

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2014/128333 A1

(43) Fecha de publicación internacional
28 de agosto de 2014 (28.08.2014) **WIPO | PCT**

- (51) Clasificación Internacional de Patentes:
C07C 233/18 (2006.01) *B82B 1/00* (2006.01)
A61K 31/16 (2006.01) *B82Y 5/00* (2011.01)
- (21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2014/070129
- (22) Fecha de presentación internacional:
20 de febrero de 2014 (20.02.2014)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:
P201330233
20 de febrero de 2013 (20.02.2013) ES
- (71) Solicitantes: FUNDACIÓN PÚBLICA ANDALUZA PARA LA INVESTIGACIÓN DE MÁLAGA EN BIOMEDICINA Y SALUD (FIMABIS) [ES/ES]; Avda. Carlos Haya, 82, Pabellon A, 7° planta, E-29010 Málaga (ES). UNIVERSIDAD DE GRANADA [ES/ES]; Hospital Real. Cuesta del Hospicio s/n, E-18071 Granada (ES).
- (72) Inventores: RODRIGUEZ DE FONSECA, Fernando; Fundación Pública Andaluza, para la Investigación de Málaga en Biomedicina y Salud (FIMABIS), Avda. Carlos Haya, 82, Pabellon A, 7° planta, E-29010 Málaga (ES). PAVÓN MORÓN, Francisco Javier; Fundación Pública

Andaluza, para la Investigación de Málaga en Biomedicina y Salud (FIMABIS), Avda. Carlos Haya, 82, Pabellon A, 7° planta, E-29010 Málaga (ES). SERRANO CRIADO, Antonia; Fundación Pública Andaluza, para la Investigación de Málaga en Biomedicina y Salud (FIMABIS), Avda. Carlos Haya, 82, Pabellon A, 7° planta, E-29010 Málaga (ES). ROMERO CUEVAS, Miguel; Fundación Pública Andaluza, para la Investigación de Málaga en Biomedicina y Salud (FIMABIS), Avda. Carlos Haya, 82, Pabellon A, 7° planta, E-29010 Málaga (ES). WULFF PÉREZ, Miguel; Universidad de Granada, Hospital Real. Cuesta del Hospicio s/n, E-18071 Granada (ES). GÁLVEZ RUIZ, María José; Universidad de Granada, Hospital Real. Cuesta del Hospicio s/n, E-18071 Granada (ES). MARTÍN RODRÍGUEZ, Antonio; Universidad de Granada, Hospital Real. Cuesta del Hospicio s/n, E-18071 Granada (ES). DE VICENTE ÁLVAREZ-MANZANEDA, Juan; Universidad de Granada, Hospital Real. Cuesta del Hospicio s/n, E-18071 Granada (ES).

(74) Mandatario: FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo; Paseo De La Habana 9-11, E-28036 Madrid (ES).

(81) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: FORMULATIONS BASED ON NANOEMULSIONS AND THE USE THEREOF FOR TREATING OBESITY

(54) Título : FORMULACIONES BASADAS EN NANOEMULSIONES Y SU USO PARA EL TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD

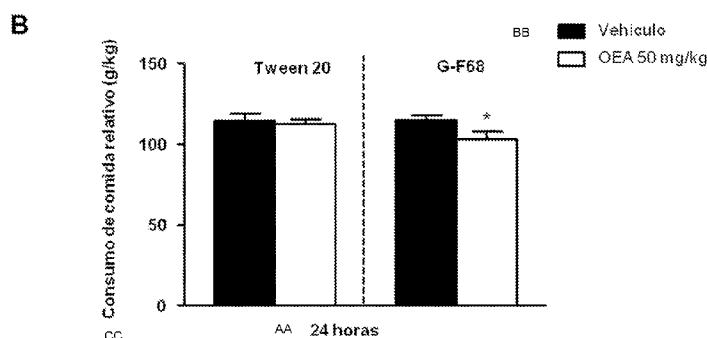


FIGURA 7

AA 24 hours
BB Vehicle
CC Relative food consumption (g/kg)

(57) Abstract: The invention is of interest to the pharmaceutical sector. It relates to novel therapeutic formulations based on nanoemulsions of plant oils as a system for transporting pharmaceuticals derived from N-acyl ethanolamines (NAEs) for the administration thereof as a pharmacological tool and as pharmaceuticals for the induction of satiation and control of ingestion, modulation of the pro-anorectic metabolic effects and prevention of weight gain.

(57) Resumen: La presente invención es de interés para el sector farmacéutico. Se refiere a nuevas formulaciones terapéuticas basadas en nanoemulsiones de aceites vegetales como sistema transportador de fármacos derivados de N-aciletanolaminas (NAEs) para su administración como herramienta farmacológica y como fármacos para la inducción de saciedad y control de la ingesta, modulación de los efectos metabólicos proanorexígenos y prevención de ganancia de peso.



BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible):*

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

Formulaciones basadas en nanoemulsiones y su uso para el tratamiento de la obesidad

La presente invención es de interés para el sector farmacéutico. Se refiere a nuevas formulaciones terapéuticas basadas en nanoemulsiones de aceites vegetales como sistema transportador de fármacos derivados de N-aciletanolaminas (NAEs) para su administración como herramienta farmacológica y como fármacos para la inducción de saciedad y control de la ingesta, modulación de los efectos metabólicos proanorexígenos y prevención de ganancia de peso.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

La obesidad es una enfermedad cuya incidencia ha crecido espectacularmente en los últimos 20 años hasta alcanzar el rango de epidemia global del siglo XXI en prácticamente todos los países según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Dicho organismo estableció en 2011 el sobrepeso y la obesidad como el quinto factor principal de riesgo de defunción en el mundo, con una tasa de 2,8 millones de personas adultas muertas (OMS, 10 datos sobre la obesidad 2010) y una previsión de 2.300 millones de adultos con sobrepeso y unos 700 millones con obesidad para el año 2015. La repercusión en la salud pública es enorme, ya que la obesidad está relacionada con enfermedades cardiovasculares, metabólicas (diabetes, colesterolemia, trigliceridemia,...) dermatológicas, gastrointestinales, osteoarticulares y/o algunos cánceres como el cáncer de colon. Según datos de la OMS, el 44% de la carga de diabetes tipo 2 es atribuible a la obesidad o sobrepeso (OMS. Nota descriptiva N°311, 2011).

Una de las estrategias utilizadas para intentar solucionar este problema es el uso de herramientas farmacológicas con distintos mecanismos de acción y dirigidas a distintas dianas biológicas. Sin embargo, esta línea de tratamiento no acaba de consolidarse debido a los problemas de efectos adversos, que han provocado la retirada del mercado de muchos de los fármacos comercializados por las principales agencias de seguridad del medicamento (USFDA de Estados Unidos y EMA de Europa), destacando los casos de:

- a) *Rimonabant* (SR141716A, Acomplia® y Zimulti® de Sanofi-Aventis) es el primer antagonista/agonista inverso de los receptores cannabinoides tipo 1 CB1

(relacionado con las NAEs) aprobado en 2006 para el tratamiento de pacientes obesos o pacientes con sobrepeso con factores de riesgo asociados, tales como diabetes tipo 2 o dislipidemia. Sin embargo, a partir de estudios clínicos se observaron efectos adversos psiquiátricos que incluían trastornos depresivos y ansiedad, así como mayor riesgo de suicidio. Por ello se retiró del mercado en 2007 (EE.UU.) y 2008 (Europa).

- b) Un inhibidor central de recaptación de serotonina y norepinefrina llamado *sibutramina* (Meridia® o Reductil® de Abbott Laboratorios) no exento de efectos cardiovasculares. De hecho se mostró que causa infartos de miocardio e ictus en pacientes con sobrepeso con enfermedad cardíaca preexistente. Por ello se retiró en 2010.

Así, el arsenal farmacológico actual contra la obesidad sigue siendo reducido:

- a) Un inhibidor de lipasa llamado *orlistat* (Xenical® de Roche) con efectos secundarios gastrointestinales: flatulencias, diarrea, dolor abdominal, dispepsias e incluso deficiencia en vitaminas liposolubles a largo plazo.
- b) Una anfetamina llamada *phentermine* (Adipex-P® de Teva Pharmaceuticals y Ionamin® de Medeva Pharmaceuticals) que puede aumentar la presión arterial (puede inducir hipertensión pulmonar primaria y problemas cardíacos) y provocar insomnio. Recientemente ha sido aprobado por la USFDA un nuevo medicamento antiobesidad surgido de la combinación de phentermine y un antiepiléptico: *topiramate* (Qsymia® de Vivus Inc.).

Por tanto, la necesidad de encontrar terapias farmacológicas eficaces y seguras a largo plazo frente a la obesidad sigue siendo uno de los principales objetivos de la industria farmacéutica y la investigación a nivel mundial.

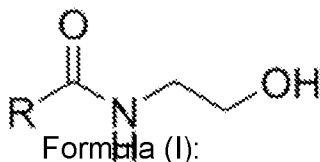
BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al diseño y desarrollo de nanoemulsiones aceite en agua (o/w) útiles para la vehiculización de N-aciletanolaminas, caracterizadas por comprender (a) una fase acuosa (b) una fase oleosa, que comprende un aceite, constituida por gotas

de diámetro medio inferior a 500 nanómetros; c) un copolímero en bloques anfifílico y d) una N-aciletanolamina.

Por lo tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a una nanoemulsión (de aquí en adelante “nanoemulsión de la invención”) del tipo aceite en agua (o/w) adecuada para la administración de N-aciletanolaminas, que comprende:

- a. Una fase acuosa;
- b. Una fase oleosa que comprende un aceite constituida por gotas de diámetro inferior a 500 nanómetros;
- c. Un copolímero en bloques anfifílico; y
- d. Un compuesto de formula (I):



donde el grupo R es un alquilo lineal (C11-C21) o un alquenilo lineal (C11-C21) con 1-6 dobles enlaces y donde el ratio peso/peso (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,02 y 0,24. Preferiblemente, dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,02 y 0,16, más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,032 y 0,08 y aún más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa es 0,04.

En una realización preferida del primer aspecto de la invención, la fase acuosa se encuentra a una concentración entre un 5% y un 45% en peso por volumen total de la nanoemulsión (p/v).

En otra realización preferida del primer aspecto de la invención, el copolímero en bloques anfifílico es un poloxámero. En una realización aún más preferida el copolímero en bloques anfifílico se selecciona de la lista que consiste en plurónico F68 y plurónico F127.

En otra realización preferida del primer aspecto de la invención, el aceite comprendido en la fase oleosa se selecciona de la lista que consiste en aceite de girasol, cacahuete, algodón, oliva, ricino, soja, cártamo, palma, α tocoferol (vitamina E), miristato de isopropilo, escualeno o cualquier combinación de los mismos. Preferiblemente la fase oleosa comprende aceite de girasol. Aún más preferiblemente, la fase oleosa consiste en aceite de girasol.

En aún otra realización preferida del primer aspecto de la invención, el compuesto de formula (I) es N-oleiletanolamina.

Un segundo aspecto de la invención, se refiere a un procedimiento para la obtención de la nanoemulsión de la invención, que comprende: i) disolver el/los copolímeros en agua bajo agitación suave; ii) añadir el aceite gota a gota a la fase acuosa producida en la etapa i), bajo agitación mecánica, produciendo una pre-emulsión; iii) reducir el tamaño de las gotas de la emulsión haciendo pasar en repetidas ocasiones la pre-emulsión de la etapa ii) por un homogeneizador de alta presión, formándose así la nanoemulsión; iv) añadir bajo agitación suave a la nanoemulsión de la etapa iii) un compuesto de la fórmula (I).

Un tercer aspecto de la invención se refiere a la nanoemulsión de la invención para su uso en terapia.

Un cuarto aspecto de la invención se refiere al uso de la nanoemulsión de la invención para la elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad. Alternativamente, este cuarto aspecto de la invención se refiere a la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad. Preferiblemente, la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad se administra oralmente.

