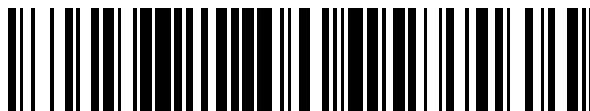


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 387 590**

21 Número de solicitud: 201031431

51 Int. Cl.:

**C12P 7/62** (2006.01)

**A61K 31/215** (2006.01)

**A61K 8/37** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

**C08K 5/10** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

**27.09.2010**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**26.09.2012**

Fecha de la concesión:

**21.10.2013**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**31.10.2013**

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC) (60.0%)  
C/ Serrano, 117  
28006 Madrid (Madrid) ES y  
UNIVERSIDAD DE SEVILLA (40.0%)**

72 Inventor/es:

**CERT VENTULÁ, Arturo;  
ROMERO SEGURA, Ana;  
MATEOS BRIZ, Raquel;  
ALCUDIA GONZÁLEZ, Felipe;  
ESPARTERO SÁNCHEZ, José Luis y  
TRUJILLO PÉREZ-LANZAC, Mariana**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE ACEITES O GRASAS CON ALTO CONTENIDO ANTIOXIDANTE.**

57 Resumen:

Procedimiento de obtención de aceites o grasas con alto contenido antioxidante.

La presente invención se refiere a un nuevo procedimiento de obtención de aceites o grasas con alto contenido antioxidante, debido a la acción de compuestos de naturaleza fenólica y en concreto debido al hidroxitirosol y esteres grasos de hidroxitirosilo.

ES 2 387 590 B1

## DESCRIPCION

**Procedimiento de obtención de aceites o grasas con alto contenido antioxidante**

5 La presente invención se refiere a un nuevo procedimiento de obtención de aceites o grasas con alto contenido antioxidante, debido a la acción de compuestos de naturaleza fenólica y en concreto debido al hidroxitirosol y a esterres grasos de hidroxitirosilo.

10 La presente invención se enfoca dentro del área de desarrollos en el sector de la alimentación, cosmética y farmacia.

**ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR**

15 Los antioxidantes se añaden a los aceites y grasas con el fin de evitar la formación de colores y sabores indeseables originados en la oxidación de los lípidos [*Food Antioxidants, B.J.F. HUDSON ed., Elsevier, London 1990*]. Un amplio grado de aditivos antioxidantes son usados comúnmente en la preparación de alimentos grasos [*Real Decreto 142/2002, Boletín Oficial del Estado de 20/02/2002, pp. 6756 y subsiguientes modificaciones*] y cosméticos  
20 [*Inventario de Ingredientes Cosméticos, Centro de Publicaciones del Ministerio de Salud y Consumo, Madrid, 1996*], de origen natural y sintético, dependiendo de la naturaleza, carácter lipófilo y uso del producto que debe ser protegido de la oxidación.

25 Dentro del grupo de los antioxidantes naturales, el hidroxitirosol (también llamado 2-(3,4-dihroxifenil)etanol) y sus derivados secoiridoideos, que se encuentran presentes en el aceite de oliva, muestran una capacidad antioxidante mucho mayor que los aditivos antioxidantes normalmente utilizados en alimentos grasos, tales como tocoferoles (de origen natural) y  
30 butilhidroxitolueno (de origen sintético) [*M. SERVILI, et al., Riv. Ital. Sostanze Grasse, 73 (1996) 55*]. Sin embargo, el hidroxitirosol es muy poco soluble en grasas por su carácter polar y los derivados secoiridoideos son muy lábiles y

amargos, por lo que el uso de extractos de productos del olivo como aditivos antioxidantes es muy limitado.

Recientemente se han descrito procedimientos para el aislamiento y  
5 purificación de hidroxitirosol a partir de los residuos generados en el proceso de obtención del aceite de oliva [*J. FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, US 6,849,770 B2, 2005*] y del agua de lavado obtenida en la preparación de las aceitunas de mesa estilo Español [*M. BRENES et al., J. Agric. Food Chem. 49 (1995) 2702*] que permiten obtener este compuesto a un bajo coste. Estos extractos  
10 concentrados tienen consistencia siruposa, lo cual añadido a su poca solubilidad en grasas hacen que sólo se alcanzan bajas concentraciones, que en muchos casos son insuficientes para conferir un efecto antioxidante adecuado a la grasa. En consecuencia se han investigado los esteres de hidroxitirosilo con los ácidos grasos de 2 a 24 átomos de carbono ya que son  
15 solubles en grasas, no son amargos y tienen capacidad antioxidante similar a la del hidroxitirosol libre, tanto en matrices lipídicas como en sistemas biológicos [*M. TRUJILLO et al., J. Agric. Food Chem., 54 (2006) 3779*]. Una referencia sobre la preparación del acetato de hidroxitirosilo a partir del 2-(2,3-dimetoxifenil) etanol en 5 pasos fue publicada por Baraldi et al. [*P.G. BARALDI  
20 et al., Liebigs Ann. Chem., 83 (1983) 684*]. También se ha descrito una síntesis del acetato en 3 pasos a partir del hidroxitirosol [*M.H. GORDON, J. Agric. Food Chem., 49 (2001) 2480*]. Ambos procedimientos son largos y los rendimientos son bajos.

