

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 745 226**

51 Int. Cl.:

A61K 31/661 (2006.01)
A23L 33/115 (2006.01)
A23L 33/12 (2006.01)
A61K 31/201 (2006.01)
A61K 31/202 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.11.2015** **PCT/IB2015/002391**
87 Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2016** **WO16079595**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2015** **E 15831064 (9)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2019** **EP 3220753**

54 Título: **Preparación de fosfolípidos para la mejora de las habilidades de comunicación**

30 Prioridad:

20.11.2014 US 201462082261 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.02.2020

73 Titular/es:

ENZYMOTEC LTD. (100.0%)
Sagi 2000 Industrial Park, P.O. Box 6
23106 Migdal HaEmeq, IL

72 Inventor/es:

ZAAROR REGEV, DAPHNA;
CHUDNOW, ROBERT;
RICHTER, Yael y
SORIA ARTZI, GALI, OLGA

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 745 226 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Preparación de fosfolípidos para la mejora de las habilidades de comunicación

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a preparaciones de fosfolípidos eficaces para mejorar las capacidades de comunicación en sujetos que padecen deficiencias/dificultades en la comunicación.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La comunicación es dar, recibir o intercambiar ideas, información, señales o mensajes, lo que permite a los individuos o grupos persuadir, buscar información, dar información o expresar emociones. Esta amplia definición incluye el lenguaje corporal, las habilidades para hablar y escribir.

15 Las deficiencias/dificultades en la comunicación son deficiencias del desarrollo o adquiridas. La Asociación Americana del Habla, Lenguaje y Audición (ASHA) describe los trastornos de comunicación más específicamente, como un impacto en la capacidad de una persona de "recibir, enviar, procesar y comprender conceptos o sistemas de símbolos verbales, no verbales y gráficos". Las deficiencias en la comunicación pueden impedir parcial o totalmente la comunicación.

20 Las deficiencias en la comunicación pueden incluir, entre otros, problemas relacionados con el habla, el lenguaje y el procesamiento auditivo o la comunicación social pragmática. La última representa dificultades que influyen en el uso de la comunicación verbal y no verbal en contextos naturalistas, lo que afecta al desarrollo de las relaciones sociales y a la comprensión del discurso.

30 Las deficiencias en la comunicación están presentes en varios trastornos, incluidos los trastornos neurológicos (por ejemplo, epilepsia, afasia y lesión/trauma cerebral); trastornos emocionales o psiquiátricos (por ejemplo, trastorno de ansiedad generalizada, agorafobia, trastorno de ansiedad social, fobias, trastorno de pánico, trastorno de estrés postraumático y mutismo selectivo); trastornos de personalidad (por ejemplo, esquizofrenia y trastorno obsesivo-compulsivo); trastornos del desarrollo (por ejemplo, autismo, síndrome de Asperger, trastorno generalizado del desarrollo, trastorno desintegrativo infantil, síndrome de Rett y retraso mental); y trastornos del habla.

35 El trastorno del espectro autista (TEA) abarca un conjunto de discapacidades del desarrollo que pueden causar importantes desafíos sociales, de comunicación y de comportamiento. Los pacientes con TEA padecen un trastorno de comunicación social que también se caracteriza por un patrón de conducta restringido o repetitivo que causa una deficiencia funcional significativa y angustia a las personas afectadas y a sus cuidadores. Los términos autismo y TEA se usan de manera intercambiable en el presente documento.

40 El TEA se puede categorizar con base en el desarrollo del lenguaje. Los retrasos y/o anomalías en el funcionamiento del lenguaje son evidentes en algunos individuos con autismo, mientras que en otros (como los pacientes con Asperger) no existe un retraso general clínicamente significativo en el lenguaje, aunque el lenguaje atípico suele presentarse como anomalías cualitativas tales como: ritmo, volumen, prosodia, pragmática, o frecuencia de producción del habla.

45 Otra forma de clasificar el TEA es según los patrones de comunicación. Varios estudios han revelado que algunos individuos con autismo (como los pacientes con Asperger) tienen patrones de comunicación expresivos/emocionales, mientras que otros usan patrones de comunicación no expresivos/no emocionales. Curiosamente, hay una asociación entre la presentación de los patrones de comunicación y el desarrollo del lenguaje. La mayoría de los individuos con TEA sin retraso en el desarrollo del lenguaje presentan patrones de comunicación expresivos/emocionales; mientras que la mayoría de los individuos con TEA que sufren un retraso en el desarrollo del lenguaje también presentan patrones de comunicación no expresivos/no emocionales.

55 El documento US 2013/289277 A1 enseña un medicamento que comprende lurasidona o una sal por adición de ácido farmacéuticamente aceptable de la misma para tratar trastornos generalizados del desarrollo.

60 El documento US 2009/074857 A1 enseña métodos para mejorar las funciones cognitivas en un sujeto que utiliza una composición lipídica conjugada con ácidos grasos omega-3 y omega-6, con cantidades específicas y patrones de conjugación específicos de LA, ácido linolénico (ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico) DHA y eicosapentaenoil (EPA), por ejemplo, utilizando diferentes fuentes de lípidos. En el presente documento se describe una preparación

lipídica, dicha preparación comprende un resto fosfatidilserina y grupos acilo de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), en particular, grupos acilo de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA), como grupos acilo de omega-3 y/u omega-6, donde dicho PUFA se une covalentemente a dicho glicerofosfolípido. Dichas preparaciones lipídicas son particularmente útiles en el tratamiento de trastornos mentales y cognitivos, por ejemplo, TDAH (trastorno por déficit de atención con hiperactividad) y enfermedad de Alzheimer.

La publicación internacional WO 2015/085192 A2 enseña una preparación para el tratamiento y/o prevención de convulsiones que comprende una mezcla no derivada de mamíferos de conjugados de glicerofosfolípidos de serina (PS), donde la mezcla comprende (a) ácido eicosapentaenoico (EPA) conjugado con PS y (b) ácido docosahexaenoico (DHA) conjugado con PS, y métodos de tratamiento de las convulsiones con los mismos.

Según el conocimiento de los autores de la invención, en la actualidad, no hay medicamentos aprobados indicados para curar, prevenir o controlar los trastornos de la comunicación. Considerando específicamente el TEA, solo 2 antipsicóticos atípicos, risperidona y aripiprazol, están aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para el tratamiento de irritabilidad significativa (agresión hacia otros, autolesión deliberada, berrinches y estados de ánimo lábiles) asociados con TEA. Estas intervenciones médicas benefician las conductas desafiantes, sin embargo, no se informó de que mejoren la comunicación verbal o no verbal en pacientes con TEA. Además, tienen efectos secundarios significativos que incluyen aumento de peso, sedación y efectos extrapiramidales.

Aunque los medicamentos no están correlacionados con un efecto beneficioso en los patrones de comunicación, existe una evidencia creciente de que los enfoques de intervención diseñados para mejorar la comunicación y el desarrollo del lenguaje de los niños con deficiencias en la comunicación pueden mejorar las habilidades y capacidades de comunicación.

