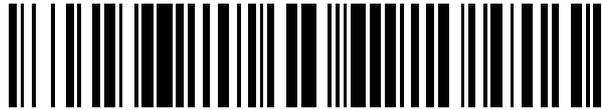


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 628**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.10.2010 PCT/US2010/052564**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2011 WO11047095**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2010 E 10824055 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.09.2017 EP 2488190**

54 Título: **Reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática**

30 Prioridad:

13.10.2009 US 251230 P

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

23.11.2017

73 Titular/es:

DSM IP ASSETS B.V. (50.0%)

Het Overloon 1

6411 TE Heerlen, NL y

WEST VIRGINIA UNIVERSITY (50.0%)

72 Inventor/es:

HADLEY, KEVIN;

FEALEY, TERENCE. y

BAILES, JULIAN, E.

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 643 628 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

Reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 La lesión cerebral traumática (TBI, *Traumatic Brain Injury*) es una lesión en la cabeza causada por traumatismos cerebrales. El daño se puede limitar a un área del cerebro (focal) o puede involucrar a más de un área del cerebro (difusa). La TBI puede ser leve, moderada o severa. Aunque algunos síntomas aparecen inmediatamente, otros no aparecen hasta días, semanas, meses o incluso años después del o los suceso(s). Los síntomas de la TBI leve incluyen dolor de cabeza, confusión, mareos, visión borrosa, cambios en el estado de ánimo y alteración en la función cognitiva, tal como memoria, aprendizaje y atención. Los síntomas de la TBI moderada a severa incluyen, además de los observados para la TBI leve, náuseas, convulsiones o ataques epilépticos, mala pronunciación del lenguaje, entumecimiento de extremidades, y pérdida de coordinación.

Antecedentes de la técnica

20 Después de una lesión traumática en el sistema nervioso central (SNC), una cascada de sucesos fisiológicos puede conducir a pérdida neuronal incluyendo, por ejemplo, una respuesta inmune inflamatoria y excitotoxicidad resultante del impacto inicial que altera los sistemas de receptores de glutamato, acetilcolina, colinérgicos, GABA_A y NMDA. Además, la lesión traumática del SNC va seguida frecuentemente de edema cerebral que aumenta la cascada de lesiones y conduce adicionalmente a la muerte celular secundaria y al aumento de la mortalidad del paciente.

25 Aunque la lesión cerebral principal a menudo se asocia con hemorragia o hinchazón cerebral, muchos casos presentan daño difuso a las neuronas y a sus fibras de conexión. Los experimentos que emplean marcadores anterógrados han revelado que la lesión axonal traumática es un suceso progresivo que implica una alteración focal del transporte axoplasmático que conduce a hinchazón axonal y a una desconexión final en las horas a días después de la TBI (Raghupathi R *et al.*, J Neurotrauma. 17: 927-38 (2000)). La alteración inicial de la membrana plasmática del axón da como resultado una desregulación de los canales iónicos y pérdida de la homeostasis del calcio. Posteriormente, una serie de cascadas dependientes del calcio se activan, dando como resultado daño mitocondrial y liberación de citocromo c. Por último, la liberación de citocromo c puede activar una cascada apoptótica mediada por caspasa-3 de escisión proteolítica de sustratos citoesqueléticos que da como resultado la desconexión axonal característica de la lesión axonal traumática (Wang *et al.*, Science 284: 5412 339-343 (1999); Buki *et al.*, J. Neurosci. 20: 2825-2834 (2000); Eldadah *et al.*, J. Neurotrauma. 17: 10 811-829 (2000)).

40 El documento WO 2007/004685 A2 desvela composiciones que comprenden ácido araquidónico y/o ácido docosahexaenoico para su uso para mejorar las funciones cerebrales más elevadas reducidas resultantes de lesiones cerebrales orgánicas.

El documento US 2006/276373 A1 desvela ácido docosahexaenoico unido a albúmina en el tratamiento de la lesión cerebral traumática.

45 El documento CN 101049297 A1 desvela un éster de etilo de ácido graso con un alto contenido de DHA y con una pureza elevada.

50 El documento WO 2009/057994 A1 desvela una composición que comprende (i) uridina en forma de nucleobase, nucleósido y/o nucleótido; (ii) ácido docosahexaenoico (DHA) y/o ácido eicosapentaenoico (EPA); y (iii) alfa-tocoferol o un equivalente del mismo, en el que dicha composición tiene: a) un peso de 200-300 mg por dosis unitaria; b) un contenido de energía inferior a 50 kcal por dosis unitaria; y/o c) un volumen entre 0,1 y 10 ml por dosis unitaria. La invención también se refiere al uso de una composición de este tipo para reducir la carga de placas abeta y neurogeneración, en el tratamiento de enfermedades relacionadas con funcionamiento nervioso impartido, en particular demencia o AD o trastornos de memoria.

55 Wu *et al.*, Journal of Neurotrauma, Vol 21, 2005, pps 1457-1464 desvela la administración de ácidos grasos omega-3 a las grasas después de la lesión cerebral traumática.

60 Sijtsma *et al.*, Applied Microbiology and Biotechnology, Vol 64, 2004, pp 146-153 desvela la producción biotecnológica y aplicaciones de DHA.

65 Los conceptos tradicionales de TBI también implican fases de lesión primaria y secundaria. La lesión primaria está representada por el momento del impacto, resultante de la transmisión de energía cinética y vectores de fuerza en una forma de aceleración-deceleración lineal o rotatoria, o una combinación de ambas. Además del movimiento del cerebro dentro del espacio del líquido cefalorraquídeo, el contacto del cerebro con las superficies irregulares

subyacentes del cráneo, el establecimiento de fenómenos de microvacío dentro del tejido cerebral y el desgarro y lesión mecánica de las neuronas y en particular sus proyecciones pueden dar como resultado daños tanto locales como remotos. A nivel clínico, el tratamiento intenta minimizar la lesión secundaria mediante la prevención o el tratamiento de hipotensión, hipoxia y edema.

A fase terciaria de TBI incluye las que ahora se reconocen como anomalías en curso en la utilización de glucosa, metabolismo celular, así como fluidez de la membrana, función sináptica e integridad estructural (Hovda, Crit Care Med. 35: 663-4 (2007); Aoyama *et al.*, Brain Res. 1230: 310-9 (2008), publicado electrónicamente el 9 de julio de 2008). En general, las membranas del axón se lesionan, se producen fugas iónicas y el transporte axonal se ve interrumpido de una manera progresiva. Este concepto se ve reforzado por hallazgos recientes en autopsias de atletas con deportes de contacto profesional que muestran áreas multifocales de neuronas dañadas y sus procesos, notable para la tinción de anticuerpos tau, que se cree que representan numerosas veces y regiones de lesión por múltiples traumatismos craneoencefálicos (Omalu *et al.*, Neurosurgery 57: 128-34 (2005); Omalu *et al.*, Neurosurgery 59: 1086-92 (2006)).

El tratamiento de lesión cerebral traumática ha incluido diuréticos, anticonvulsivos y antagonistas de receptores AMPA/NMDA. Sin embargo, es deseable tener tratamientos que puedan proporcionar un efecto neuroprotector profiláctico que pueda reducir el riesgo de daño neurológico asociado con lesión cerebral traumática, en particular a la vista de la compleja cascada fisiológica de sucesos que siguen a la lesión inicial en la lesión cerebral traumática.

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona una composición que comprende docosahexanoato (DHA) para su uso en la reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, uso que comprende: (a) administrar a un sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática la composición que comprende docosahexanoato (DHA), en la que la composición se administra en una cantidad profilácticamente eficaz durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, y en la que la composición tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) de aproximadamente un 3 % en peso del contenido total de ácido graso, y la proporción de DHA con respecto a EPA es al menos de 10:1.

La presente invención también proporciona docosahexanoato (DHA) para su uso en la reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, uso que comprende: (a) seleccionar a un sujeto que presente riesgo de lesión cerebral traumática; y (b) administrar al sujeto el docosahexanoato (DHA), en la que el DHA se administra en forma de una composición y en una cantidad de al menos aproximadamente un 40 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática.

La presente invención proporciona adicionalmente docosahexanoato (DHA) para su uso en la reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, que comprende: (a) administrar a un sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática una composición que comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexanoato (DHA), en la que la composición se administra en una cantidad profilácticamente eficaz durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, y en la que la composición tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso.

La presente invención también proporciona docosahexanoato (DHA) para su uso para proteger el cerebro de un sujeto humano, uso que comprende: (a) administrar al sujeto, antes de una actividad asociada con un suceso potencial de lesión cerebral traumática, una forma de dosificación oral que comprende al menos 900 mg de DHA, en la que la forma de dosificación comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexanoato (DHA) del contenido total de ácido graso, en la que la forma de dosificación tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso.

La presente invención también proporciona el uso de docosahexanoato (DHA) en la preparación de un medicamento para proteger el cerebro de un sujeto humano, que comprende: (a) identificar a un sujeto que presenta el riesgo de experimentar un suceso de lesión cerebral traumática, y (b) administrar al sujeto, antes de una actividad asociada con un suceso potencial de lesión cerebral traumática, una forma de dosificación oral que comprende al menos 900 mg de DHA, en la que la forma de dosificación comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexanoato (DHA) del contenido total de ácido graso, en el que la forma de dosificación tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso.

La presente invención se define con las reivindicaciones y la materia objeto fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente para información. En las realizaciones en el presente documento, la composición que comprende DHA puede ser cualquier fuente en la que el DHA esté presente en cantidades suficientes para su

administración para conseguir un efecto terapéutico profiláctico. En algunas realizaciones, la composición que contiene DHA comprende aceite de pescado, incluyendo, entre otros, aceite de pescado rico en ácidos grasos en omega-3, tal como en forma de un aceite de atún, sardinas, anchoas, y caballa. En algunas realizaciones, la composición que contiene DHA comprende aceite de onagra, aceite de linaza, aceite de colza, aceite de nuez, y aceite de girasol. En algunas realizaciones, la combinación de aceites de diferentes fuentes se puede utilizar para preparar la composición. El DHA de estas fuentes se puede preparar en forma de ésteres de alquilo, triglicéridos, o ácidos grasos libres.

En algunas realizaciones, la composición tiene una proporción de DHA con respecto a EPA superior a 4,1. En algunas realizaciones, la proporción de DHA con respecto a EPA es al menos de 10:1 o al menos 100:1.

En realizaciones en las que el DHA está en la forma de un éster de alquilo, el contenido del DHA (en la forma de un éster de alquilo) es al menos aproximadamente un 85 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición. En algunas realizaciones, la composición de éster de alquilo tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 96 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición de éster de alquilo tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 85 a un 96 % en peso del contenido total de ácido graso, y un contenido de EPA de aproximadamente un 0,1 % en peso o inferior del contenido total de ácido graso.

En algunas realizaciones del método, la composición tiene un contenido de DHA de al menos aproximadamente un 40 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 40 a aproximadamente un 50 % en peso del contenido total de ácido graso. En ciertas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 50 % en peso del contenido total de ácido graso, y un contenido de EPA de aproximadamente un 3 % en peso o inferior, o un 2 % en peso o inferior, del contenido total de ácido graso. En ciertas realizaciones, el contenido de EPA es inferior a un 0,2 % en peso del contenido total de ácido graso.

En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de al menos aproximadamente un 55 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 55 % a un 65 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 55 % a un 65 % en peso del contenido total de ácido graso, y un contenido de EPA inferior a un 0,2 % en peso del contenido total de ácido graso.

En algunas realizaciones, la composición que comprende el DHA es un aceite microbiano o se obtiene a partir de un aceite microbiano, tal como partir de *Cryptocodinium cohnii* o *Schizochytrium sp.*

En algunas realizaciones en el presente documento, el sujeto a tratar presenta el riesgo de un traumatismo intracraneal cerrado, tal como un traumatismo craneoencefálico o contusión. Un sujeto que presenta riesgo de una lesión de este tipo puede incluir, entre otros, un sujeto que participa en una actividad atlética con posibilidad de traumatismos craneoencefálicos. En esta categoría, como ejemplos de sujetos se incluyen, entre otros, jugadores de fútbol americano, boxeadores y jugadores de hockey.

En algunas realizaciones, el sujeto a tratar presenta el riesgo de una lesión craneal penetrante. Un sujeto que presenta el riesgo de una lesión craneal penetrante puede incluir, entre otros, un combatiente en un conflicto armado, por ejemplo, un soldado.

En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra al sujeto durante un periodo de tiempo suficiente antes de una participación anticipada en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra durante al menos aproximadamente 28 días antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra durante al menos aproximadamente 6 semanas antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra durante al menos aproximadamente dos meses antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 6 semanas a aproximadamente 6 meses, de al menos aproximadamente 2 a aproximadamente 6 meses, o de al menos aproximadamente 4 meses a aproximadamente 6 meses antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 2 a aproximadamente 4 meses antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática.

En las composiciones para el uso de la presente divulgación, al sujeto se le administra una cantidad profilácticamente eficaz de DHA. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 85 mg/kg de peso corporal/día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal/día a

aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día; de aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día, de aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día, de aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día; de aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal/día; o de aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal/día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal/día.

En algunas realizaciones, la invención se refiere a DHA para su uso para proteger el cerebro de un sujeto humano, comprendiendo el método administrar al sujeto, antes de una actividad asociada con un suceso potencial de lesión cerebral traumática, una forma de dosificación oral que comprende al menos 900 mg de DHA, en la que la forma de dosificación que comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexaenoato (DHA) del contenido total de ácido graso, en el que la forma de dosificación tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la expresión "que protege el cerebro" se refiere a la prevención de los efectos patológicos de un traumatismo craneoencefálico, o la reducción de los efectos patológicos asociados con un traumatismo craneoencefálico, en particular, minimizar los déficits de aprendizaje y/o memoria asociados con lesión cerebral traumática, por ejemplo, a traumatismo craneoencefálico. En algunas realizaciones, la expresión "que protege el cerebro" se refiere a un aumento de la elasticidad cerebral en el caso de lesión cerebral traumática, por ejemplo, reducción del tiempo necesario después de la lesión cerebral traumática para reducir/eliminar cualquier déficit de aprendizaje y/o memoria.

En algunas realizaciones, la actividad asociada con un suceso de lesión cerebral traumática se selecciona entre el grupo que consiste en boxeo, fútbol americano, fútbol, o hockey, en particular sucesos a nivel de la escuela secundaria, universidad, o profesional. En algunas realizaciones, la actividad asociada con un suceso de lesión cerebral traumática se selecciona entre el grupo que consiste en conflicto armado o cirugía cerebral.

En algunas realizaciones, la invención se refiere al uso de DHA en la preparación de un medicamento para proteger el cerebro de un sujeto humano, método que comprende: (1) identificar a un sujeto que presenta el riesgo de experimentar un suceso de lesión cerebral traumática, y (2) administrar al sujeto, antes de una actividad asociada con un suceso potencial de lesión cerebral traumática, una forma de dosificación oral que comprende al menos 900 mg de DHA, en el que la forma de dosificación comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexaenoato (DHA) del contenido total de ácido graso, en el que la forma de dosificación tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso.

Descripción detallada de la invención

Para las descripciones en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno" y "el" incluyen referentes en plural a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un compuesto" se refiere a más de un compuesto.

Además, el uso de "o" se refiere a la "y/o" a menos que se indique de otro modo. De forma análoga, "comprender", "comprende", "que comprende", "incluyen", "incluye", y "que incluye" se pueden usar indistintamente y no pretenden ser limitantes.

Además se debe entender que cuando las descripciones de diversas realizaciones usan la expresión "que comprende", los expertos en la materia deberían entender que en algunos casos específicos, una realización se puede describir como alternativa usando la expresión "que consiste esencialmente en" o "que consiste en."

Haciendo referencia a la presente divulgación, los términos técnicos y científicos usados en las descripciones en el presente documento tendrán los significados entendidos habitualmente por alguien con una experiencia habitual en la materia, a menos que se defina de forma específica de otro modo.

La lesión cerebral traumática (TBI) se encuentra entre los sucesos que se producen con la mayor frecuencia y que son ampliamente conocidos que causan lesión cerebral y que una alteración asociada de una o más funciones neurológicas. Una de las características de la lesión traumática es el aumento rápido y sostenido de ácidos grasos libres poliinsaturados y diacilgliceroles (Homayoun *et al.*, *Neurochemical Research* 25: 269-276 (2000)). En la presente divulgación, una composición que contiene DHA se administra a un sujeto antes del suceso de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática.

Por consiguiente, se describe un método para reducir el riesgo de efectos patológicos por la lesión traumática que puede comprender administrar a un sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática una composición que comprende DHA, en el que la composición se administra en una cantidad profilácticamente eficaz durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con riesgo de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática.

Como se usa en el presente documento, "lesión cerebral traumática" o "TBI" se refiere a lesión cerebral adquirida o a una lesión en la cabeza, cuando un traumatismo produce daño en el cerebro. El daño puede ser focal, es decir, limitado en un área del cerebro, o difuso, implicando más de un área del cerebro. Como se usa en el presente documento, "lesión cerebral traumática" no incluye lesión cerebral inducida por isquemia/reperusión.

En algunas realizaciones, el sujeto se puede encontrar en riesgo de un traumatismo intracraneal cerrado. Un "traumatismo intracraneal cerrado" se refiere a una lesión cerebral en la que la cabeza, de forma repentina y violenta, golpea un objeto pero el objeto no rompe el cráneo. En algunas realizaciones, el traumatismo intracraneal cerrado es un traumatismo craneoencefálico o contusión. Un traumatismo craneoencefálico es una forma leve de lesión cerebral traumática que da como resultado una alteración temporal de la función neurológica que se soluciona rápidamente por sí misma, y en la que por lo general no hay grandes cambios estructurales en el cerebro como resultado de la afección. Un ejemplo de un sujeto en riesgo de traumatismo intracraneal cerrado incluye un atleta que participa en un deporte con posibilidades de traumatismos craneoencefálicos, tales como boxeo, fútbol americano, o hockey.

En algunas realizaciones, el sujeto se puede encontrar en riesgo de una lesión craneal penetrante. Una lesión penetrante se refiere a una lesión cerebral en la que un objeto perfora el cráneo y entra en el tejido cerebral. Por lo general, la duramadre, la capa más externa de las meninges se ve perforada o fisurada por un objeto, tal como un proyectil a alta velocidad u objetos con una velocidad más baja tales como cuchillos, o fragmentos de hueso de una fractura craneal que se dirigen al cerebro. Un ejemplo de un sujeto que se puede encontrar en riesgo de lesión cerebral traumática por una lesión craneal penetrante es un combatiente en un conflicto armado. En ciertas realizaciones, el sujeto que presenta riesgo de una lesión craneal penetrante es un paciente que se somete a cirugía cerebral.

Una persona con experiencia en la materia puede identificar rápidamente los sujetos que se encuentran en riesgo de lesión cerebral traumática y puede administrar las composiciones de DHA de forma profiláctica para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la invención proporciona Docosahexanoato (DHA) para su uso en la reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, uso que comprende: (a) seleccionar a un sujeto que presente riesgo de lesión cerebral traumática; y (b) administrar al sujeto el docosahexanoato (DHA), en el que el DHA se administra en forma de una composición y en una cantidad de al menos aproximadamente un 40 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática.

