastrique partiellement dégradée, présentent des taux d'hydrolyse tout à fait comparables à ceux mesurés en présence de lipase gastrique humaine native non dégradée.

Ainsi le LPI permet à l'émulsion lipidique de présenter la structure la plus apte à être hydrolysée et rend pleinement fonctionnelle des lipases gastriques quasiment inactives du fait de la déplétion de certains acides aminés NH₂ terminaux qui ont été décrits comme jouant un rôle important dans la fixation de l'enzyme à son substrat lipidique.

De façon aussi surprenante qu'intéressante, le LPI exerce toujours un effet activateur, d'amplitude différente suivant le type de variant de BSSL.

De façon inattendue, le LPI est le meilleur activateur des trois principales enzymes de la lipolyse gastro-intestinale dans chacune des conditions testées.

Le LPCO apparaît comme la seconde molécule d'intérêt.

REVENDICATIONS

- 1.) Utilisation de lysophospholipides et/ou de phospholipides, purifiés ou partiellement purifiés, seuls ou en mélange, pour la préparation d'une composition alimentaire destinée à améliorer la digestibilité des lipides, lesdits lysophospholipides et/ou phospholipides étant choisis parmi le lysophosphatidylinositol, l'acide lysophosphatidique oléique, la lysophosphatidylsérine, la lysophosphatidylcholine oléique et la phosphatidyléthanolamine DHA.
5
- 2.) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que la composition est utilisée en parallèle de l'alimentation.
10
- 3.) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que la composition est utilisée en tant que composant d'au moins un aliment.
- 4.) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que lysophospholipides et phospholipides peuvent être des composés naturels ou synthétiques.
15
- 5.) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que l'on utilise le lysophosphatidylinositol.
- 6.) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que la composition contient de 10 mg à 5 grammes de lysophospholipides et/ou de phospholipides, préférentiellement de 50 mg à 2 grammes, et de manière particulièrement préférée de 200 mg à 800 mg.
20
- 7.) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée par un apport de 10 mg et 5 grammes de lysophospholipides et/ou de phospholipides par personne et par jour, préférentiellement de 50 mg à 2 grammes, et de manière particulièrement préférée de 200 mg à 800 mg.
25
- 8.) Composition comprenant au moins un lysophospholipide et/ou un phospholipide tel que décrit dans l'une quelconque des revendications 1 à 6 et au moins un autre composé compatible avec l'alimentation, choisi parmi des additifs alimentaires admissibles, des excipients, des acidifiants, des anti-agglomérants, des colorants, des arômes, des édulcorants.
30
- 9.) Aliment supplémenté, caractérisé en ce qu'il contient au moins une composition telle que décrite aux revendications 1 à 7, ou la composition selon la revendication 8.
- 10.) Procédé pour améliorer la digestibilité de lipides alimentaires, caractérisé en ce qu'une composition telle que décrite à l'une quelconque des revendications 1 à 8,
35

ou un aliment selon la revendication 9, est administré dans le tube digestif, et préférentiellement oralement, par personne ou par animal.

- 5 11.) Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'administration est réalisée par personne et par jour, à raison de 10 mg à 5 grammes de lysophospholipides et/ou de phospholipides, préférentiellement de 50 mg à 2 grammes, et de façon particulièrement préférée de 200 mg à 800 mg.