Un quinto aspecto de la invención se refiere al uso de la nanoemulsión de la invención para la elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la dislipemia. Alternativamente, este quinto aspecto de la invención se refiere a la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la dislipemia.

- 5 Preferiblemente, la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la dislipemia se administra oralmente.

En una realización preferida del quinto aspecto de la invención, dicha dislipemia se selecciona de la lista que consiste en hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperlipoproteinemia de tipo I, IIa, IIb, III, IV ó V, hiperquilimicronemia o hiperlipidemia combinada.

Un sexto aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la nanoemulsión de la invención y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Estructura química de Plurónico F68 y F127 (A), y OEA (B).

Figura 2. Propiedades de las nanoemulsiones. (A) Tamaño medio y estabilidad en el tiempo de nanoemulsiones de la invención, medidos mediante Dynamic Light Scattering. (B) Biodegradación controlada de las nanoemulsiones bajo condiciones duodenales simuladas *in vitro*. Para la realización de este ejemplo se han utilizado las nanoemulsiones detalladas en los ejemplos 1 y 2.

Figura 3. Evolución de peso relativo en ratas Wistar macho (N=8 por grupo) tras la administración diaria (i.p.) de salino, Tween 20 (10% en salino), nanoemulsión G-F68 (10% en salino) ó G-F127 (10% en salino) durante 3 semanas. Los puntos (■, □, ● y ○) representan medias $\pm$ SEM (representadas por $\top$ o $\perp$). Los datos fueron analizados por ANOVA (2 vías: tiempo y tratamiento) y post-tests Bonferroni. *P<0,05 y **P<0,01 respecto al grupo control salino.

Figura 4. Consumo de comida de ratas Wistar macho (N=8 por grupo) en ayunas tras la administración aguda intraperitoneal **(A, B)** o intragástrica **(C, D)** de salino o nanoemulsión evaluado a diferentes tiempos: 30, 60, 120 y 240 minutos y 24 horas. Columnas representan medias $\pm$ SEM. Los puntos (■, □) representan medias $\pm$ SEM (representadas por $\top$ o $\perp$). Los datos fueron analizados por ANOVA (2 vías: tiempo y tratamiento) y post-tests Bonferroni.

Figura 5. Consumo de comida de ratas Wistar macho (N=8 por grupo) en ayunas tras la administración aguda de OEA vía i.p. en nanoemulsión. **(A)** Tiempo: 30, 60, 120 y 240 minutos. **(B)** Tiempo: 24 horas. Columnas representan medias $\pm$ SEM. Los datos fueron analizados por ANOVA (2 vías: tiempo y tratamiento) y post-tests Bonferroni. *P<0,05 y ***P<0,001 respecto al grupo control nanoemulsión.

Figura 6. Consumo de comida de ratas Wistar macho (N=8 por grupo) en ayunas tras la administración aguda de OEA vía oral en nanoemulsión. **(A)** Tiempo: 30, 60, 120 y 240 minutos. **(B)** Tiempo: 24 horas. Columnas representan medias $\pm$ SEM. Los datos fueron analizados por ANOVA (2 vías: tiempo y tratamiento) y post-tests Bonferroni. *P<0,05, **P<0,01 y ***P<0,001 respecto al grupo control nanoemulsión.

Figura 7. Consumo de comida de ratas Wistar macho (N=8 por grupo) en ayunas tras la administración aguda de OEA (50 mg/kg) vía oral en Tween 20 o en nanoemulsión. **(A)** Tiempo: 15, 30, 60, 120 y 240 minutos. **(B)** Tiempo: 24 horas. Columnas representan medias $\pm$ SEM. Los datos fueron analizados por ANOVA (2 vías: tiempo y tratamiento) y post-tests Bonferroni. *P<0,05 y **P<0,01 respecto al grupo control respectivo.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se enfrenta al problema de encontrar terapias farmacológicas eficaces y seguras a largo plazo frente a la obesidad. La presente invención resuelve este problema a través del diseño y desarrollo de nanoemulsiones aceite en agua (o/w) útiles para la vehiculización de N-aciletanolaminas, caracterizadas por comprender (a) una fase acuosa (b) una fase oleosa, que comprende un aceite, constituida por gotas de diámetro medio inferior a 500 nanómetros; c) un copolímero en bloques anfifílico y d) una N-aciletanolamina.

Resulta conocido que una de las dianas farmacológicas validada para el tratamiento de la obesidad es el sistema de señalización de las N-aciletanolaminas (NAEs), que está relacionado con el balance energético, el control del apetito y la adiposidad. El mismo comprende las NAEs (N-araquidoniletanolamina, N-palmitiletanolamina, N-oleiletanolamina, etc.) además de aquellas proteínas y moléculas involucradas en su síntesis, actividad (receptores cannabinoides CB1 y CB2; canal iónico vanilloide TRPV1; y el factor de transcripción PPAR alfa) y degradación. En especial, la NAE N-oleiletanolamina (OEA) ha sido descrita como un potente mediador anorexígeno a nivel periférico (principalmente en tejido adiposo y tracto gastrointestinal), a partir del cual se han descrito distintos derivados sintéticos capaces de inducir saciedad, modular la grasa corporal y prevenir la excesiva ganancia de peso. Pero, aunque sus características de ácidos grasos hacen de ellas moléculas con bajos perfiles toxicológicos, su naturaleza liposoluble es un problema para su adecuada administración, lo que supone un verdadero obstáculo para su uso como medicamentos.

Hasta el momento, para la administración de este tipo de compuestos liposolubles cannabinoides, vanilloides o NAEs en ensayos in vivo, se han utilizado diversos tipos de sustancias como vehículo. Sin embargo, aunque puedan dar resultados relativamente efectivos en ensayos experimentales bajo paradigmas crónicos/subcrónicos de administración en modelos animales de investigación, todavía presentan problemas a la hora de su desarrollo como medicamentos, tales como los que se mencionan a continuación:

- a) Disolventes orgánicos como propilenglicol, dimetilsulfóxido (DMSO), etanol, metanol (normalmente en suero fisiológico en porcentaje que oscila 30-95%). Su principal inconveniente es el grado toxicidad no admitido para su uso como medicamento.
- b) Surfactantes como Tween 20 y 80 [Polioxietilen (20/80) sorbitan monolaurato]. Si bien estos compuestos mejoran el problema de la toxicidad general de los disolventes orgánicos, se han descrito problemas de hepatotoxicidad y la afectación de parámetros clave para evaluar moléculas anti-obesidad (irritación, afectación del sistema inmunológico, reducción en la ganancia de peso, menor consumo de

comida, hemólisis, niveles circulantes de adiposidad alterados, aumento del contenido graso en hígado...).

c) Polímeros orgánicos como la carboximetilcelulosa se ha utilizado para su administración por vía oral. Sin embargo, los fármacos muestran actividad antiobesidad solo a altas dosis, lo que podría acarrear problemas de toxicidad y sobredosificación.

d) Emulsiones comerciales, por ejemplo Tocrisolve® 100 (Tocris Bioscience) a partir de aceite de soja, agua y plurónico F68 presentan un perfil no tóxico de acuerdo con sus datos de seguridad. Pero, si bien la administración sistémica intraperitoneal, intramuscular o subcutánea permite el uso de este tipo de emulsiones, la administración oral es complicada debido a las condiciones opuestas a la absorción en el tracto gastrointestinal de los fármacos contenidos (pH, agentes complejantes, bilis, presencia de alimentos, motilidad, enzimas como las lipasas...), afectando la absorción y biodisponibilidad del fármaco.

Sin embargo, los autores de la presente invención han descubierto como sorprendentemente nanoemulsiones concretas caracterizadas por comprender (a) una fase acuosa (b) una fase oleosa, que comprende un aceite, constituida por gotas de diámetro medio inferior a 500 nanómetros y c) un copolímero en bloques anfifílico, resultan especialmente útiles para la vehiculación farmacológica de N-aciletanolaminas y no presentan ninguno de los problemas mencionados anteriormente. De este modo, los autores de la presente invención han evaluado este tipo de nanoemulsiones in vivo en ratas Wistar macho durante 3 semanas frente a otros vehículos habitualmente empleados para fármacos liposolubles, tales como Tween 20 (10% en salino v/v). Utilizando suero fisiológico como grupo control de referencia, los animales tratados con las nanoemulsiones de la presente invención mostraron un perfil toxicológico significativamente mejorado respecto a aquellos tratados con Tween 20 y similar a los tratados únicamente con suero (ver ejemplo 4).

Es importante resaltar que las nanoemulsiones de la invención se han sintetizado a partir de la identificación de los mecanismos de estabilidad/inestabilidad de las nanoemulsiones

de aceites en agua. La información estructural obtenida por reología se ha relacionado con el comportamiento macroscópico de las nanoemulsiones, relacionando de esta forma estructura con funcionalidad. Paralelamente a estos trabajos se ha llevado a cabo un estudio comparativo de reacciones de hidrólisis de aceites mediante lipasas, a través de la simulación de procesos de degradación en el intestino, haciendo uso de un tensiómetro de gota pendiente. En este sentido, para el desarrollo y selección de estas nanoemulsiones se ha investigado el efecto de la presencia de sales biliares, componentes fundamentales en los procesos de lipólisis. Se ha analizado cómo afectan las condiciones gástricas, duodenales e intravenosas a las nanoemulsiones, y especialmente la acción de las respectivas lipasas (lipólisis), ya que esta acción está directamente relacionada con la velocidad y lugar de liberación del fármaco dentro del organismo así como su posterior absorción. De esta forma se realizó la experimentación mostrada en la figura 2 utilizando una serie de nanoemulsiones de acuerdo con las especificaciones dadas en los ejemplos 1 y 2 de la memoria, es decir se utilizó una nanoemulsión donde el ratio surfactante/aceite (p/p) se encuentra entre 0,032 y 0,08. De esta forma la proporción surfactante/aceite era suficiente para recubrir correctamente las gotas y que éstas tuvieran un tamaño inferior a 500 nm (es decir, una concentración de surfactante superior a 0,5% en peso/volumen), pero no excesiva a fin de no desestabilizar la nanoemulsión por depleción-floculación (es decir, inferior al 6% en peso/volumen), produciendo por tanto condiciones óptimas de tamaño, recubrimiento de las gotas y estabilidad. Estos ensayos de lipólisis duodenal simulada fueron realizados mezclando las nanoemulsiones descritas anteriormente con un buffer de digestión duodenal que contiene los principales componentes implicados en la digestión (sales biliares, lipasa pancreática, cloruros de sodio y calcio, etc.) con concentraciones similares a las del organismo, y midiendo la disminución de la intensidad de luz retrodispersada, directamente relacionada con el tamaño de las gotas de nanoemulsión. Así, al producirse la lipólisis, los triglicéridos que componen las gotas de nanoemulsión son convertidos en productos que abandonan dichas gotas y se solubilizan en el agua (monoglicéridos y ácidos grasos), por lo que las gotas disminuyen su tamaño. Este descenso generalizado del tamaño se corresponde con un descenso generalizado de la intensidad de luz retrodispersada por la nanoemulsión. El valor de este cambio en la intensidad puede ir desde un valor apenas apreciable (0% lipólisis) a un valor máximo,

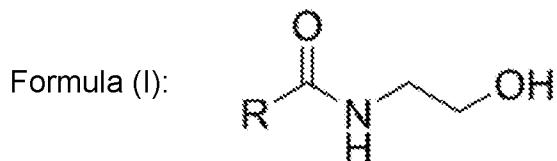
equivalente a una lipólisis completa (100% lipólisis). Como se puede apreciar en la figura 2, la nanoemulsión de la invención posee un tamaño propio de las nanoemulsiones, que además permanece estable en un rango amplio de tiempo (Figura 2A), y que a su vez es convenientemente biodegradada cuando es mezclada con los jugos duodenales (Figura 2B), pudiendo producirse así la liberación de los compuestos administrados en ellas en el lugar apropiado. De esta forma y a lo largo de sucesivas experimentaciones se ha determinado que el ratio copolímero/fase oleosa en la nanoemulsión de la invención juega un papel fundamental a la hora de lograr nanoemulsiones estables en el tiempo, de bajo perfil toxicológico y una buena absorción a nivel intestinal. De este modo, la presente invención es la primera en aseverar que aquellas nanoemulsiones caracterizadas por comprender (a) una fase acuosa (b) una fase oleosa, que comprende un aceite, constituida por gotas de diámetro medio inferior a 500 nanómetros y c) un copolímero en bloques anfifílico; donde el ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,02 y 0,16, más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,032 y 0,08 y aún más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa es aproximadamente 0,04, resultan especialmente útiles para la administración oral de N-aciletanolaminas.