En algunas realizaciones, la salud del cerebro puede mejorar después de una actividad de la que se sabe que aumenta la probabilidad de un suceso de lesión cerebral traumática, por ejemplo, boxeo, fútbol americano, fútbol, hockey, conflicto armado o cirugía cerebral, mediante la administración de las composiciones de la presente invención antes de la actividad. La expresión salud del cerebro puede hacer referencia a cualquier método conocido para el mantenimiento o mejora de la función cerebral mediante cualquiera de las técnicas convencionales o evaluaciones conocidas por las personas con experiencia en la materia, incluyendo las técnicas y evaluaciones que se proporcionan en el presente documento.

Diversos efectos patológicos de lesión cerebral traumática dependen de la forma de la lesión y su gravedad. En algunas realizaciones, los efectos patológicos de la lesión cerebral traumática incluyen convulsiones inmediatas, hidrocefalia o agrandamiento ventricular postraumático, pérdidas de líquido cefalorraquídeo, lesiones vasculares, lesiones del nervio craneal y deterioro cognitivo (pensamiento, memoria y razonamiento), procesamiento sensorial (vista, oído, gusto, tacto y olfato), comunicación (expresión y comprensión), y comportamiento o salud mental (depresión, ansiedad, cambios de personalidad, agresión, mal comportamiento e inadecuación social).

En algunas realizaciones, el efecto patológico de la lesión cerebral traumática es el síndrome craneoencefálico postraumático (PCS). Los síntomas de PCS incluyen dolor de cabeza, mareos, vértigo, problemas de memoria, problemas de sueño y problemas de concentración. Algunos pacientes pueden experimentar amnesia postraumática (PTA), ya sea anterógrada o retrógrada. La PTA anterógrada es la alteración de la memoria de sucesos que se produjeron después de la lesión cerebral traumática, mientras que la PTA retrógrada es la alteración de la memoria de sucesos que se produjeron antes de la lesión cerebral traumática.

Muchos pacientes con lesiones de cabeza de leves a moderadas que experimentan déficits cognitivos también tienen problemas con un nivel más alto, las llamadas funciones ejecutivas, tales como planificación, organización, razonamiento abstracto, resolución de problemas y realización de juicios, que pueden dificultar la reanudación de actividades relacionadas con el trabajo antes de la lesión. Algunos pueden experimentar afasia, definida como dificultad para entender y producir lenguaje oral y escrito. Otras patologías afectan a aspectos sutiles de la comunicación, tales como señales de lenguaje corporal y emocional, no verbales. En algunas realizaciones, el efecto patológico es afasia no fluida, también denominada afasia de Broca o afasia motora.

Los efectos patológicos a largo plazo de la lesión cerebral traumática incluyen, entre otros, aumento de la incidencia de la enfermedad de Parkinson y otros problemas motores; Enfermedad de Alzheimer; demencia pugilística; y

demencia post-traumática. De hecho, un efecto de la lesión en las neuronas es un aumento de la presencia de proteína precursora de β -amiloide, una proteína asociada con la enfermedad de Alzheimer.

5 En algunas realizaciones, como se discute adicionalmente a continuación, una cantidad eficaz de DHA se administra al sujeto al menos 6 semanas antes de la participación anticipada del sujeto en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de DHA se administra al sujeto al menos 2 meses antes de la participación anticipada del sujeto en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de DHA se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 2 meses a aproximadamente 6 meses o más antes de la participación anticipada del sujeto en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de DHA se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 2 meses a aproximadamente 4 meses o más antes de la participación anticipada del sujeto en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática.

15 En algunas realizaciones, al sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática se le administra una composición que comprende docosahexaenoato o DHA. En las realizaciones en el presente documento, "docosahexaenoato" se refiere a ácido (todos-Z)-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico, así como a cualquier sal o derivado del mismo. Por lo tanto, el término docosahexaenoato o "DHA" incluye el DHA de ácido libre así como ésteres de alquilo de DHA y triglicéridos que contienen DHA. El DHA es un ácido graso poliinsaturado ω -3. Por lo tanto, en diversas realizaciones, el DHA usado en el método puede estar en forma de un fosfolípido, un triglicérido, ácido graso libre, y un éster de alquilo. En algunas realizaciones, el éster de alquilo puede comprender éster de metilo, éster de etilo, o éster de propilo, de DHA como se describe adicionalmente a continuación.

25 En las realizaciones en el presente documento, la composición que comprende DHA puede ser cualquier fuente en la que el DHA esté presente en cantidades suficientes para su administración para conseguir el efecto terapéutico profiláctico. Estas incluyen, a modo de ejemplo y no delimitación, fuentes de animales, vegetales y microbianos. En algunas realizaciones, una fuente de aceites que contienen DHA adecuados para las composiciones y métodos que se describen en el presente documento es una fuente animal. Los ejemplos de fuentes animales incluyen animales acuáticos (por ejemplo, pescado; mamíferos marinos; crustáceos tales como krill y otros eufásidos; rotíferos; etc.) y lípidos extraídos de tejidos animales (por ejemplo, cerebro, hígado, ojos, etc.) y productos animales tales como huevos o leche. Los ejemplos de fuentes vegetales incluyen macroalgas, semillas de lino, semillas de colza, maíz, onagra, soja y borraja. En algunas realizaciones, la composición comprende aceite de pescado, que incluye, entre otros, aceite de pescado rico en ácidos grasos en omega-3, tal como en forma de aceite de atún, sardinas, anchoas, y caballa. En algunas realizaciones, la composición que contiene DHA comprende aceite de onagra, aceite de linaza, aceite de colza, aceite de nuez, o aceite de girasol. El DHA de estas fuentes puede estar en forma de ésteres de alquilo, triglicéridos, o ácidos grasos libres.

40 En algunas realizaciones, las composiciones que contienen DHA usadas en los métodos tienen una proporción de DHA con respecto a eicosapentaenoato (EPA) de al menos 2:1 hasta 4:1 p/p. El término "eicosapentaenoato" o "EPA" se refiere a ácido eicosapentaenoico, conocido por su nombre químico (todos Z) ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico, así como cualquier sal o derivados del mismo. Por lo tanto, el término "EPA" incluye el ácido EPA libre de así como ésteres de alquilo de EPA alquilo y triglicéridos que contienen EPA. El EPA también es un ácido graso poliinsaturado ω -3. El contenido habitual de ácidos grasos omega-3 encontrado en pescado graso tiene una proporción de DHA con respecto a EPA de 4:1 o inferior, p/p. Por consiguiente, la composición que contiene DHA que tiene una proporción de DHA con respecto a EPA de al menos aproximadamente 2:1 hasta 4:1 p/p se puede obtener a partir de aceite de pescado, tal como a partir de atún, sardinas, anchoas, y caballa, como se ha indicado anteriormente.

50 En algunas realizaciones, la composición que contiene DHA usada en los métodos tiene una proporción de DHA con respecto a EPA que es superior a 4:1 p/p. En algunas realizaciones del método, la composición de DHA tiene una proporción de DHA con respecto a EPA que es al menos 5:1 p/p, al menos 6:1 p/p, 7:1 p/p, al menos 8:1 p/p, al menos 9:1 p/p, al menos 10:1 p/p, al menos 12:1 p/p, al menos 14:1 p/p, al menos 16:1 p/p, al menos 18:1 p/p, al menos 20:1 p/p, al menos 40:1 p/p, al menos 60:1 p/p, al menos 80:1 p/p, al menos 100:1 p/p, o superior. En algunas realizaciones del método, la composición de DHA tiene una proporción de DHA con respecto a EPA de aproximadamente 10:1 p/p, 12:1 p/p, 14:1 p/p, 16:1 p/p, 18:1 p/p, 20:1 p/p, 40:1 p/p, 60:1 p/p, 80:1 p/p, o 100:1 p/p.

60 En algunas realizaciones, la composición de DHA está sustancialmente libre de EPA. Como se usa en el presente documento, una composición de DHA que está "sustancialmente libre de EPA" se refiere a una preparación de DHA en la que el EPA es inferior a aproximadamente un 3 % en peso, o aproximadamente un 2 % en peso, del contenido total de ácido graso de la composición. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una composición sustancialmente libre de EPA puede tener menos de un 2 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición, menos de un 1 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición, menos de un 0,5 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición, menos de un 0,2 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición, o menos de un 0,01 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición. En algunas realizaciones, el EPA no se puede detectar en la composición usando técnicas conocidas en la técnica. Una técnica a modo de ejemplo para detectar la cantidad de EPA es la transmetilación directa del aceite para formar ésteres de metilo de

ácido graso (FAME) seguido de separación de los productos por HPLC, cromatografía de gas-líquido, o gas cromatografía de gas-espectroscopía de masas (véase, por ejemplo, Fournier *et al.*, J Chromatogr A. 1129: 21-8 (2006)). En algunas realizaciones, la composición de DHA no tiene EPA.

5 El DHA también se puede administrar sustancialmente libre de ácido araquidónico (ARA). ARA se refiere al compuesto ácido (todos Z)-5,8,11,14-eicosatetraenoico (también denominado ácido (5Z,8Z,11Z,14Z)-icosa-5,8,11,14-tetraenoico), así como cualquier sal o derivados del mismo. Por lo tanto, el término "ARA" incluye el ácido libre ARA así como ésteres de alquilo de ARA y triglicéridos que contienen ARA. El ARA es un ácido graso poliinsaturado ω -6. El DHA está "sustancialmente libre de ARA" cuando el ARA es inferior a aproximadamente un 3 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, el ARA comprende menos de aproximadamente un 2 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, menos de un 1 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, menos de un 0,5 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, o menos de un 0,2 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, o menos de un 0,01 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, la forma de dosificación no tiene cantidad detectable de ARA.

El DHA también se puede administrar sustancialmente libre de ácido docosapentaenoico 22:5 n-6 (DPA n-6). El término "DPA n-6" se refiere a ácido docosapentaenoico, omega 6, conocido por su nombre químico ácido (todos Z)-4,7,10,13,16-docosapentaenoico, así como cualquier sal o éster del mismo. El término "DPA n-6" incluye el ácido libre DPA n-6 así como ésteres de alquilo de DPA n-6 y triglicéridos que contienen DPA n-6. El DPA n-6 es un ácido graso poliinsaturado ω -6. El DHA está "sustancialmente libre de DPA n-6" cuando el DPA n-6 es inferior a aproximadamente un 3 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, el DPA n-6 comprende menos de aproximadamente un 2 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, menos de un 1 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, menos de un 0,5 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, o menos de un 0,2 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación, o menos de un 0,01 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, la forma de dosificación no tiene cantidad detectable de DPA n-6.

30 En algunas realizaciones, la forma de dosificación de la presente invención no contiene una cantidad que se pueda medir de ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 (DPA n-3); ácido docosapentaenoico 22:5 n-6 (DPA n-6); y/o ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctanoico (C28:8).

35 En algunas realizaciones, el DHA se administra en ausencia sustancial de niveles terapéuticos de albúmina y sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad inferior a 100 mg, más en particular inferior a 10 mg, más en particular inferior a 5 mg y más en particular inferior a 1 mg de albúmina y sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el DHA se administra sin cantidad detectable de albúmina.

40 En algunas realizaciones, la composición de DHA puede incluir un lípido adicional. Como se usa en el presente documento, el término "lípido" incluye fosfolípidos (PL); ácidos grasos libres; ésteres de ácidos grasos; triacilgliceroles (TAG); diacilglicéridos; monoacilglicéridos; fosfátidos; ceras (ésteres de alcoholes y ácidos grasos); esteroides y ésteres de esteroles; carotenoides; xantófilas (por ejemplo, oxicarotenoides); hidrocarburos; y otros lípidos conocidos por alguien con una experiencia habitual en la materia. El lípido se puede elegir para que tenga efectos adversos mínimos en la salud o para que influya de forma mínima en la eficacia del DHA cuando se administra en combinación con DHA.

50 En algunas realizaciones, la composición de DHA puede incluir un lípido insaturado adicional. En algunas realizaciones, el lípido insaturado es un lípido poliinsaturado, tal como un ácido graso omega-3 o ácido graso omega-6. Un ácido graso omega-6 a modo de ejemplo que se puede usar en la composición es el ácido docosapentaenoico (DPA), incluyendo DPA n-6 o DPA n-3.

55 En las composiciones en el presente documento, en la forma de dosificación o dosis unitaria o composición pueden estar presentes ácidos grasos adicionales. Estos ácidos grasos pueden incluir ácidos grasos que no se retiraron durante el proceso de purificación, es decir, ácidos grasos que se co-aislaron con DHA de un organismo. En algunas realizaciones, uno o más ácidos grasos distintos de DHA se pueden añadir a la forma de dosificación o dosis unitaria para conseguir una concentración deseada de ácidos grasos distintos de DHA específicos. Cualquiera de estos ácidos grasos puede estar presente en diversas concentraciones. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la forma de dosificación o dosis unitaria comprende de un 0,01 % a un aproximadamente 4 % (p/p) de ácido oleico. En algunas realizaciones, la forma de dosificación o dosis unitaria comprende de un 0,01 % a un 0,5 % (p/p) de uno o más de los siguientes ácidos grasos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico; (e) ácido palmitoleico; (f) ácido heptadecanoico; (g) ácido esteárico; (h) ácido oleico; (i) ácido linoleico; (j) ácido α -linolénico; (k) ácido araquídico; (l) ácido eicosenoico; (m) ácido araquidónico; (n) ácido erúrico; (o) ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 (DPA n-3); y (p) ácido nervónico. En algunas realizaciones, una forma de dosificación o dosis unitaria comprende de un 0,01 % a un 0,1 % (p/p) de uno o más de los siguientes ácidos grasos: (a) ácido láurico; (b) ácido heptadecanoico; (c) ácido esteárico; (d) ácido araquídico; (e) ácido eicosenoico; y (f) ácido araquidónico. En algunas

realizaciones, una forma de dosificación o dosis unitaria comprende menos de un 0,5 % (p/p) de cada uno de los siguientes ácidos grasos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico; (e) ácido palmitoleico; (f) ácido heptadecanoico; (g) ácido esteárico; (h) ácido linoleico; (i) ácido α -linolénico; (j) ácido araquídico; (k) ácido eicosenoico; (l) ácido araquidónico; (m) ácido erúxico; (n) ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 (DPA n-3); y (o) ácido nervónico. En algunas realizaciones, la forma de dosificación o dosis unitarias de la presente invención no contienen una cantidad que se pueda medir de uno o más de los siguientes ácidos grasos: (a) ácido cáprico; (b) ácido linoleico; (c) ácido α -linolénico; y (d) ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 (DPA n-3).

En algunas realizaciones, la forma de dosificación o dosis unitaria comprende de un 0,1 % a un 60 % (p/p) de uno o más de los siguientes ácidos grasos, o ésteres de los mismos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico, (e) ácido palmitoleico; (f) ácido esteárico; (g) ácido oleico; (h) ácido linoleico; (i) ácido α -linolénico; (j) ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 (DPA n-3); (k) ácido docosapentaenoico 22:5 n-6 (DPA n-6); y (l) ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctaenoico (C28:8). En algunas realizaciones, la forma de dosificación o dosis unitaria comprende de un 20 % a un 40 % (p/p) de uno o más de los siguientes ácidos grasos, o ésteres de los mismos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico; (e) ácido palmitoleico; (f) ácido esteárico; (g) ácido oleico; (h) ácido linoleico; (i) ácido α -linolénico; j) ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 (DPA n-3); (k) ácido docosapentaenoico 22:5 n-6 (DPA n-6); y (l) ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctaenoico (C28:8). En algunas realizaciones, la forma de dosificación o dosis unitaria comprende menos de un 1 % (p/p) de cada uno de los siguientes ácidos grasos, o ésteres de los mismos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico, (e) ácido palmitoleico; (f) ácido esteárico; (g) ácido oleico; (h) ácido linoleico; (i) ácido α -linolénico; (j) ácido docosapentaenoico 22:5 n-3 (DPA n-3); (k) ácido docosapentaenoico 22:5 n-6 (DPA n-6); y (l) ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctaenoico (C28:8).

En algunas de las realizaciones de la forma de dosificación de DHA que se describe en el presente documento, la forma de dosificación se caracteriza por uno o más de los siguientes ácidos grasos (o ésteres de los mismos). Las realizaciones proporcionadas en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido cáprico (C10:0). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 6 % o menos (p/p) de ácido láurico (C12:0). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 20 % o menos (p/p), o de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 20 % (p/p) de ácido mirístico (C14:0). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 20 % (p/p) o menos, o de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 20 % (p/p) de ácido palmítico (C16:0). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 3 % (p/p) o menos de ácido palmitoleico (C16:1 n-7). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % (p/p) o menos de ácido esteárico (C18:0). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 40 % (p/p) o menos, o de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 40 % (p/p) de ácido oleico (C18:1 n-9). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 5 % (p/p) o menos de ácido linoleico (C18:2). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % (p/p) o menos de ácido nervónico (C24:1). Las realizaciones en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 3 % (p/p) o menos de otros ácidos grasos o ésteres de los mismos. La forma de dosificación de DHA con las características precedentes puede comprender DHASCO®, un aceite obtenido a partir de *Cryptocodinium cohnii* que contiene ácido docosahexaenoico (DHA).

Un DHA (triglicérido) a modo de ejemplo que contiene aceite obtenido a partir de *Cryptocodinium cohnii* se caracteriza por la cantidad especificada de componentes enumerados en la Tabla 1, en la que "Máx" se refiere a la cantidad del componente que puede estar presente hasta la cantidad especificada.

Tabla 1

Ácidos Grasos	Concentración (p/p)
10:0	Máx 2 %
12:0	Máx 6 %
14:0	5 % a 20 %
16:0	5 % a 20 %
16:1	Máx 3 %
18:0	Máx 2 %
18:1	10 % a 40 %
18:2	Máx 5 %
DHA 22:6	40 % a 45 %

ES 2 643 628 T3

Ácidos Grasos	Concentración (p/p)
24:1	Máx 2 %
Otros	Máx 3 %
Composición Elemental	
Arsénico	Máx 0,5 ppm
Cobre	Máx 0,1 ppm
Hierro	Máx 0,5 ppm
Plomo	Máx 0,2 ppm
Mercurio	Máx 0,04 ppm
Fósforo	Máx 10 ppm
Características Químicas	
Valor de Peróxido	Máx 5 Meq/Kg
Ácido Graso Libre	Máx 0,4 %
Materia Insaponificable	Máx 3,5 %

Un DHA (triglicérido) sin diluir a modo de ejemplo que contiene aceite obtenido a partir de *Cryptocodinium cohnii* se caracteriza por la cantidad de DHA descrita en el presente documento, y una o más, o todas las características que se enumeran a continuación en la Tabla 2, en la que "Máx" se refiere a la cantidad del componente que puede estar presente hasta la cantidad especificada.