Los glicerofosfolípidos, también denominados como fosfolípidos, son componentes clave de la bicapa lipídica de las células y están involucrados en el metabolismo y la señalización celulares. Los grupos hidroxilo de la cadena principal del glicerol de los fosfolípidos se sustituyen por una cabeza de fosfato hidrofílica y una cola hidrofóbica compuesta de ácidos grasos no polares. Los glicerofosfolípidos pueden subdividirse en distintas clases, según la naturaleza del grupo de la cabeza polar, como, por ejemplo: fosfatidilcolina (también conocida como PC o lecitina), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilserina (PS). Además de servir como componente primario de las membranas celulares y de los sitios de unión para las proteínas intracelulares e intercelulares, algunos glicerofosfolípidos, como el fosfatidilinositol y los ácidos fosfatídicos, son precursores de, o son ellos mismos, segundos mensajeros derivados de la membrana. Los estudios han demostrado que PS y PC mejoran la función de la membrana neuronal y mejoran las habilidades de memoria. Se encontró que la PS tiene un efecto beneficioso en el TDAH, la depresión y el estrés crónico. Además, se encontró que la PC reduce los síntomas emocionales del síndrome premenstrual.

Al parecer, el origen de los fosfolípidos y su contenido en ácidos grasos influyen en su actividad. Por ejemplo, se ha demostrado que la biofuncionalidad de la PS de soja en la mejora de la función cognitiva es diferente a la de otros tipos de PS (véase, WO 2005/037848). Además, se demostró que las diferentes relaciones de ácidos grasos específicos conjugados con PS pueden influir en la eficacia de la PS para mejorar las funciones cognitivas en sujetos de edad avanzada con deterioro del rendimiento cognitivo (véase, WO 2009/156991).

Por lo tanto, es beneficioso aplicar el tipo apropiado de preparación de PS para la indicación específica.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona una preparación que comprende una fosfatidilserina (PS), un ácido fosfatídico, un ácido lisofosfatídico y al menos un ácido graso unido a la PS, donde: un porcentaje en peso de PS con respecto a la preparación es superior a un 40 %; un porcentaje en peso de PS con respecto a los fosfolípidos totales en la preparación es superior a un 40 %; y un porcentaje del al menos un ácido graso unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es tal que un porcentaje de ácido eicosapentaenoico (EPA) es superior o igual a un porcentaje de ácido palmítico, el porcentaje de ácido palmítico es superior a un porcentaje de ácido docosahexanoico (DHA), el porcentaje de DHA es superior a un porcentaje de ácido oleico y el porcentaje de ácido oleico es superior a un porcentaje de ácido linoleico.

Según algunas realizaciones, el porcentaje en peso de PS con respecto a la preparación es a veces superior a un 45 %, a veces superior a un 50 % y a veces superior a un 55 %.

Según algunas realizaciones, el porcentaje en peso de PS con respecto a los fosfolípidos totales en la preparación es

a veces superior a un 45 %, a veces superior a un 50 %, a veces superior a un 55 %, a veces superior a un 60 % y a veces superior a un 65 %.

Según algunas realizaciones, la relación en peso de la PS a la suma de ácido fosfatídico y ácido lisofosfatídico en la preparación es superior a 1:1 e inferior a 10:1, a veces superior a 1.5:1 inferior a 8:1, en ocasiones superior a 2:1 e inferior a 5:1 y a veces superior a 2,5: 1 e inferior a 4:1.

Según algunas realizaciones, el porcentaje de EPA unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 18 % e inferior a un 45 %, a veces superior a un 22 % e inferior a un 40 %, a veces superior a un 26 % e inferior a un 36 % y a veces superior a un 27 % e inferior a un 34 %.

Según algunas realizaciones, el porcentaje de ácido palmítico unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 18 % e inferior a un 45 %, a veces superior a un 22 % e inferior a un 40 %, a veces superior a un 26 % e inferior a un 36 % y a veces superior a un 27 % e inferior a un 34 %.

Según algunas realizaciones, el porcentaje de ácido palmítico unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 14 % e inferior a un 42 %, a veces superior a un 18 % e inferior a un 40 %, a veces superior a un 20 % e inferior a un 30 % y a veces superior a un 21 % e inferior a un 26 %.

Según algunas realizaciones, el porcentaje de DHA unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 6 % e inferior a un 25 %, a veces superior a un 8 % e inferior a un 22 %, a veces superior a un 11 % e inferior a un 20 % y a veces superior a un 12 % e inferior a un 17 %.

Según algunas realizaciones, el porcentaje de ácido oleico unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 1 % e inferior a un 15 %, a veces superior a un 2 % e inferior a un 13 %, a veces superior a un 4 % e inferior a un 11 % y a veces superior a un 5 % e inferior a un 8 %.

Según algunas realizaciones, el porcentaje de ácido linoleico unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 0,1 % e inferior a un 6 %, a veces superior a un 0,5 % e inferior a un 4 %, a veces superior a un 1 % e inferior a un 3 %, a veces superior a 1 e inferior a un 2 y a veces superior a un 1,5 % e inferior a un 2 %.

La presente invención también proporciona una preparación según una cualquiera de las realizaciones anteriores que comprende además una fosfatidilcolina (PC). A veces, la preparación tiene un porcentaje en peso de PC inferior a un 10 % con respecto a la preparación. A veces, el porcentaje en peso de PC con respecto a la preparación es superior a un 0,01 % e inferior a un 8 %, a veces superior a un 0,01 % e inferior a un 6 %, a veces superior a un 0,01 % e inferior a un 3,2 %, a veces superior a un 0,05 % e inferior a un 3,2 %, a veces superior a un 0,1 % e inferior a un 4 % y a veces superior a un 1 % e inferior a un 3,5 %.

Según una realización específica, la preparación de la invención comprende una fosfatidilserina (PS), un ácido fosfatídico, un ácido lisofosfatídico, una fosfatidilcolina (PC) y al menos un ácido graso unido a la PS, donde: un porcentaje en peso de PS con respecto a la preparación es superior a un 40 %; un porcentaje en peso de PS con respecto a los fosfolípidos totales en la preparación es superior a un 50 %; un porcentaje en peso de PC con respecto a la preparación es superior a un 0,01 % e inferior a un 3,2 %; una relación en peso de la PS a la suma del ácido fosfatídico y del ácido lisofosfatídico en la preparación es superior a 2,5:1 e inferior a 4:1; un porcentaje de EPA unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 27 % e inferior a un 34 %; un porcentaje de ácido palmítico unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 21 % e inferior a un 26 %; un porcentaje de DHA unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 12 % e inferior a un 17 %; un porcentaje de ácido oleico unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 5 % e inferior a un 8 %; y un porcentaje de ácido linoleico unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a un 1 % e inferior a un 2 %.

La presente invención proporciona una composición nutricional, farmacéutica o nutracéutica, o un alimento funcional o médico que comprende una preparación de la invención. En una realización, una composición farmacéutica de la invención comprende además al menos un agente farmacéuticamente activo.

Según uno de sus aspectos, la presente invención proporciona una preparación o una composición según la invención para su uso en un método para tratar un trastorno o deficiencia de la comunicación que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de las preparaciones o composiciones de fosfolípidos según la invención. Más preferiblemente, la cantidad terapéuticamente eficaz se proporciona como una dosis diaria. Opcionalmente, el método se refiere a tratar y/o prevenir el trastorno del espectro autista (TEA), autismo o síndrome de Asperger. A veces, el método se refiere a tratar y/o prevenir el autismo con retraso del lenguaje, bajo rendimiento intelectual, patrones de comunicación no expresivos/no emocionales, o una combinación de los mismos; o el autismo sin retraso en el lenguaje y con CI normal/alto, y/o con patrones de comunicación expresivos/emocionales.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Tal como se usa en el presente documento, tratar el trastorno o deficiencia de la comunicación se refiere a mejorar las capacidades de comunicación de un paciente con el trastorno o deficiencia de la comunicación, reducir la gravedad o la frecuencia de los síntomas asociados con el trastorno o deficiencia de la comunicación, curar el trastorno o deficiencia de la comunicación, mejorar la calidad de vida de un paciente con el trastorno o deficiencia de la comunicación, reducir la gravedad de las comorbilidades que acompañan al trastorno o deficiencia de la comunicación, o una combinación de los mismos.