1/8

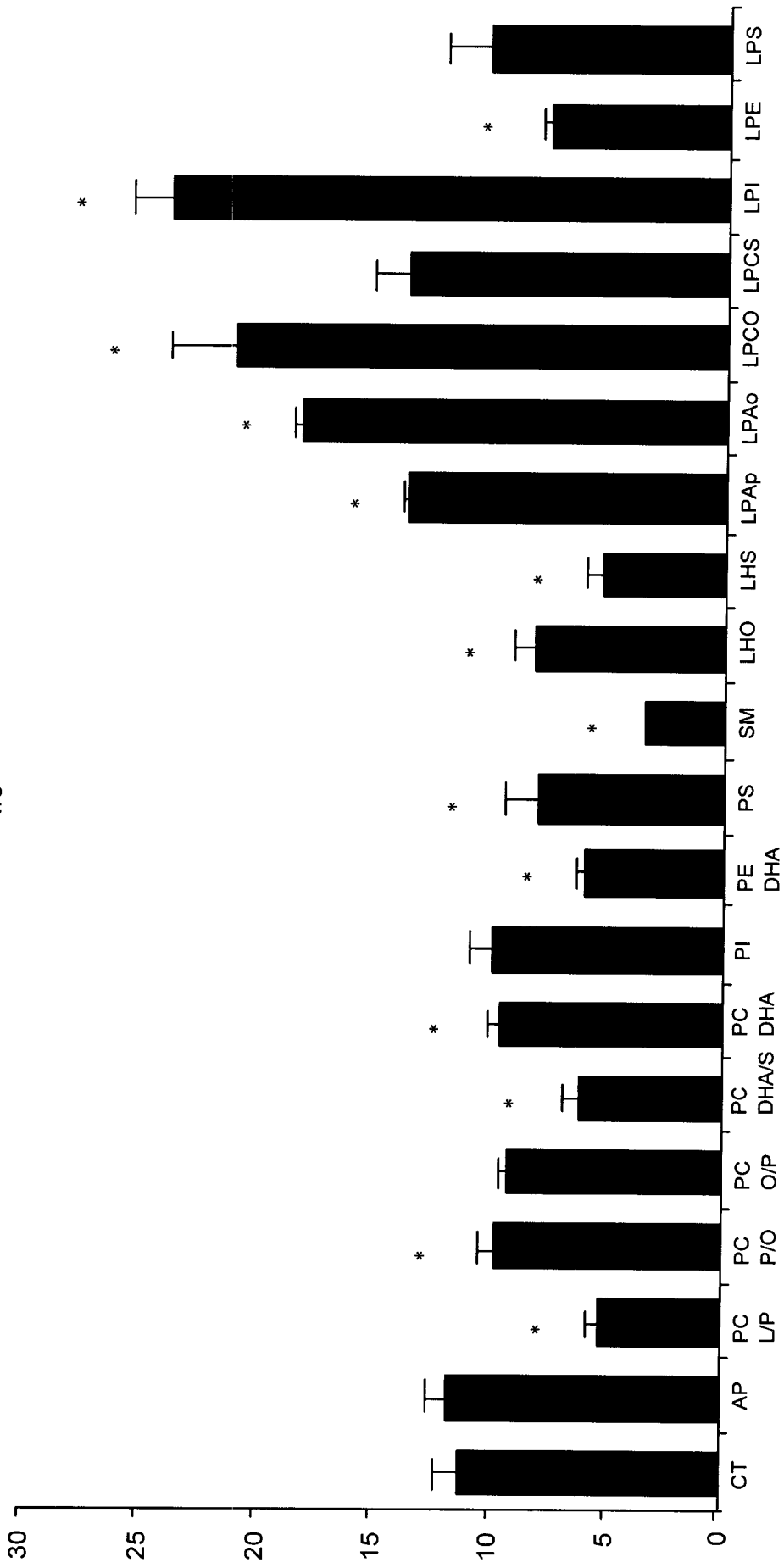


Figure 1

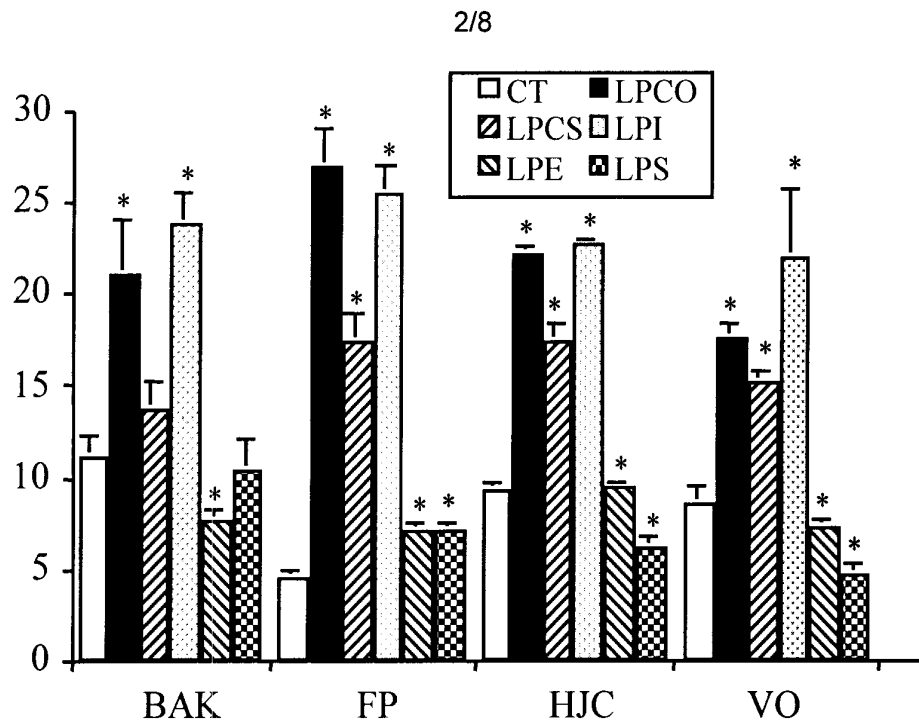


Figure 2