Así se ha demostrado que las nanoemulsiones de la invención son estables en el tiempo presentan un bajo perfil toxicológico y una buena absorción a nivel intestinal, lo que hace de estas nanoemulsiones un excelente vehículo farmacológico para la administración oral de N-aciletanolaminas.

Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a una nanoemulsión aceite en agua (o/w) (de aquí en adelante "nanoemulsión" de la invención) adecuado para la administración de N-aciletanolaminas, que comprende:

- a. Una fase acuosa;
- b. Una fase oleosa, que comprende un aceite, constituida por gotas de diámetro medio inferior a 500 nanómetros;
- c. Un copolímero en bloques anfifílico; y

d. Un compuesto de formula (I):



5 donde el grupo R es un alquilo lineal (C11-C21) o un alquenilo lineal (C11-C21) con 1-6
dobles enlaces y donde el ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,02 y
0,16, más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre
0,032 y 0,08 y aún más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa es
aproximadamente 0,04.

10

En el contexto de la presente invención (p/p) hace referencia al porcentaje peso de
surfactante/peso de la fase oleosa.

15

En el contexto de la presente invención, por nanoemulsiones se entiende a las estructuras
compuestas de un aceite o mezclas de aceites aptos para su uso en alimentación,
dispersado en agua como gotas de tamaño nanométrico, y a su vez, estabilizadas éstas
por medio de un copolímero que impedirá la floculación o coalescencia de las gotas. Este
tipo de nanoemulsiones está determinado por su tamaño de gota y distribución. De modo
que atendiendo al diámetro medio de gota, por nanoemulsión se entiende aquellas
20 emulsiones que presenten un diámetro medio de gota entre 20–500 nm, siendo micro o
macro-emulsiones aquellas que presenten un diámetro medio de gota entre 0,5–100 µm.
Preferiblemente, atendiendo al diámetro medio de gota, por nanoemulsión se entiende
aquellas emulsiones que presenten un diámetro medio de gota inferior a 300 nm.

20

25

Se hace notar, que las nanoemulsiones de la presente invención, presentan una buena
estabilidad física a largo plazo (sin floculación aparente o coalescencia) y no requieren una
gran cantidad de surfactante como sucede con las microemulsiones. Así por ejemplo para
una nanoemulsión aceite/agua (25%), una concentración de surfactante entre 0,5% y 6%
(p/v), más preferiblemente entre 0,8% y 2% (p/v), sería suficiente para estabilizarla, muy

inferior a valores típicos asociados con microemulsiones (10-20%), con los problemas de toxicidad que ello conllevaría.

Por otro lado los porcentajes concretos de la fase acuosa de la nanoemulsión dependerán del método de preparación empleado, preferiblemente la fase acuosa se encuentra a una
5 concentración entre un 5% y un 75% en peso por volumen total de la nanoemulsión (p/v). Ahora bien, en cualquier caso para que la nanoemulsión de la invención sea estable en el tiempo, de bajo perfil toxicológico y con una buena absorción a nivel intestinal, es necesario mantener el ratio (p/p) copolímero/fase oleosa entre 0,02 y 0,16, más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,032 y 0,08 y
10 aún más preferiblemente dicho ratio (p/p) copolímero/fase oleosa es 0,04.

Por otro lado, se hace notar que el surfactante empleado para la realización de la nanoemulsión de la presente invención son copolímeros en bloques anfifílicos, donde por anfifílico se entiende aquellas moléculas, sustancias, principios activos, estructuras o parte
15 de ellas que poseen tanto propiedades hidrofóbicas como hidrofílicas.

De acuerdo con la IUPAC 1, los copolímeros en bloques son sustancias formadas por macromoléculas constituidas por bloques dispuestos en una secuencia lineal. Para este organismo, un bloque es una porción de una macromolécula, que comprende varias
20 unidades constitutivas, que tiene al menos una característica que no está presente en las porciones adyacentes. Existen copolímeros formados por dos o por tres bloques, a los que se suelen simbolizar, respectivamente, como AB y ABA o BAB, donde A y B son los bloques poliméricos. También son posibles copolímeros en bloques constituidos por la repetición de unidades formadas por dos bloques, (AB)_n y por la incorporación a un
25 polímero de dos bloques de una tercera cadena (ABC). Otros tipos de copolímeros formados por bloques son los copolímeros injertados (en inglés, *graft copolymer*) y los copolímeros estrella.

Entre los copolímeros en bloques con aplicaciones farmacéuticas se han de destacar los anfifílicos, que consisten de macromoléculas formados por bloques lipofílicos unidos a bloques hidrofílicos. Este tipo de copolímeros en bloques, que poseen propiedades tensoactivas, forman distintas clases de asociaciones, tales como micelas y estructuras líquido cristalinas, que pueden actuar como excelentes vehículos de principios activos. Entre los copolímeros en bloques anfifílicos más utilizados en formulaciones farmacéuticas se encuentran los compuestos por bloques derivados de los óxidos de etileno (hidrofílicos) y de propileno, a los que se conoce con el nombre genérico de poloxameros y los nombres comerciales Pluronic (BASF) y Synperonic (ICI). Estos copolímeros poseen masas moleculares relativas comprendidas entre 1000 y 15000 y un contenido de bloques de poli(óxido de etileno) entre el 10 y el 80 por ciento en masa.

La hidratación de los bloques hidrofílicos de poli(óxido de etileno) se debe a su fácil acomodamiento en la estructura del agua. Esta hidratación es altamente dependiente de la temperatura, por lo cual la solubilidad y la formación de agregados de los polímeros en bloques que contienen este grupo polar pueden ser reguladas por variaciones de la temperatura. Estos polímeros, que poseen un bajo costo y son biocompatibles, pueden adoptar distintas estructuras cuando se dispersan en agua, las que dependen de la proporción de cada uno de los bloques y de su masa molecular relativa. Esta proporción también determina la solubilidad y el balance hidrofílico-lipofílico del polímero.

Los copolímeros Pluronic se designan con letras y números. La letra "L" se utiliza para los líquidos, "P" para los que se presentan como pastas y "F" (del inglés *flake*, escama) para los sólidos. El primer dígito, o los dos primeros en los números con tres dígitos, multiplicado por 300 es aproximadamente igual a la masa molecular relativa promedio de la parte lipofílica. El último dígito, multiplicado por 10, indica el porcentaje en masa aproximado de la parte hidrofílica. Así, por ejemplo, el Pluronic F68 es un copolímero sólido en el cual la masa molecular relativa aproximada de la parte hidrofóbica es 1800 (6 x 300) y la proporción en masa de la parte hidrofílica es aproximadamente 80% (8 x 10).

Así, en otro aspecto preferido del primer aspecto de la invención, el copolímero en bloques anfifílico de la nanoemulsión de la invención es un poloxámero, más preferiblemente el copolímero en bloques anfifílico es el copolímero plurónico F68 ó el copolímero plurónico F127.

- 5 Por otro lado, tal y como ya se ha comentado anteriormente, la nanoemulsión de la invención se caracteriza por tener una fase oleosa, que comprende un aceite, constituida por gotas de un diámetro medio inferior a 500 nanómetros, preferiblemente inferior a 300 nanómetros. En este sentido es importante resaltar que en el contexto de la presente invención, se entiende por diámetro medio aquel medido mediante la técnica Dynamic
10 Light Scattering (DLS), que está definido por el diámetro hidrodinámico de una esfera que difunde a la misma velocidad que las partículas que se están midiendo. Esto proporciona el diámetro medio de las gotas, así como un índice de su polidispersidad, y es el método recomendado por la United States Pharmacopeia para la medida de tamaño de gotas de emulsiones lipídicas inyectables (método 729 USP).

15

- Adicionalmente, los aceites utilizados para constituir el aceite comprendido en la fase oleosa de la nanoemulsión de la invención se pueden seleccionar entre uno o más aceites naturales, semisintéticos y sintéticos de uso farmacéutico tales como aceites de origen animal, vegetal, aceites hidrocarbonados o aceites de silicona. Aceites adecuados para
20 llevar a cabo la presente invención incluyen, pero no se limitan a, aceite mineral, aceite de escualeno, aceites de sabor, aceite de silicona, aceites esenciales, vitaminas insolubles en agua, isopropil estearato, butil estearato, octil palmitato, cetil palmitato, tridecil behenato, diisopropil adipato, dioctil sebacato, mentil antranilato, cetil octanoato, octil salicilato, isopropil miristato, cetoles de dicarpato de neopentilglicol, Cerafilos®, decil oleato, C12-
25 C15alquil lactatos, cetil lactato, lauril lactato, isostearil neopentanoato, miristil lactato, isocetil estearoil estearato, octildodecil estearoil estearato, aceites de hidrocarburos, isoparafina, parafinas fluidas, isododecano, vaselina, aceite de argán, aceite de colza, aceite de chile, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de lino, aceite de semilla de uva, aceite de mostaza, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de palma
30 fraccionado, aceite de cacahuete, aceite de ricino, aceite de semilla de pino, aceite de semilla de amapola, aceite de semilla de calabaza, aceite de salvado de arroz, cártamo,

aceite de té, aceite de trufa, aceite vegetal, aceite de albaricoque, aceite de jojoba, aceite de macadamia, aceite de germen de trigo, aceite de almendra, aceite de soja, aceite de sésamo, aceite de avellana, aceite de girasol, aceite de cáñamo, aceite de bois, aceite de nuez de Kukui, aceite de aguacate, aceite de nuez, aceite de pescado, aceite de baya, 5 aceite de pimienta de Jamaica, aceite de enebro, aceite de semilla, aceite de semilla de almendra, aceite de semilla de anís, aceite de semilla de apio, aceite de semilla de comino, aceite de semilla de nuez moscada, aceite de hoja de albahaca, aceite de hoja de laurel, aceite de hoja de canela, aceite de hoja de salvia común, aceite de hoja de eucalipto, aceite de hoja de limón, aceite de hoja de melaleuca, aceite de orégano, aceite de hoja de pachuli, aceite de hoja de menta, aceite de aguja de pino, aceite de hoja de romero, aceite de menta verde, aceite de hoja del árbol de té, aceite de hoja de tomillo, aceite de hoja de té de Canadá, aceite de flor, aceite de camomila, aceite de salvia romana, aceite de clavo, aceite de flor de geranio, aceite de flor de hisopo, aceite de flor de jazmín, aceite de flor de lavanda, aceite de flor de mauka, aceite de flor de mejorana, 15 aceite de flor de naranja, aceite de flor de rosa, aceite de flor de ylang-ylang, aceite de corteza, aceite de corteza de casia, aceite de corteza de canela, aceite de corteza de sasafrás, aceite de madera, aceite de madera de alcanfor, aceite de madera de cedro, aceite de palo de rosa, aceite de sándalo, aceite de madera de jengibre, aceite de resina, aceite de ricino, aceite de mirra, aceite de piel, aceite de piel de Bérsgamo, aceite de piel de pomelo, aceite de piel de limón, aceite de piel de lima, aceite de piel de naranja, aceite de piel de mandarina, aceite de raíz, aceite de valeriana, ácido oleico, ácido linoleico, oleil alcohol, alcohol de isostearilo, oleato de etilo, Miglyol®, Labrafil®, Labrafac®, Rylo®, Peceol® y Maisine®, derivados sintéticos o semisintéticos de los mimos y combinaciones de los mismos. Es decir, en el contexto de la presente invención, el aceite comprendido en 25 la fase oleosa de las nanoemulsiones puede consistir en un único aceite o en una mezcla de diferentes aceites, preferiblemente seleccionados de la lista anterior. Preferentemente el aceite comprende aceite de girasol. Aún más preferentemente, el aceite consiste en aceite de girasol, es decir, el aceite comprendido en la fase oleosa es aceite de girasol.