Según otra realización de la invención, las preparaciones de fosfolípidos pueden administrarse a sujetos con enfermedades neurológicas, preferiblemente, con enfermedades de desarrollo neurológico, más preferiblemente, con enfermedades que no están relacionadas con el deterioro cognitivo asociado a la edad o la neurodegeneración. Según otra realización de la invención, las preparaciones de fosfolípidos se administran a sujetos de al menos un mes, a veces, al menos tres años, a veces, al menos seis años y a veces al menos 13 años de edad. Opcionalmente, la preparación y/o el procedimiento según al menos algunas realizaciones de la invención se refieren a mejorar la comunicación en adultos.

El uso de las composiciones reivindicadas se refiere también a reducir la frecuencia de los síntomas relacionados con el autismo, reducir la gravedad de los síntomas relacionados con el autismo, mejorar los síntomas no deseados asociados con el autismo, tratar el autismo o una combinación de los mismos mediante el uso de la preparación de la invención. Preferiblemente, el uso de las composiciones reivindicadas se refiere a mejorar la comunicación en las deficiencias en la comunicación presentadas en el autismo. A veces, el uso de las composiciones reivindicadas se refiere a reducir la frecuencia de los síntomas relacionados con el autismo, reducir la gravedad de los síntomas relacionados con el autismo, mejorar los síntomas no deseados asociados con el autismo, tratar el autismo o una combinación de los mismos mediante el uso de la preparación de la invención en pacientes autistas que sufren retraso del lenguaje, bajo rendimiento intelectual, patrones de comunicación no expresivos/no emocionales, o una combinación de los mismos; o en pacientes autistas sin retraso del lenguaje, con CI normal/alto y/o con patrones de comunicación expresivos/emocionales.

A veces, el uso de las composiciones reivindicadas se refiere a mejorar la comunicación en las deficiencias en la comunicación presentadas en pacientes autistas que padecen retraso del lenguaje, bajo rendimiento intelectual, patrones de comunicación no expresivos/no emocionales, o una combinación de los mismos; o en pacientes autistas sin retraso del lenguaje, con CI normal/alto y/o con patrones de comunicación expresivos/emocionales.

En otra realización de la presente invención, la preparación se proporciona como una composición farmacéutica en una mezcla con agentes auxiliares farmacéuticamente aceptables y, opcionalmente, otros agentes terapéuticos. Los agentes auxiliares deben ser "aceptables" en el sentido de que sean compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudiciales para sus receptores.

Según otra realización, las composiciones farmacéuticas o nutracéuticas están en forma galénica de administración seleccionada según la vía de administración.

Según otra realización, la presente invención se puede administrar en forma de cápsulas, comprimidos, píldoras, gomas, aceites líquidos, polvos, granulados, ceras, pastas, emulsiones acuosas y cualquier otra forma que permita su uso en las aplicaciones objetivo.

Según otra realización, una dosis diaria de la preparación de la invención como se describe en el presente documento proporciona opcionalmente de 75 a 600 mg de PS al sujeto, a veces, de 75 a 450 mg de PS, a veces, de 75 a 300 mg de PS, a veces, de 75 a 225 y, a veces, de 75-150 mg de PS. La dosis diaria puede dividirse opcionalmente en una pluralidad de dosis cada día o, alternativamente, puede administrarse opcionalmente como un bolo único cada día.

Según otra realización, una dosis diaria de la preparación de la invención como se describe en el presente documento proporciona opcionalmente de 20 a 172 mg de EPA al sujeto, a veces, de 21,5 a 129 mg de EPA, a veces, de 21,5 a 86 mg de EPA y, a veces, de 21,5 a 43 mg de EPA. La dosis diaria puede dividirse opcionalmente en una pluralidad de dosis cada día o, alternativamente, puede administrarse opcionalmente como un bolo único cada día.

Según otra realización, una dosis diaria de la preparación de la invención como se describe en el presente documento proporciona opcionalmente de 8 a 68 mg de DHA al sujeto, a veces, de 8 a 51 mg de DHA, a veces, de 8 a 34 mg de DHA y, a veces, de 8,5 a 17 mg de DHA. La dosis diaria puede dividirse opcionalmente en una pluralidad de dosis cada día o, alternativamente, puede administrarse opcionalmente como un bolo único cada día. La dosis diaria según al menos algunas realizaciones de la presente invención, cuando se administra en forma de cápsulas, comprimidos, jarabes, gomas, aerosol, jeringuilla, gotero, inhalación por tubo (para polvos), administración de frascos comprimidos, administración intranasal atomizada (jeringuilla o dispositivos de pulverización accionados por bomba) y otros sistemas de administración conocidos, comprende opcionalmente una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho unidades de administración por día.

Cabe señalar que la preparación de la invención también puede comprender otros fosfolípidos, como fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI) y fosfatidilglicerol (PG), a los que están unidos covalentemente (enlazados) los ácidos de los ácidos grasos en cualquiera o ambas posiciones *sn*-1 o *sn*-2 del resto de glicerol del fosfolípido. El perfil de conjugación de los ácidos grasos de cualquiera de los lípidos polares señalados anteriormente puede ser igual, o diferente, al perfil de conjugación de los ácidos grasos de PS, como se describe en el presente documento.

El término “comunicación” se define como cualquier forma de dar, recibir o intercambiar ideas, información, señales o mensajes, lo que permite a los individuos o grupos persuadir, buscar información, dar información o expresar emociones. Esta amplia definición incluye, entre otras cosas, interacción social con el lenguaje corporal, contacto visual y habilidades para hablar y escribir.

Las expresiones “deficiencias en la comunicación” o “dificultades de comunicación” o “trastornos de comunicación” se usan de manera intercambiable en el presente documento. Las expresiones “deficiencias en la comunicación” o “dificultades de comunicación” o “trastornos de comunicación” se refieren a trastornos que afectan a la capacidad de alguien de recibir, enviar, procesar y comprender conceptos o sistemas de símbolos verbales, no verbales y gráficos. Las deficiencias en la comunicación pueden impedir o disminuir parcial o totalmente la comunicación. Los ejemplos no limitativos para los tipos de deficiencias en la comunicación son problemas relacionados con el habla, el lenguaje, el procesamiento auditivo o la comunicación social pragmática.

Los ejemplos no limitativos de los trastornos que pueden presentar deficiencias en la comunicación incluyen: trastornos neurológicos (por ejemplo, epilepsia, afasia y lesión o trauma cerebral); trastornos emocionales o psiquiátricos (por ejemplo, trastorno de ansiedad generalizada, agorafobia, trastorno de ansiedad social, fobias, trastorno de pánico, trastorno de estrés postraumático y mutismo selectivo); trastornos de personalidad (por ejemplo, esquizofrenia y trastorno obsesivo-compulsivo); trastornos del desarrollo neurológico (por ejemplo, trastorno del espectro autista (TEA), autismo, síndrome de Asperger, trastorno generalizado del desarrollo, trastorno desintegrativo infantil, síndrome de Rett y retraso mental); y trastornos del habla.