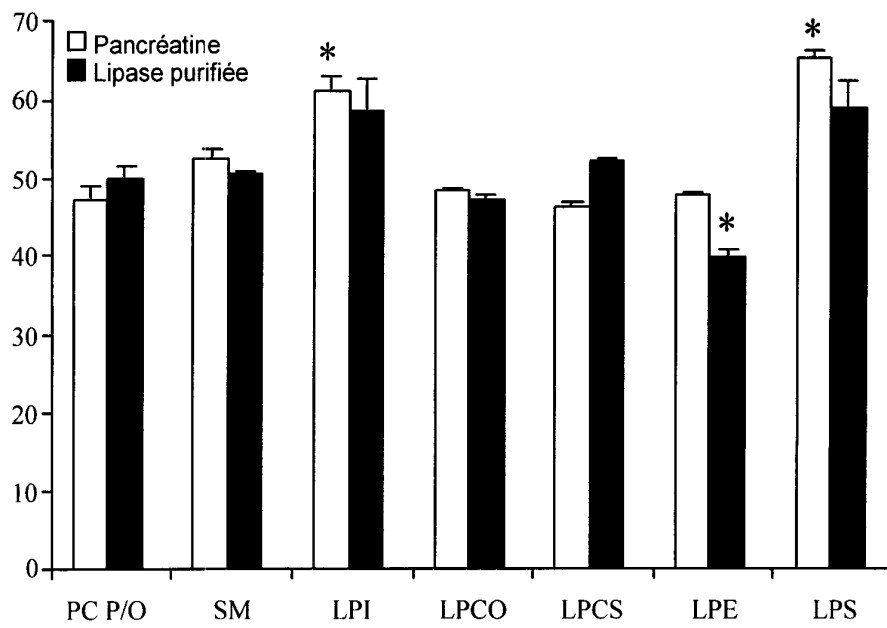


Figure 3

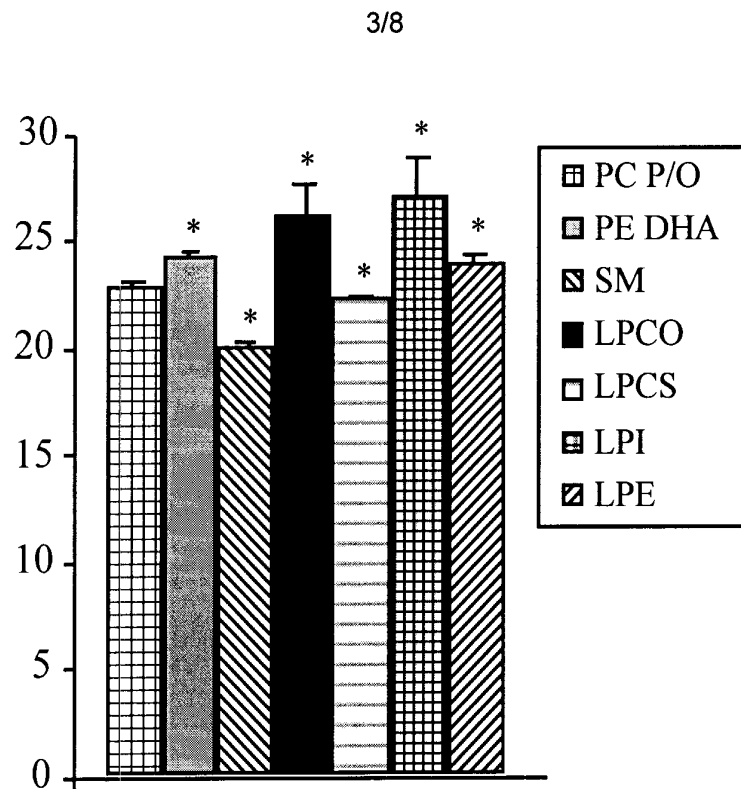


Figure 4