5

Tabla 2: Características del Aceite de DHA Sin Diluir

ENSAYO	ESPECIFICACIÓN
CONTENIDO DE DHA EN MG/DHA/G DE ACEITE	MÍN 480 MG/G
ÁCIDOS GRASOS LIBRES	MÁX. 0,4 %
VALOR DE PERÓXIDO (PV)	MÁX. 5 MEQ/KG
VALOR DE ANISIDINA (AV)	MÁX 20
HUMEDAD Y COMPUESTOS VOLÁTILES (M y V)	MÁX. 0,02 %
MATERIA INSAPONIFICABLE	MÁX. 3,5 %
IMPUREZAS INSOLUBLES	MÁX. 0,1 %
ÁCIDO GRASO TRANS	MÁX. 1 %
ARSÉNICO	MÁX. 0,5 PPM
CADMIO	MÁX. 0,2 PPM
CROMO	MÁX. 0,2 PPM
COBRE	MÁX. 0,1 PPM
HIERRO	MÁX. 0,5 PPM
PLOMO	MÁX. 0,2 PPM
MANGANESO	MÁX. 0,04 PPM
MERCURIO	MÁX. 0,04 PPM
MOLIBDENO	MÁX. 0,2 PPM
NÍQUEL	MÁX. 0,2 PPM
FÓSFORO	MÁX. 10 PPM
SILICIO	MÁX. 500 PPM
AZUFRE	MÁX. 100 PPM
ÁCIDO OLEICO N-9 18:1	MÁX. 10 %

ENSAYO	ESPECIFICACIÓN
EPA N-320:5	MÁX. 0,1 %
ÁCIDOS GRASOS DESCONOCIDOS	MÁX. 3,0 %

En algunas realizaciones, un aceite se caracteriza por uno o más de los siguientes ácidos grasos (o ésteres de los mismos), expresado como % en peso del contenido total de ácido graso. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido cáprico (C10:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 6 % o menos (p/p) de ácido láurico (C12:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 20 % o menos, o de aproximadamente un 10 a aproximadamente 20 % (p/p) de ácido mirístico (C14:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 15 % o menos, o de aproximadamente un 5 a aproximadamente 15 % (p/p) de ácido palmítico (C16:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 5 % o menos (p/p) de ácido palmitoleico (C16:1 n-7). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido esteárico (C18:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 20 % o menos, o de aproximadamente un 5 % a aproximadamente 20 % (p/p) de ácido oleico (C18:1 n-9). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido linoleico (C18:2). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido nervónico (C24:1). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 3 % o menos (p/p) de otros ácidos grasos. Un aceite con las características precedentes puede ser un aceite obtenido a partir de *Cryptocodinium cohnii* que contenga ácido docosahexaenoico (DHA).

En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende, medido en porcentaje de ácido graso libre, aproximadamente un 35-65 %, 40-55 %, 35-57 %, o un 57-65 % de DHA (22:6 n-3); aproximadamente un 0-2 % de ácido cáprico (10:0); aproximadamente un 0-6 % de ácido láurico (12:0); aproximadamente un 10-20 % de ácido mirístico (14:0); aproximadamente un 5-15 % de ácido palmítico (16:0); aproximadamente un 0-5 % de ácido palmitoleico (16:1); aproximadamente un 0-2 % de ácido esteárico (18:0); aproximadamente un 5-20 % o un 5-25 % de ácido oleico (18:1); aproximadamente un 0-2 % de ácido linoleico (18:2); y aproximadamente un 0-2 % de ácido nervónico (24:1, n-9). En una realización, un aceite de este tipo se obtiene a partir de un microorganismo del género *Thraustochytrium*. En otra realización, el contenido de ácido graso libre es inferior a un 0,4 %.

La presente invención también proporciona composiciones que comprenden al menos aproximadamente un 40 % en peso de DHA y al menos aproximadamente un 0,1 % en peso de DPA n-3. En algunas realizaciones, las composiciones comprenden al menos aproximadamente un 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 % en peso de DHA, opcionalmente en forma de triglicérido, como un porcentaje de ácidos grasos totales.

Un DHA a modo de ejemplo que contiene aceite obtenido a partir de *Cryptocodinium cohnii* se caracteriza por la cantidad especificada de componentes que se enumeran en la Tabla 3, en la que "Máx" se refiere a la cantidad del componente que puede estar presente hasta la cantidad especificada.

Tabla 3

ÁCIDOS GRASOS	CONCENTRACIÓN (P/P)
10:0	0-2 %
12:0	0-6 %
14:0	10 %-20 %
16:0	5 %-15 %
16:1	0-5 %
18:0	0-2 %
18:1	5 %-20 %
18:2	0-2 % %
22:6 (N-3) DHA	57 %-65 %
24:1	0-2 %
OTROS	0-3 %

ÁCIDOS GRASOS	CONCENTRACIÓN (P/P)
COMPOSICIÓN ELEMENTAL	
ARSÉNICO	MÁX 0,5 PPM
COBRE	MÁX 0,1 PPM
HIERRO	MÁX 0,5 PPM
PLOMO	MÁX 0,2 PPM
MERCURIO	MÁX 0,2 PPM
FÓSFORO	MÁX 10 PPM
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	
VALOR DE PERÓXIDO	MÁX 5 MEQ/KG
ÁCIDOS GRASOS LIBRES	MÁX 0,4 %
MATERIA INSAPONIFICABLE	MÁX 3,5 %
ÁCIDOS GRASOS TRANS	< 3,5 %
HUMEDAD Y COMPUESTOS VOLÁTILES	< 0,1 %
IMPUREZAS INSOLUBLES	< 0,1 %

En algunas realizaciones, un aceite se caracteriza por uno o más de los siguientes ácidos grasos (o ésteres de los mismos), expresado como % en peso (es decir, p/p) del contenido total de ácido graso. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,1 % o menos (p/p) de ácido mirístico (C14:0) o no se puede detectar. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,5 % o menos (p/p) de ácido palmítico (C16:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,5 % o menos (p/p) de ácido palmitoleico (C16:1 n-7). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,5 % o menos (p/p) de ácido esteárico (C18:0), o no se puede detectar. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 4 % o menos (p/p) de ácido oleico (C18:1 n-9). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente menos de un 0,1 % (p/p) de ácido linoleico (C18:2) o no se puede detectar. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente menos de un 0,1 % (p/p) de ácido eicosapentaenoico (C20:5) o no se puede detectar. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido docosapentaenoico (22:5 n-3). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 1 % o menos (p/p) de ácido octacosaoctanoico (28:8 n-3). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,5 % o menos (p/p) de ácido tetracosanoico (24:1 n9).

Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 1 % o menos (p/p) de otros ácidos grasos. El DHA en el aceite con las características precedentes puede estar en la forma de un éster de DHA, preferentemente un éster de alquilo, tal como un éster de metilo, éster de etilo, éster de propilo, o combinaciones de los mismos, preparado a partir de un aceite de algas preparado a partir del *Cryptocodinium, cohnii* sp.

En algunas realizaciones del método, la composición usada tiene una cantidad de DHA que es al menos aproximadamente un 40 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, el % en peso del DHA en la composición es al menos un 50 % en peso del contenido total de ácido graso, al menos un 55 % en peso del contenido total de ácido graso, al menos un 60 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 70 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 80 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 85 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 90 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 95 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 96 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 97 % en peso del contenido total de ácido graso; al menos un 98 % en peso del contenido total de ácido graso; o al menos un 99 % en peso del contenido total de ácido graso. Como se ha indicado anteriormente, el DHA puede estar en forma de ésteres de alquilo, triglicéridos, o ácidos grasos libres.

En algunas realizaciones, el DHA está presente en una cantidad de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 99,9 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 99 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 45 % a aproximadamente un 98 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 65 % a aproximadamente un 99,9 % (p/p) del

contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, o de aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 95 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA está presente en una cantidad superior a aproximadamente un 65 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, superior a aproximadamente un 85 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, superior a aproximadamente un 90 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, o superior a aproximadamente un 95 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el aceite se puede diluir con otros aceites, tales como aceite de girasol, para conseguir la concentración deseada de ácidos grasos.

En algunas realizaciones, el DHA es de aproximadamente un 30 % (p/p) o más del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 99,9 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 99,9 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 60 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 50 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, aproximadamente un 37 % a aproximadamente un 45 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, o aproximadamente un 38 % a aproximadamente un 43 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA es superior a aproximadamente un 35 %, aproximadamente un 37 %, aproximadamente un 38 %, aproximadamente un 39 % o aproximadamente un 40 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA es de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 99,5 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, o de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 65 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria.

En algunas de estas realizaciones, el DHA comprende de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 45 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas de estas realizaciones, el DHA comprende de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 45 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA comprende de aproximadamente un 55 % a aproximadamente un 67 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA comprende más de aproximadamente un 70 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA comprende de aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 99,5 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria.

En algunas realizaciones, el DHA es superior a aproximadamente un 80 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 80 % a un 99,9 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 99 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 87 % a aproximadamente un 98 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, o de aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 97 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA es superior a aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o aproximadamente un 99,5 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria. Con respecto a la comparación del contenido de DHA con respecto al ácido graso total o contenido de aceite total, el % en peso se puede determinar calculando el área bajo la curva (AUC) usando medios convencionales, por ejemplo, dividiendo el AUC del DHA entre el AUC del ácido graso total.

Como se usa en el presente documento, "o inferior" o "inferior a aproximadamente un" se refiere a porcentajes que incluyen un 0 %, o cantidades que no se pueden detectar con los medios existentes en la actualidad. Como se usa en el presente documento, "máx" se refiere a porcentajes que incluyen un 0 %, o cantidades que no se pueden detectar con los medios existentes en la actualidad.

En algunas realizaciones, el DHA es superior a aproximadamente un 80 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 80 % a un 99,9 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 99 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 87 % a aproximadamente un 98 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria, o de aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 97 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA es superior a aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o aproximadamente un 99,5 % (p/p) del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación o dosis unitaria.

En algunas realizaciones, el DHA comprende de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 96 % del peso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA comprende de aproximadamente un

38 % a aproximadamente un 42 % del peso de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA en la forma de dosificación o dosis unitaria comprende de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 45 % del peso total de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA en la forma de dosificación o dosis unitaria comprende aproximadamente un 55 % del peso total de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA en la forma de dosificación o dosis unitaria comprende de aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 96 % del peso total de la forma de dosificación o dosis unitaria.

En algunas realizaciones, el DHA es de aproximadamente un 30 % (p/p) o más del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 99,9 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 99,9 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 60 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 50 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, de aproximadamente un 37 % a aproximadamente un 45 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, o de aproximadamente un 38 % a aproximadamente un 43 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA es superior a aproximadamente un 35 %, aproximadamente un 37 %, aproximadamente un 38 %, aproximadamente un 39 % o aproximadamente un 40 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria. En algunas realizaciones, el DHA es de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 99,5 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria, o de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 65 % (p/p) del contenido de aceite total de la forma de dosificación o dosis unitaria.

En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 50 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 50 % en peso del contenido total de ácido graso, y un contenido de EPA de aproximadamente un 3 % en peso o inferior, o un 2 % en peso o inferior, del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 40 % a un 50 % en peso del contenido total de ácido graso, y un contenido de EPA de menos de un 0,2 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 55 % a un 60 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de DHA de aproximadamente un 55 % a un 60 % en peso del contenido total de ácido graso y un contenido de EPA inferior a aproximadamente un 0,2 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas de estas realizaciones, el DHA está en forma de un triglicérido.

En las realizaciones que se describen en el presente documento, la composición de DHA que tiene una proporción de DHA con respecto a EPA superior a 4:1 en p/p se puede obtener mediante técnicas convencionales conocidas en la técnica. En algunas realizaciones, el EPA se puede retirar durante la purificación del DHA, o como alternativa, el DHA se puede obtener a partir de un organismo que produce DHA con los niveles de EPA que se describen en el presente documento, por ejemplo se selecciona un organismo de producción que produce DHA con una cantidad poco considerable de EPA. El DHA se puede purificar a diversos niveles. La purificación de DHA se puede conseguir mediante cualquier medio conocido por las personas con experiencia en la materia, y pueden incluir la extracción del aceite total de un organismo que produce DHA. En algunas realizaciones, a continuación el EPA, ARA, y/o DPA n-6 se retiran del aceite total, por ejemplo, a través de métodos de cromatografía. Como alternativa, la purificación del DHA se puede conseguir mediante la extracción del aceite total de un organismo que produce DHA, pero que produce poca, si la hubiera, cantidad de EPA, ARA, DPA n-6, y/o flavonoides. En algunas realizaciones, el aceite se puede diluir con otros aceites, tales como aceite de girasol para conseguir la concentración deseada de ácidos grasos.

Los aceites microbianos útiles en la presente invención se pueden recuperar de fuentes microbianas por cualquier medio adecuado conocido por los expertos en la materia. Por ejemplo, los aceites se pueden recuperar mediante extracción con disolventes tales como cloroformo, hexano, cloruro de metileno, metanol y similares, o mediante extracción de fluido supercrítico. Como alternativa, los aceites se pueden extraer usando técnicas de extracción, tal como se describe en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 6.750.048 y en la Publicación Internacional N.º WO 2001/053512, ambos presentados el 19 de enero de 2001, y titulados "Solventless extraction process", ambos de los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. Los procesos para la preparación de diversas formas de DHA también se describen, entre otros, en la Publicación de Estados Unidos N.º 2009/0023808 "Production and Purification of Esters of Polyunsaturated Fatty Acids" de Raman *et al.*, y en la Publicación de Estados Unidos N.º 2007/0032548 "Polyunsaturated fatty acids for treatment of dementia and pre-dementia-related conditions" de Ellis, incorporados en el presente documento por referencia.

En la Publicación Internacional N.º WO 2001/076715; Publicación Internacional N.º WO 2001/076385; Publicación de Estados Unidos N.º 2007/0004678; Publicación de Estados Unidos N.º 2005/0129739; documento de Patente de Estados Unidos N.º 6.399.803; y en la Publicación Internacional N.º WO 2001/051598; todos los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad se enseñan técnicas adicionales de extracción y/o purificación. Los aceites extraídos se pueden evaporar a presión reducida para producir una muestra de material de aceite concentrado. Los procesos para el tratamiento enzimático de biomasa para la recuperación de lípidos se

desvelan en la Publicación Internacional N.º WO 2003/092628; Publicación de Estados Unidos N.º 2005/0170479; Pub. de Pat. EP 0776356 y en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.928.696, los dos últimos con el título "Process for extracting native products which are not water-soluble from native substance mixtures by centrifugal force", todos los cuales se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad.

5 En algunas realizaciones, el DHA se puede preparar en forma de ésteres usando un método que comprende: a) hacer reaccionar una composición que comprende ácidos grasos poliinsaturados en presencia de un alcohol y una base para producir un éster de un ácido graso poliinsaturado a partir de los triglicéridos; y b) destilar la composición para recuperar una fracción que comprende el éster del ácido graso poliinsaturado, opcionalmente en el que el método comprende además: c) combinar la fracción que comprende el éster del ácido graso poliinsaturado con urea en un medio; d) enfriar o concentrar el medio para formar un precipitado que contiene urea y una fracción líquida; y e) separar el precipitado de la fracción líquida. Véase, por ejemplo, la Publicación de Estados Unidos N.º 2009/0023808, incorporada en el presente documento por referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, el proceso de purificación incluye comenzar con aceite refinado, blanqueado, y desodorizado (aceite RBD), a continuación realizar fraccionamiento a baja temperatura usando acetona para proporcionar un concentrado. El concentrado se puede obtener mediante transesterificación catalizada con base, destilación, y refinado con sílice para producir un producto final de DHA.

20 En la técnica se conocen métodos para determinar los niveles de pureza de los ácidos grasos y pueden incluir, por ejemplo, métodos de cromatografía tales como, por ejemplo, columnas de cromatografía con iones de plata de HPLC. Como alternativa, los niveles de pureza se pueden determinar mediante cromatografía de gases, con o sin conversión del DHA en el éster de alquilo correspondiente. El porcentaje de ácidos grasos también se puede determinar usando análisis de Éster de Metilo de Ácido Graso (FAME).

25 En algunas realizaciones, los ésteres de DHA se pueden obtener a partir de aceite sin diluir de un microorganismo unicelular, y en algunas realizaciones, a partir de DHASCO-T® sin diluir (Martek Biosciences Corporation, Columbia, MD). En algunas realizaciones, el aceite al partir del que se pueden obtener las composiciones de DHA incluye aceites de microorganismos unicelular es que se fabrican mediante un proceso de fermentación controlada seguido de extracción y purificación del aceite usando métodos comunes en la industria de aceites vegetales. En ciertas realizaciones, las etapas de extracción y purificación del aceite pueden incluir refinado, blanqueado y desodorización. En algunas realizaciones, el aceite de DHA sin diluir comprende de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 50 % de DHA en peso (aproximadamente 400-500 mg de DHA/g de aceite). En ciertas realizaciones, el aceite de DHA sin diluir se puede enriquecer mediante fraccionamiento en frío (dando como resultado un aceite que contiene aproximadamente un 60 % p/p de triglicérido de DHA), cuya fracción de DHA se puede transesterificar opcionalmente, y se puede someter a un procesamiento adicional corriente abajo para producir el DHA activo de la invención. En algunas realizaciones de la invención, el procesamiento corriente abajo del aceite comprende destilación y/o refinado con sílice.

40 Por lo tanto, para producir aceite a partir del que se pueda obtener DHA, en ciertos aspectos, se pueden usar las siguientes etapas: fermentación de un microorganismo productor de DHA; recolección de la biomasa; secado por pulverización de la biomasa; extracción del aceite de la biomasa; refinado del aceite; blanqueado del aceite; filtración del aceite; desodorizado del aceite; y adición de un antioxidante al aceite. En algunas realizaciones, el cultivo de microorganismos se puede transferir de forma progresiva desde fermentadores de menor escala a un fermentador de tamaño de producción. En algunas realizaciones, después de un crecimiento controlado durante un periodo de tiempo establecido previamente, el cultivo se puede cosechar mediante centrifugación y a continuación se puede pasteurizar y liofilizar. En ciertas realizaciones, la biomasa seca se puede purgar con nitrógeno y envasar antes de su almacenamiento congelada a -20 °C. En ciertas realizaciones, el aceite de DHA se puede extraer de la biomasa seca mezclando la biomasa con n-hexano o isohexano en un proceso discontinuo que interrumpe las células y que permite separar el aceite y los residuos celulares. En determinadas realizaciones, el disolvente se puede retirar a continuación.

50 En algunas realizaciones, el aceite de DHA en bruto se puede someter a continuación a un proceso de refinado para retirar ácidos grasos libres y fosfolípidos. El aceite de DHA refinado se puede transferir a un recipiente de blanqueado al vacío para ayudar a eliminar cualquier resto de compuestos polares y metales pro-oxidantes y descomponer los productos de oxidación de lípidos. El aceite de DHA refinado y blanqueado se puede someter a una etapa de eliminación final enfriando y filtrando el aceite para facilitar la retirada de cualquier grasa, ceras y sólidos insolubles.