30 Por otro lado, tal como se ha definido anteriormente, las nanoemulsiones de la invención comprenden una N-aciletanolamina como principio activo. El término "principio activo" se

refiere a cualquier sustancia que se utiliza en el tratamiento, cura, prevención o diagnóstico de una enfermedad o que se utiliza para mejorar el bienestar físico y mental de seres humanos y animales. Así las nanoemulsiones de la presente invención resultan adecuadas para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad o dislipemia.

5

Las N-aciletanolaminas (NAEs) utilizadas en la presente invención, son amidas de ácidos grasos que actúan como mediadores endógenos de naturaleza lipídica. Así, en el contexto de la presente invención, una N-aciletanolamina es un compuesto que presenta la siguiente estructura química:

10

Formula (I):



15 donde el grupo R es un alquilo lineal (C11-C21) o un alquenilo lineal (C11-C21) con 1-6 dobles enlaces. En un aspecto preferido de la presente invención los grupos R pueden ser seleccionados de uno cualquiera de los siguientes grupos:

1. CH₃(CH₂)₁₀,
2. CH₃(CH₂)₁₂,
- 20 3. CH₃(CH₂)₁₄,
4. CH₃(CH₂)₁₅,
5. CH₃(CH₂)₁₆,
6. CH₃(CH₂)₁₈,
7. CH₃(CH₂)₃CH=CH(CH₂)₇,
- 25 8. CH₃(CH₂)₅CH=CH(CH₂)₇,
9. CH₃(CH₂)₈CH=CH(CH₂)₄,
10. CH₃(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₇,
11. CH₃(CH₂)₅CH=CH(CH₂)₉,
12. CH₃(CH₂)₄CH=CHCH₂CH=CH(CH₂)₇,
- 30 13. CH₃CH₂CH=CHCH₂CH=CHCH₂CH=CH(CH₂)₇,
14. CH₃(CH₂)₄CH=CHCH₂CH=CHCH₂CH=CHCH₂CH=CH(CH₂)₃,

15. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3$,

16. $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}$,

17.

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2$

5

Un tipo concreto de N-aciletanolamina es la N-oleiletanolamina., de ahí que en otro aspecto preferido del primer aspecto de la invención, la N-aciletanolamina es N-oleiletanolamina. El término N-oleiletanolamina (OEA), tal y como se usa en la presente invención, se refiere a una NAE cuya estructura se describe en la figura 1B, que se genera de forma natural regulando la ingesta y la ganancia de peso corporal en todos los vertebrados. Es un ligando endógeno del Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisomas tipo alfa PPAR α que regula su actividad para estimular la lipólisis.

10

Por otro lado, un segundo aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para elaborar la nanoemulsión de la invención. En este sentido, se hace notar que los procedimientos de obtención de las nanoemulsiones de la invención son métodos sencillos que evitan condiciones drásticas como altas temperaturas. Además, tampoco es necesario llevar a cabo ningún tipo de reacción química para la obtención de los mismos, ya que la obtención del sistema implica interacciones no covalentes. Por tanto, se preserva así la integridad de las moléculas incorporadas al sistema, susceptibles de ser degradadas. En este sentido, para lograr la formación de las nanoemulsiones de la invención se puede proceder a: i) disolver el/los copolímeros en agua bajo agitación suave; ii) añadir el aceite gota a gota a la fase acuosa producida en la etapa i), bajo agitación mecánica, produciendo una pre-emulsión; iii) reducir el tamaño de las gotas de la emulsión haciendo pasar en repetidas ocasiones la pre-emulsión de la etapa ii) por un homogeneizador de alta presión, formándose así la nanoemulsión; iv) añadir bajo agitación suave a la nanoemulsión de la etapa iii) un compuesto de la fórmula (I).

20

25

Adicionalmente, otro aspecto de la presente invención se refiere a la nanoemulsión de la invención para su uso en terapia. Más concretamente, a una composición farmacéutica, que comprende la nanoemulsión de la invención, y opcionalmente uno o más excipientes

30

farmacéuticamente aceptables. En particular, la incorporación de N-aciletanolaminas en las nanoemulsiones de la invención origina composiciones, cuyas características en cuanto a su composición, propiedades y morfología, les convierte en excelentes candidatos para el área de la terapéutica, más concretamente para el tratamiento o prevención de la obesidad o de la dislipemia. El tipo de N-aciletanolamina a incorporar en las nanoemulsiones de la invención será aquél con propiedades farmacoterapéuticas adecuadas de acuerdo con la aplicación terapéutica a la cual sea destinada la formulación. Así en una realización particular, la N-aciletanolamina es N-oleiletanolamina.

Por lo tanto, otro aspecto de la invención se refiere a una composición que comprende la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad. Alternativamente, la invención también se refiere al uso de una composición que comprende la nanoemulsión de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la obesidad. Preferiblemente, la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad se administra oralmente.

En aún otro aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la dislipemia. Alternativamente, la invención se refiere también al uso de una composición que comprende la nanoemulsión de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la dislipemia. Preferiblemente, la nanoemulsión de la invención para su uso en el tratamiento o prevención de la dislipemia se administra oralmente.

Adicionalmente, en otro aspecto más, la invención se relaciona con un método para el tratamiento o prevención de una enfermedad metabólica en un sujeto que comprende la administración a dicho sujeto de una composición que comprende la nanoemulsión de la invención.

El término "obesidad", según se usa en la presente invención, se refiere a la definición de obesidad proporcionada por la OMS basada en el índice de masa corporal (IMC), que consiste en la relación entre el peso de una persona (en kg) y el cuadrado de su altura en metros. Según este criterio, un IMC inferior a 18,5 kg/m² se considera como peso insuficiente o delgadez, un IMC de 18,5-24,9 kg/m² se considera normopeso, un IMC de 25,0-29,9 kg/m² se considera como sobrepeso en grado 1, un IMC de 30,0-39,9 kg/m² se considera obesidad o sobrepeso en grado 2 y un IMC mayor o igual a 40,0 kg/m² se considera como obesidad mórbida. Alternativamente, existen otros métodos para definir el grado de obesidad de un individuo tales como el diámetro de la cintura medida en el punto medio entre el límite inferior de las costillas y el límite superior de la pelvis (en cm), grosor de los pliegues de la piel y bioimpedancia, basada en el principio de que la masa magra transmite la electricidad mejor que la masa grasa.

El término "dislipemia", según se usa en la presente invención, se refiere a cualquier condición patológica caracterizada por una alteración en el metabolismo de los lípidos, con su consecuente alteración de las concentraciones de lípidos (colesterol, triglicéridos y similares) y lipoproteínas (lipoproteínas de alta densidad) en la sangre. Dislipemias que pueden ser tratadas con los métodos de la presente invención incluyen, sin limitación, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperlipoproteinemia de tipo I, IIa, IIb, III, IV, V, hiperquilomicronemia, hiperlipidemia combinada, etc.

El término "sujeto", según se usa en la presente invención incluye organismos vivos, tales como seres humanos, de sexo femenino o masculino, y de cualquier raza o edad; animales, por ejemplo monos, vacas, ovejas, caballos, cerdos, cabras, perros, gatos, ratones, ratas y especies transgénicas de los mismos. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano.

La cantidad de agentes activos (NAE) que será eficaz en el tratamiento de la obesidad o dislipemia puede determinarse por técnicas clínicas estándar basadas en la presente descripción. Además, pueden emplearse opcionalmente ensayos in vitro para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa a emplear en la

formulación dependerá también de la vía de administración, y la gravedad de la afección, y debe decidirse conforme al juicio del médico y las circunstancias de cada sujeto.

Para la administración oral, una dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos in vitro. Por ejemplo, puede formularse una dosis en modelos animales para conseguir un intervalo de concentración circulante que incluya la IC₅₀ (una medida de eficacia de la droga que indica cuánto de una sustancia es necesario para inhibir un proceso biológico dado) que se haya determinado en cultivo celular. Tal información puede usarse para determinar de manera más precisa las dosis útiles en humanos. Las dosificaciones iniciales pueden estimarse también a partir de datos in vivo, p.ej., modelos animales, usando técnicas que son bien conocidas en el estado de la técnica. Alguien con una experiencia normal en la técnica podrá optimizar fácilmente la administración a humanos basada en los datos en animales.

A continuación, para una mayor comprensión de las características y ventajas de la presente invención, se hará referencia a una serie de ejemplos que de forma explicativa completan la descripción anterior, sin suponer en modo alguno que ésta se vea limitada a los mismos.

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

EJEMPLO 1. Preparación y obtención de nanoemulsión G-F68

El aceite de girasol fue adquirido de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EE.UU.) y purificado mediante silicato de magnesio activado para eliminar ácidos grasos libres.

El poloxámero Plurónico F68 es un surfactante polimérico con un peso molecular de 8400 Da adquirido de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EE.UU.).

0,3 g de poloxámero Plurónico F68 fueron añadidos a 22.2 g de agua purificada MilliQ (0,054 mS) y disueltos en ella con la ayuda de un agitador magnético. Posteriormente, se

añaden 7.5 g de aceite de girasol gota a gota mientras se agita mecánicamente mediante un agitador de alta velocidad Heidolph Diax 900, manteniéndose la agitación durante 4 minutos a 13000 rpm, formándose así la pre-emulsión. Esta pre-emulsión fue inmediatamente homogeneizada mediante el homogeneizador de alta presión Emulsiflex-C3 (Avestin, CA, EE.UU.) a 103 MPa. Este último proceso se repitió 8 veces.

EJEMPLO 2. Preparación y obtención de nanoemulsión G-F127

El surfactante Plurónico F127 (poloxámero P407) es un copolímero tribloque con un peso molecular de 12600 g/mol, adquirido de Sigma-Aldrich. El método de preparación de nanoemulsiones con este surfactante es similar al explicado en el Ejemplo 1 para el Plurónico F68, con la única modificación de la cantidad de Plurónico empleado (en gramos). Con el fin de asegurar un correcto recubrimiento de las gotas de la nanoemulsión, la cantidad de Plurónico F127 será equivalente en moles a la de Plurónico F68, por lo que al ser mayor su peso molecular la cantidad añadida en gramos será superior. Así, en este caso la cantidad añadida de Plurónico F127 fue de 0.45 g.

EJEMPLO 3. Preparación de formulación con OEA

A partir de la nanoemulsión G-F68, se añadirá la cantidad previamente determinada de OEA en función de la dosis a utilizar. En un vial conteniendo un volumen de nanoemulsión correspondiente a un 5% (v/v) del volumen total de la solución, se añade una cantidad pesada de OEA (estado sólido). Este vial se encontrará en agitación a temperatura 35-45°C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, la nanoemulsión conteniendo OEA se someterá a sonicación en un baño de agua convencional durante 5 minutos controlando la temperatura. A continuación se volverá a agitar el vial añadiendo gota a gota suero fisiológico (5% NaCl) hasta completar el restante 95% de volumen total de la solución de trabajo. Esta preparación se llevará a cabo en fresco el mismo día del trabajo experimental in vivo.