La expresión “mejorar la comunicación” se describe como reducir la frecuencia de los síntomas relacionados con las deficiencias en la comunicación, reducir la gravedad de los síntomas relacionados con la deficiencia en la comunicación, mejorar los síntomas no deseados asociados con la deficiencia en la comunicación, reducir la gravedad de una enfermedad o trastorno, curar una enfermedad o trastorno, prevenir que una enfermedad o trastorno ocurra por completo (por ejemplo, en un individuo genética y/o fenotípicamente propenso a la enfermedad), o una combinación de cualquiera de los anteriores. Por ejemplo, en un sujeto que padece una deficiencia en la comunicación, se espera una mejora mediante el uso de la preparación lipídica de la invención.

Los ejemplos no limitativos de aspectos de la comunicación evaluados para mejora, desarrollo o aumento incluyen: comunicación verbal, no verbal y social. Por ejemplo, estos aspectos pueden incluir: vocabulario, pronunciación, vocalización, fluidez en el habla, nivel de lectura, habilidades auditivas, comprensión, capacidad para seguir conversaciones, capacidad para turnarse para hablar, habilidades de conversación, capacidad de atención, contacto visual, expresiones faciales, gestos con las manos, movimientos corporales, interacción social y juego social.

La presente invención proporciona también una composición nutricional, farmacéutica o nutraceutica, o un alimento funcional o médico que comprende cualquiera de las preparaciones de la invención mencionadas anteriormente.

Una composición nutricional como se describe en el presente documento puede ser cualquier composición nutricional que incluye, entre otras: sustituto de la grasa de la leche humana, fórmula infantil, fórmula para adultos, productos lácteos, leche en polvo, helado, galletas, productos de soja, panadería, pastelería, pasteles, pan, salsa, sopa, comida instantánea, comida preparada, comida congelada, condimento, confitería, aceite, grasa, margarina, pasta para untar, relleno, cereal, producto instantáneo, bebida, batido, comida infantil, comida para niños pequeños, barra, aperitivo, dulces y producto de chocolate.

La expresión "fórmula infantil", como se usa en el presente documento, abarca fórmulas infantiles (para recién nacidos hasta bebés de 6 meses de edad), fórmulas de seguimiento (para bebés de 6 a 12 meses de edad) y fórmulas de crecimiento (para niños de 1 a 3 años de edad).

Una alimento funcional como se describe en el presente documento puede ser cualquier alimento funcional que incluye, entre otros: producto lácteo, helado, galletas, productos de soja, panadería, pastelería, pasteles, pan, salsa, sopa, comida instantánea, comida preparada, comida congelada, condimento, confitería, aceite, grasa, margarina, pasta para untar, relleno, cereal, producto instantáneo, bebida, batido, comida infantil, comida para niños pequeños, barra, aperitivo, dulces y producto de chocolate.

Una composición nutracéutica como se usa en el presente documento puede ser cualquier nutracéutico, que puede ser cualquier sustancia que pueda considerarse un alimento o parte de un alimento y que proporcione beneficios médicos o para la salud, incluidas la prevención y el tratamiento de enfermedades o trastornos. Dichas composiciones nutracéuticas incluyen, entre otros: un aditivo alimenticio, un suplemento alimenticio, mezclas de fosfolípidos, PS o PC de otras fuentes, un suplemento dietético, alimentos modificados genéticamente (tales como, por ejemplo, vegetales) productos herbales y alimentos procesados (tales como cereales, sopas y bebidas), alimentos funcionales estimulantes, productos nutricionales clínicos, alimentos médicos y farmalimentos. Los suplementos dietéticos pueden suministrarse en forma de cápsulas blandas de gel, comprimidos, jarabes, gomas, dulces y otros sistemas conocidos de administración de suplementos dietéticos.

Un alimento médico, como se usa en el presente documento, está especialmente formulado y destinado para el control dietético de una enfermedad/trastorno que tiene necesidades nutricionales distintivas que no se pueden satisfacer solo con una dieta normal.

Las vías de administración adecuadas para las composiciones de la presente invención son administración oral, nasal, intranasal, inhalatoria, bucal, sublingual, administración por medio de sonda de alimentación, administración tópica, transdérmica o parenteral (incluidas subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica). En una realización, los compuestos se administran por vía oral.

Las composiciones alimenticias farmacéuticas, nutracéuticas o médicas pueden estar en cualquiera de las muchas formas galénicas de administración usadas comúnmente en la técnica. Las composiciones alimenticias farmacéuticas, nutracéuticas o médicas adecuadas para administración oral se pueden presentar como unidades de dosificación separadas (como píldoras, comprimidos, microesferas, grageas, cápsulas o cápsulas blandas), como un polvo o granulado, o como una solución, suspensión, jarabe o elixir.

La presente invención proporciona también composiciones farmacéuticas donde una preparación según la invención se mezcla con agentes auxiliares (farmacéuticamente) aceptables y, opcionalmente, con otros agentes terapéuticos. Los agentes auxiliares deben ser "aceptables" en el sentido de que sean compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudiciales para sus receptores.

En una realización de la presente invención, una composición farmacéutica de la presente invención comprende además al menos un agente farmacéuticamente activo adicional.

Para administración parenteral, las composiciones adecuadas incluyen inyección estéril acuosa y no acuosa. Las composiciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o de dosis múltiple, por ejemplo, viales y ampollas selladas, y se pueden almacenar en una condición de liofilización (liofilizadas) que únicamente requiera la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua, antes de su uso. Para administración transdérmica, por ejemplo, se pueden contemplar geles, parches o pulverizadores.

Las composiciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o de dosis múltiple, por ejemplo, viales y ampollas selladas, y se pueden almacenar en una condición de liofilización (liofilizadas) que únicamente requiera la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua, antes de su uso.

Las composiciones adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades de dosificación separadas, tales como píldoras, comprimidos, microesferas, grageas, cápsulas, polvos, granulados, soluciones, suspensiones o elixires.

5

La dosis exacta y el régimen de administración de la composición dependerán necesariamente del efecto terapéutico que se va a lograr y pueden variar con la fórmula particular, la vía de administración y la edad y el estado del sujeto al que se le administrará la composición.

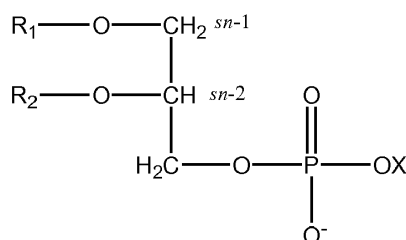
10 Las composiciones farmacéuticas y nutraceuticas de la presente invención se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica de la farmacia. Los métodos de este tipo incluyen la etapa de asociar los ingredientes con cualquier agente auxiliar. El (los) agente(s) auxiliar(es), también llamado(s) ingrediente(s) accesorio(s), incluye(n) los convencionales en la técnica, tales como vehículos, rellenos, aglutinantes, diluyentes, desecantes, desintegrantes, lubricantes, colorantes, agentes aromatizantes, antioxidantes y agentes humectantes.

15

Las composiciones farmacéuticas y nutraceuticas de la invención pueden comprender además fibras comestibles, aromas, ingredientes de sabor e ingredientes que controlan las propiedades físicas y organolépticas.

Los términos “*glicerofosfolípido*” y “*fosfolípidos*” se usan en el presente documento de manera intercambiable y debe

20 entenderse que abarcan un lípido de la fórmula general:



Donde X representa un resto seleccionado de serina, colina, etanolamina, inositol, glicerol e hidrógeno, y R1 y R2, que
 25 pueden ser idénticos o diferentes, representan independientemente hidrógeno o un grupo acilo, donde el grupo acilo se selecciona de entre grupos acilo saturados, monosaturados o poliinsaturados (PUFA). Las posiciones *sn-1* y *sn-2*, como se usan en el presente documento y como se indican en la fórmula anterior, se refieren a los átomos de carbono respectivos en la cadena principal de glicerol donde R1 y R2 son hidrógeno o grupos acilo sustituidos en la posición correspondiente.