60 Opcionalmente, el DHA se puede desodorizar al vacío en una columna empaquetada, con agente desodorante de extracción con vapor a contracorriente. Opcionalmente se pueden añadir antioxidantes tales como palmitato de ascorbilo, alfa-tocoferol y tocotrienoles al aceite desodorizado para ayudar a estabilizar el aceite. En algunas realizaciones, el aceite final de DHA sin diluir se mantiene congelado a -20 °C hasta su procesamiento adicional.

65 En algunas realizaciones, el aceite de DHA se puede convertir en éster de DHA por métodos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, los ésteres de DHA de la invención se pueden producir del aceite de DHA por los pasos siguientes: fraccionamiento en frío y filtración del aceite de DHA (para el por ejemplo sobre el aceite del

triglicérido del 60%); transesterificación directa (para producir alrededor del 60% de DHA éster de etilo); destilación molecular (para producir aproximadamente un 88% de DHA y éster de etilo); refinado de sílice (para producir alrededor del 90% de DHA éster de etilo); y adición de un antioxidante.

5 En algunas realizaciones, la etapa de fraccionamiento en frío se puede realizar como sigue a continuación: el aceite de DHA sin diluir (triglicérido) a aproximadamente 500 mg/g de DHA se mezcla con acetona y se enfría a una velocidad controlada en un tanque con capacidades de enfriamiento de -80 °C. Los triglicéridos saturados cristalizan a partir de la solución, mientras que los triglicéridos poliinsaturados a aproximadamente 600 mg/g de DHA permanecen en estado líquido. Los sólidos que contienen aproximadamente 300 mg/g se pueden retirar por filtración con un tamiz de acero inoxidable de 20 micrómetros de la corriente líquida que contiene aproximadamente 600 mg/g de DHA. A continuación la corriente de sólidos se puede calentar (fundir) y recoger. El disolvente de los 600 mg/g de la corriente líquida de DHA se puede retirar con calor y vacío y a continuación se puede transferir al reactor de transesterificación.

15 En algunas realizaciones, la etapa de transesterificación se realiza en los 600 mg/g de aceite de DHA, en el que la transesterificación se realiza mediante transesterificación directa usando etanol y etóxido sódico. El material transesterificado (éster de etilo de DHA) se puede someter a continuación a destilación molecular y de ese modo se puede destilar adicionalmente (3 pases, pesados, ligeros, pesados) para retirar la mayor parte de los otros ácidos grasos saturados y algunos esteroides y material no saponificable. El éster de etilo de DHA (DHA-EE) se puede refinar adicionalmente haciéndolo pasar a través de una columna de sílice.

Los ácidos grasos libres con DHA (DHA-FFA) se pueden preparar usando, por ejemplo, los aceites que contienen DHA que se han descrito anteriormente. En algunas realizaciones, el DHA-FFA se puede obtener a partir de ésteres de DHA. Los triglicéridos con DHA, por ejemplo, se pueden saponificar seguido por una etapa de aducción de urea para preparar ácidos grasos libres.

En las composiciones y métodos que se describen en el presente documento se puede usar cualquier fuente de DHA, incluyendo, por ejemplo, fuentes de animales, plantas y microbianas. Los ejemplos de fuentes animales incluyen animales acuáticos (por ejemplo, peces, mamíferos marinos, crustáceos, rotíferos, etc.) y lípidos extraídos de tejidos animales (por ejemplo, cerebro, hígado, ojos, etc.). Los ejemplos de fuentes vegetales incluyen macroalgas, semillas de lino, semillas de colza, maíz, onagra, soja y borraja. Los ejemplos de microorganismos incluyen microalgas, protistas, bacterias y hongos (incluyendo levadura). Por ejemplo, el DHA se puede purificar a partir de aceite de pescado, aceite vegetal, aceite de semillas, u otros aceites de origen natural de modo que la proporción de DHA con respecto a EPA esté dentro del alcance que se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la fuente de DHA puede ser una planta modificada genéticamente o un microorganismo modificado genéticamente manipulado para producir DHA.

En algunas realizaciones, la composición de DHA es un aceite microbiano o se obtiene a partir de un aceite microbiano. "Aceite microbiano" se refiere a los aceites producidos de forma natural por microorganismos. "Obtenido a partir de" se refiere a una modificación del aceite microbiano, tal como ésteres preparados a partir del aceite microbiano; componentes aislados o purificados del aceite microbiano; u otro procesamiento del aceite microbiano, tal como concentración del aceite, para alterar el porcentaje de peso de un componente del aceite microbiano. Los microbios a modo de ejemplo a partir de los que se puede obtener el aceite microbiano, incluyen, entre otros, los grupos microbianos Estramenópilos, Traustoquítridos, y Labirintúlidos. Los Estramenópilos incluyen microalgas y microorganismos similares a algas, incluyendo los siguientes grupos de microorganismos: Hamatores, Proteromonadales, *Opalines*, *Develpayella*, *Diplophrys*, Labirintúlidos, Labirintúlidos, Biosécidos, Oomicetos, Hipoquitridiomicetos, *Commation*, *Reticulosphaera*, *Pelagomonas*, *Pelagococcus*, *Ollicola*, *Aureococcus*, Parmales, Diatomeas, Xantófitos, Feófitos (algas marrones), Eustigmatófitos, Rafidófitos, Sinúridos, Axodines (incluyendo Rizocromulinales, Pedinelales, Dictiocales), Crisomeridales, Sarcinocrisidales, Hidrurales, Hibberdiales, y Cromulinales. Los Labirintúlidos incluyen los géneros *Schizochytrium* (las especies incluyen *aggregatum*, *limnaceum*, *mangrovei*, *minutum*, *octosporum*), *Thraustochytrium* (las especies incluyen *arudimentale*, *aureum*, *benthicola*, *globosum*, *kinnei*, *motivum*, *multirudimentale*, *pachydermum*, *proliferum*, *roseum*, *striatum*), *Ulkenia* (las especies incluyen *amoeboidea*, *kerquelensis*, *minuta*, *profunda*, *radiata*, *sailens*, *sarkariana*, *schizochytrids*, *visurgensis*, *yorkensis*), *Aplanochytrium* (las especies incluyen *haliotidis*, *kerquelensis*, *profunda*, *stocchinoi*), *Japonochytrium* (las especies incluyen *marinum*), *Althornia* (las especies incluyen *crouchii*), y *Elina* (las especies incluyen *marisalba*, *sinorifica*). Los Labirintúlidos incluyen los géneros *Labyrinthula* (las especies incluyen *algeriensis*, *coenocystis*, *chattonii*, *macrocystis*, *macrocystis atlantica*, *macrocystis macrocystis*, *marina*, *minuta*, *roscofensis*, *valcanovii*, *vitellina*, *vitellina pacifica*, *vitellina vitellina*, *zopfi*) *Labyrinthomyxa* (las especies incluyen *marina*) *Labyrinthuloides* (las especies incluyen *haliotidis*, *yorkensis*), *Diplophrys* (las especies incluyen *archeri*), *Pirrhosorus** (las especies incluyen *marinus*), *Sorodiplophrys** (las especies incluyen *stercorea*), y *Chlamydomyxa** (las especies incluyen *labyrinthuloides*, *montana*) (* = en la actualidad no existe un consenso general sobre la colocación taxonómica exacta de estos géneros).

En algunas realizaciones, la fuente de aceite microbiano son microorganismos oleaginosos, tales como ciertas algas marinas. Como se usa en el presente documento, los "microorganismos oleaginosos" se definen como microorganismos capaces de acumular más de un 20 % del peso seco de sus células en forma de lípidos. En

algunas realizaciones, el DHA se obtiene o se consigue a partir de un organismo unicelular u organismo pluricelular fototrófico o heterotrófico, por ejemplo, un alga. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el aceite microbiano es un aceite de algas. Por ejemplo, el DHA se puede obtener o se puede conseguir a partir de una diatomea, por ejemplo, un dinoflagelado marino (algas), tal como *Cryptothecodinium sp.*, *Thraustochytrium sp.*, *Schizochytrium sp.*, o combinaciones de los mismos. Las muestras de *C. cohnii*, a modo de ejemplo, se han depositado en la Colección Americana de Cultivos Tipo en Rockville, MD, y se les ha asignado los números de registro 40750, 30021, 30334-30348, 3054130543, 30555-30557, 30571, 30572, 30772-30775, 30812, 40750, 50050-50060, y 50297-50300.

Como se usa en el presente documento, el término microorganismo, o cualquier tipo específico de organismo, incluye tipos de cepas silvestres, mutantes o recombinantes. Los organismos que pueden producir un aumento en el nivel de aceite que contiene DHA se consideran dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, anteriormente se ha descrito el cultivo de dinoflagelados tales como *C. cohnii*. Véase, por ejemplo, el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.492.938 y Henderson *et al.*, *Phytochemistry* 27: 1679-1683 (1988). Amén están incluidos los microorganismos diseñados para usar sustratos más rentables de forma eficaz a la vez que producen la misma cantidad de DHA que las cepas de tipo silvestre comparables.

Los organismos útiles en la producción de DHA también pueden incluir cualquier forma de organismo transgénico u otros organismos modificados genéticamente, tal como una planta modificada genéticamente o un microorganismo modificado genéticamente manipulados para producir DHA. Por ejemplo, plantas cultivadas ya sea en fermentación en cultivo o en plantas de cultivo, por ejemplo, cereales tales como maíz, cebada, trigo, arroz, sorgo, mijo perla, maíz, centeno y avena; o judías, soja, pimientos, lechuga, guisantes, especies de *Brassica* (por ejemplo, repollo, brócoli, coliflor, coles de Bruselas, colza y rábano), zanahoria, remolachas, berenjena, espinaca, pepino, calabaza, melones, melón cantalupo, girasoles, cártamo, canola, lino, cacahuete, mostaza, colza, garbanzo, lentejas, trébol blanco, aceituna, palma, borraja, onagra, linaza y tabaco. En algunas realizaciones, el DHA se obtiene a partir de una fuente de soja, incluyendo fuentes de soja de tipo silvestre y modificadas genéticamente.

En algunas realizaciones, el DHA se puede purificar en forma de ácidos grasos libres, ésteres de ácido graso, fosfolípidos, triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos o combinaciones de los mismos mediante cualquier medio conocido por las personas con experiencia en la materia. En algunas realizaciones, el DHA comprende un éster. El término "éster" se refiere a la sustitución del hidrógeno en el grupo ácido carboxílico de la molécula de DHA con otro sustituyente. Los expertos de la materia conocen ésteres habituales, una discusión de los cuales la proporcionan Higuchi, T. y V. Stella en "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14, A.C.S. Symposium Series, Bioreversible Carriers in Drug Design, Ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association, Pergamon Press (1987), y en *Protective Groups in Organic Chemistry*, McOmie ed., Plenum Press, New York (1973). En algunas realizaciones, el éster es un éster de alquilo. Los ejemplos de los ésteres más habituales incluyen ésteres en C1-C6, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, o variaciones ramificadas de los mismos, por ejemplo, isopropilo, isobutilo, isopentilo, o t-butilo. En algunas realizaciones, el éster es un grupo éster protector de ácido carboxílico, ésteres con aralquilo (por ejemplo, bencilo, fenetilo), ésteres con alqueno inferior (por ejemplo, alilo, 2-butenilo), ésteres con alcoxi inferior-alquilo inferior (por ejemplo, metoximetilo, 2-metoxietilo, 2-etoxietilo), ésteres con alcanoiloxi inferior-alquilo inferior (por ejemplo, acetoximetilo, pivaloiloximetilo, 1-pivaloiloxietilo), ésteres con alcoxicarbonil inferior-alquilo inferior (por ejemplo, metoxicarbonilmetilo, isopropoxicarbonilmetilo), ésteres con carboxi-alquilo inferior (por ejemplo, carboximetilo), ésteres con alcoxicarboniloxi inferior-alquilo inferior (por ejemplo, 1-(etoxicarboniloxi)etilo, 1-(ciclohexiloxicarboniloxi)etilo), ésteres con carbamoiloxi-alquilo inferior (por ejemplo, carbamoiloximetilo), y similares.

En algunas realizaciones, el sustituyente añadido es un grupo hidrocarburo cíclico, por ejemplo, cicloalquilo en C1-C6, o éster de arilo en C1-C6. Otros ésteres incluyen nitrobencilo, metoxibencilo, benzhidrido, y tricloroetilo. En algunas realizaciones, el sustituyente de éster se añade a una molécula de ácido libre de DHA cuando el DHA se encuentra en un estado purificado o semipurificado. Como alternativa, el éster de DHA se forma después de la conversión de un triglicérido en un éster. Alguien con experiencia en la materia puede observar que algunas moléculas de DHA no esterificadas pueden estar presentes en las composiciones de DHA, por ejemplo, moléculas de DHA que no se han esterificado, o uniones de éster de triglicérido de DHA que se han escindido, por ejemplo, hidrolizado. En algunas realizaciones, las moléculas de DHA no esterificadas o las moléculas de triglicérido de DHA constituyen menos de un 3 % (mol/mol), de aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 2 % (mol/mol), de aproximadamente un 0,05 % a aproximadamente un 1 % (mol/mol), o de aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 0,5 % (mol/mol) de las moléculas de DHA totales. En algunas realizaciones, la cantidad de éster de etilo de DHA en las composiciones puede ser de al menos aproximadamente un 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, o un 99 % en peso.

En algunas realizaciones, el DHA de la presente invención es un triglicérido, diglicérido o monoglicérido. Un "triglicérido" es un glicérido en el que el glicerol está esterificado con tres grupos de ácido graso. Los triglicéridos habituales son conocidos por los expertos en la materia. En algunas realizaciones, el DHA está en forma de un triglicérido o un diglicérido, en el que uno o más grupos de ácido graso distintos del DHA están presentes en el triglicérido o diglicérido. En algunas realizaciones, el DHA es el único grupo de ácido graso en una molécula de triglicérido o diglicérido. En algunas realizaciones, uno o más grupos de ácido graso de un triglicérido se han hidrolizado, o escindido.

En algunas realizaciones, el DHA de la presente invención está en forma de ácido graso libre. "Ácido graso libre" se refiere a compuestos de ácido graso en su estado ácido, y derivados de sal de los mismos.

5 En algunas realizaciones, el DHA se puede purificar en forma de ácidos grasos libres, ésteres de ácido graso, fosfolípidos, o triglicéridos mediante cualquier medio conocido por las personas con experiencia en la materia. Los procesos para la preparación de diversas formas de DHA se describen, entre otros, en la Publicación de Estados Unidos N.º 2009/0023808 "Production and Purification of Esters of Polyunsaturated Fatty Acids" de Raman *et al.*, y en la Publicación de Estados Unidos N.º 2007/0032548 "Polyunsaturated fatty acids for treatment of dementia and pre-dementia-related conditions" de Ellis, incorporadas en el presente documento por referencia. Como se usa en el presente documento, "éster" se refiere a una molécula en la que el hidrógeno en el grupo ácido carboxílico de la molécula de DHA se ha reemplazado por otro sustituyente. Los ejemplos de ésteres habituales incluyen metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, t-butilo, bencilo, nitrobencilo, metoxibencilo, benzhidrido, y tricloroetilo. En algunas realizaciones, el éster es un éster de alquilo, por ejemplo, un éster de metilo, éster de etilo o éster de propilo. En algunas realizaciones, el sustituyente de éster se añade a la molécula de ácido libre de DHA cuando el DHA se encuentra en un estado purificado o semipurificado. Como alternativa, el éster de DHA se forma después de la conversión de un triglicérido en un éster. En algunas realizaciones, la cantidad de éster de alquilo de DHA en las composiciones puede ser de al menos aproximadamente un 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, o un 99 % en peso. En algunas realizaciones, el éster de alquilo de DHA representa al menos aproximadamente un 85 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición. En ciertas realizaciones, el éster de alquilo de DHA representa de aproximadamente un 85 % a un 96 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la composición tiene un contenido de éster de alquilo de DHA de aproximadamente un 85 % a un 96 % en peso del contenido total de ácido graso, y un contenido de EPA de aproximadamente un 0,1 % en peso o inferior del contenido total de ácido graso. En ciertas realizaciones, el éster de alquilo de DHA es un éster de etilo.

25 Alguien con experiencia en la materia observar que algunas moléculas de DHA no esterificadas pueden estar presentes en la composición, por ejemplo, moléculas de DHA que no se han esterificado, o uniones de éster de DHA que se han escindido, por ejemplo, hidrolizado. En algunas realizaciones, las moléculas de DHA no esterificadas constituyen menos de un 3 % (mol/mol), de aproximadamente un 2 % a aproximadamente un 0,01 % (mol/mol), de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 0,05 % (mol/mol), o de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 0,1 % (mol/mol) de las moléculas de DHA totales. Como alternativa, en algunas realizaciones, el DHA se puede purificar en la forma de ácido libre o en una forma de sal.

35 Un método a modo de ejemplo para producir un éster de DHA puede comprender: a) hacer reaccionar la composición que comprende DHA en presencia de un alcohol y una base para producir un éster de un ácido graso poliinsaturado a partir del DHA en triglicéridos; y b) destilar la composición para recuperar una fracción que comprende el éster del ácido graso poliinsaturado, opcionalmente en el que el método comprende adicionalmente: c) combinar la fracción que comprende el éster del ácido graso poliinsaturado con urea en un medio; d) enfriar o concentrar el medio para formar un precipitado que contiene urea y una fracción líquida; y e) separar el precipitado de la fracción líquida. En algunas realizaciones, el proceso de purificación incluye comenzar con aceite refinado, blanqueado, y desodorizado (aceite RBD), a continuación realizar fraccionamiento a baja temperatura usando acetona para proporcionar un concentrado. Véase la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 12/163. 555, que se incorpora en el presente documento por referencia. El concentrado se puede obtener mediante transesterificación catalizada con base, destilación, y refinado con sílice para producir un producto de DHA.

45 Como se ha indicado anteriormente, en la técnica se conocen métodos para determinar los niveles de pureza de los ácidos grasos, y pueden incluir, por ejemplo, métodos cromatográficos tales como, por ejemplo, columnas de cromatografía con iones de plata de HPLC. Como alternativa, los niveles de pureza se pueden determinar mediante cromatografía de gases, con o sin conversión del DHA en el éster de alquilo correspondiente. El porcentaje de ácidos grasos también se puede determinar usando análisis de Éster de Metilo de Ácido Graso (FAME).

50 En algunas realizaciones, la composición de DHA puede incluir un lípido adicional. Como se usa en el presente documento, el término "lípido" incluye fosfolípidos (PL); ácidos grasos libres; ésteres de ácidos grasos; triacilgliceroles (TAG); diacilglicéridos; monoacilglicéridos; fosfátidos; ceras (ésteres de alcoholes y ácidos grasos); esteroides y ésteres de esteroles; carotenoides; xantófilas (por ejemplo, xantófilas (por ejemplo, oxicarotenoides); hidrocarburos; y otros lípidos conocidos por alguien con una experiencia habitual en la materia. El lípido se puede elegir para que tenga efectos adversos mínimos en la salud o para que influya de forma mínima en la eficacia del DHA cuando se administra en combinación con DHA.