EJEMPLO 4. Actividad biológica de nanoformulaciones de OEA con G-F68A

continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos experimentales in vivo realizados por los autores de la presente invención, que ponen de manifiesto la efectividad de las formulaciones de la invención.

5 Animales de experimentación

Ratas Wistar macho de 300-350 g fueron mantenidas individualmente en jaulas en unas condiciones de humedad y temperatura constantes, y con libre acceso a agua y comida estándar hasta llevarse a cabo los estudios de ingesta correspondientes. Los animales fueron manipulados por los experimentadores para su habituación.

10 Compuestos y dosis

Para el estudio de ingesta prolongado, una serie de soluciones de potencial uso para fármacos liposolubles relacionados con la conducta de ingesta fueron preparadas:

- a) Suero fisiológico.
- b) Tween 20 [10% en suero fisiológico v/v, obtenido de Tocris Bioscience (Bristol, Reino Unido)].
- c) Nanoemulsión G-F68 (10% en suero fisiológico v/v).
- d) Nanoemulsión G-F127 (10% en suero fisiológico v/v).

Todas las soluciones fueron administradas diariamente en un volumen de 1 mL/kg vía intraperitoneal (i.p.) durante 3 semanas.

- 20 Para los estudios de ingesta agudos, la nanoemulsión G-F68 o el Tween 20 fueron preparados en suero fisiológico al 5%.

Respecto a los estudios agudos con OEA, el compuesto se obtuvo de Tocris Bioscience (Bristol, Reino Unido). Se administró en una solución compuesta de la nanoemulsión G-F68 (5%) y suero fisiológico (95%) cuya preparación se llevaba a cabo el mismo día experimental. Las dosis empleadas fueron:

25

- a) 1, 5 y 10 mg/kg de OEA para los ensayos agudos de ingesta vía intraperitoneal. Volumen de administración 1 mL/kg
- b) 1, 10 y 50 mg/kg de OEA para los ensayos agudos de ingesta vía oral por intubación intragástrica (gavage, i.g.). Volumen de administración 3 mL/kg.

5

EJEMPLO 5. Estudio prolongado de ingesta y determinación del contenido graso hepático y bioquímica en plasma de nuevas nanoemulsiones: toxicidad y efectos metabólicos

Las nanoemulsiones G-F68 y G-F127 han sido evaluadas *in vivo* en ratas Wistar macho durante 3 semanas frente a otro vehículo habitualmente empleado para fármacos liposolubles: Tween 20 (10% en salino v/v). Utilizando suero fisiológico como grupo control de referencia, los animales tratados con las presentes nanoemulsiones mostraron un perfil toxicológico significativamente mejorado respecto a aquellos tratados con Tween 20 y similar a los tratados únicamente con suero.

1. Evolución peso

La administración de Tween 20 indujo una menor ganancia de peso en estos animales en comparación con aquellos que recibían salino. Esta menor ganancia resultó significativa a partir de la segunda semana (*P<0,05), incrementándose la tercera (**P<0,01). Sin embargo, la administración de ambas nanoemulsiones no produjo efectos sobre la ganancia de peso respecto al grupo tratado con salino (figura 3).

2. Bioquímica en plasma

Los animales fueron sacrificados tras el tratamiento con las diferentes soluciones por decapitación, previa anestesia (pentobarbital 200 mg/kg, i.p.). La sangre troncal recogida fue centrifugada (2000xg, 15 min, 25°C) y se extrajo el plasma en criotubos para preservar inmediatamente a -20°C. El análisis bioquímico del plasma mostró un incremento significativo de colesterol (**P<0,01), triglicéridos (*P<0,05), y transaminasas [GPT (**P<0,01) y GOT (**P<0,01)] en aquellos animales tratados con Tween 20 respecto a los

tratados con salino. Sin embargo, los animales tratados con las nuevas nanoemulsiones mostraron una significativa mejoría de estos parámetros frente al Tween 20: a) G-F68 mostró un incremento significativo del colesterol respecto al grupo salino (*P<0,05), pero indujo una caída muy acusada de triglicéridos (###P<0,001) y transaminasas [GPT (#P<0,05) y GGt (#P<0,05)] respecto al Tween 20; b) G-F127 indujo una reducción de creatinina (#P<0,05), colesterol (##P<0,01) y GPT (#P<0,05). Ver Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros bioquímicos en plasma de ratas Wistar macho (N=8 por grupo) tras la administración diaria de salino, Tween 20 ó nanoemulsiones durante 3 semanas.

Parámetros bioquímicos en plasma	Tratamiento (3 semanas, i.p.)			
	Salino	Tween20 (10% en salino)	G-F68 (10% en salino)	G-F127 (10% en salino)
Urea (mg/dL)	30.2 ± 1.6	31.8 ± 0.6	34.7 ± 1.6	33.8 ± 1.8
Creatinina (mg/dL)	0.50 ± 0.03	0.43 ± 0.01	0.51 ± 0.05	0.55 ± 0.04 [#]
Ácido Úrico (mg/dL)	0.63 ± 0.01	0.61 ± 0.03	0.67 ± 0.01	0.60 ± 0.02
Colesterol (mg/dL)	78.3 ± 1.8	88.2 ± 0.5**	85.1 ± 1.8*	80.8 ± 1.4**
HDL-C (mg/dL)	23.8 ± 0.9	25.0 ± 0.9	24.8 ± 1.2	24.0 ± 0.9
Triglicéridos (mg/dL)	121.7 ± 6.1	141.0 ± 5.2*	115.0 ± 0.9***	125.8 ± 7.9
GPT (U/L)	37.7 ± 0.6	42.8 ± 1.4**	38.0 ± 0.9 [#]	39.0 ± 1.0 [#]
GOT (U/L)	88.8 ± 2.4	107.0 ± 3.5**	97.7 ± 4.0	94.2 ± 4.9
GGt (U/L)	5.30 ± 0.30	5.92 ± 0.36	4.70 ± 0.18 [#]	5.66 ± 0.44

Los valores representan medias ± SEM (error estándar de la media). Los datos fueron analizados por ANOVA (1 vía) y post-tests Bonferroni. * P<0,05, **P<0,01 y ***P<0,001 vs. Grupo control salino; #P<0,05, ##P<0,01 y ###P<0,001 respecto al grupo Tween 20. Abreviaturas: HDL-C: Colesterol-lipoproteína de alta densidad; GPT: Glutamato-piruvato transaminasa; GOT: Glutamato-oxaloacetato transaminasa; GGt: Gamma glutamil transpetidasa.

3. Cuantificación de la grasa hepática

Para la cuantificación del contenido graso hepático, los lípidos totales se extrajeron de las muestras de hígados congeladas (procedentes de los animales sacrificados tras el tratamiento con las diferentes soluciones por decapitación, previa anestesia) utilizando una mezcla de cloroformo-metanol (2:1 [v/v]). La cuantificación mostró un aumento significativo de la grasa total (*P<0,05) en aquellos animales tratados con Tween 20 respecto a los tratados con salino. Sin embargo los animales tratados con la nanoemulsión G-F68 mostraron una reducción del contenido lipídico hepático, alcanzando valores similares a los del grupo salino. Ver Tabla 2.

Tabla 2. Grasa total hepática de ratas Wistar macho (N=8 por grupo) tras la administración diaria de salino, Tween 20 ó nanoemulsión G-F68 durante 3 semanas.

	Tratamiento (3 semanas, i.p.)		
	Salino	Tween 20 (10% en salino)	G-F68 (10% en salino)
Grasa total en hígado (% respecto g tejido)	3.999 ± 0.091	4.850 ± 0.295*	3.857 ± 0.186#

Los valores representan medias ± SEM (error estándar de la media). Los datos fueron analizados por ANOVA (1 vía) y post-tests Bonferroni. * P<0,05 vs. grupo control salino; #P<0,05 respecto al grupo Tween 20.

EJEMPLO 6. Efectos agudos sobre ingesta tras la administración sistémica y oral de OEA

Se valoró la actividad biológica relativa a la inducción de saciedad y control de la ingesta de la N-aciletanolamina OEA usando la nanoemulsión G-F68 como sistema de transporte

(vehículo). Los experimentos se llevaron a cabo en animales habituados al protocolo experimental. Para este fin, 48 horas antes de cada ensayo se retiraba el material de base (arena o serrín), y se situaban pequeños contenedores con comida dentro de las jaulas durante 4 horas. Pasada esta fase inicial, los animales fueron privados de comida durante 24 horas, siempre con acceso libre al agua. Una vez establecidos los grupos de tratamiento, a los 15 minutos de la administración aguda se colocaban los contenedores con una cantidad de comida conocida (normalmente 30-40 g) y una botella de agua fresca. Estos contenedores de comida se pesaron a diferentes tiempos durante las primeras 4 horas y a las 24 horas después de su tratamiento agudo.

1. Efectos de la nanoemulsión G-F68 sobre la conducta de ingesta

En primer lugar se demostró que una administración aguda de G-F68 tanto por vía intraperitoneal (1 mL/kg, i.p.) como por vía oral por gavage (3 mL/kg, i.g.), no afectaba la conducta de ingesta en ratas en ayunas, frente a aquellas que recibieron suero fisiológico (Figura 4).

Transcurridas 24 horas de la inyección tampoco se observaron diferencias en la cantidad de comida ingerida por ambos grupos experimentales.

2. Efectos de la administración sistémica de OEA en la nanoemulsión G-F68

Una vez descartados efectos sobre ingesta de la nanoemulsión per se, la OEA fue administrada usando G-F68 (5% en salino) vía intraperitoneal en un volumen de 1 mL/kg, controlando la comida ingerida a diferentes tiempos durante 24 horas tras la administración del fármaco. De este modo, se pudo observar y reproducir la actividad anorexigénica descrita para este mediador lipídico de saciedad usando estas nanoemulsiones (Rodríguez de Fonseca y col., 2001; Fu y col., 2003).

Como ilustra la Figura 5, la administración sistémica de OEA indujo una reducción significativa del consumo de comida con dosis de 5 mg/kg ($***P<0,001$ a los 15 min; $*P<0,05$ a los 30 min) y 10 mg/kg ($***P<0,001$ a los 15 min; $***P<0,001$ a los 30 min; $***P<0,001$ a los 60 min) comparado con los tratados con la nanoemulsión únicamente.

Transcurridas 24 horas de la administración aguda de las diferentes dosis de OEA, no se observó diferencias de ingesta acumulada respecto a los animales tratados con vehículo (G-F68).

3. Efectos de la administración oral de OEA en la nanoemulsión G-F68

- 5 Adicionalmente se llevó a cabo el tratamiento agudo de ratas en ayunas con OEA administrada vía oral (i.g.) en un volumen de 3 mL/kg. Estos animales fueron previamente habituados a la técnica de intubación intragástrica por sonda rígida utilizando suero fisiológico.

- 10 La administración aguda de diferentes dosis de OEA indujo un efecto inhibitor en el consumo de comida de modo dosis-dependiente respecto al grupo de ratas control (tratadas con vehículo G-F68).

- La administración oral por gavage de OEA indujo una reducción significativa del consumo de comida con dosis de 1 mg/kg (**P<0,01 a los 240 min), 10 mg/kg (*P<0,05 a los 240 min) y 50 mg/kg (**P<0,01 a los 15 min; *P<0,05 a los 30 min; *P<0,05 a los 60 min; 15 **P<0,01 a los 120 min; ***P<0,001 a los 240 min; **P<0,01 a las 24 h) comparado con los animales tratados con la nanoemulsión G-F68 únicamente (figura 6)

4. Comparación de los efectos de la administración oral de OEA administrada en el Tween 20 o en la nanoemulsión G-F68

- 20 Para este experimento, se llevó a cabo el tratamiento agudo vía oral (i.g.) de ratas en ayunas con OEA preparada en Tween 20 o en la nanoemulsion G-F68. La OEA se administró en un volumen de 3 mL/kg utilizando la dosis más efectiva de las ensayadas en el estudio previo (50 mg/kg).