25 Se han descrito métodos generales de preparación de los esteres grasos de hidroxitirosilo por reacción del hidroxitirosol con compuestos acílicos en distintos medios, utilizando diversos catalizadores ácidos y enzimas. Los compuestos acílicos han sido ácidos grasos [*G.J.H. BUISMAN et al., Biotechnology Lett., 20 (1998) 131*], esteres alquílicos de ácidos grasos [*WO  
30 0216628 A1 CSIC-Universidad de Sevilla 28/02/2002*] y cloruros de ácidos grasos [*WO 03082798 A1, PULEVA BIOTECH, S.A., 09/10/2003; WO 03082259 A1, PULEVA BIOTECH S.A., 09/10/2003*]. En particular, se ha

descrito la obtención de una mezcla de palmitato, oleato y linoleato de hidroxitirosilo por reacción del hidroxitirosol con aceite de oliva utilizando ácido sulfúrico como catalizador [WO 2004/005237, ejemplo método B, CSIC-Universidad de Sevilla 15/01/2004]. En estos procedimientos se persigue la  
5 obtención de los esteres con una pureza suficiente para su uso alimentario, por lo que se procede a la eliminación del catalizador y disolvente, y a la purificación del producto por cromatografía. Estas manipulaciones encarecen los productos y limitan en gran medida su utilización como aditivo, en competencia con otros que se utilizan habitualmente.

10

### **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN**

La presente invención permite obtener aceites y grasas con un alto contenido antioxidante debido al hidroxitirosol y esteres grasos de hidroxitirosilo, mediante  
15 una sencilla reacción directa del aceite o grasa con hidroxitirosol, de forma que el aceite o grasa obtenidos puede utilizarse como aditivo para otros aceites y grasas, conservando las propiedades antioxidantes del hidroxitirosol.

El hidroxitirosol es un compuesto fenólico de origen natural que tiene una alta  
20 capacidad antioxidante con propiedades beneficiosas para la salud que puede ser utilizado con ventaja como aditivo en aceites y grasas, en sustitución de los antioxidantes fenólicos sintéticos (BHA, BHT, TBHQ, galatos) actualmente utilizados en la industria agroalimentaria y cosmética.

25 Por lo tanto la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de aceites o grasas con alto contenido en antioxidantes, en concreto por su alto contenido en ésteres grasos de hidroxitirosilo

En general, el procedimiento objeto de la presente invención comprende la  
30 reacción del hidroxitirosol, adsorbido sobre un soporte sólido, con los componentes glicerídicos del aceite o grasa, utilizando un catalizador enzimático.

Con este procedimiento se consigue que hasta el 90% del hidroxitirosol pase al aceite como una mezcla de hidroxitirosol y sus esteres de ácidos grasos.

5 Con este procedimiento se puede obtener un aceite o grasa con alta concentración de derivados de hidroxitirosilo que puede utilizarse directamente como aditivo antioxidante para aceites y grasas, sin necesidad de obtener y purificar previamente los esteres hidroxitirosilo.

10 Un primer aspecto de la presente invención se refiere al procedimiento de obtención de aceites o grasas con alto contenido antioxidante que comprende las siguientes etapas:

- a) adsorción del hidroxitirosol sobre un soporte sólido.
- 15 b) agitación de la mezcla anterior con un aceite o grasa en presencia de un catalizador.
- c) separación de los sólidos de la mezcla, para eliminar el soporte, el catalizador y las impurezas hidrofílicas del hidroxitirosol, para obtener  
20 fácilmente el aceite que contiene hidroxitirosol libre y sus esteres.

Según una realización preferida, el hidroxitirosol, que tiene una consistencia siruposa, puede ser sintético o un extracto de origen natural, obtenido de hojas de olivo, productos residuales de la elaboración del aceite de oliva,  
25 principalmente agua de vegetación, o del agua de lavado de la preparación de aceitunas de mesa estilo español. El hidroxitirosol procedente de extractos vegetales es un concentrado que tiene como impurezas compuestos de naturaleza hidrofílica. El hidroxitirosol tiene una riqueza que varía entre el 1% y el 100% (en peso) dependiendo del proceso de purificación a que ha sido  
30 sometido, siendo la mayor parte de las impurezas de naturaleza hidrófila.