60 En algunas realizaciones, la composición de DHA puede incluir un lípido insaturado adicional. En algunas realizaciones, el lípido insaturado es un lípido poliinsaturado, tal como otro ácido graso omega-3 o un ácido graso omega-6. Un ácido graso omega-6 a modo de ejemplo que se puede usar en la composición es el ácido docosapentaenoico (DPA), incluyendo DPA n-6 o DPA n-3.

65 En algunas realizaciones la forma de dosificación comprende de un 0,1 % a un 20 % de uno o más de los siguientes ácidos grasos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico; (e) ácido palmitoleico; (f) ácido esteárico; (g) ácido oleico; (h) ácido linoleico; (i) ácido α -linolénico; (j) DPA n-3 (22:5, n-3); (k) DPA n-6 (22:5, n-

6); y (1) ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctanoico (C28:8). En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende de un 1 % a un 5 % de uno o más de los siguientes ácidos grasos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico; (e) ácido palmitoleico; (f) ácido esteárico; (g) ácido oleico; (h) ácido linoleico; (i) ácido α -linolénico; (j) DPA n-3 (22:5, n-3); (k) DPA n-6 (22:5, n-6); y (1) ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctanoico (C28:8). En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende menos de un 1 % de cada uno de los siguientes ácidos grasos: (a) ácido cáprico; (b) ácido láurico; (c) ácido mirístico; (d) ácido palmítico; (e) ácido palmitoleico; (f) ácido esteárico; (g) ácido oleico; (h) ácido linoleico; (i) ácido α -linolénico; (j) ácido docosapentaenoico 22:5 n-3, 22:5 w3 (DPA n-3); (k) ácido docosapentaenoico 22:5 n-6, 22:5 w6 (DPA n-6); y (1) ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctanoico (C28:8).

En algunas realizaciones, la composición de DHA puede comprender DHASCO®. DHASCO® es un aceite obtenido a partir de *Cryptocodinium cohnii* que contiene cantidades elevadas de ácido docosahexanoico (DHA), y que de forma más específica contiene las siguientes cantidades aproximadas a modo de ejemplo de estos ácidos grasos, como un porcentaje de los ácidos grasos totales: un 10-20 % de ácido mirístico (14:0); un 10-20 % de ácido palmítico (16:0); un 0-2 % de ácido palmitoleico (16:1); un 0-2 % de ácido esteárico (18:0); un 10-30 % de ácido oleico (18:1); un 0-5 % de ácido linoleico (18:2); un 0-1 % de ácido araquídico (20:0); un 0-1 % de ácido behénico (22:0); un 0-1 % de ácido docosapentaenoico (22:5); un 40-45 % de ácido docosahexanoico (22:6) (DHA); un 0-2 % de ácido nervónico (24:1); y otros en un 0-3 %. La composición de DHASCO también la describen Kyle *et al.*, en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.397.591, Kyle *et al.*, en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.407.957, Kyle *et al.*, en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.492.938, y Kyle *et al.*, en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.711.983; cuyas referencias se incorporan en el presente documento por referencia. Como entenderá la persona con experiencia, el contenido de diversos componentes puede variar debido a variaciones en los procesos de fabricación, con variaciones del contenido de DHA que son de aproximadamente un 40 % a un 50 % en peso del contenido total de ácido graso. En algunas realizaciones, la proporción de DPA n-6 con respecto a EPA es de aproximadamente 6:1 a aproximadamente 7:1 en p/p, y la proporción de DHA con respecto a DPA n-6 es de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 3:1 en p/p.

Como alternativa, en algunas realizaciones, la composición de DHA puede comprender DHA™ de Life (también denominado anteriormente DHA™-S y DHASCO®-S), un aceite obtenido a partir del Traustoquitrido, *Schizochytrium sp.*, que contiene una cantidad elevada de DHA y que también contiene ácido docosapentaenoico (n-6) (DPA n-6).

De forma más específica, el DHA™-S contiene las siguientes cantidades a modo de ejemplo aproximadas de estos ácidos grasos, como un porcentaje de ácidos grasos totales: ácido mirístico (14:0) 8,71 %; ácido palmítico (16:0) 22,15 %; ácido esteárico (18:0) 0,66 %; ácido linoleico (18:2) 0,46 %; ácido araquidónico (20:4) 0,52 %; ácido eicosapentaenoico (20:5, n-3) 1,36 %; ácido docosapentaenoico (22:5, n-6) (DPA n-6) 16,28 %; ácido docosahexanoico (DHA) (22:6, n-3) 41,14 %; y otros 8 %. Las características de DHASCO®-S también se describen en Ryan *et al.*, Amer. J. Therapeutics 16: 183-192(2009), que se incorpora en el presente documento por referencia. Como alguien con experiencia entenderá, el contenido de diversos componentes puede variar debido a variaciones en los procesos de fabricación, con variaciones del contenido de DHA que varían de aproximadamente un 40 % a un 50 % en peso del contenido total de ácido graso. Los ésteres de alquilo de DHA también se describen en la Solicitud de Estados Unidos N.º 12/572.263, presentada el 1 de octubre de 2009, que se incorpora en el presente documento por referencia. Los ésteres de alquilo de DHA se pueden preparar mediante técnicas conocidas en la técnica, tal como en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 6.395.778, que se incorpora en el presente documento por referencia.

En algunas realizaciones, la composición comprende DHA en forma de un éster de etilo obtenido a partir de *Cryptocodinium cohnii*, con el éster representando aproximadamente un 89 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición. De forma más específica, las composiciones contienen las siguientes cantidades a modo de ejemplo de los siguientes ésteres de ácido graso (es decir, ésteres de etilo) en peso: ácido docosahexanoico (22:6 w3) 89 %; ácido mirístico (14:0) 0,1 %; ácido palmítico (16:0) 0,48 %; ácido palmitoleico (16:1 w7) 0,39 %; ácido oleico (18:1 w9) 3,9 %; ácido docosapentaenoico (22:5 w3) 1,26 %; ácido octacosaoctanoico (28:8 w3) 0,87 %; ácido tetracosanoico (24:1 w9) 0,29 %; y otros 4,87 %. El EPA no se puede detectar con métodos conocidos para medir el EPA. Como entenderá la persona con experiencia, el contenido de diversos componentes puede variar debido a variaciones en los procesos de fabricación, con variaciones del contenido de éster de etilo de DHA que varían de un 85 % a un 96 % en peso del contenido total de ácido graso.

En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende, medido en porcentaje de peso del contenido de ácido graso libre total, aproximadamente un 35-65 %, un 40-55 %, un 35-57 %, o un 57-65 % de DHA (22:6 n-3); aproximadamente un 0-2 % de ácido cáprico (10:0); aproximadamente un 0-6 % de ácido láurico (12:0); aproximadamente un 10-20 % de ácido mirístico (14:0); aproximadamente un 5-15 % de ácido palmítico (16:0); aproximadamente un 0-5 % de ácido palmitoleico (16:1); aproximadamente un 0-2 % de ácido esteárico (18:0); aproximadamente un 5-20 % o un 5-25 % de ácido oleico (18:1); aproximadamente un 0-2 % de ácido linoleico (18:2); y aproximadamente un 0-2 % de ácido nervónico (24:1 n-9). En ciertas realizaciones, un aceite de este tipo se obtiene a partir de un microorganismo del género *Thraustochytrium*. En otras realizaciones, el contenido de ácido graso libre es inferior a un 0,4 %. En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende, medido en porcentaje de peso del contenido de ácido graso libre total, aproximadamente un 35-45 % de DHA (22:6 n-3);

- aproximadamente un 0-2 % de ácido láurico (12:0); aproximadamente un 5-10 % de ácido mirístico (14:0); aproximadamente un 5-20 % de ácido palmítico (16:0); aproximadamente un 0-5 % de ácido palmitoleico (16:1); aproximadamente un 0-5 % de ácido esteárico (18:0); aproximadamente un 0-5 % de ácido vaccénico o ácido oleico (18:1 n-7 y n-9, respectivamente); aproximadamente un 0-2 % de ácido linoleico (18:2, n-6); aproximadamente un 0-5 % de ácido estearidónico (18:4 n-3); aproximadamente un 0-10 % de 20:4 n-3, n-5, o n-6; aproximadamente un 0-2 % de ácido adrénico 22:4 n-6; aproximadamente un 0-5 % de DPA n-3 (22:5); aproximadamente un 10-25 % de DPA n-6 (22:5); y 0-2 % de 24:0. En algunas realizaciones, un aceite de este tipo se obtiene a partir de un microorganismo del género *Schizochytrium*.
- 10 Un DHA a modo de ejemplo (triglicérido) que contiene aceite obtenido a partir de *Schizochytrium* sp., se caracteriza por la cantidad especificada de componentes que se enumeran en la Tabla 4, en la que "Máx" se refiere a la cantidad del componente que puede estar presente hasta la cantidad especificada.

Tabla 4

ÁCIDOS GRASOS	CONCENTRACIÓN (P/P)
14:0	6,0 %-12,0 %
16:0	18 %-28 %
18:0	MÁX 2 %
18:1	MÁX 8 %
18:2	MÁX 2 %
20:4	ARA MÁX 2 %
20:5 (N-3) EPA	MÁX 3 %
22:5 (N-6) DPA	12 %-18 %
22:6 (N-3) DHA	MIN 35 %
OTROS	MÁX 10 %
COMPOSICIÓN ELEMENTAL	
ARSÉNICO	MÁX 0,2 PPM
COBRE	MÁX 0,05 PPM
HIERRO	MÁX 0,2 PPM
PLOMO	MÁX 0,1 PPM
MERCURIO	MÁX 0,04 PPM
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	
VALOR DE PERÓXIDO	MÁX 5 MEQ/KG
ÁCIDOS GRASOS LIBRES	MÁX 0,25 %
HUMEDAD Y COMPUESTOS VOLÁTILES	MÁX 0,05 %
MATERIA INSAPONIFICABLE	MÁX 4,5 %
ÁCIDOS GRASOS TRANS	MÁX 1 %

- 15 En algunas realizaciones, las composiciones que contienen DHA pueden comprender al menos aproximadamente un 40 % en peso de DHA y al menos aproximadamente un 0,1 % en peso de ácido 4,7,10,13,16,19,22,25 octacosaoctanoico (C28:8). En algunas realizaciones, las composiciones comprenden al menos aproximadamente un 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, un 65 % en peso de DHA, opcionalmente en forma de triglicérido, como un porcentaje de ácidos grasos totales. En otras realizaciones, las composiciones comprenden al menos aproximadamente un 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, o un 99 % en peso de DHA, opcionalmente en forma de éster de etilo, como un porcentaje de ácidos grasos totales. En ciertas realizaciones, la cantidad de C28:8 en las composiciones puede ser de al menos aproximadamente un 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4 o un 1,5 % en peso. El C28:8 puede estar presente en cualquier forma, incluyendo la forma de triglicérido o éster.
- 20 Por ejemplo, el C28:8 puede estar presente en forma de éster de etilo. En ciertas realizaciones, las composiciones comprenden los tres, DHA, C28:8 y DPA n-3 en los intervalos de concentración especificados anteriormente.
- 25

La presente invención también proporciona composiciones que comprenden al menos aproximadamente un 40 % en peso de DHA y al menos aproximadamente un 0,1 % en peso de DPA n-3. En algunas realizaciones, las

ES 2 643 628 T3

composiciones comprenden al menos aproximadamente un 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, un 65 % en peso de DHA, opcionalmente en forma de triglicérido, como un porcentaje de ácidos grasos totales. En otras realizaciones, las composiciones comprenden al menos aproximadamente un 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, o un 99 % en peso de DHA, opcionalmente en forma de éster de etilo, como un porcentaje de ácidos grasos totales. En ciertas realizaciones, la cantidad de DPA n-3 en las composiciones puede ser al menos aproximadamente un 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, o un 1,0 % en peso de DPA n-3. El DPA n-3 puede estar presente en forma de triglicérido o éster. Por ejemplo, el DPA n-3 puede estar presente en forma de éster de etilo.

En ciertas realizaciones, las composiciones comprenden los tres, DHA, C28:8 y DPA n-3 en los intervalos de concentración especificados anteriormente.

En otras realizaciones, las composiciones pueden comprender menos de aproximadamente un 1,0, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, o un 0,1 % en peso de EPA además de DHA y C28:8. En una realización, las composiciones pueden comprender menos de aproximadamente un 0,25 % en peso de EPA. El EPA puede estar presente en cualquier forma, incluyendo la forma de triglicérido o éster. En algunas realizaciones, las composiciones pueden comprender un 0 % en peso de EPA.

La presente invención también proporciona composiciones que comprenden un al menos aproximadamente un 90 % en peso de DHA y al menos un ácido graso adicional o un derivado del mismo. En algunas realizaciones, la cantidad de DHA en las composiciones puede ser de al menos aproximadamente un 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, o un 99 % en peso. En ciertas realizaciones, el ácido graso adicional puede tener un punto de ebullición de aproximadamente 150-170 °C a una presión de 0,8 mm de Hg.

Un aceite que contiene DHA a modo de ejemplo obtenido a partir del aceite de algas de *Cryptocodinium Cohnii*, en el que el DHA comprende un éster de etilo, se puede caracterizar por la cantidad especificada de componentes que se enumeran en la Tabla 5, en la que "Máx" se refiere a la cantidad del componente que puede estar presente hasta la cantidad especificada.

Tabla 5

CONTENIDO DE DHA (MG/G)	855-945
CONTENIDO DE ÁCIDO GRASO: % DE EE TOTAL	
ÁCIDO EICOSAPENTAENOICO (20:5,3)	ND
ÁCIDO MIRÍSTICO (14:0)	0,1 %
ÁCIDO PALMÍTICO (16:0)	0,5 %
ÁCIDO PALMITOLEICO (16:1,7)	0,4 %
ÁCIDO ESTEÁRICO (18:0)	ND
ÁCIDO OLEICO (18:1,9)	4 %
ÁCIDO LINOLEICO (18:2,6)	ND
ÁCIDO DOCOSAPENTAENOICO (22:5,3)	1,3 %
ÁCIDO OCTACOSAENICO (28:8,3)	0,9 %
ÁCIDO TETRACOSAENOICO (24:1,9)	0,3 %
OTROS	1,1 %
COMPOSICIÓN ELEMENTAL	
ARSÉNICO	MÁX 0,5 PPM
COBRE	MÁX 0,1 PPM
HIERRO	MÁX 0,5 PPM
PLOMO	MÁX 0,2 PPM
MERCURIO	MÁX 0,04 PPM
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	
VALOR DE PERÓXIDO	MÁX 10,0 MEQ/KG

ND = NO DETECTABLE

En algunas realizaciones, un aceite se caracteriza por uno o más de los siguientes ácidos grasos (o ésteres de los mismos), expresado como % en peso del contenido total de ácido graso. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 12 % o menos, o de aproximadamente un 6 % a aproximadamente un 12 % (p/p) de ácido mirístico (C14:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 28 % o menos, o de aproximadamente un 18 a aproximadamente un 28 % (p/p) de ácido palmítico (C16:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido esteárico (C18:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 8 % o menos de (p/p) ácido oleico (C18:1 n-9). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido linoleico (C18:2). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido araquidónico (C20:4). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 3 % o menos (p/p) de ácido eicosapentaenoico (C20:5). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 18 % o menos, o de aproximadamente un 12 % a aproximadamente un 18 % (p/p) de ácido decosapentaenoico (22:5 n-6). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 10 % o menos (p/p) de otros ácidos grasos. En algunas de estas realizaciones, la proporción de % en peso de DHA con respecto al % en peso de DPA n-6 es de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 2,7. Un aceite con las características precedentes puede comprender DHA™ de Life (también denominado anteriormente DHA™-S y DHASCO®-S), Martek Biosciences, Columbia, MD), un aceite obtenido a partir del Traustoquítrido, *Schizochytrium sp.*, que contiene una cantidad elevada de DHA y que también contiene ácido docosapentaenoico (n-6) (DPA n-6).

La presente invención incluye adicionalmente composiciones que comprenden al menos aproximadamente un 70 % en peso de DHA y al menos aproximadamente un 15, 20, o un 25 % en peso de DPA n-6.

Las composiciones de la presente invención también incluyen composiciones que comprenden al menos aproximadamente un 90 % en peso de una combinación de DPA n-6 y DHA. En ciertas realizaciones, las composiciones pueden comprender al menos aproximadamente un 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, o un 99 % en peso de una combinación de DPA n-6 de DHA. En algunas realizaciones, las composiciones pueden comprender al menos aproximadamente un 10 % en peso de DHA y al menos aproximadamente un 10 % en peso de DPA n-6. En otras realizaciones, las composiciones pueden comprender al menos aproximadamente un 15 o un 20 % en peso de DHA y al menos aproximadamente un 15 o un 20 % en peso de DPA n-6.

La presente invención también proporciona composiciones que comprenden al menos aproximadamente un 90 % en peso de una combinación de DPA n-6 y DHA, y al menos un ácido graso adicional o un derivado, tal como un éster, del mismo. En ciertas realizaciones, las composiciones pueden comprender al menos aproximadamente un 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, o un 99 % en peso de una combinación de DPA n-6 y DHA. En algunas realizaciones, el ácido graso adicional puede tener un punto de ebullición de aproximadamente 150-170 °C a una presión de 0,8 mm de Hg.

Las composiciones de DHA/DPA n-6 descritas anteriormente pueden comprender adicionalmente menos de aproximadamente un 4 % de un ácido graso saturado o un éster del mismo. En ciertas realizaciones, las composiciones pueden comprender menos de aproximadamente un 3,5 %, 3,0 %, 2,5 %, 2,0 %, 1,5 %, 1,0 % o un 0,5 % de un ácido graso saturado o un derivado del mismo.

El DHA en un aceite puede estar en forma de un éster de DHA, preferentemente un éster de alquilo, tal como un éster de metilo, éster de etilo, éster de propilo, o combinaciones de los mismos, preparados a partir de un aceite de algas obtenido a partir del Thraustoquítrido, *Schizochytrium sp.* Un DHA a modo de ejemplo (ésteres de etilo) que contiene aceite obtenido a partir de *Schizochytrium sp.*, se caracteriza por la cantidad especificada de componentes que se enumeran en la Tabla 4 del documento de patente WO 2009/006317, incorporado por referencia en el presente documento. En algunas de estas realizaciones, un aceite comprende DHA en una cantidad superior a aproximadamente un 57 % (p/p), en particular superior a aproximadamente un 70 % (p/p) del contenido total de ácido graso del aceite o dosis unitaria. En algunas de estas realizaciones, la proporción de % en peso de DHA con respecto a % en peso de DPA n-6 es de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 2,7.