- Como la ilustra la Figura 7, la administración oral por gavage de OEA en Tween 20 indujo una reducción significativa del consumo de comida a los 30 y 60 min (*P<0,05). Sin embargo, la administración oral de OEA en la nanoemulsion G-F68 produjo una 25 disminución significativa y prolongada del consumo de comida en todos los tiempos evaluados (**P<0,01 a los 15 min; *P<0,05 a los 30 y 60 min; **P<0,01 a los 120 min; *P<0,05 a los 240 min y a las 24 h).

Cabe destacar que los presentes datos de administración oral de OEA con la nueva nanoemulsión G-F68 muestran un efecto inhibidor de ingesta con dosis efectivas inferiores a las descritas en la literatura, así como una mayor duración de este efecto. Estos datos demostrarían la capacidad de estas nanoformulaciones para liberar OEA de forma controlada gracias a la composición de la nanoemulsión.

Por tanto, la administración con estas nuevas nanoemulsiones de NAEs y fármacos liposolubles relacionados con estas moléculas, representa un sistema de transporte, liberación y actividad eficaz y seguro. Esto tiene aplicación directa en los campos de la biomedicina y de la farmacia, ya que se podrían administrar de manera apropiada estas aciletanolamidas para fines terapéuticos. Por ejemplo, se puede utilizar el efecto saciante de OEA ya demostrado para esta formulación con el fin de reducir la ingesta calórica, y por tanto, disminuir los graves efectos sobre la salud derivados de ésta: obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc.

REIVINDICACIONES

1. Una nanoemulsión del tipo aceite en agua (o/w) adecuada para la administración de N-aciletanolaminas, que comprende:

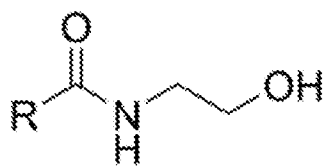
a. Una fase acuosa;

b. Una fase oleosa que comprende un aceite constituida por gotas de diámetro inferior a 500 nanómetros;

c. Un copolímero en bloques anfifílico; y

d. Un compuesto de formula (I):

Formula (I):



donde el grupo R es un alquilo lineal (C11-C21) o un alquenilo lineal (C11-C21) con 1-6 dobles enlaces y donde el ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,02 y 0,16.

2. La nanoemulsión según la reivindicación 1, donde el ratio (p/p) copolímero/fase oleosa se encuentra entre 0,032 y 0,08.

3. La nanoemulsión según la reivindicación 1, donde el ratio (p/p) copolímero/fase oleosa es 0,04.

4. La nanoemulsión según la reivindicación 1, donde la concentración del copolímero se encuentra a una concentración de un 1% en peso del volumen total de la nanoemulsión (p/v).

5. La nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el copolímero en bloques anfifílico es un poloxámero.
6. La nanoemulsión según la reivindicación 5, en donde el poloxámero se selecciona de la lista que consiste en plurónico F68 y plurónico F127.
7. La nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el aceite de la fase oleosa se selecciona de la lista que consiste en aceite de girasol, cacahuete, algodón, oliva, ricino, soja, cártamo, palma, α tocoferol (vitamina E), miristato de isopropilo, escualeno o cualquier combinación de los mismos.
8. La nanoemulsión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde la fase oleosa consiste en aceite de girasol.
9. La nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el compuesto de fórmula (I) es N-oleiletanolamina.
10. Procedimiento para la obtención de la nanoemulsión tal y como se define en la reivindicación 1, que comprende: i) disolver el/los copolímeros en agua bajo agitación suave; ii) añadir el aceite gota a gota a la fase acuosa producida en la etapa i), bajo agitación mecánica, produciendo una pre-emulsión; iii) reducir el tamaño de las gotas de la emulsión haciendo pasar en repetidas ocasiones la pre-emulsión de la etapa ii) por un homogeneizador de alta presión, formandose así la

nanoemulsión; iv) añadir bajo agitación suave a la nanoemulsión de la etapa iii) un compuesto de la fórmula (I).

11. La nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso en
5 terapia.

12. Uso de la nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para la
elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la
obesidad.

10 13. Uso de la nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para la
elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la
dislipemia.

15 14. Uso de la nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para la
elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la
dislipemia, donde dicha dislipemia se selecciona de la lista que consiste en
hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperlipoproteinemia de tipo I, IIa, IIb, III,
IV ó V, hiperquilimicronemia o hiperlipidemia combinada.

20 15. Composición farmacéutica que comprende la nanoemulsión de cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 9 y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente
aceptables.

16. Nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad por vía de administración oral.
17. Nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en el
5 tratamiento o prevención de la dislipemia por vía de administración oral.
18. Nanoemulsión según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en el
tratamiento o prevención de la dislipemia, donde dicha dislipemia se selecciona de
la lista que consiste en hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia,
10 hiperlipoproteinemia de tipo I, IIa, IIb, III, IV ó V, hiperquilimicronemia o
hiperlipidemia combinada y dónde la nanoemulsión se administra oralmente.