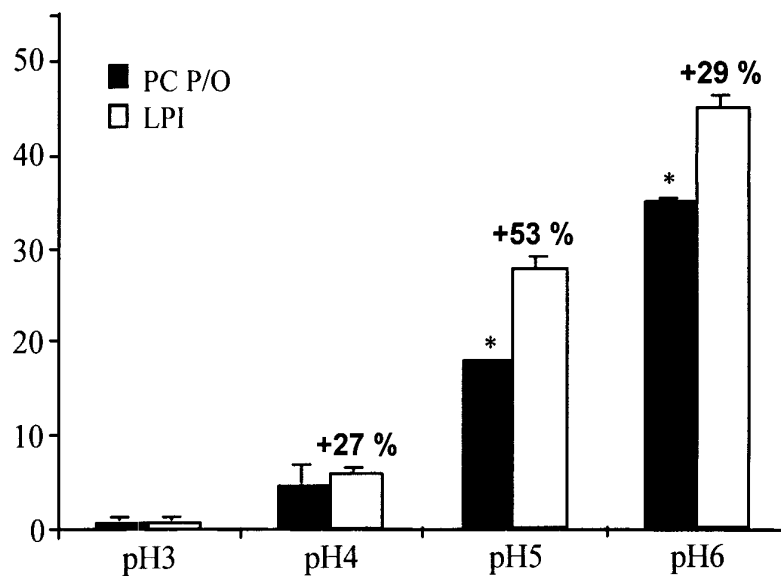


Figure 5

4/8

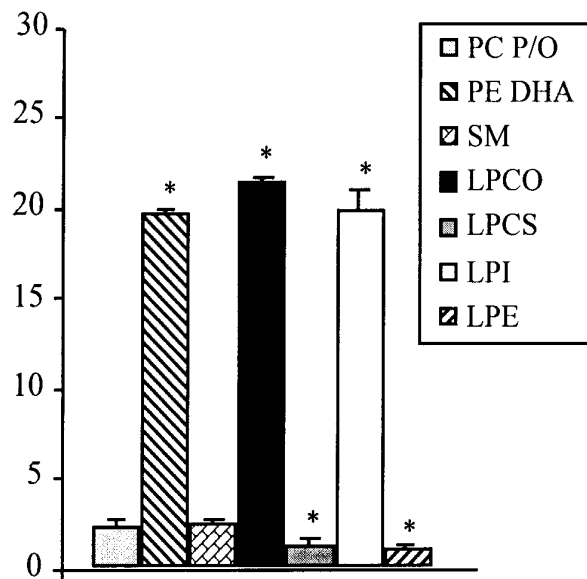


Figure 6

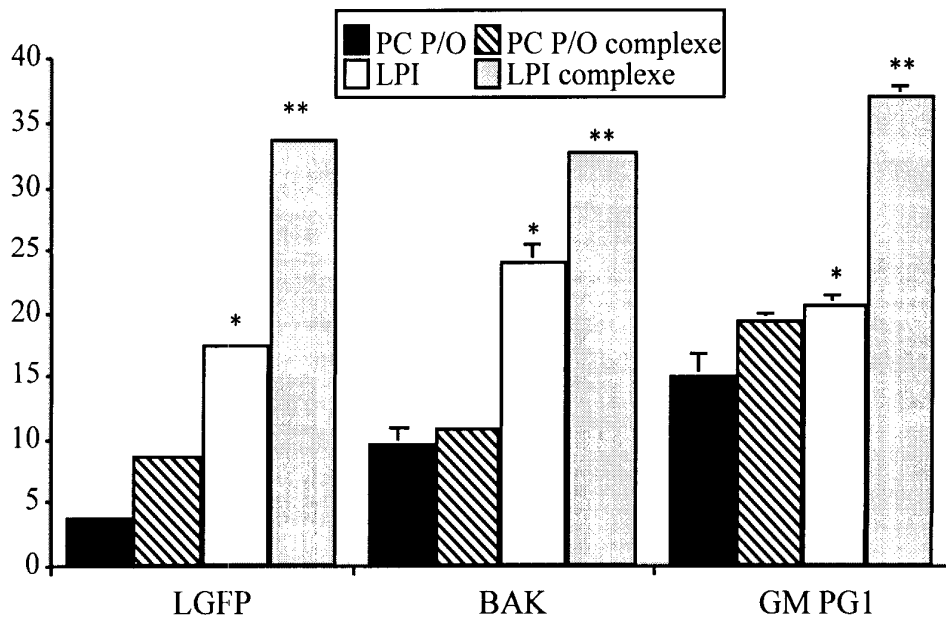