30

La expresión “ácido lisofosfatídico” se usa en el presente documento cuando X representa hidrógeno y uno de R1 o R2 es hidrógeno también.

Como se describe en el presente documento, los términos “*sustituido*”, “*conjugado*” y “*unido*” se usan de manera
 35 intercambiable y debe entenderse que abarcan un acilo de ácido graso unido covalentemente a la cadena principal de glicerofosfolípido de un fosfolípido de la invención. Como se señaló anteriormente, el ácido graso se puede unir a las posiciones *sn-1* y/o *sn-2*.

Como se usa en el presente documento, la expresión “*ácido graso*” debe entenderse que abarca un ácido carboxílico con una cola (cadena) alifática no ramificada larga, que es saturada o insaturada, que tiene un enlace insaturado (ácidos grasos monoinsaturados) o dos o más enlaces insaturados (ácidos grasos poliinsaturados). Cuando se refiere a un “*acilo de ácido graso*” debe entenderse que abarca un radical -C(=O)-R donde R es una cola alifática no ramificada larga, que está saturada o insaturada, que tiene un enlace insaturado (ácidos grasos monoinsaturados) o dos o más enlaces insaturados (ácidos grasos poliinsaturados).

45

Como se usa en el presente documento, los términos ω-X, Omega-X, nX (X denota un número), se usan de manera intercambiable y debe entenderse que denotan el átomo de carbono más alejado del grupo carboxilo de un ácido graso.

50 Los ejemplos no limitativos de ácidos grasos saturados incluyen: ácido butírico (ácido butanoico, C4:0), ácido caproico (ácido hexanoico, C6:0), ácido caprílico (ácido octanoico, C8:0), ácido cáprico (ácido decanoico, C10:0), ácido láurico (ácido dodecanoico, C12:0), ácido mirístico (ácido tetradecanoico, C14:0), ácido palmítico (ácido hexadecanoico,

C16:0), ácido esteárico (ácido octadecanoico, C18:0), ácido araquídico (ácido eicosanoico, C20:0), ácido behénico (ácido docosanoico C22:0).

Los ejemplos no limitativos de ácidos grasos insaturados incluyen: ácido miristoleico (C14:1, ω -5), ácido palmitoleico (C16:1, ω -7), ácido oleico (C18:1, ω -9), ácido linoleico (C18:2, ω -6), ácido linolénico (C18:3) [Ácido alfa-linolénico (C18:3, ω -3), ácido gamma-linolénico (C18:3, ω -6)], ácido eicosenoico (C20: 1, ω -9), ácido araquidónico (C20:4, ω -6), ácido eicosapentaenoico (C20:5, ω -3), ácido erúcico (C22:1, ω -9), ácido docosapentanoico (C22:5, ω -3) y ácido docosahexaenoico (C22:6, ω -3), ácido nervónico (C24:1, ω -9).

- 10 La expresión un “[ácido graso] conjugado con fosfolípido” debe entenderse que abarca un fosfolípido donde un acilo de ácido graso está conjugado en la posición *sn*-1 y/o posición *sn*-2 de la cadena principal del fosfolípido (a través del átomo de oxígeno del glicerol). En una realización, un ácido graso conjugado en la posición *sn*-1, y en la posición *sn*-2 no está sustituido (por ejemplo, tiene un átomo de hidrógeno en el oxígeno del glicerol) o está sustituido con un grupo acilo seleccionado de entre ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, que pueden ser iguales o diferentes de la sustitución en la posición *sn*-1. En otra realización, un ácido graso conjugado en la posición *sn*-2, y en la posición *sn*-1 no está sustituido (por ejemplo, tiene un átomo de hidrógeno en el oxígeno del glicerol) o está sustituido con un grupo acilo seleccionado de entre ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, que pueden ser iguales o diferentes de la sustitución en la posición *sn*-2.

- 20 El término fosfatidilserina también se refiere a menudo en la bibliografía como glicerofosfolípido de serina, fosfatidilserina y PS.

El término fosfatidilcolina también se refiere a menudo en la bibliografía como glicerofosfolípido de colina, fosfatidilcolina y PS.

25

Una preparación de la invención también se puede administrar junto con otros compuestos, que incluyen, entre otros, ácido fólico, vitaminas, minerales, aminoácidos, nucleótidos, antioxidantes, etc.

- Se apreciará que una composición (ya sea farmacéutica, nutracéutica, nutricional, médica, etc.) o un producto (por ejemplo, un alimento funcional) de la invención se puede combinar con otros métodos de tratamiento conocidos en la técnica. Por lo tanto, el tratamiento de la deficiencia en la comunicación (por ejemplo, autismo) utilizando una composición o producto de la invención puede combinarse opcionalmente con terapias convencionales para la deficiencia en la comunicación, tales como, entre otros: estimulantes, antiestimulantes, metilfenidato, dextroanfetamina, clonidina, guanfacina, risperidona, haloperidol, olanzapina, tioridazina, fluoxetina, sertralina, litio, lorazepam carbamazepina, ácido valproico.

- Divulgado y descrito, debe entenderse que esta invención no se limita a los ejemplos particulares, etapas de procedimiento y materiales descritos en el presente documento, ya que dichas etapas de procedimiento y materiales pueden variar de alguna manera. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento se usa solo con la finalidad de describir formas de realización particulares y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención solo se verá limitado por las reivindicaciones adjuntas y equivalentes de las mismas.

- Debe tenerse en cuenta que, tal como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contenido indique claramente lo contrario.

45

A lo largo de esta memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo exija de otro modo, la palabra “comprende”, y variaciones tales como “comprenden” y “que comprende”, se entenderá que implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros o etapas.

50

Una preparación como se describe en el presente documento puede prepararse opcionalmente mediante métodos de biología enzimática, química o molecular. En resumen, una mezcla de fosfolípidos puede enriquecerse con los ácidos grasos requeridos (por ejemplo, EPA, ácido palmítico, DHA, ácido oleico, ácido linoleico) mediante procesos enzimáticos, por ejemplo, enriquecimiento de un fosfolípido natural con ácidos grasos específicos mediante transesterificación/esterificación enzimática. Otra vía para adquirir la preparación es obtener una fuente de fosfolípidos que sea naturalmente rica en los ácidos grasos requeridos, como la lecitina de origen marino (por ejemplo, krill, pescado, algas y calamar) o fosfolípidos de huevos. Normalmente, para obtener la relación solicitada entre los diferentes fosfolípidos en la mezcla, se requiere la transformación del grupo de la cabeza del fosfolípido a serina (utilizando enzimas PLD) para obtener PS. Los métodos de este tipo se han descrito en la publicación internacional WO 2005/038037. Alternativamente, la mezcla de fosfolípidos, según al menos algunas realizaciones de la presente

55

60

invención, puede prepararse mediante los métodos de OGM (organismos genéticamente modificados)/biotecnología, por ejemplo, proporcionando organismos productores de fosfolípidos con los ácidos grasos requeridos para obtener los diferentes conjugados de fosfolípidos.