En algunas realizaciones, la composición o aceite se caracteriza por uno o más de los siguientes ácidos grasos (o ésteres de los mismos, en particular ésteres de etilo), expresado como % en peso del contenido total de ácido graso. Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,5 % o menos (p/p) de ácido láurico (C12:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 2 % o menos (p/p) de ácido mirístico (C14:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,5 % o menos (p/p) de ácido miristoleico (C14:1). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 1 % o menos de ácido palmítico (C16:0). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 1 % o menos (p/p) de ácido linoleico (C18:2) (n-6). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 3 % o menos (p/p) de ácido dihomo

- gamma linolénico (C20:3) (n-6). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 0,5 % o menos (p/p) de ácido eicosatrienoico (C20:3) (n-3). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 1 % o menos (p/p) de ácido araquidónico (C20:4). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 3 % o menos (p/p) de ácido eicosapentaenoico (C20:5) (n-3). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 3 % o menos (p/p) de ácido docosatrienoico (22:3). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 27 % o menos (p/p) de ácido decosapentaenoico (22:5) (n-6). Las realizaciones que se proporcionan en el presente documento pueden comprender adicionalmente aproximadamente un 10 % o menos (p/p) de otros componentes. En algunas de estas realizaciones, la proporción de % en peso de DHA con respecto a % en peso de DPA n-6 es de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 2,7. Un aceite con las características precedentes puede comprender un aceite de éster de etilo obtenido a partir del aceite del *Thraustoquítrido*, *Schizochytrium sp.*
- En algunas realizaciones, otro aceite que contiene DHA (ácido graso libre) a modo de ejemplo se caracteriza por la cantidad especificada de componentes (como ésteres de etilo) enumerados en la Tabla 6, en la que "Máx" se refiere a la cantidad del componente que puede estar presente hasta la cantidad especificada.

TABLA 6

ÁCIDOS GRASOS	CONCENTRACIÓN (P/P)
C12:0	MÁX 0,5 %
C14:0	MÁX 2 %
C14:1	MÁX 0,5 %
C16:0	MÁX 1 %
C18:2 N-6	MÁX 1 %
C20:3 (N-6)	MÁX 3 %
C20:3 (N-3)	MÁX 0,5 %
C20:4 ARA	MÁX 1 %
C20:5 (N-3) EPA	MÁX 3 %
C22:3	MÁX 3 %
C22:5 (N-6) DPA	MÁX 27 %
C22:6 (N-3) DHA	MIN 57 %
% DE COMPONENTES ADICIONALES	MÁX 8 %

- En algunas realizaciones, otro aceite que contiene DHA a modo de ejemplo (ácido graso libre) se caracteriza por la cantidad especificada de componentes enumerados en la Tabla 7:

TABLA 7

ÁCIDOS GRASOS	CONCENTRACIÓN (P/P)
10:0	MÁX 0,5 %
12:0	MÁX 0,5 %
14:0	MÁX 0,5 %
14:1	MÁX 0,5 %
16:0	MÁX 0,5 %
16:1	MÁX 0,5 %
18:1 (N-9)	MÁX 0,5 %
20:5 (N-3) EPA	MÁX 0,5 %
22:5 (N-3) DPA	MÁX 1 %
22:6 (N-3) DHA	MIN 95 %
28:8	MÁX 1,5 %

ÁCIDOS GRASOS	CONCENTRACIÓN (P/P)
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	
ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO	946 MG/G
ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO	98 %
ÁCIDOS GRASOS LIBRES	93 %
ÁCIDOS GRASOS TRANS	< 1 %

En algunas realizaciones, el ácido graso saturado o un éster del mismo puede contener menos de 20 carbonos, tal como, por ejemplo, un ácido graso saturado o un éster del mismo que contiene 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9 u 8 carbonos. En ciertas realizaciones, el ácido graso saturado o éster del mismo puede contener 14 o 16 carbonos.

En algunas realizaciones, la composición de DHA puede comprender adicionalmente vitamina E. Los compuestos del grupo de la vitamina E son vitaminas liposolubles con propiedades antioxidantes e incluyen ocho α -, β -, γ - y δ -tocoferoles relacionados y los cuatro tocotrienoles correspondientes. En algunas realizaciones, la vitamina E en la composición es un tocoferol. En algunas realizaciones, el tocoferol se selecciona entre α -, β -, γ - y δ -tocoferoles, o combinaciones de los mismos.

Sujeto, como se usa en el presente documento, se refiere a un sujeto humano que presenta riesgo de sufrir una lesión cerebral traumática. El paciente puede presentar riesgo, en la actualidad o en algún momento en el futuro, de sufrir lesión cerebral traumática, incluyendo formas leves, moderadas y graves de lesión cerebral cerrada o lesión cerebral penetrante.

En las realizaciones en el presente documento, las composiciones de DHA se administran en una cantidad eficaz para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática. Como se usa en el presente documento, "reducir el riesgo de efectos patológicos" se refiere a tratamiento terapéutico profiláctico, en el que el objeto es tratar o mejorar la afección o trastorno fisiológico no deseado, u obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados cuando el sujeto está afectado con la afección o trastorno. Para los fines del presente documento, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, reducción o alivio de los síntomas asociados con la lesión cerebral traumática; disminución del alcance de la afección asociada con la lesión cerebral traumática; reducción o alivio de la afección o trastorno de lesión cerebral traumática, ya sea detectable o indetectable; o potenciación o mejora de la afección o trastorno asociados con la lesión cerebral traumática. El tratamiento profiláctico también incluye la prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento.

Para los fines en el presente documento, la composición de DHA se administra en una cantidad profilácticamente eficaz para reducir el riesgo de sufrir efectos patológicos de lesión cerebral traumática. Como se usa en el presente documento, una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad de DHA eficaz para conseguir una respuesta terapéutica deseada y para reducir los efectos patológicos de la lesión cerebral traumática. Una cantidad profilácticamente eficaz de DHA puede variar de acuerdo con factores tales como edad, sexo y peso del individuo. La administración de una cantidad profiláctica eficaz de DHA se puede conseguir usando diversos regímenes, incluyendo variaciones de la frecuencia y periodo de tiempo, eficientes como para proporcionar un beneficio terapéutico al sujeto que padece la lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, la administración del DHA es diaria en días consecutivos, o como alternativa, la forma de dosificación se administra con un día entre medias (cada dos días). La administración se puede producir en uno o más días.

En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra al sujeto durante un periodo de tiempo suficiente antes de una participación anticipada en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra durante al menos aproximadamente 28 días antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra durante al menos aproximadamente 6 semanas antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra durante al menos aproximadamente dos meses antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 6 semanas a aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 2 a aproximadamente 6 meses, o al menos aproximadamente 4 meses a aproximadamente 6 meses antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, una cantidad profilácticamente eficaz de DHA se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 2 a aproximadamente 4 meses antes de la participación anticipada en la actividad que está asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática.

Como se usa en el presente documento, "dosis diaria", "nivel de dosificación diaria", "cantidad de dosificación diaria" o "dosificación al día" hacen referencia a la cantidad total de DHA (por ejemplo, en la forma de ácidos grasos libres, ésteres de alquilo, o triglicéridos) administrada al día (periodo de aproximadamente 24 horas). Por ejemplo, la administración de DHA a un sujeto en una dosis de 2 g al día se refiere a que el sujeto recibe un total de 2 g de DHA con respecto a una base diaria, si el DHA se administra como una forma de dosificación individual que comprende 2 g de DHA, o como alternativa, cuatro formas de dosificación que comprenden 500 mg de DHA cada una (para un total de 2 g de DHA). La composición de DHA se puede tomar en una sola aplicación o en múltiples aplicaciones al día. Por ejemplo, si diariamente se toman cuatro cápsulas, cada cápsula comprende 500 mg de DHA, entonces las cuatro cápsulas se deberían tomar una vez al día, o se podrían tomar 2 cápsulas dos veces al día, o se podría tomar 1 cápsula cada 6 horas. En algunas realizaciones, la composición que comprende DHA se administra al menos una vez al día (por ejemplo, forma de dosificación individual al día) o al menos dos veces al día (por ejemplo, en dos o más formas de dosificación al día). En algunas realizaciones, el sé administra al menos dos veces a la semana.

En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 85 mg/kg de peso corporal/día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 4 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día; de aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día, de aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día, de aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 60 mg/kg de peso corporal/día; de aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal/día; o de aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal/día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal/día.

En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 6 g al día; de aproximadamente 0,5 g al día a aproximadamente 6 g al día; de aproximadamente 1 g al día a 6 g al día; o de aproximadamente 2 g al día a 6 g de DHA al día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 5 g al día, de aproximadamente 0,5 g al día a aproximadamente 5 g al día; de aproximadamente 1 g al día a aproximadamente 5 g al día, o de 2 g al día a aproximadamente 5 g de DHA al día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 4 g al día, de aproximadamente 0,5 g al día a aproximadamente 4 g al día, de aproximadamente 1 g al día a aproximadamente 4 g al día, o de aproximadamente 2 g al día a aproximadamente 4 g de DHA al día.

En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 1,5 mg por kg de peso corporal al día a aproximadamente 125 mg por kg de peso corporal al día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 10 g al día; de aproximadamente 0,5 g al día a aproximadamente 5 g al día; o de aproximadamente 1 g al día a aproximadamente 5 g al día.

En algunas realizaciones, la cantidad diaria de DHA administrada comprende aproximadamente 200 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1 g, 1,5 g, 1,8 g, 2,0 g, 2,5 g, 2,7 g, 3,0 g, 3,2 g, 3,3 g, 3,4 g, 3,5 g, 3,6 g, 3,7 g, 3,8 g, 3,9 g, 4,0 g, 4,5 g, 5,0 g, 6,0 g, 6,5 g, 7 g, 8 g, 9 g, o 10 g de DHA al día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de al menos aproximadamente 1 g al día.

En algunas realizaciones, la dosis diaria de DHA administrada a un sujeto humano varía de aproximadamente 860 mg hasta aproximadamente 6 g, en particular de aproximadamente 1,7 g hasta aproximadamente 6 g, de aproximadamente 2,6 g hasta aproximadamente 6 g, en particular de aproximadamente 3,4 g hasta aproximadamente 6 g, en particular de aproximadamente 4,3 g a aproximadamente 6 g y más en particular de aproximadamente 5,1 g a aproximadamente 6 g. En algunas realizaciones la dosis diaria de DHA administrada a un sujeto humano varía de aproximadamente 860 mg hasta aproximadamente 4 g, en particular de aproximadamente 1,7 g hasta aproximadamente 4 g, de aproximadamente 2,6 g hasta aproximadamente 4 g, y más en particular de aproximadamente 3,4 g hasta aproximadamente 4 g. En alguna realización la dosis diaria de DHA administrada a un sujeto humano varía de aproximadamente 860 mg hasta aproximadamente 1 g, en particular de aproximadamente 860 mg hasta aproximadamente un 950 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria de DHA administrada varía de aproximadamente 1,7 g hasta aproximadamente 2 g, en particular de aproximadamente 1,7 g hasta aproximadamente 1,8 g. En algunas realizaciones, la dosis diaria de DHA administrada a un sujeto humano varía de aproximadamente 2,6 g hasta aproximadamente 3 g, en particular de aproximadamente 2,6 g hasta aproximadamente 2,8 g. En algunas realizaciones, la dosis diaria de DHA administrada a un sujeto humano es de aproximadamente 3,4 g hasta aproximadamente 4 g, en particular de aproximadamente 3,4 g hasta aproximadamente 3,8 g. En algunas realizaciones, la dosis diaria de DHA administrada a un sujeto humano es de aproximadamente 4,3 a aproximadamente 5 g, en particular de 4,3 g a aproximadamente 4,8 g. En algunas realizaciones, la dosis diaria de DHA administrada a un sujeto humano es de aproximadamente 5,1 a aproximadamente 6 g, en particular de aproximadamente 5,1 a aproximadamente 5,7 g.

En algunas realizaciones, la dosis diaria se proporciona como una dosis unitaria.

En algunas realizaciones, la cantidad de DHA administrada comprende aproximadamente 300 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1 g, 1,5 g, 1,8 g, 2,0 g, 2,5 g, 3,0 g, 3,5 g, 4,0 g, 5,0 g, o 6,0 g de DHA al día. En algunas realizaciones, el DHA se administra en una cantidad de aproximadamente 2 g al día.

5 En algunas realizaciones, en una forma de dosificación puede haber diversas cantidades de DHA. En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende menos de aproximadamente 5 g de DHA, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 3,8 g de DHA, de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 3,6 g de DHA, aproximadamente 500 mg a aproximadamente 4,0 g de DHA, o de aproximadamente 1 g a aproximadamente 2,0 g de DHA. En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende menos de aproximadamente 4 g de DHA, de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 3,9 g de DHA, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 3,7 g de DHA, de aproximadamente 750 mg a aproximadamente 3,5 g de DHA, o de aproximadamente 1 g a aproximadamente 2 g de DHA. En algunas realizaciones, la forma de dosificación de DHA es inferior a aproximadamente 3,8 g de DHA, de aproximadamente 900 mg a aproximadamente 3,6 g de DHA, o de aproximadamente 1,8 g a aproximadamente 2,7 g de DHA. En algunas realizaciones, la forma de dosificación de DHA comprende aproximadamente 200 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 900 mg, 1 g, 1,5 g, 1,8 g, 2,0 g, 2,5 g, 2,7 g, 3,0 g, 3,2 g, 3,3 g, 3,4 g, 3,5 g, 3,6 g, 3,7 g, 3,8 g, 3,9 g, 4,0 g, 4,5 g, 5,0 g, 6,0 g, 6,5 g, 7 g, 8 g, 9 g, o 10 g de DHA.

20 La administración del DHA se puede conseguir usando diversos regímenes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la administración del DHA es diaria en días consecutivos, o como alternativa, la forma de dosificación se administra con un día entre medias (cada dos días). La administración se puede producir en uno o más días. Por ejemplo, en algunas realizaciones el DHA se administra diariamente en el periodo de duración de la vida del sujeto, o de 1 año a 20 años o de 5 años a 10 años. En algunas realizaciones, la administración de la forma de dosificación de DHA se produce durante 7, 14, 21 o 28 días. En algunas realizaciones, el DHA se administra durante al menos 6 meses, durante al menos 1 año, durante al menos 1,5 años, durante al menos 2 años, o durante al menos 5 años. En algunas realizaciones, la administración del DHA se produce hasta que un síntoma de demencia o AD, por ejemplo, pérdida de capacidad cognitiva, se detiene o se reduce, siendo el objetivo determinado por un profesional médico.

30 En algunas realizaciones, el DHA se administra de forma continua. El término "continuo" o "consecutivo", como se usa en el presente documento en referencia a "administración", se refiere a que la frecuencia de administración es al menos una vez al día. Sin embargo, se debe indicar que la frecuencia de administración puede ser superior a una vez al día y aún puede ser "continua" o "consecutiva", por ejemplo, dos veces o incluso tres o cuatro veces al día, siempre y cuando se consigan los niveles de dosificación como se especifica en el presente documento.

35 En algunas realizaciones, la cantidad de DHA administrará una cantidad que da como resultado una cantidad máxima de DHA en fosfolípidos cerebrales que se puede conseguir mediante la administración de la composición que contiene DHA. En algunas realizaciones, la composición de DHA se administra para conseguir una cantidad de DHA en la fracción de fosfolípidos cerebrales de al menos aproximadamente un 15 % en peso de los fosfolípidos cerebrales totales. En algunas realizaciones, la composición de DHA se administra para conseguir una cantidad de DHA en la fracción de fosfolípidos cerebrales de aproximadamente un 15-22 % en peso del contenido de fosfolípidos cerebrales. En algunas realizaciones, la composición de DHA se administra para conseguir una cantidad de DHA en la fracción de fosfolípidos cerebrales de aproximadamente un 18-20 % en peso del contenido de fosfolípidos cerebrales. La cantidad de DHA administrada y la duración de la administración necesarias para conseguir los niveles de DHA en la fracción de fosfolípidos cerebrales las pueden determinar los expertos en la materia.

45 En algunas realizaciones, la composición de DHA se administra para proporcionar una dosis de DHA de aproximadamente 2 g al día a 4 g al día para conseguir la cantidad máxima de DHA presente en los fosfolípidos cerebrales.

50 La eficacia del tratamiento se puede evaluar usando métodos aceptados generalmente en la técnica para determinar la gravedad de la lesión cerebral traumática, tales como técnicas de formación de imágenes cerebrales, incluyendo barridos de tomografía computarizada (CAT), que permiten la visualización de fracturas y evidencias de sangrado en el cerebro (hemorragia), grandes coágulos sanguíneos (hematomas), tejido cerebral contusionado (contusiones) e hinchazón de los tejidos cerebrales; y formación de imágenes mediante resonancia magnética (MRI), incluyendo imágenes ponderadas de susceptibilidad (SWI), un método sensible para la detección de pequeñas hemorragias en el cerebro, y formación de imágenes con tensor de difusión (DTI), que consiste en un mínimo de seis barridos con gradientes de difusión colocados de una manera ortogonal. En algunas realizaciones, la lesión cerebral traumática se puede evaluar midiendo la presión intracraneal, que puede ser producida por hinchazón del cerebro.

60 Dado que los problemas neurocomportamentales, en particular relacionados con el sistema cognitivo, son un efecto importante de la lesión cerebral traumática, se pueden usar diversos métodos para evaluar la función cognitiva para evaluar la eficacia del tratamiento profiláctico. Las evaluaciones de este tipo incluyen, entre otras, las que siguen a continuación: Escala clínica de clasificación de demencia (CDR), un instrumento de clasificación de demencia que clasifica el deterioro cognitivo a lo largo de un continuo desde un envejecimiento normal hasta un deterioro cognitivo leve hasta todas las etapas de gravedad de demencia; Examen de Estado Mini-Mental de Folstein (MMSE), una medida usada comúnmente de orientación y funcionamiento cognitivo total usado por los médicos y proveedores de atención

65

médica para identificar sistemáticamente el deterioro cognitivo; y Escala Cognitiva de evaluación de la enfermedad de Alzheimer- (ADAS-C), un ensayo usado comúnmente en la detección de demencia y MCI con diseños de medidas repetidas.