Figure 7

5/8

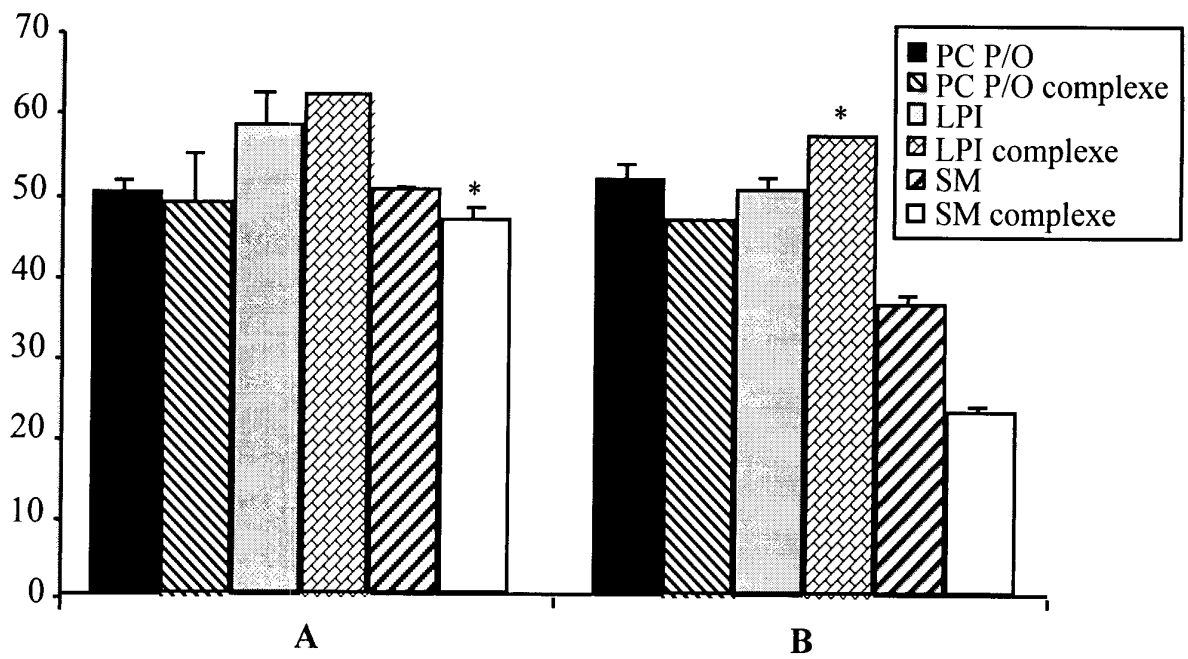


Figure 8

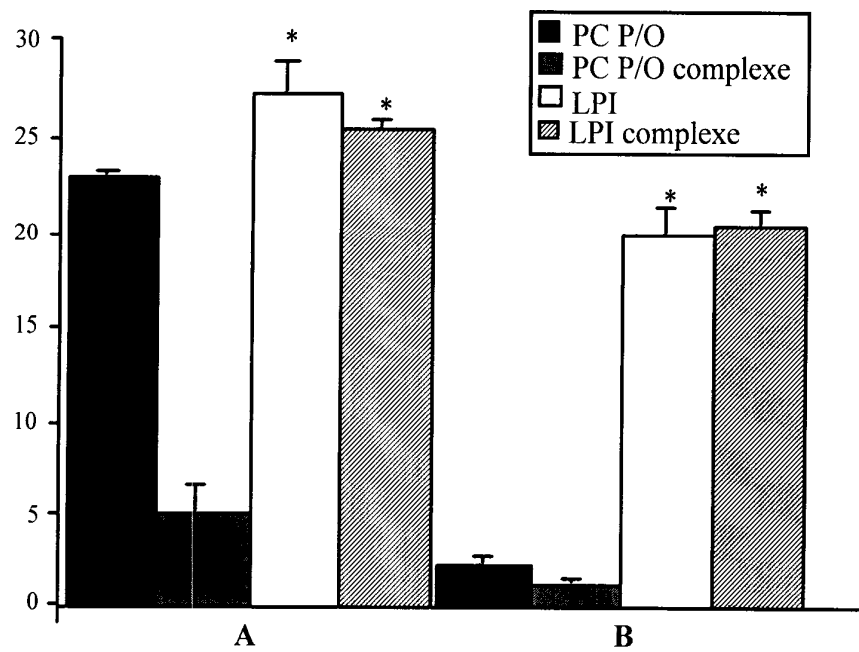