- 5 Según otra realización de la presente invención, la preparación se prepara preferiblemente a partir de una fuente natural, sintética o semisintética o cualquier combinación de las mismas. En una realización de la presente invención, la fuente natural deriva de cualquier fuente vegetal (como, por ejemplo, soja y algas), de animales no mamíferos (como, por ejemplo, krill, pescado (como, por ejemplo, arenque y bacaladilla), o de microorganismos (como, por ejemplo, bacterias) o cualquier combinación de los mismos. En otra realización adicional, la producción de la
- 10 preparación de lípidos implica una catálisis enzimática.

Cuantificación de fosfolípidos mediante espectroscopía ³¹P-RMN utilizando el procedimiento estándar interno

- 15 Fin: Este procedimiento se utiliza para determinar el contenido de fosfolípidos en peso en la preparación.

Instrumentos: Bruker Avance III 600 MHz con cambiador de muestras automático y cabezal de sonda cQNP. Bruker Avance 300 MHz con cambiador de muestras automático y cabezal de sonda BBI. Para la cuantificación de fosfolípidos en la preparación de la invención (en forma de polvo), aproximadamente 300 mg de la sustancia de prueba y 20 mg

20 de TPP (trifenilfosfato) estándar interno se disuelven en 1,5 ml de CDCl₃, 3 ml de metanol y 3 ml de solución acuosa de Cs-EDTA (0,2 M, pH 7,5). Después de 15 minutos de agitación, la capa orgánica se separa por medio de centrifugación y se mide con ³¹P-RMN. Las señales integradas de la sustancia de prueba y del estándar interno TPP (trifenilfosfato) se utilizan para el cálculo. La relación de integrales corresponde a la relación molar de las sustancias comparadas. Para el software de cálculo se utiliza Microsoft Excel 14.0.

25

Cálculo:

Ecuación 1	$MOL_{EI} [mMol] = \frac{W_{EI} [mg] * C_{EI} [%]}{PM_{EI} [g/Mol] * 100}$
Ecuación 2	$MOL_P [mMol] = \frac{I_P * H_{EI} * MOL_{EI} [mMol]}{I_{EI} * H_P}$
Ecuación 3	$\%_P \text{ en peso} = \frac{PM_P [g/Mol] * MOL_P [mMol] * 100}{P_P [mg]}$

- 30 Declaración de variables:

	sustancia de prueba	estándar interno
Peso molecular	PM _P (Según la tabla de PM presentada a continuación)	PM _{EI}
peso inicial [mg]	P _P	P _{EI}
contenido [% en peso]	% en peso _P	C _{EI}
Mol [mMol]	MOL _P	MOL _{EI}
integral	I _P	I _{EI}
número de átomos de P	H _P	H _{EI}

Fosfolípido	PM _P (g/mol)
Fosfatidilcolina (PC)	812,0
Lisofosfatidilcolina (LPC)	534,5
Fosfatidilinositol (PI)	907,0
Lisofosfatidilinositol (LPI)	629,5
Fosfatidilserina (PS)	833,0
Lisofosfatidilserina (LPS)	555,5
Fosfatidiletanolamina (PE)	770,0
Lisofosfatidiletanolamina (LPE)	492,5
Ácido fosfatídico (PA)	746,0
Ácido lisofosfatídico (LPA)	468,5

(continuación)

Acil fosfatidiletanolamina (APE)	1032,0
Otro	812,0

Determinación del porcentaje de ácidos grasos en los fosfolípidos

Fin: Este procedimiento se utiliza para determinar el porcentaje de un ácido graso unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación.

Materiales: ácido acético glacial RA, Metanol abs. RA, cloroformo RA, acetona RA, hexano RA, tolueno RA, diisopropil éter RA, butilhidroxitolueno, Sigma n.º de lote W218405 o equivalente, sulfato de sodio anhidro, Sigma, n.º de lote 31481 o equivalente, metóxido de sodio al 25 % (p/p) en metanol, Sigma n.º de catálogo 15625-6 o equivalente, primulina, Sigma n.º de catálogo 206865 o equivalente, estándar de referencia de CG, Nuchek n.º de lote 566B, estándar de referencia de fosfatidilcolina, Sigma Aldrich n.º de lote catálogo P3556 o equivalente, referencia estándar de fosfatidilserina, Sigma Aldrich n.º de lote catálogo P5660 o equivalente, placas de CCF 20X10, gel de sílice 60 F254 capa MERCK 1.05715 o equivalente.

Aparato: Agitador orbital con control de temperatura, balanza analítica, pipeta 0,2-1 ml e intervalo de 1-5 ml, pipeta volumétrica 10 ml clase A, tanque de CCF, adecuado para placas de 20x10 de CCF, capilares desechables de 5 µl de volumen, sistemas de CG adecuados para usar con columna capilar, equipado con horno capaz de mantener la temperatura con una precisión de +0,1 °C, detector FID, unidad de inyección de modo con división con controlador de temperatura, columna capilar de CG, fase G16 USP, longitud 30 m, DI 0,25 mm, película de 0.25 µm o similar.

Reactivos y preparación de soluciones:

Solución de metóxido de sodio: Pesar con precisión 54 g de metóxido de sodio al 25 % en un matraz aforado de 500 ml. Diluir a volumen con metanol abs. Almacenar en un lugar oscuro, en un recipiente de vidrio bien cerrado. La solución es estable durante hasta 3 meses.

Solución de cloroformo:metanol 95:5: Mezclar 95 volúmenes de cloroformo con 5 volúmenes de metanol. Almacenar en un lugar oscuro, en un recipiente de vidrio bien cerrado. La solución es estable durante hasta un año.

Solución reveladora: Mezclar agua, metanol, ácido acético, acetona y cloroformo en una relación de volumen de 5:10:15:20:50, respectivamente. Almacenar en un lugar oscuro, en un recipiente de vidrio bien cerrado. La solución es estable durante hasta un año.

Solución de primulina: Peso 10 mg en un matraz aforado de 100 ml. Añadir 60 ml de acetona y 40 ml de agua. Mezclar bien. Almacenar en un lugar oscuro, en un recipiente de vidrio bien cerrado. La solución es estable durante hasta un año.

Solución antioxidante 1 mg/ml: Se pesaron 25±2 mg de butilhidroxitolueno en un matraz aforado de 25 ml. Agregar tolueno hasta la marca, mezclar bien (esta solución se puede mantener durante 3 meses a temperatura ambiente).

Solución antioxidante 0,05 mg/ml: Pipetear 10 ml de la solución anterior en un matraz aforado de 200 ml, agregar tolueno hasta la marca y mezclar bien. Almacenar a 50 °C durante hasta 3 meses. (Esta solución puede conservarse durante 3 meses a temperatura ambiente).

Solución estándar de mezcla PS/PC: Agregar aproximadamente 20 mg del estándar de referencia de fosfatidilserina en un matraz aforado de 2 ml, agregar aproximadamente 20 mg del estándar de referencia de fosfatidilcolina. Agregar una pequeña cantidad de solución de cloroformo:metanol suficiente para disolver los estándares de referencia. Una vez disuelto, llenar hasta el volumen con la misma solución de cloroformo:metanol. Almacenar en un recipiente bien cerrado a -20 °C. Estable durante hasta 3 meses.

Solución de aptitud del sistema: Vacar una ampolla que contenga 100 mg del estándar de referencia de CG 566B en un matraz aforado de 50 ml, agregar 0,05 mg/ml de solución antioxidante hasta la marca. Mezclar bien. Almacenar en un recipiente bien cerrado a -20 °C. Estable durante hasta 3 meses.

Procedimiento:

Preparación de la solución de muestra: Colocar de forma precisa 500 mg de la muestra en un vial de 20 ml con un tapón esmerillado. Añadir 10 ml de solución de cloroformo: metanol y agitar vigorosamente durante 2-3 minutos.