5 Los métodos adicionales para evaluar el deterioro cognitivo de la lesión cerebral traumática pueden incluir, entre otros, diversos ensayos neuropsicológicos, tales como los que siguen a continuación: Ensayo de Wechsler de Lectura de Adultos (WTAR), que es una medida de la pronunciación de las palabras y es un factor predictivo fiable de la función intelectual general pre-mórbida; Escala 3 de Inteligencia de Adultos de Wechsler (WAIS-3) - forma corta de la tétrada de Kaufman, que se usa para medir el funcionamiento intelectual general; Batería Repetible para la Evaluación del Estado Neuropsicológico (RBANS)), una medida estandarizada completa pero relativamente rápida del funcionamiento neurocognitivo en múltiples dominios, incluyendo funciones de memoria, atención, lenguaje y visuoespaciales/constructivas; Parte A del Ensayo de Realización de Trazos (Trazos A), una medida ampliamente usada de procesamiento cognitivo y velocidad visuomotora, y con la Parte B, también usada previamente en estudios de MCI; Parte B del Ensayo de Realización de Trazos (Trazos B), una medida más compleja del procesamiento cognitivo con demandas ejecutivas relacionadas con la flexibilidad mental y la memoria de trabajo; 10 Ensayo Oral Controlado de Asociación de Palabras (COWAT), una medida bien conocida de la fluidez verbal controlada por fonemas, sensible a la disminución cognitiva y a las alteraciones del funcionamiento ejecutivo, que se de manera rutinaria en la evaluación demencia y estudios de MCI; Ensayo de Denominación de Boston (BNT), una medida de denominación de la confrontación visual usada para detectar anomia o dificultades para encontrar palabras, que son signos comunes de deterioro cognitivo en poblaciones de edades avanzadas con deterioro cognitivo leve o demencia temprana; Medición Automatizada de la Evaluación Neuropsicológica (ANAM), un ensayo computarizado diseñado para evaluar varios dominios cognitivos que se sabe que son sensibles al cambio después de traumatismo craneoencefálico, incluyendo atención y concentración, tiempo de reacción, memoria de trabajo, aprendizaje y memoria nuevos y velocidad de procesamiento de la información; y SF-36, que mide ocho dominios de la salud, incluyendo funcionamiento físico, limitaciones de rol debido a salud física, dolor corporal, percepciones generales de salud, vitalidad, funcionamiento social, limitaciones de rol debido a problemas emocionales y salud mental. 15 20 25

En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano, y se le administra una composición que comprende DHA como se describe en el presente documento en un intervalo de aproximadamente 5 mg/kg/día a aproximadamente 40 mg/kg/día durante un periodo de tiempo prolongado, por ejemplo, de 1 mes a 3 meses, antes del suceso de lesión cerebral traumática. En algunas realizaciones, la administración de composiciones que comprenden DHA antes del suceso de lesión cerebral traumática mitiga los efectos adversos de la neuroinflamación y soporta la función cerebral normal después de una lesión cerebral de leve a moderada/grave, en particular en ausencia de heridas penetrantes y daño estructural "excesivo" al cerebro. En algunas realizaciones, la administración de composiciones que comprenden DHA antes del suceso de lesión cerebral traumática soporta el metabolismo energético normal en neuronas después de una lesión cerebral. En algunas realizaciones, la administración de composiciones que comprenden DHA antes del suceso de lesión cerebral traumática mantiene y/o mejora la integridad estructural y la función de las neuronas y axones neuronales después de la lesión cerebral leve a moderada. En algunas realizaciones, la administración de composiciones que comprenden DHA antes del suceso de lesión cerebral traumática soporta la supervivencia y la función neuronal después de una lesión cerebral de leve a moderada. En algunas realizaciones, la administración de composiciones que comprenden DHA antes del suceso de lesión cerebral traumática soporta la integridad de la materia blanca y la neurotransmisión óptima (por ejemplo, normal). En algunas realizaciones, la administración de composiciones que comprenden DHA antes del suceso de lesión cerebral traumática facilita la función cognitiva normal después de la lesión. En algunas realizaciones, la administración de composiciones que comprenden DHA antes del suceso de lesión cerebral traumática soporta las funciones de memoria y aprendizaje normales después de la lesión. 30 35 40 45

La composición de DHA se puede formular en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables. 50

"Farmacéuticamente aceptables" se refiere a composiciones que son, dentro del alcance del criterio médico sensato, adecuadas para su contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva u otras complicaciones proporcionales a una relación de beneficio/riesgo razonable. En algunas realizaciones, los compuestos (por ejemplo, DHA), composiciones y formas de dosificación de la presente invención son farmacéuticamente aceptables. Estas formas de dosificación pueden incluir, pero no se limitan a, comprimidos (incluyendo comprimidos masticables, comprimidos de disolución rápida, comprimidos efervescentes, comprimidos de múltiples capas y de dos capas), cápsulas (incluyendo cápsulas de gelatina blanda y dura), comprimidos encapsulados, obleas, pastillas para chupar (incluyendo pastillas para chupar masticables), perlas, microgránulos, emulsiones, líquidos, píldoras, cápsulas de gelatina, elixires, polvos (incluyendo polvos reconstituibles), gránulos, y gránulos dispersantes; y formas de dosificación parenteral que incluyen, pero no se limitan a, soluciones, suspensiones, emulsiones, partículas, micropartículas, partículas revestidas, y polvo seco que comprende una cantidad eficaz del DHA tal como se proporciona en la presente divulgación. En la técnica se conocen diversas sustancias para revestir partículas, incluyendo derivados de celulosa, por ejemplo, celulosa microcristalina, metil celulosa, carboximetil celulosa; derivados de polialquilenglicol, por ejemplo, polietilenglicol; talco, almidón, metacrilatos, etc. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es una cápsula, en la que la cápsula se llena con una solución, suspensión, o emulsión que comprende el DHA. En la técnica también se sabe que los principios 55 60 65

activos pueden estar contenidos en las formulaciones de este tipo con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes, cargas, agentes disgregantes, aglutinantes, lubricantes, tensioactivos, vehículos hidrófobos, vehículos solubles en agua, agentes emulsionantes, tampones, agentes humectantes, agentes hidratantes, solubilizantes, conservantes, saborizantes, agentes enmascaradores del sabor, edulcorantes, y similares. Los excipientes adecuados pueden incluir, por ejemplo, aceites vegetales (por ejemplo, aceite de maíz, soja, cártamo, girasol, colza). En algunas realizaciones, el conservante puede ser un antioxidante, por ejemplo sulfito sódico, sulfito potásico, metabisulfito, bisulfitos, tiosulfatos, tioglicerol, tiosorbitol, clorhidrato de cisteína, tocoferol y combinaciones de los mismos. Los medios y métodos para la administración se conocen en la técnica y un experto en la materia puede hacer referencia a diversas referencias farmacológicas para orientación. Por ejemplo, se puede consultar "Modern Pharmaceutics", Banker y Rhodes, Informa Healthcare, 4ª ed. (2002); y "Goodman & Gilman's The Pharmaceutical Basis o/Therapeutics", McGraw-Hill, New York, 10ª ed. (2001).

En algunas realizaciones, un complejo de DHA y albúmina está excluido específicamente de las composiciones que contienen DHA para su administración en el tratamiento de lesión cerebral traumática, como se describe en la Publicación de Estados Unidos N.º 2006/0094654, y en Belayev *et al.*, Stroke 36: 118-23 (2005), publicado de forma electrónica el 29 de noviembre de 2004.

La administración de DHA se puede realizar mediante las vías oral o parenteral (por ejemplo, subcutánea, intravenosa (en bolo o infusión), intramuscular o intraperitoneal). En algunas realizaciones, se pueden usar combinaciones de diferentes vías de administración. Cuando se administra por diferentes vías, la administración se puede hacer de forma simultánea o de forma secuencial. Por ejemplo, una composición de DHA se puede administrar por vía oral para administración crónica (por ejemplo, semanas, meses antes de involucrarse en la actividad con riesgo de lesión cerebral traumática) y a continuación por vía parenteral al sujeto antes de involucrarse en una actividad con riesgo de lesión cerebral traumática. Como alternativa, las composiciones de DHA se pueden administrar de forma simultánea a través de diferentes vías, por ejemplo parenteral y oral. Las formas de dosificación para estos modos de administración puede incluir formas convencionales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones.

En algunas realizaciones, la vía de administración es mediante administración oral. La composición de DHA se puede administrar a sujetos en forma de suplementos nutricionales, alimentos, formulaciones farmacéuticas, o bebidas, en particular alimentos, bebidas, o suplementos nutricionales, más en particular, alimentos y bebidas, más en alimentos en particular. Un tipo preferente de alimento es un alimento médico (por ejemplo, un alimento que se encuentra en una formulación para su consumo o administración por vía externa bajo la supervisión de un médico y que está destinada para la gestión dietética específica de una enfermedad o afección para los que se establecen requisitos nutricionales característicos, basándose en principios científicos reconocidos, mediante evaluación médica).

En algunas realizaciones, la forma de dosificación es una forma de dosificación farmacéutica. "Farmacéuticamente aceptables" se refiere a composiciones que, dentro del alcance del criterio médico sensato, son adecuadas para su contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva u otras complicaciones proporcionales a una relación razonable de beneficio/riesgo. En algunas realizaciones, los compuestos (por ejemplo, DHA), composiciones, y formas de dosificación de la presente invención son farmacéuticamente aceptables.

El DHA se puede formular en una forma de dosificación. Estas formas de dosificación pueden incluir, pero no se limitan a, comprimidos, cápsulas, obleas, microgránulos, píldoras, cápsulas de gelatina, polvos y gránulos; y formas de dosificación parenterales que incluyen, pero no se limitan a, soluciones, suspensiones, emulsiones, partículas revestidas y polvo seco que comprende una cantidad eficaz del DHA tal como se enseña en la presente invención.

En algunas realizaciones, la forma de dosificación se puede insertar o mezclar en una sustancia alimentaria. En la técnica se conocen diversas sustancias para revestir partículas, incluyendo derivados de celulosa, por ejemplo, celulosa microcristalina, metil celulosa, carboximetil celulosa; derivados del polialquilenglicol, por ejemplo, polietilenglicol; talco, almidón, metacrilatos, etc. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es una cápsula, en la que la cápsula se llena con una solución, suspensión, o emulsión que comprende el DHA. En la técnica también se sabe que los principios activos pueden estar contenidos en las formulaciones de este tipo con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes, cargas, agentes desintegrantes, aglutinantes, lubricantes, tensioactivos, vehículos hidrófobos, vehículos solubles en agua, agentes emulsionantes, tampones, humectantes, agentes hidratantes, solubilizantes, conservantes, saborizantes, agentes enmascaradores del sabor, edulcorantes, y similares. Los excipientes adecuados pueden incluir, por ejemplo, aceites vegetales (por ejemplo, aceite de maíz, soja, cártamo, girasol, o colza). En algunas realizaciones, el conservante puede ser un antioxidante, por ejemplo, sulfito sódico, sulfito potásico, metabisulfito, bisulfitos, tiosulfatos, tioglicerol, tiosorbitol, clorhidrato de cisteína, tocoferol y combinaciones de los mismos. Los medios y métodos para la administración se conocen en la técnica y un experto en la materia puede hacer referencia a diversas referencias farmacológicas para orientación. Por ejemplo, se puede consultar "Modern Pharmaceutics", Banker y Rhodes, Informa Healthcare, 4ª ed. (2002); y "Goodman & Gilman's The Pharmaceutical Basis o/Therapeutics", McGraw-Hill, New York, 10ª ed. (2001).

El DHA de la presente invención es activo por vía oral y su vía de administración se puede usar para los métodos que se describen en el presente documento. Por consiguiente, las formas de administración pueden incluir, pero no se limitan a, comprimidos, grageas, cápsulas, comprimidos encapsulados, cápsulas de gelatina, y píldoras, que contienen el DHA y o más vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados.

Las formas de dosificación para administración oral pueden incluir, pero no se limitan a, comprimidos, grageas, cápsulas, comprimidos encapsulados, cápsulas de gelatina, y píldoras, que contienen el DHA y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados. El DHA se puede formular fácilmente combinando estos compuestos con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Los vehículos de este tipo permiten que las composiciones de DHA se formulen en forma de comprimidos, cápsulas de gelatina, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para ingestión oral por un sujeto a tratar. En algunas realizaciones, la forma de dosificación es un comprimido, cápsulas de gelatina, píldora o comprimido encapsulado.

Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener añadiendo un excipiente sólido, moliendo opcionalmente la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir agentes auxiliares, si se desea, para obtener núcleos de comprimidos o grageas. Los excipientes adecuados, pero no se limitan a, cargas tales como azúcares, que incluyen, pero no se limitan a, lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, pero no limitadas a, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, carboximetil celulosa sódica, aceite vegetal (por ejemplo, aceite de soja), y polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes, tales como, pero no limitados a, la polivinil pirrolidona reticulada, goma de agar, o ácido alginico o una sal del mismo tal como alginato sódico. Las preparaciones farmacéuticas que se pueden usar por vía oral incluyen, pero no se limitan a, cápsulas de ajuste a presión hechas de gelatina, así como cápsulas selladas, blandas hechas de gelatina, cápsulas selladas hechas de gelatina (por ejemplo, de porcino o bovino) y un agente plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cubiertas de la cápsula pueden estar formadas por ingredientes no obtenidos a partir de animales, es decir, ingredientes vegetales, tales como carragenano, alginato, formas modificadas de almidón, celulosa y/o otros polisacáridos. En realizaciones específicas, las cápsulas de gelatina pueden ser cápsulas de gelatina de porcino, bovino, vegetariana, o alginato. Todas las formulaciones para administración oral deberían presentarse en dosificaciones adecuadas para una administración de este tipo.

En algunas realizaciones, la forma de dosificación es una cápsula de gel que tiene una cantidad de DHA de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 2 g, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la cápsula de gel tiene una cantidad de DHA de aproximadamente 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 900 mg, 1 g, 1,5 g, o 2 g, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se debería entender que además de los ingredientes mencionados anteriormente en particular, las formulaciones de la presente invención pueden incluir otros agentes adecuados tales como agentes saborizantes, conservantes y antioxidantes. En particular, es deseable mezclar los aceites microbianos con un antioxidante para evitar la oxidación del DHA. Los antioxidantes de este tipo son farmacéuticamente aceptables y pueden incluir vitamina E, caroteno, BHT u otros antioxidantes conocidos por las personas con experiencia en la materia.

En algunas realizaciones, la forma de dosificación una forma de dosificación nutracéutica. El término "nutracéutica" se refiere a cualquier sustancia que es (1) un artículo único de una comida o dieta que proporciona beneficios médicos y/o de salud, o (2) un producto que está destinado a suplementar la dieta que lleva o que contiene uno o más de los siguientes ingredientes dietéticos: una vitamina, un mineral una hierba u otro elemento botánico, un aminoácido, una sustancia dietética para su uso por el hombre para suplementar la dieta aumentando la ingesta diaria total, o un concentrado, metabolito, constituyente, extracto, o combinaciones de estos ingredientes que proporciona beneficios médicos y/o de salud. Los beneficios médicos y/o de salud pueden incluir la reducción del riesgo de un trastorno neurológico descrito en el presente documento.

En algunas realizaciones, el DHA se puede proporcionar en un suplemento dietético, alimento médico o alimento animal. "Suplemento dietético" se refiere a un compuesto o composición usados para suplementar la dieta de un animal o ser humano. En algunas realizaciones, el suplemento dietético puede comprender adicionalmente diversos "ingredientes dietéticos" destinados para suplementar la dieta. Los "ingredientes dietéticos" pueden incluir adicionalmente: vitaminas, minerales, hierbas u otros elementos botánicos, aminoácidos, y sustancias tales como enzimas, tejidos orgánicos, glándulas y metabolitos. Los ingredientes dietéticos también pueden incluir extractos o concentrados. En algunas realizaciones, la forma de dosificación de DHA se administra en un suplemento dietético.

La presente invención también se refiere al uso de una forma de dosificación oral que consta esencialmente de aproximadamente 430 mg a aproximadamente 6 g de ácido docosahexaenoico (DHA) en la que la forma de dosificación comprende menos de aproximadamente un 1 % de ácido eicosapentaenoico (EPA) y menos de aproximadamente un 2 % de ácido docosapentaenoico 22:5 n-6 (DPA n-6). En algunas realizaciones, la forma de dosificación oral es una forma de dosificación unitaria, en particular, una cápsula de gelatina. Opcionalmente la cápsula de gelatina también comprende un colorante, saborizantes, y/o antioxidante.

La presente invención también se refiere al uso de formas de dosificación oral que comprenden: (a) de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 4 g de DHA, en las que el DHA es de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 99,5 % (p/p) o más del contenido total de ácido graso de la forma de dosificación; y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable, en las que la forma de dosificación está sustancialmente libre de EPA, y en las que el DHA, tal como un éster de alquilo de DHA, se obtiene a partir de una fuente de algas.

La presente invención incluye cápsulas de gelatina que son cápsulas de gelatina duras o blandas. En algunas realizaciones, el material de encapsulación comprende una gelatina, un agente plastificar, y agua. En ciertas realizaciones, el material de encapsulación es vegetal, es decir, preparado a partir de materiales obtenidos de animales, incluyendo plantas, algas marinas (por ejemplo, carragenano), almidón de alimentos, almidón de maíz modificado, almidón de patata y tapioca. En otras realizaciones, el material de encapsulación se obtiene a partir de animales, incluyendo porcinos, bovinos, y materiales a base de pescado, tales como gelatinas. Los agentes plastificantes de la invención incluyen glicerina, glicerol, polioles y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el agente plastificante es un poliol de alto punto de ebullición, tal como glicerol o sorbitol.

En algunas realizaciones, la cápsula de gelatina es una cápsula de gelatina blanda preparada a partir de gelatina, glicerol, y agua, y rellena con DHA y un antioxidante. En ciertas realizaciones, la cápsula de gelatina se obtiene a partir de animales o vegetales. En algunas realizaciones, la cápsula de gelatina comprende una forma de dosificación de 0,5 g, en las que el peso del relleno del peso de la forma de dosificación es de aproximadamente 450 mg a aproximadamente 550 mg, y en las que la cápsula de gelatina comprende de aproximadamente 430 mg a aproximadamente 480 mg de DHA. En algunas realizaciones, la cápsula de gelatina comprende aproximadamente 450 mg de DHA o 500 mg de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, la cápsula de gelatina comprende aproximadamente 450 mg de DHA por 500 mg de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, la cápsula de gelatina comprende una forma de dosificación de 1 g, en las que el peso del relleno de la forma de dosificación es de aproximadamente 950 mg a aproximadamente 1050 mg, y en las que la cápsula de gelatina comprende de aproximadamente 860 mg a aproximadamente 950 mg de DHA por 1000 mg de la forma de dosificación. En algunas realizaciones, la cápsula de gelatina comprende aproximadamente 900 mg de DHA por 1.000 g de la forma de dosificación.

En ciertas realizaciones, la cápsula de gelatina es de origen vegetal. En algunas realizaciones, la preparación de la cápsula no comprende productos animales, y comprende glicerol (y/o otros polioles), extracto de algas marinas (carragenano) y agua. En algunas realizaciones, el agua se purifica. En algunas realizaciones, se añaden color, sabor y/o edulcorantes. Durante la encapsulación, en algunas realizaciones, como lubricante se usa aceite de coco fraccionado.

En algunas realizaciones, la cápsula de gelatina comprende una preparación de cápsula, un agente activo, y opcionalmente un colorante y/o antioxidante. En otra realización i) la preparación de la cápsula comprende gelatina (cuero de bovino), glicerina y agua purificada, ii) el agente activo DHA-EE, iii) el colorante opcional se selecciona entre dióxido de titanio, FD&C color Amarillo n.º 5, FD&C color Rojo n.º 40, y mezclas de los mismos; y iv) el antioxidante es palmitato de ascorbilo. En algunas realizaciones, los materiales de partida son materiales de partida de USP.

En algunas realizaciones, las cápsulas de gelatina son cápsulas de gelatina blanda de aproximadamente 1 g, que tienen las especificaciones dentro de los límites que se exponen en la Tabla 8:

TABLA 8: Especificaciones para 1 g de Cápsulas de Gelatina de Éster de Etilo de DHA

ENSAYO	ESPECIFICACIÓN
CONTENIDO DE EE DE DHA, POR CÁPSULA	855 - 945 MG
PESO MEDIO DEL RELLENO	950 - 1050 MG
DESINTEGRACIÓN	CUMPLE USP
VALOR DE ÁCIDO	MÁX 2 MG DE KOH/G
VALOR DE PERÓXIDO (PV)	MÁX 10 MEQ/KG
VALOR DE ANISIDINA (AV)	MÁX 20
ENSAYOS DE LÍMITES MICROBIANOS	CUMPLE <61> USP

En la Tabla 9 se presenta un listado de componentes que, en algunas realizaciones, se usa en la preparación de una cápsula de gelatina blanda de DHA-EE, y al menos una función correspondiente para cada componente.