FIGURAS

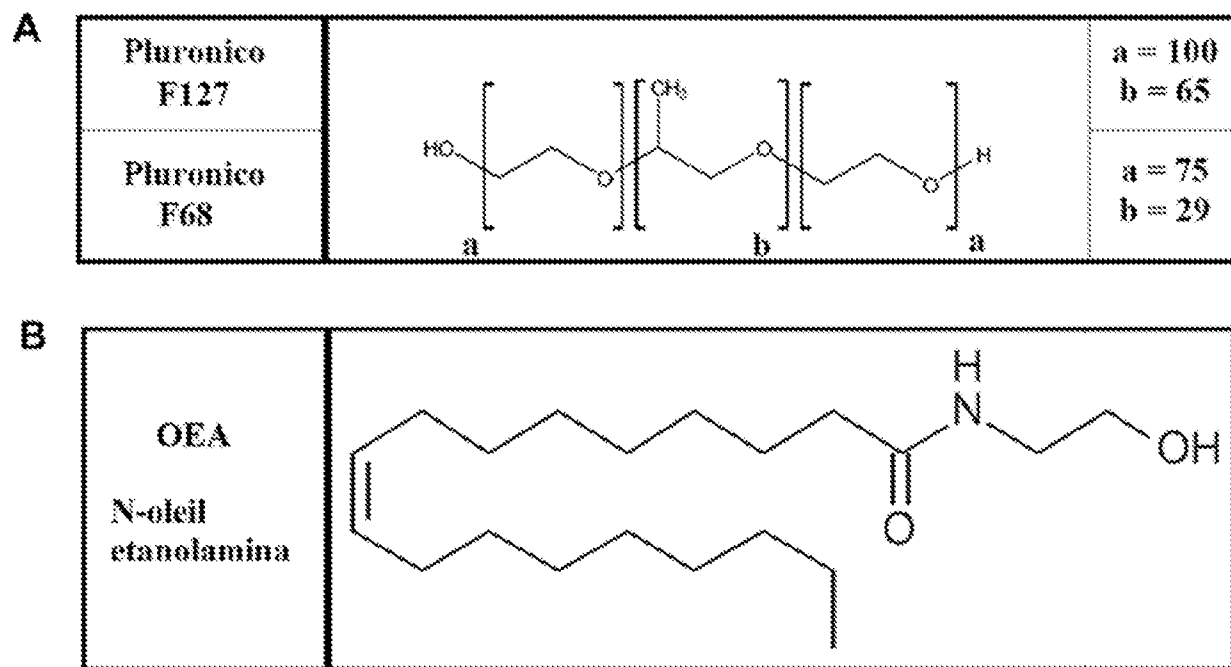


FIGURA 1

2/7

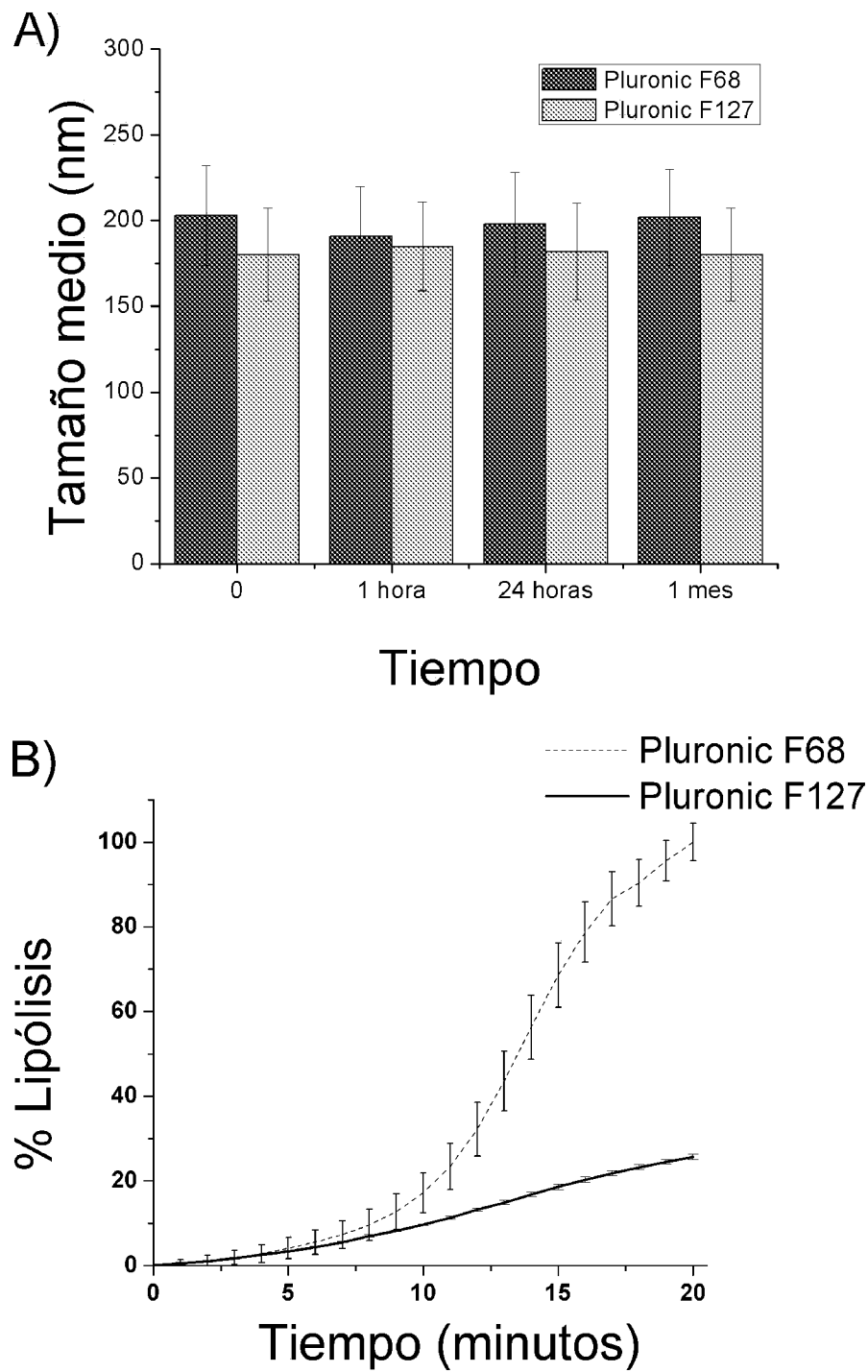


FIGURA 2

3/7

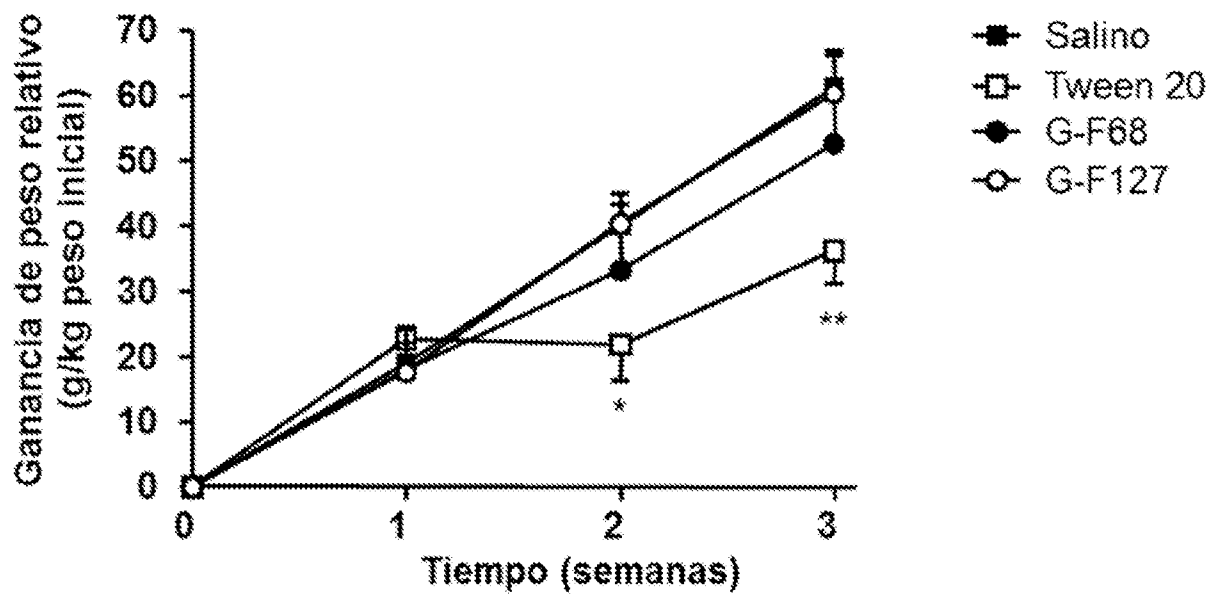


FIGURA 3

4/7

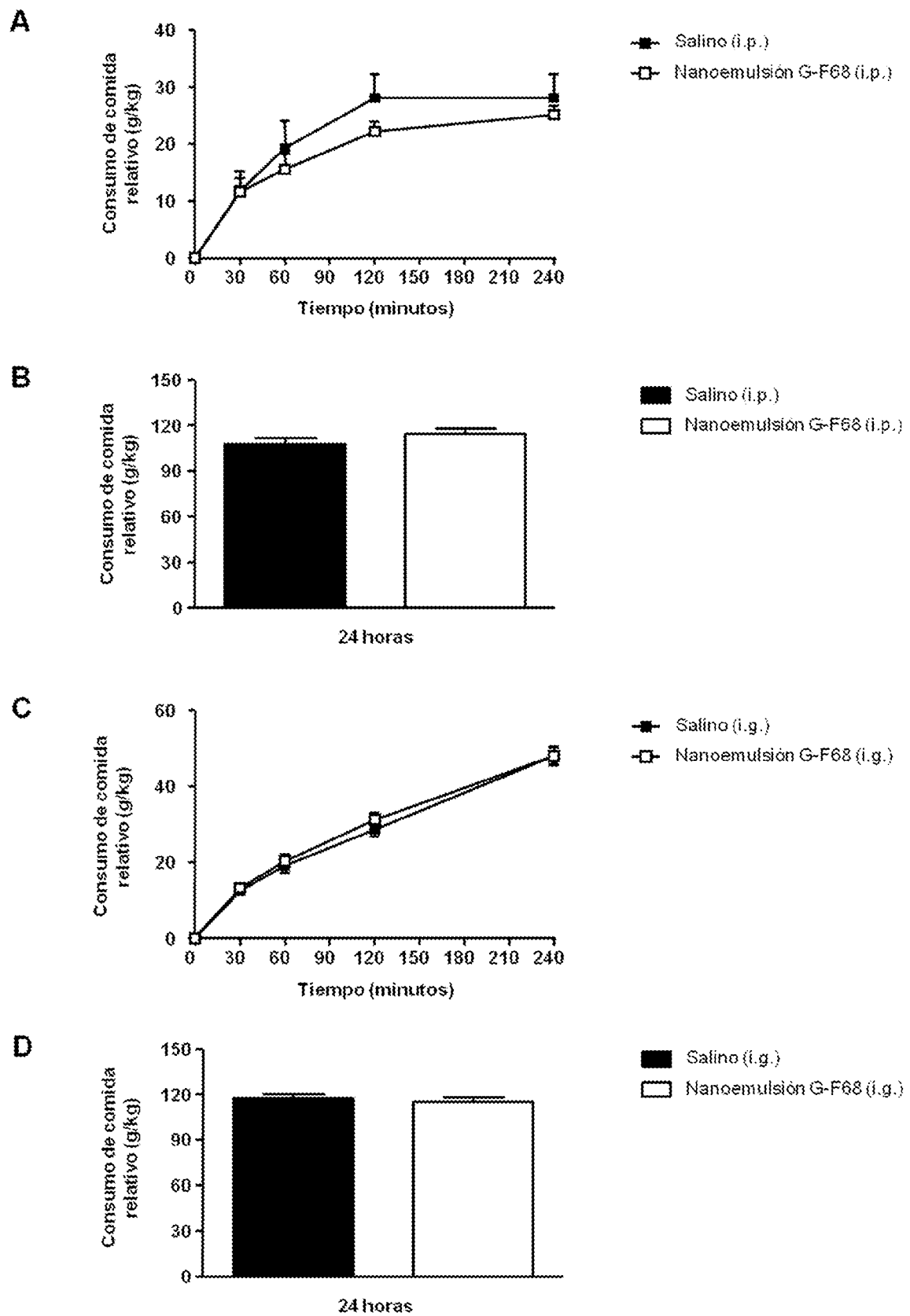


FIGURA 4

5/7

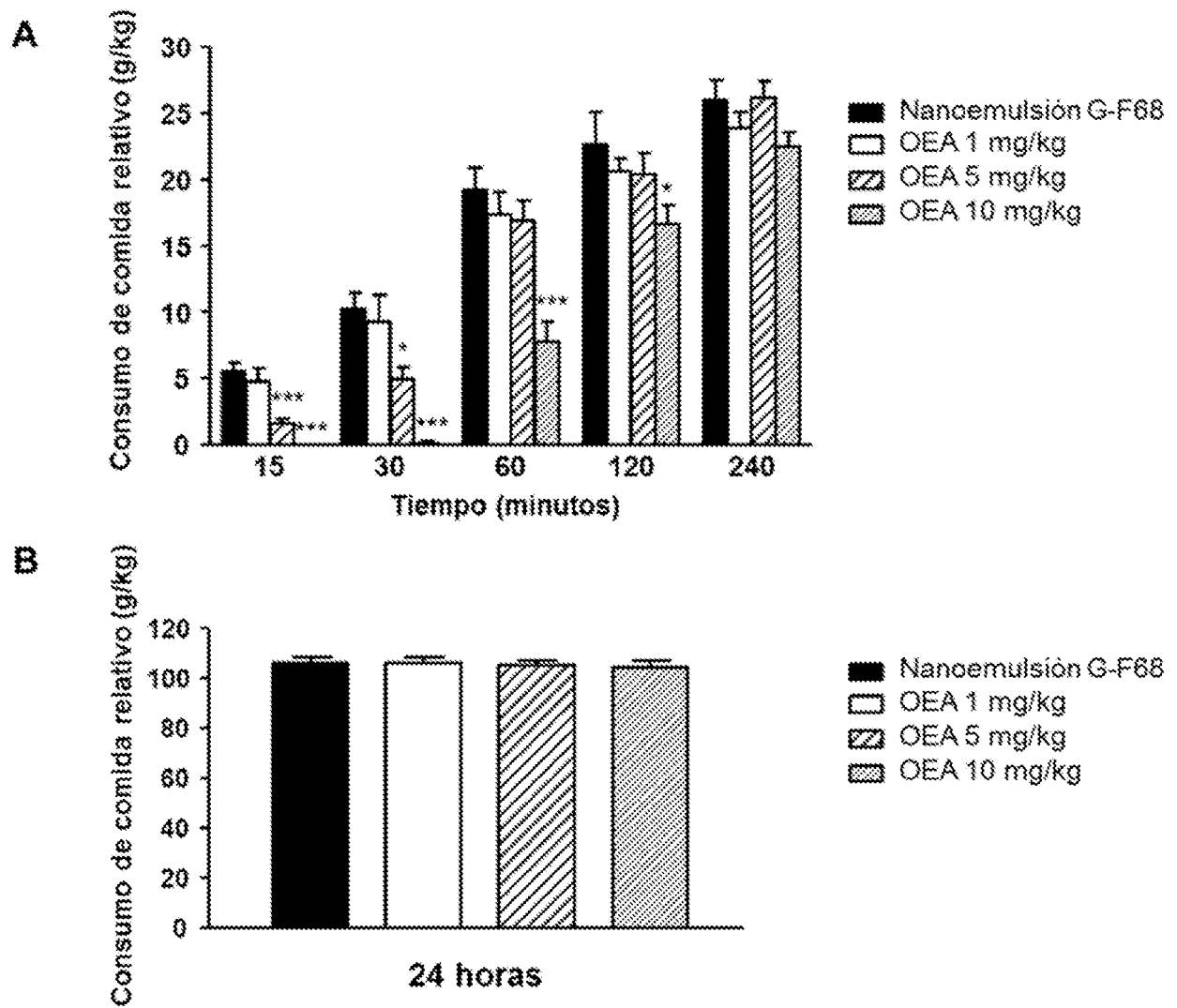


FIGURA 5

6/7

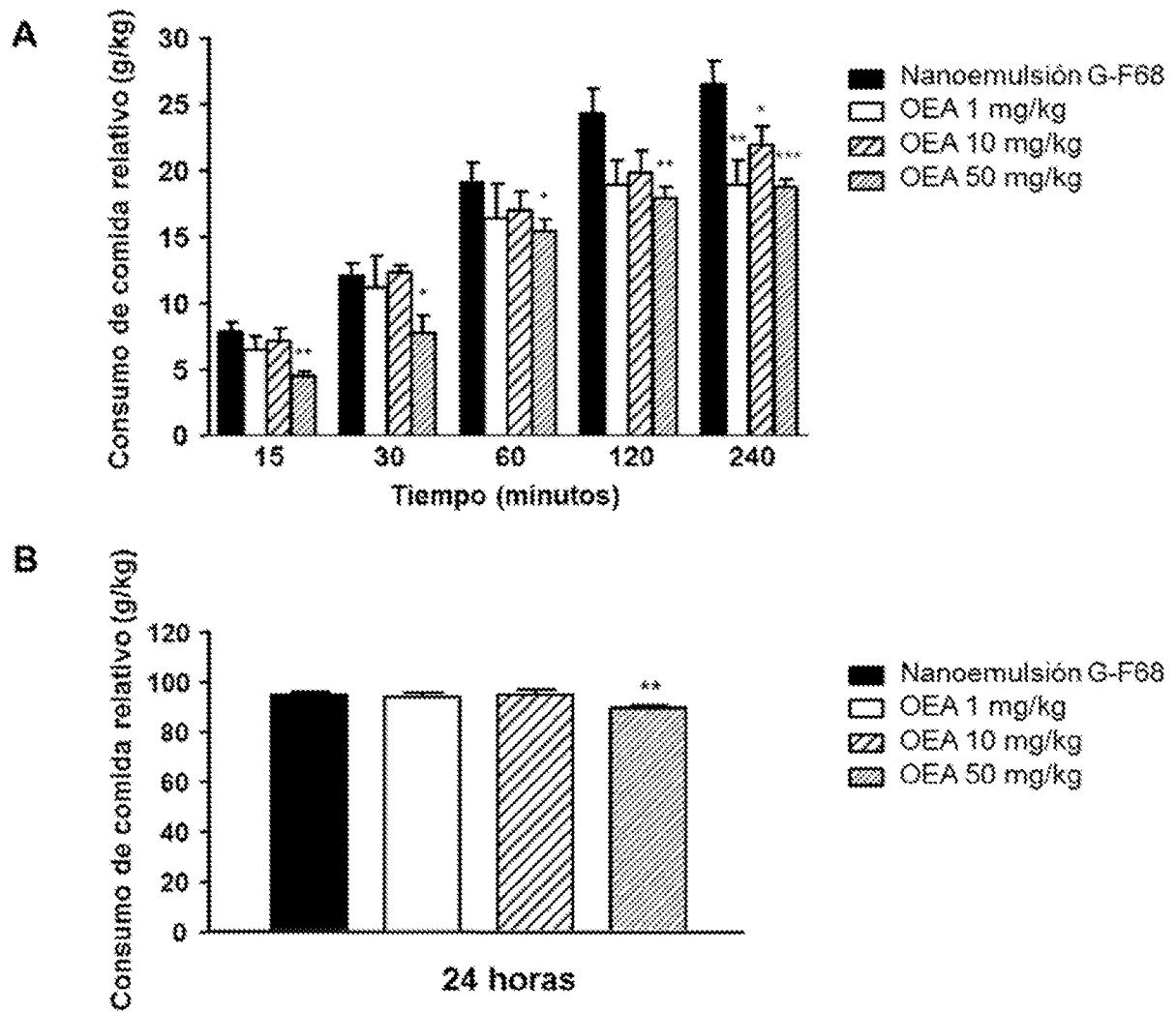
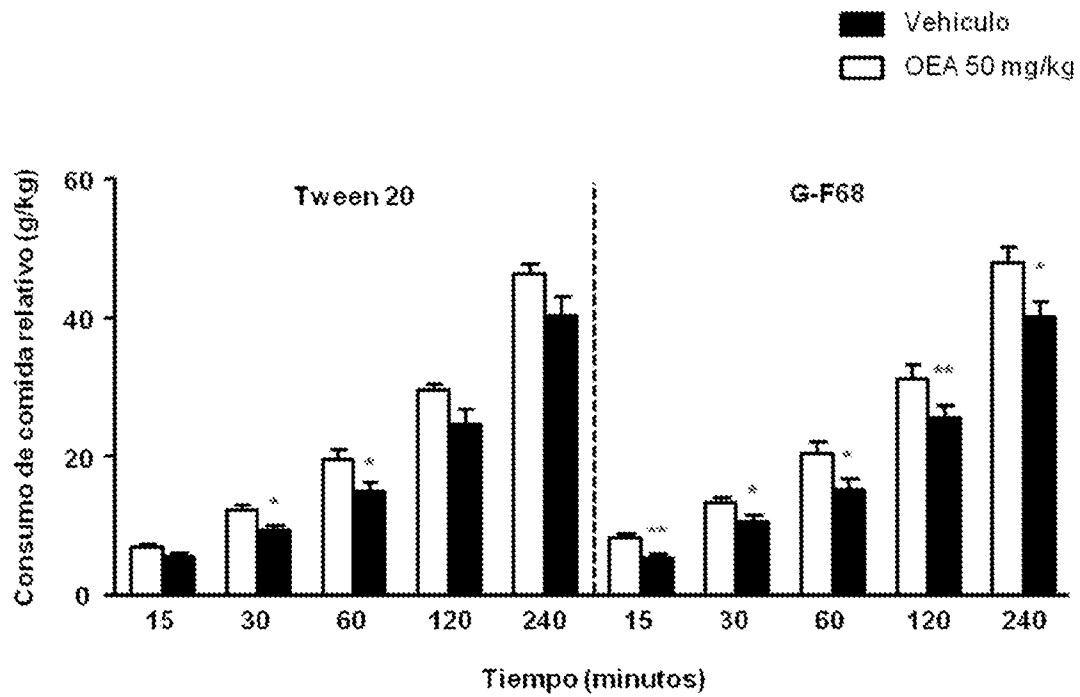
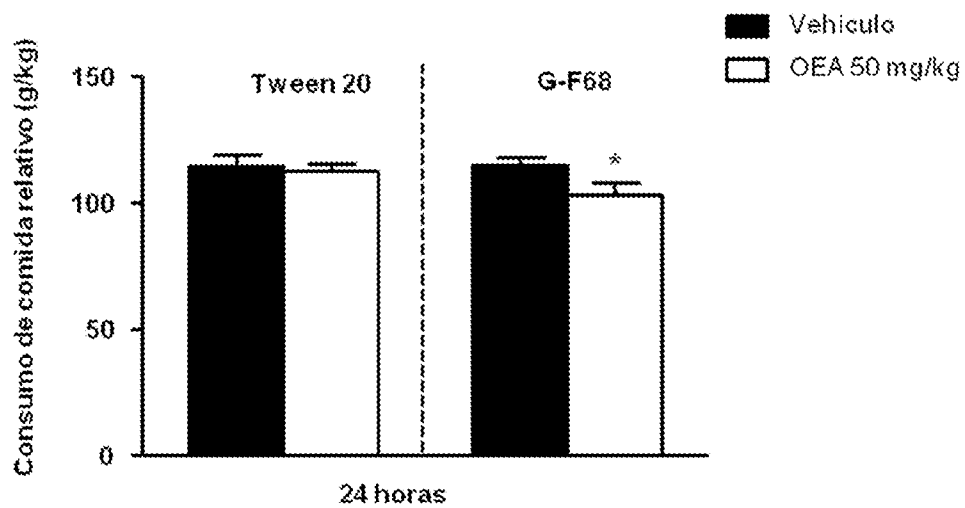


FIGURA 6

7/7

A**B****FIGURA 7**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2014/070129

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C, A61K, B82B, B82Y

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, BD-TXT, NPL, XPESP, BIOSIS, CAS.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SERRANO, A. et al. "The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A (Rimonabant) enhances the metabolic benefits of long-term treatment with oleoylethanolamide in Zucker rats". Neuropharmacology, 2007, pages 1-7. See Abstract, page 2, column 1, paragraph 4; Section 2.1.	1-18
A	AT 509000 A1 (RAUSCH PETER) 15/05/2011, (Abstract) World Patent Index [on line]. London (Reino Unido) Thomson Publications, LTD. [Retrieved the 05/05/2014] DW 201240, 201347, Accession Number 2011-J43237.	1-18
A	US 6348498 B1 (CALIGNANO ANTONIO ET AL.) 19/02/2002, column 1, paragraph 2; column 6, paragraph 2.	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
06/05/2014

Date of mailing of the international search report
(08/05/2014)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
N. Martín Laso

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)

Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3493278

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2014/070129

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2010063156 A1 (STREEKSTRA HUGO) 11/03/2010, paragraphs 7, 10 and 38.	1-18
A	WO 9525504 A1 (PHARMAVENE INC ET AL.) 28/09/1995, página1; page 3, paragraphs 2 and 3; Table 22; claims 1-9.	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2014/070129

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
AT509000 A1	15.05.2011	AT509000B B1	15.12.2012
-----	-----	-----	-----
US6348498 B1	19.02.2002	US2002173550 A1	21.11.2002
		US6656972 B2	02.12.2003
		WO9960987 A2	02.12.1999
		WO9960987 A3	27.01.2000
		JP2002516262 A	04.06.2002
		JP4817495B B2	16.11.2011
		EP1082292 A2	14.03.2001
		EP1082292 A4	02.04.2003
		EP1645270 A2	12.04.2006
		EP1645270 A3	31.05.2006
		DE69927496T T2	06.07.2006
		CA2330681 A1	02.12.1999
		CA2330681 C	26.08.2008
		AU4672999 A	13.12.1999
		AU776414B B2	09.09.2004
-----	-----	-----	-----
US2010063156 A1	11.03.2010	WO2008040756 A1	10.04.2008
		EP2091523 A1	26.08.2009
-----	-----	-----	-----
WO9525504 A1	28.09.1995	JP2006022112 A	26.01.2006
		US5897876 A	27.04.1999
		US5952004 A	14.09.1999
		JPH09510712 A	28.10.1997
		JP4157969B B2	01.10.2008
		ES2270426T T3	01.04.2007
		EP0788346 A1	13.08.1997
		EP0788346 A4	06.05.1998
		DE69535127T T2	15.02.2007
		CA2185803 A1	28.09.1995
		CA2185803 C	11.07.2006