Figure 9

6/8

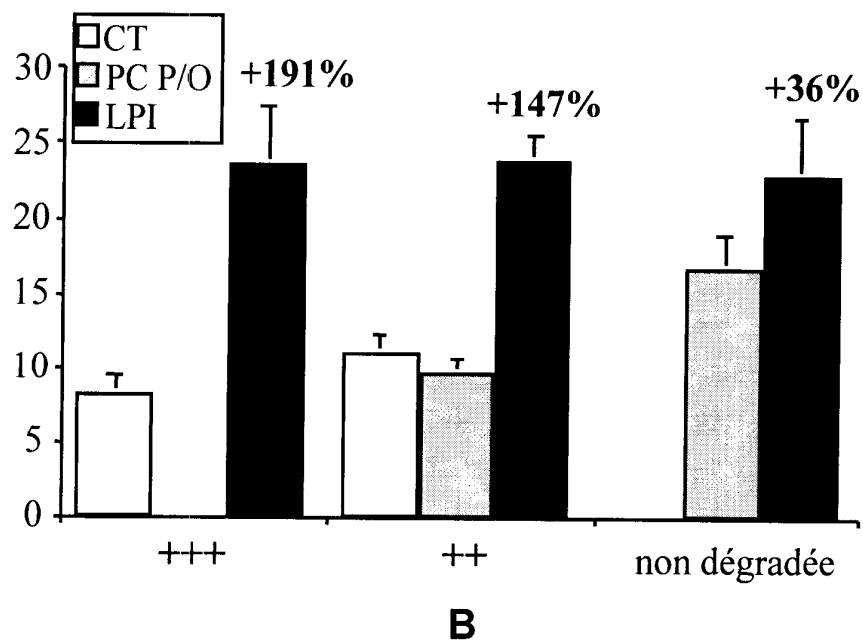
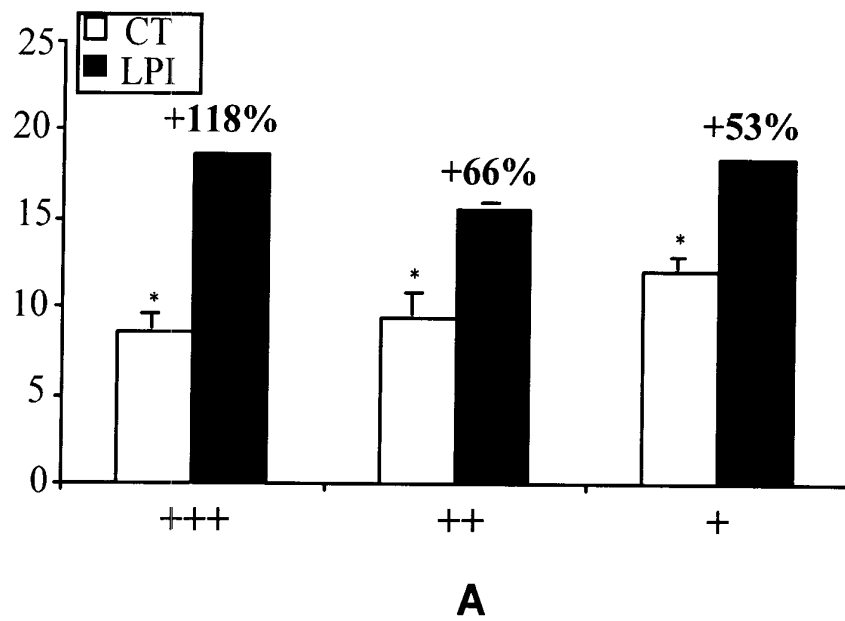