TABLA 9: Listado de Componentes en 1 g de Cápsulas de Gelatina Blanda de Éster de Etilo de DHA

COMPONENTE	FUNCIÓN
900 MG DE EE DE DHA	ACTIVO
GELATINA, CUERO ÁCIDO BOVINO	PREPARACIÓN DE CÁPSULA
GLICERINA	PREPARACIÓN DE CÁPSULA
AGUA PURIFICADA	PREPARACIÓN DE CÁPSULA
DIÓXIDO DE TITANIO	COLORANTE
FD&C AMARILLO N.º 5	COLORANTE
FD&C ROJO N.º 40	COLORANTE

La presente invención también se refiere a kits o a envases que comprenden una o más formas de dosificación para su administración de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento. Un kit o envase puede contener una forma de dosificación, o más de una forma de dosificación (es decir, múltiples formas de dosificación).

Si en el kit o envase están presentes múltiples formas de dosificación, las formas de dosificación múltiples se pueden colocar opcionalmente para una administración secuencial. Los kits pueden contener formas de dosificación de un número suficiente para proporcionar una administración conveniente a un sujeto que tiene una afección crónica y que requiere administración a largo plazo del DHA de la presente invención. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el kit proporciona formas de dosificación de una cantidad suficiente para 1, 2, 3 o 4 meses de administración diaria del DHA. En algunas realizaciones de la presente invención, el kit comprende formas de dosificación para periodos de administración más cortos, por ejemplo, el kit can puede contener aproximadamente 7, 14, 21, 28 o más formas de dosificación para administración oral, comprendiendo cada forma de dosificación de aproximadamente 450 mg a aproximadamente 12,05 g de DHA y que está destinada para la ingesta en días sucesivos.

Los kits pueden contener opcionalmente instrucciones asociadas con las formas de dosificación de los kits. Las instrucciones de este tipo se pueden presentar en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, cuya advertencia refleja la aprobación por la agencia de la fabricación, uso o venta para la administración en seres humanos para tratar una afección o trastorno. Las instrucciones se pueden presentar en cualquier forma que transmita información con respecto al uso de las formas de dosificación en el kit de acuerdo con los métodos que se describen en presente documento. A modo de ejemplo y no de limitación, las instrucciones se pueden presentar en forma de material impreso, o en forma de un dispositivo de medios grabados previamente.

En el transcurso del examen de un sujeto, un profesional médico puede determinar que la administración de DHA de acuerdo con uno de los métodos que se describen en el presente documento es apropiada para el sujeto, o el médico puede determinar que la afección del sujeto se puede mejorar con la administración de DHA de acuerdo con uno de los métodos que se describen en el presente documento. Antes de prescribir cualquier régimen de DHA, el médico puede asesorar al sujeto, con respecto a los diversos riesgos y beneficios asociados con el régimen. Al sujeto se le puede proporcionar la divulgación completa de todos los riesgos conocidos y de los que se sospecha asociados con el régimen. Tal asesoría se puede proporcionar de manera verbal, así como en forma escrita. En algunas realizaciones, el médico puede proporcionar al sujeto material de consulta con respecto al régimen, tal como, información del producto, materiales educativos y similares.

La presente invención también se refiere a métodos para educar a los consumidores con respecto a los métodos de tratamiento de trastornos neurológicos, método que comprende la distribución de las formas de dosificación de DHA con información al consumidor en un punto de venta. En algunas realizaciones, la distribución se producirá en un punto de venta con un farmacéutico o proveedor de atención médica.

La expresión "información al consumidor" puede incluir, pero no se limita a, un texto en idioma inglés, texto en idioma no inglés, imagen visual, gráfico, grabación telefónica, sitio web y acceso a un representante de servicio al cliente en vivo. En algunas realizaciones, la información al consumidor proporcionará instrucciones para el uso de las dosificaciones unitarias de DHA de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento, edad apropiada, uso, indicación, contraindicaciones, dosificación apropiada, advertencias, número de teléfono y dirección del sitio web. En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente proporcionar información profesional a personas pertinentes en una posición para responder a las preguntas de los consumidores con respecto al uso de los regímenes desvelados de acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento. La expresión "información profesional" incluye, pero no se limita a, información con respecto al régimen cuando se administra de acuerdo con los métodos de la presente invención que está diseñado para permitir que un profesional médico responda a las preguntas de los clientes.

Un "profesional médico", incluye, por ejemplo, un médico, auxiliar médico, profesional de enfermería, farmacéutico y representante de servicio al cliente. Todos los diversos aspectos, realizaciones y opciones que se describen en el presente documento se pueden combinar en todas y cada una de las variaciones.

5 En algunas realizaciones, el DHA se administra en una forma de dosificación individual, es decir, una forma de dosificación, o en dos o más formas de dosificación. Como se usa en el presente documento, "forma de dosificación" se refiere a la forma física de la vía de administración. La expresión "forma de dosificación" puede hacer referencia a cualquier forma de administración usada tradicionalmente o aceptada médicamente, tal como formas de administración oral, formas de administración intravenosa o formas de administración intraperitoneal. En algunas
10 realizaciones, el DHA se administra en una sola dosis, es decir, una dosis unitaria. Como se usa en el presente documento, una "dosis unitaria" se refiere a una cantidad de DHA administrada a un sujeto en una sola dosis, por ejemplo, en una cápsula de gel. La expresión "dosis unitaria" también puede hacer referencia a una sola unidad de artículo sólido, líquido, jarabe, bebida, o alimentario farmacéuticamente adecuado, que se administra en un breve periodo de tiempo, por ejemplo, en aproximadamente 1 minuto, 2 minutos, 3 minutos, 5 minutos, 10 minutos,
15 20 minutos, o 30 minutos.

En algunas realizaciones, al sujeto a tratar se le puede administrar al menos una dosis unitaria al día. En algunas realizaciones, las formas de dosificación se pueden tomar en una sola aplicación o en múltiples aplicaciones al día. Por ejemplo, si se toman cuatro cápsulas al día, comprendiendo cada cápsula aproximadamente 500 mg de DHA, entonces las cuatro cápsulas se podrían tomar una vez al día, o se podrían tomar 2 cápsulas dos veces al día, o se podría tomar 1 cápsula cada 6 horas. En una dosis unitaria puede haber diversas cantidades de DHA. En algunas realizaciones, la dosis unitaria comprende aproximadamente 430 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente un 500 mg, aproximadamente un 550 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 750 mg, de aproximadamente un 800 mg, de aproximadamente un 850 mg,
20 aproximadamente 900 mg, aproximadamente 950 mg, aproximadamente 1 g, o aproximadamente 1,5 g, de DHA.

En algunas realizaciones, la forma de dosificación tiene un peso total de aproximadamente 0,2 g a aproximadamente 2 g. A modo de ejemplo y no de limitación, una cápsula puede contener un peso total de un aceite de algas de aproximadamente 0,2 g, en el que contenido de aceite de algas comprende DHA en un cierto % de peso del contenido total de ácido graso del aceite de algas. En algunas realizaciones, la forma de dosificación tiene un peso total de aproximadamente 0,2 g, aproximadamente 0,25, aproximadamente 0,3 g, aproximadamente 0,35 g, aproximadamente 0,4 g, aproximadamente 0,45 g, aproximadamente 0,5 g, aproximadamente 0,55 g, aproximadamente 0,6 g, aproximadamente 0,65 g, aproximadamente 0,7 g, aproximadamente 0,75 g, aproximadamente 0,8 g, aproximadamente 0,85 g, aproximadamente 0,9 g, aproximadamente 0,95 g,
30 aproximadamente 1 g o aproximadamente 1,05 g.

Ejemplos

En los siguientes ejemplos representativos se ilustran diversas características y realizaciones de la divulgación, que pretenden ser ilustrativos y no limitantes.

Efecto del tratamiento previo con DHA en la Lesión Cerebral Traumática

Diseño Experimental. Dos grupos de 20 (n = 40) de ratas Sprague-Dawley macho adultas se sometieron a una lesión por aceleración con impacto (IAI) dando como resultado una lesión cerebral traumática grave y reproducible. Las ratas que pesaban entre 350 y 400 g recibieron anestesia de inducción seguida por intubación endotraqueal y se mantuvieron con la anestesia inhalada usando una máquina de anestesia médica modificada. A continuación los animales fueron rasurados y se prepararon para una cirugía de forma estéril, seguido de inyección subcutánea de anestésico local en el sitio de incisión planificado. Se realizó una incisión media de 3 cm en el cuero cabelludo, las membranas periosteales se separaron, exponiendo bregma y lambda. Un disco de metal de 10 mm de diámetro y 3 mm de espesor se unió al cráneo con cianoacrilato y se centró entre bregma y lambda. El animal se colocó boca abajo sobre una cama de espuma con el disco de metal directamente bajo un tubo de Plexiglás. Un peso de latón de 450 g se dejó caer a través del tubo desde una altura de 2 metros golpeando el disco. A continuación, el animal se ventiló con O₂ al 100 % mientras se inspeccionaba el cráneo y se reparaba la incisión. Cuando el animal recuperó las respiraciones espontáneas, el tubo endotraqueal se retiró y el animal regresó a la jaula para observación postoperatoria (Foda y Marmarou, J Neurosurg 80: 301-313 (1994)). Todos los procedimientos relacionados con animales vivos han sido revisados previamente y aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de West Virginia, y se realizaron de acuerdo con los principios de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, publicado por el Instituto de Recursos de Laboratorio, National Research Council (publicación de NIH 85-23-2985).
45
50
55
60

Animales y tratamientos dietéticos. Los dos grupos de tratamiento se alojaron en el vivero de animales pequeños bajo supervisión del personal veterinario durante 40 días. En el momento de la lesión previa en la edad del destete (21 días), los grupos recibieron diariamente una dieta de control o la misma dieta suplementada con algas obtenidas a partir de DHA. Cada grupo recibió pienso para ratas a voluntad.
65

Después de 28 días con las dietas, los grupos de tratamiento fueron sometidos al procedimiento de IAI. Después de IAI, todos los grupos dietéticos fueron alimentados con la dieta de control (dieta estándar de pienso, sin DHA añadido).

5 Análisis inmunohistoquímicos. Después de 7 días de supervivencia después de la lesión, la mitad de los animales de cada grupo fueron sacrificados con una inyección letal de dosis de 0,05 ml de Ketamina y 0,5 ml de Xilazina. Los animales fueron inmediatamente perfundidos por vía transcardial con 200 ml de solución salina fría al 0,9 % para lavar toda la sangre. Esto fue seguido por paraformaldehído al 4 % en tampón de Millonigs durante 40 minutos. El cerebro entero, el tronco encefálico y la médula espinal rostral se retiraron y se colocaron inmediatamente en paraformaldehído al 4 % durante 24 horas. Después de la fijación, el cerebro se bloqueó cortando el tronco encefálico por encima de la protuberancia, cortando los pedúnculos cerebelosos, y luego haciendo cortes sagitales laterales a las pirámides. El tejido resultante que contenía los tractos corticoespinal y el lemnisco medial, áreas previamente mostradas para producir axones lesionados de forma traumática, se cortó a continuación de forma sagital con un vibratomo en secciones de 40 micrómetros. A continuación el tejido se sometió a una recuperación de antígeno con microondas con temperatura controlada usando técnicas descritas anteriormente (Stone *et al.*, Acta Neuropathol 97: 335-345 (1999)). En resumen, el tejido se incubó previamente en una solución que contenía de suero de cabra normal al 10 % (NGS) y Triton X al 0,2 % en PBS durante 40 minutos.

20 El tejido se incubó en anticuerpo policlonal producido en conejo frente a la proteína precursora de beta-amiloide (B-APP) a una dilución de 1:200 en NGS al 1 % en PBS, a continuación se incubó en un anticuerpo anti-IgG de conejo secundario conjugado con fluoróforo de Alexa 488 durante dos horas El tejido se sometió a un lavado final en tampón fosfato 0,1 M y a continuación se montó usando un agente antiturbidez y cubreobjetos. Los portaobjetos se cerraron herméticamente con acrílico y se almacenaron en la oscuridad en un refrigerador de laboratorio (Mills *et al.*, J Biomed Opt 8: 347-356 (2003)). Un enfoque histológico similar se usó para evaluar el reclutamiento de microglía/macrófagos en las regiones cerebrales lesionadas, supervivencia de neuronas y oligodendrocitos (Huang *et al.*, Brain 130: 3004-3019 (2007)).

30 El tejido se examinó a continuación y las imágenes se adquirieron usando un sistema de microscopio confocal de barrido láser y una lente de objetivo 40x. A partir del tejido de cada animal se obtienen diez imágenes digitales, y a continuación las imágenes se clasifican de forma aleatoria. El recuento de los axones lesionados individuales se realiza de forma independiente y los datos se almacenan en una hoja de cálculo Excel. El análisis estadístico de los datos se realiza usando el software Estadístico.

35 Evaluación del comportamiento. Catorce días después de la lesión, la evaluación funcional del aprendizaje y la memoria se realizó en los cuatro grupos. Esto consistió en ensayos antes y después de la lesión usando una tarea de Morris Watermaze (Stone *et al.*, Acta Neuropathol 97: 335-345 (1999)). Los análisis de sangre con ácido graso se realizaron antes de la lesión y al final del estudio

40 A los animales (ratas) se les administraron 0, 3, 9, 40 mg/kg/día de aceite de DHASCO que contenía DHA durante 28 días antes de inducir la lesión cerebral traumática. Los resultados del estudio se muestran en la Tabla 10 que sigue a continuación.

Tabla 10

	Simulado	Ninguno	3 mg/kg	9 mg/kg	40 mg/kg
Daño axonal (%)	2	100	75	64	15
Muerte neuronal (%)	13	100	73	77	22
Inflamación	10	100	74	71	31
Navegación en laberinto de agua (s)	22	110	100	94	32

45 Todas las publicaciones, patentes, solicitudes de patente y otros documentos mencionados en la presente solicitud se incorporan por la presente por referencia en sus totalidades para todos los fines hasta el mismo alcance, como si indicara de forma individual que cada publicación individual, patente, solicitud de patente u otro documento se incorpora por referencia para todos los fines.

50 Aunque se han ilustrado y descrito diversas realizaciones específicas, se observará que se pueden realizar diversos cambios sin apartarse del espíritu y alcance de la invención(s).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende docosahexanoato (DHA) para el uso en la reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, comprendiendo el uso:
- 10 (a) administrar a un sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática, la composición que comprende docosahexanoato (DHA), en la que la composición se administra en una cantidad profilácticamente eficaz durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, y en la que la composición tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) de aproximadamente un 3 % en peso del contenido total de ácido graso, y la proporción de DHA con respecto a EPA es al menos de 10:1.
- 15 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el DHA está en la forma de un triglicérido.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el DHA está en la forma de un éster de alquilo.
- 20 4. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el DHA es al menos aproximadamente un 40 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición.
- 25 5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el DHA es de aproximadamente un 40 a aproximadamente un 50 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición.
- 30 6. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el DHA es al menos aproximadamente un 55 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición.
7. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el DHA es de aproximadamente un 55 a un 65 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición.
- 35 8. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la proporción de DHA con respecto a EPA es al menos de 100:1.
9. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la fuente de DHA es un aceite microbiano.
- 40 10. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la lesión cerebral traumática se produce por un traumatismo intracraneal cerrado.
11. La composición de acuerdo con la reivindicación 10, para el uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática por un traumatismo intracraneal cerrado, es un atleta que participa en un deporte en el se pueden producir traumatismos craneoencefálicos.
- 45 12. Docosahexanoato (DHA) para el uso en la reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, comprendiendo el uso:
- 50 (a) seleccionar a un sujeto que presente riesgo de lesión cerebral traumática; y
(b) administrar al sujeto el docosahexanoato (DHA), en la que el DHA se administra en forma de una composición y en una cantidad de al menos aproximadamente un 40 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática, para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática.
- 55 13. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 12, para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el DHA está en forma de un triglicérido.
- 60 14. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 12, para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el DHA está en forma de un éster de alquilo.
15. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 12, para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el DHA se administra en forma de una composición en la que el DHA es de aproximadamente un 40 a aproximadamente un 50 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición.

16. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 12, para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el DHA se administra en forma de una composición en la que el DHA es al menos aproximadamente un 55 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición.
- 5 17. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 12, para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el DHA se administra en forma de una composición en la que el DHA es de aproximadamente un 55 a un 65 % en peso del contenido total de ácido graso de la composición.
- 10 18. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 12, para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que la fuente de DHA es un aceite microbiano.
19. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 12, para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que la lesión cerebral traumática se produce por un traumatismo intracraneal cerrado.
- 15 20. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 19, para el uso de acuerdo con la reivindicación 19, en la que el sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática debido a un traumatismo intracraneal cerrado, es un atleta que participa en un deporte en el que se pueden producir traumatismos craneoencefálicos.
- 20 21. Docosahexanoato (DHA) para su uso en la reducción del riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, que comprende:
- (a) administrar a un sujeto que presenta riesgo de lesión cerebral traumática, una composición que comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexanoato (DHA), en la que la composición se administra en una cantidad profilácticamente eficaz durante un periodo de tiempo suficiente antes de participar en una actividad asociada con un riesgo de lesión cerebral traumática para reducir el riesgo de efectos patológicos de lesión cerebral traumática, y en la que la composición tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso.
- 25
- 30 22. Docosahexanoato (DHA) para su uso para proteger el cerebro de un sujeto humano, comprendiendo el uso:
- (a) administrar al sujeto, antes de una actividad asociada a un posible suceso de lesión cerebral traumática, una forma de dosificación oral que comprende al menos 900 mg de DHA, en el que la forma de dosificación comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexanoato (DHA) del contenido total de ácido graso, en el que la forma de dosificación tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso.
- 35
- 40 23. Docosahexanoato (DHA) de acuerdo con la reivindicación 22, para el uso de acuerdo con la reivindicación 22, en la que la actividad asociada con un suceso de lesión cerebral traumática se selecciona entre el grupo que consiste en boxeo, fútbol americano, fútbol, hockey, conflicto armado o cirugía cerebral.
- 45 24. Uso de Docosahexanoato (DHA) en la preparación de un medicamento para proteger el cerebro de un sujeto humano, que comprende:
- (a) identificar a un sujeto que presenta riesgo de experimentar un suceso de lesión cerebral traumática, y
- (b) administrar al sujeto, antes de una actividad asociada a un posible suceso de lesión cerebral traumática, una forma de dosificación oral que comprende al menos 900 mg de DHA, en el que la forma de dosificación comprende al menos aproximadamente un 35 % en peso de docosahexanoato (DHA) del contenido total de ácido graso, en el que la forma de dosificación tiene un contenido de eicosapentaenoato (EPA) inferior a aproximadamente un 2 % en peso del contenido total de ácido graso.