Purificación de los fosfolípidos: Realizar la prueba por duplicado. Realizar la determinación en blanco revelando una placa sin carga (no se aplica ninguna muestra a la placa). Muestrear sílice de un área correspondiente al área de la muestra seguido de metilación como se describió anteriormente. Aplicar una banda delgada y uniforme de 120 µl de solución de muestra en la placa de CCF, 1 cm por encima del fondo de la placa, dejando un margen de 3 cm en cada lado. En uno de los márgenes, aplicar una solución estándar de mezcla PS/PC de aproximadamente 5 µl, puntualmente por medio de un capilar desechable. Agregar 45 ml de diisopropil éter a la cámara de CCF de vidrio de 20X10 mm. Saturar la cámara durante 15-20 minutos. Revelar la placa de CCF hasta aproximadamente 90 mm de la marca. Secar la placa en una campana extractora al aire a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 minutos. Repetir las dos etapas anteriores una vez más usando la misma cámara. Agregar 45 ml de solución reveladora a la cámara de CCF de vidrio de 20X10 mm. Saturar la cámara durante 15-20 minutos. Revelar la placa de CCF hasta aproximadamente 80 mm de la marca. Secar la placa en una campana extractora en una corriente de aire a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 minutos. Pulverizar la placa de CCF uniformemente con solución de primulina y secar en una corriente de aire a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 minutos. Colocar la placa en la lámpara UV a 365 nm para observar las bandas. Identificar las bandas correspondientes usando los puntos del estándar de referencia de la mezcla PS y lavar las bandas en un vial de vidrio de 20 ml con tapón esmerillado.

Metilación: A los viales de 20 ml que contienen sílice lavado, agregar 2 ml de tolueno. Luego, agregar 4 ml de solución de metóxido de sodio. Agitar durante 15 minutos a 50 °C. Luego, agregar 200 µl de ácido acético y 4 ml de agua purificada, agitar vigorosamente durante 1 minuto. Añadir 2 ml de hexano y agitar vigorosamente durante 30 segundos. Transferir solo la capa orgánica superior a un frasco de 20 ml. De nuevo, agregar 2 ml de hexano y agitar vigorosamente durante 30 segundos. Transferir solo la capa orgánica superior al mismo frasco de 20 ml. Combinar las fases orgánicas y secar sobre 0,5 gramos de sulfato de sodio. Filtrar a través de un filtro de 0,2 micras. Evaporar el hexano en una corriente de nitrógeno, hasta alcanzar un volumen de aproximadamente 0,5 ml. Analizar la muestra mediante cromatografía de gases.

Configuración de la cromatografía de gases:

Columna	Columna capilar, fase G16 USP, longitud 30 m, DI 0,25 mm, película de 0 25 µm o similar				
Gas vehículo	Helio				
Tiempo de equilibrio	2 min				
Temperatura	Temp. inicial	Tiempo inicial	Primera tasa temp.	Temp. Final	Tiempo de mantenimiento
	170 °C	2 min	1 °C/min	210 °C	2 min
			Segunda tasa temp.	Temp. Final	Tiempo de mantenimiento
			30 °C/min	240 °C	11 min
Inyector temp.	250 °C				
Presión	21 psi				
Relación de división	25:1				
Flujo de helio	1,5 m/min (flujo constante)				
Flujo total	41,4 ml/min				
Temperatura detector	270 °C				
Flujo de hidrógeno	40 ml/min				
Flujo de aire	400 ml/min				
Volumen de inyección	1 µl				
Nota: El flujo de gas y la rampa de temperatura se pueden ajustar para cumplir con los criterios de aceptación de aptitud del sistema.					

Orden de inyección de la cromatografía: Primero inyectar hexano y asegurarse de que no haya respuesta en el tiempo de retención relevante. A continuación, inyectar la solución de aptitud del sistema. Los criterios de aceptación son los siguientes: la resolución (R) entre los picos debido al oleato de metilo (C18:1n9) y el cis-vaccinato de metilo (C:181n11) $\geq 1,3$.

$$\text{resolución } R = \frac{2(t_2 - t_1)}{1,7(A_1 + A_2)}$$

donde, t1 y t2 son los tiempos de retención de los dos componentes y A1 y A2 son los anchos correspondientes a media altura de los picos.

A continuación, inyectar la muestra de la placa de CCF en blanco (CCF en blanco). Si se observan picos en el cromatograma en blanco de CCF (excepto el pico de disolvente), se deben sacar del cromatograma de la muestra. Por último, inyectar las muestras.

Cálculo: Calcular el porcentaje de área de un componente de ácido graso en la muestra mediante la fórmula: % de FA = ÁreaFA/ÁreaTot, donde ÁreaFA es el área de respuesta pico obtenida para un éster de metilo del ácido graso individual y ÁreaTot es la suma de las áreas pico de todos los picos, correspondientes a los ésteres de metilo de los ácidos grasos. Registrar los resultados indicando dos dígitos después del punto decimal. La desviación estándar relativa entre las repeticiones no debe exceder del 5 %.

El siguiente ejemplo es representativo de las técnicas empleadas por los autores de la invención para llevar a cabo los aspectos de la presente invención. Debe apreciarse que estas técnicas son ejemplos de realizaciones preferidas para la práctica de la invención.

Ejemplo: El efecto de la preparación de la invención en pacientes autistas

Preparación de la composición de fosfolípidos: Las preparaciones de lípidos se prepararon de la siguiente manera: lecitina marina producida por un procedimiento de extracción a partir de biomasa derivada de krill se disolvió en disolventes orgánicos y se dejó reaccionar con una solución acuosa que contenía L-serina, CaCl₂, fosfolipasa D (PLD) y tampón de acetato. Después de la reacción de transfosfatidilación, la mezcla resultante que contenía PS, PC, PA y LPA se purificó mediante la eliminación de la fase acuosa, la evaporación de los disolventes orgánicos y otras etapas de purificación. El polvo resultante contenía principalmente EPA, ácido palmítico, DHA, ácido oleico y ácido linoleico unidos a los diferentes fosfolípidos.

Tabla 1- lista de ingredientes en una cápsula (167 mg por cápsula) que contiene la preparación de fosfolípidos

<i>Parámetro</i>	<i>Especificación</i>
Fosfatidilserina	como mínimo 75 mg/cápsula
Fosfatidilcolina	como mínimo 0,0165 mg/cápsula
Ácido fosfatídico	como mínimo 13 mg/cápsula
Ácido lisofosfatídico	como mínimo 2 mg/cápsula
Fosfolípidos totales	como mínimo 130 mg/cápsula
DHA total	como mínimo 8,5 mg/cápsula
EPA total	como mínimo 21,5 mg/cápsula
Ácido palmítico total	como mínimo 16,5 mg/cápsula
Ácido oleico total	como mínimo 3,5 mg/cápsula
Ácido linoleico total	como mínimo 1 mg/cápsula
Porcentaje en peso de fosfatidilserina (PS) con respecto a la preparación	40-48 %
Porcentaje en peso de PS con respecto a los fosfolípidos totales en la preparación	51-60 %
Porcentaje en peso de fosfatidilcolina (PC) con respecto a la preparación	0,01-3,2 %
Relación en peso de la PS a la suma de ácido fosfatídico y de ácido lisofosfatídico	2.5:1 - 4:1
Porcentaje de EPA unido a la PS con respecto al contenido total de	27-34 %

(continuación)

ácidos grasos unidos a la PS	
Porcentaje de ácido palmítico unido a la PS con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS	21-26 %
Porcentaje de DHA unido a la PS con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS	12-17 %
Porcentaje de ácido oleico unido a la PS con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS	5-8 %
Porcentaje de ácido linoleico unido a la PS con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS	1-2 %

Diseño del estudio: El efecto de la composición de fosfolípidos en pacientes autistas se evaluó en 19 niños (3 hembras y 16 varones), de 2 a 17 años de edad, que fueron diagnosticados con autismo. Todos los pacientes del estudio recibieron una dosis diaria de 1 a 4 cápsulas de la composición de fosfolípidos durante al menos 3 meses, con o sin medicación concomitante para el tratamiento del autismo.