Figure 10

7/8

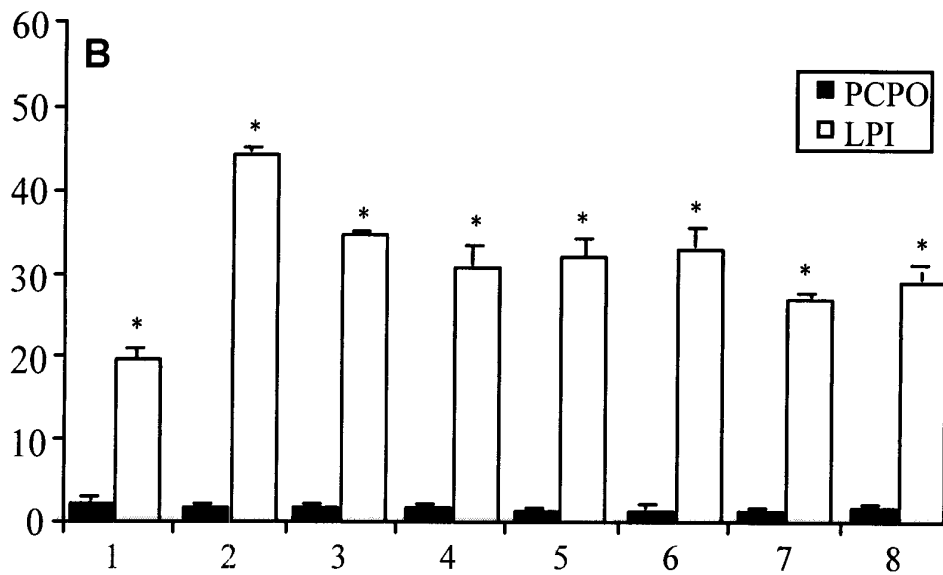
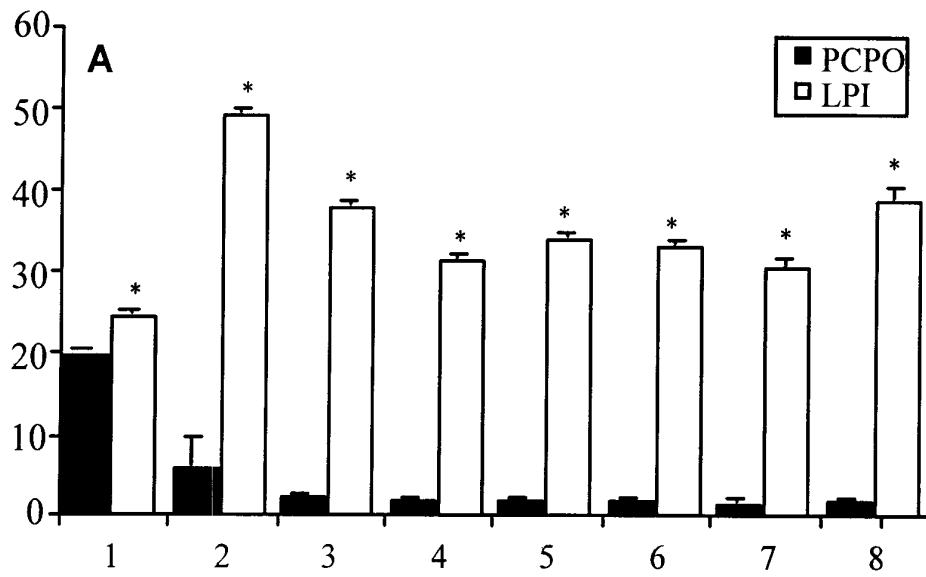