		AU2102495 A	09.10.1995
		AU696855B B2	17.09.1998
		AT333867T T	15.08.2006
-----	-----	-----	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2014/070129

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C233/18 (2006.01)

A61K31/16 (2006.01)

B82B1/00 (2006.01)

B82Y5/00 (2011.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2014/070129

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
C07C, A61K, B82B, B82Y

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, BD-TXT, NPL, XPESP, BIOSIS, CAS.

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	SERRANO, A. et al. "The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A (Rimonabant) enhances the metabolic benefits of long-term treatment with oleoylethanolamide in Zucker rats". Neuropharmacology, 2007, páginas 1-7. Ver Resumen, página 2, columna 1, párrafo 4; Apartado 2.1.	1-18
A	AT 509000 A1 (RAUSCH PETER) 15/05/2011, (Resumen) World Patent Index [en línea]. Londres (Reino Unido) Thomson Publications, LTD. [Recuperado el 05/05/2014] DW 201240, 201347, Nº de acceso 2011-J43237.	1-18
A	US 6348498 B1 (CALIGNANO ANTONIO ET AL.) 19/02/2002, columna 1, párrafo 2; columna 6, párrafo 2.	1-18

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
06/05/2014

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
08 de mayo de 2014 (08/05/2014)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
N. Martín Laso
Nº de teléfono 91 3493278

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2014/070129

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	US 2010063156 A1 (STREEKSTRA HUGO) 11/03/2010, párrafos 7, 10 y 38.	1-18
A	WO 9525504 A1 (PHARMAVENE INC ET AL.) 28/09/1995, página1; página 3, párrafos 2 y 3; Tabla 22; reivindicaciones 1-9.	1-18

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2014/070129

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
AT509000 A1	15.05.2011	AT509000B B1	15.12.2012
-----	-----	-----	-----
US6348498 B1	19.02.2002	US2002173550 A1	21.11.2002
		US6656972 B2	02.12.2003
		WO9960987 A2	02.12.1999
		WO9960987 A3	27.01.2000
		JP2002516262 A	04.06.2002
		JP4817495B B2	16.11.2011
		EP1082292 A2	14.03.2001
		EP1082292 A4	02.04.2003
		EP1645270 A2	12.04.2006
		EP1645270 A3	31.05.2006
		DE69927496T T2	06.07.2006
		CA2330681 A1	02.12.1999
		CA2330681 C	26.08.2008
		AU4672999 A	13.12.1999
		AU776414B B2	09.09.2004
-----	-----	-----	-----
US2010063156 A1	11.03.2010	WO2008040756 A1	10.04.2008
		EP2091523 A1	26.08.2009
-----	-----	-----	-----
WO9525504 A1	28.09.1995	JP2006022112 A	26.01.2006
		US5897876 A	27.04.1999
		US5952004 A	14.09.1999
		JPH09510712 A	28.10.1997
		JP4157969B B2	01.10.2008
		ES2270426T T3	01.04.2007
		EP0788346 A1	13.08.1997
		EP0788346 A4	06.05.1998
		DE69535127T T2	15.02.2007
		CA2185803 A1	28.09.1995
		CA2185803 C	11.07.2006
		AU2102495 A	09.10.1995
		AU696855B B2	17.09.1998
		AT333867T T	15.08.2006
-----	-----	-----	-----

CLASIFICACIONES DE INVENCION

C07C233/18 (2006.01)

A61K31/16 (2006.01)

B82B1/00 (2006.01)

B82Y5/00 (2011.01)