El efecto en los síntomas autistas se evaluó a través de revisiones de registros de salud electrónicos y se describe en la Tabla 2. De los pacientes del estudio, 6 se clasificaron como autistas sin retraso del lenguaje y con patrones de comunicación expresivos/emocionales (subclase 1). 13 se clasificaron como que sufrían retrasos en el desarrollo del lenguaje y patrones de comunicación no expresivos/no emocionales (subclase 2). Todos los participantes recibieron la preparación de fosfolípidos. La dosificación y la duración de la administración se describen en la Tabla 2.

Resultados: En general, como se demuestra en la Tabla 2, 10 de los 19 pacientes evaluados en el estudio demostraron una mejora en los síntomas autistas durante el período del estudio (por ejemplo, paciente N.º 4: "Mejora general", paciente N.º 12: "habla mejorada"). Curiosamente, todas las mejoras se observaron en el grupo de pacientes que sufrían retraso del lenguaje y tenían patrones de comunicación no expresivos/no emocionales (subclase 2). En este grupo, 10 pacientes (N.º 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13) demostraron una mejora en los síntomas autistas durante el período del estudio. En el grupo sin retraso del lenguaje y con patrones de comunicación expresivos/emocionales (subclase 1; 6 pacientes), no se detectaron mejoras significativas (n.º 14, 15, 16, 17, 18, 19).

De los pacientes que mejoraron, 6 pacientes (N.º 2, 5, 8, 9, 10, 12) demostraron una mejora en sus capacidades de comunicación: el paciente N.º 2 progresó en el habla, el paciente N.º 5 habló más, el paciente N.º 8 siguió bien la conversación, el paciente N.º 9 mejoró su juego social, el paciente N.º 10 se volvió más conversador y el paciente N.º 12 mejoró su habla.

Tabla 2: El efecto de la preparación de la mezcla de fosfolípidos en los síntomas autistas

N.º de serie	N.º de serie en la base de datos	Duración del tratamiento (meses)	Cantidad de cápsulas al día	Edad y género	El efecto de preparación en el control de los síntomas autistas	Subclase de autismo
1	26	4,5	2	16V	Sin mejora	2
2	34	6	2	2V	Mejora de las habilidades comunicativas: Progreso en el habla. Más interactivo	2
3	96	11	2	14V	Mejora general	2
4	172	8	2	17V	Mejora general	2
5	261	2	2	3H	Mejora de las habilidades comunicativas: Habla más	2
6	266	3	2	9V	Sin mejora	2
7	305	3	2	10V	Sin mejora	2
8	367	3	2	13V	Mejora de las habilidades comunicativas: Sigue bien las conversaciones, más claridad de pensamiento	2

(continuación)

9	377	4	2	6V	Mejora de las habilidades comunicativas: Mejora el juego social	2
10	414	3	2	13H	Mejora en las habilidades de comunicación: no en bucle, más conversador	2
11	484	1,5	2	11H	Mejora general	2
12	512	3,5	1	6V	Mejora de las habilidades comunicativas: Habla mejorada	2
13	646	3	2	9V	Mejora general	2
14	168	6	2	11V	Sin mejora	1
15	171	5	2	6V	Sin mejora	1
16	253	5	2.4.2*	8V	Sin mejora	1
17	530	5	2	17V	Sin mejora	1
18	581	19	2	16V	Sin mejora	1
19	655	13	2	10V	Sin mejora	1

Abreviaturas: V-Varón; H-Hembra Subclase 1- Autismo sin retraso del lenguaje y con patrones de comunicación expresivos/emocionales. Subclase 2- Autismo con retraso en el desarrollo del lenguaje y patrones de comunicación no expresivos/no emocionales. *2.4.2. Comenzó a partir de 2 cápsulas al día, aumentó a 4 y luego se redujo a 2.

REIVINDICACIONES

1. Una preparación que comprende:
 - 5 una fosfatidilserina (PS),
un ácido fosfatídico,
un ácido lisofosfatídico, y
al menos un ácido graso unido a la PS, donde:
un porcentaje en peso de la PS con respecto a la preparación es superior a un 40 %;
 - 10 un porcentaje en peso de PS con respecto a los fosfolípidos totales en la preparación es superior a un 40 %; y un
porcentaje del al menos un ácido graso unido a la PS con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la
PS en la preparación es tal que el porcentaje de ácido eicosapentaenoico (EPA) es superior o igual al porcentaje de
ácido palmítico, el porcentaje de ácido palmítico es superior al porcentaje de ácido docosahexanoico (DHA), el
porcentaje de DHA es superior al porcentaje de ácido oleico y el porcentaje de ácido oleico es superior al porcentaje
15 de ácido linoleico.
2. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el porcentaje en peso de PS con
respecto a los fosfolípidos totales en la preparación es superior a un 50 %.
- 20 3. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el porcentaje de EPA unido a la
PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a
un 18 % e inferior a un 45 %, opcionalmente, superior a un 27 % e inferior a un 34 %.
4. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el porcentaje de ácido palmítico
25 unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es
superior a un 14 % e inferior a un 42 %, opcionalmente, superior a un 21 % e inferior a un 26 %.
5. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el porcentaje de DHA unido a la
PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es superior a
30 un 6 % e inferior a un 25 %, opcionalmente, superior a un 12 % e inferior a un 17 %.
6. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el porcentaje de ácido oleico
unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es
superior a un 1 % e inferior a un 15 %, opcionalmente, superior a un 5 % e inferior a un 8 %.
- 35 7. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el porcentaje de ácido linoleico
unido a la PS en la preparación con respecto al contenido total de ácidos grasos unidos a la PS en la preparación es
superior a un 0,1 % e inferior a un 6,0 %, opcionalmente, superior a un 1 % e inferior a un 2 %.
- 40 8. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una
fosfatidilcolina (PC).
9. La preparación de la reivindicación 8, donde un porcentaje en peso de la PC con respecto a la
preparación es inferior a un 10,0 %, opcionalmente, superior a un 0,01 e inferior a un 3,2 %.
- 45 10. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde una relación en peso de la PS a
la suma de ácido fosfatídico y de ácido lisofosfatídico en la preparación es superior a 1:1 e inferior a 10:1,
opcionalmente, superior a 2.5:1 e inferior a 4:1.
- 50 11. Una composición que comprende la preparación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde
la composición es una composición nutricional, nutraceutica, alimento funcional o alimento medicinal.
12. Una composición farmacéutica que comprende la preparación de cualquiera de las reivindicaciones
anteriores.
- 55 13. La composición farmacéutica de la reivindicación 12, que comprende además al menos un agente
farmacéuticamente activo.
14. La preparación de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o la composición de las reivindicaciones 11,
60 12 o 13 para su uso en el tratamiento de una deficiencia en la comunicación asociada con el trastorno del espectro

autista (TEA), autismo o síndrome de Asperger.