Figure 11

8/8

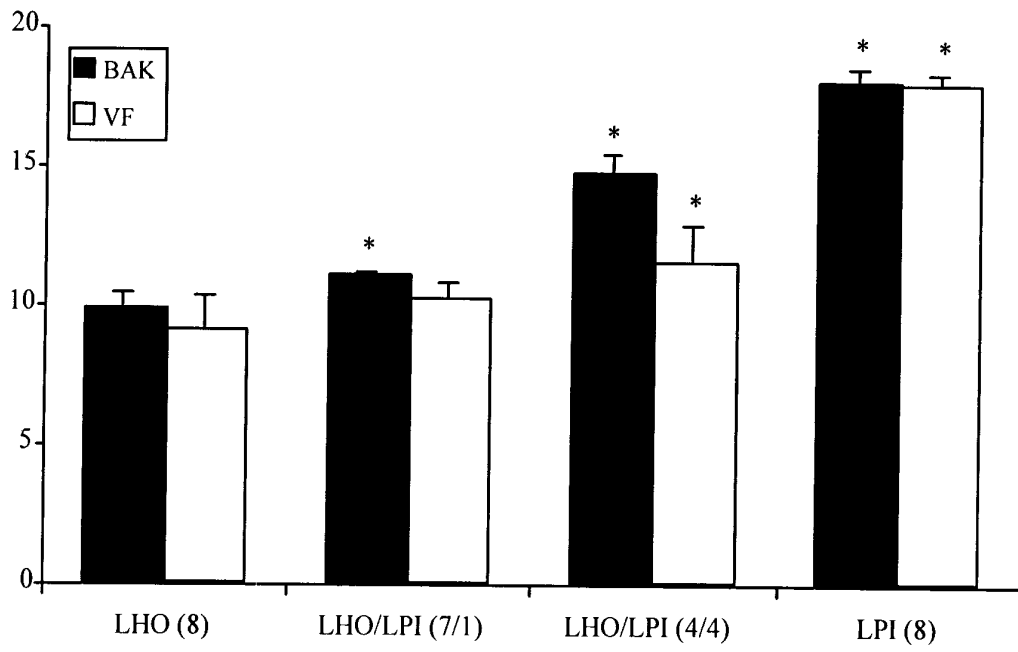


Figure 12



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement national

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

FA 697818
FR 0705294

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WO 96/39120 A (BIOMOLECULAR PRODUCTS INC [US]) 12 décembre 1996 (1996-12-12) * page 26, ligne 22 - ligne 26; revendications 1,24,34; exemple 3 *	1-11	A23L1/30 A61K31/685 A61K31/66 A61P3/02
X	JONES D B; HANCOCK J D; HARMON D L; WALKER C E: "Effects of exogenous emulsifiers and fat sources on nutrient digestibility, serum lipids, and growth performance in weanling pigs" JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE, vol. 70, no. 11, 1992, pages 3473-3482, XP002472174 * page 3476, colonne de gauche, alinéa 2 - colonne de droite, alinéa 1; tableaux 1-3 * * page 3474, colonne de gauche, alinéa 2 - colonne de droite, alinéa 1 *	1-11	
X	WO 00/36929 A (LOVESGROVE RES LTD [GB]; GARNETT DAVID JOHN [GB]) 29 juin 2000 (2000-06-29) * page 11, alinéa 1 - page 12, alinéa 2; revendication 1; exemple 3 * * page 1, alinéa 3 *	1-11	
X	US 6 426 069 B1 (YESAIR DAVID W [US]) 30 juillet 2002 (2002-07-30) * colonne 1, ligne 51 - colonne 2, ligne 57 *	1-11	
A	GB 2 267 033 A (GARNETT DAVID [GB]) 24 novembre 1993 (1993-11-24) * revendications 1-5,9; exemples 1,2; tableaux 1-4 *	1-11	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
			A23L A61K
			-/--
		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
		20 mars 2008	Saettel, Damien
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

4
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 697818
FR 0705294

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
D,A	<p>FAVE G ET AL: "Physicochemical properties of lipids: new strategies to manage fatty acid bioavailability" CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY, CMB ASSOCIATIONS, NOISY-LE-GRAND, FR, vol. 50, no. 7, novembre 2004 (2004-11), pages 815-831, XP009095063 ISSN: 0145-5680 * page 825, colonne de gauche, alinéa 3 - page 826, colonne de gauche, alinéa 2 *</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-11	<p>DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)</p>
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
20 mars 2008		Saettel, Damien	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p>		<p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>	

4
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0705294 FA 697818**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 20-03-2008

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9639120 A	12-12-1996	AT 204746 T	15-09-2001
		AU 704351 B2	22-04-1999
		AU 5986996 A	24-12-1996
		CA 2222161 A1	12-12-1996
		DE 69614855 D1	04-10-2001
		DE 69614855 T2	28-03-2002
		DK 835097 T3	08-10-2001
		EP 0835097 A2	15-04-1998
		ES 2159740 T3	16-10-2001
		IL 122434 A	06-07-2003
		JP 11506780 T	15-06-1999
		NZ 309649 A	30-03-2001
		PT 835097 T	28-12-2001

WO 0036929 A	29-06-2000	AU 1062300 A	12-07-2000
		CA 2355301 A1	29-06-2000
		EP 1139783 A1	10-10-2001
		MX PA01006207 A	14-10-2004
		US 6509055 B1	21-01-2003

US 6426069 B1	30-07-2002	AUCUN	

GB 2267033 A	24-11-1993	AU 3959293 A	24-10-1994
		WO 9422324 A1	13-10-1994