Según otra realización preferida, el soporte sólido es pulverulento y químicamente inerte. Además puede ser un polvo de naturaleza mineral u orgánica, de origen natural o sintético, con diámetro de partícula inferior a 5 mm y sin actividad química, el cual mezclado con el hidroxitirosol siruposo  
5 forma un polvo suelto que se dispersa en el seno del aceite, facilitando el contacto entre el hidroxitirosol y el aceite o grasa.

Según otra realización preferida, si el soporte de polvo es de naturaleza mineral, este puede ser tierra de radiolarios, tierra de infusorios, tierra de  
10 diatomeas, talco, carbonato cálcico, arcillas decolorantes o gel de sílice, con un diámetro de partícula inferior a 5 mm.

Según otra realización preferida el soporte de polvo es de naturaleza orgánica y puede ser de tipo celulósico, de ciclodextrinas o de polímeros sintéticos.  
15

Según otra realización preferida, la proporción entre el hidroxitirosol y el soporte sólido es desde 1:0,5 hasta 1:50 en peso, preferiblemente desde 1:1 hasta 1:25.

20 Según otra realización preferida, en la etapa b) el aceite o grasa es de naturaleza glicerídica, de origen vegetal, animal o sintético, así como crudo o procedente de transformaciones físicas de aceites y grasas (refinado o fraccionado) o químicas (hidrogenado).

25 Según otra realización preferida, en la etapa b) el catalizador es de tipo enzimático y es del tipo lipasa y puede estar como polvo, liofilizado o como enzima inmovilizada sobre un soporte ya sea sólido o en forma de gel.

Según otra realización preferida, en la etapa b) la mezcla (hidroxitirosilo y  
30 soporte) con un aceite o grasa en presencia de un catalizador está en una proporción inferior a 1:10.000 (en peso).

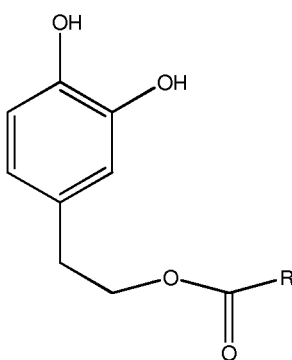
Según otra realización preferida, en la etapa b), la agitación se lleva a cabo a una temperatura entre 10 y 100 °C, durante un periodo de tiempo entre 1 minuto y 1 mes,

- 5 En otra realización preferida, en la etapa c), la separación de los sólidos de la mezcla de reacción se realiza mediante filtración, sedimentación o centrifugación.

10 Según una realización preferida, la filtración del aceite se puede llevar a cabo en filtros de papel, celulosa, polímeros o tierras filtrantes (tierra de infusorios, silicagel), para separar el aceite del soporte sólido, el catalizador e impurezas del hidroxitirosol insolubles en grasas.

15 La filtración se lleva a cabo a presión atmosférica, sobrepresión hasta 2 atmósferas o a vacío, a temperaturas entre 15 °C y 100 °C.

20 Un segundo aspecto de la presente invención se refiere al aceite o grasa antioxidante que comprende hidroxitirosol y los esteres de hidroxitirosilo, de fórmula general (I), de los ácidos grasos mayoritarios que componen el aceite o grasa utilizada.



25

donde R es un grupo alquilo o alquenilo de 3 a 23 átomos de carbono, en una concentración total que puede alcanzar hasta los 2.000 milimoles/kg.

30

Se entiende en la presente invención que los ácidos grasos mayoritarios del aceite o grasa utilizada son y sin sentido limitativo, tan solo ilustrativo los que se muestran en la tabla 1.

<b>Oliva</b>		<b>Girasol alto oleico</b>		<b>Soja</b>	
%		%		%	
Palmítico (C16:0)	11	Palmítico (C16:0)	4	Palmítico (C16:0)	10
Esteárico (C18:0)	3	Esteárico (C18:0)	6	Esteárico (C18:0)	4
Oleico (C18:1)	76	Oleico (C18:1)	82	Oleico (C18:1)	21
Linoleico (C18:2)	8	Linoleico (C18:2)	7	Linoleico (C18:2)	55
				Linolénico (C18:3)	9
<b>Girasol normal</b>		<b>Colza</b>		<b>Palma</b>	
%		%		%	
Palmítico (C16:0)	7	Palmítico (C16:0)	5	Palmítico (C16:0)	44
Esteárico (C18:0)	4	Esteárico (C18:0)	2	Esteárico (C18:0)	5
Oleico (C18:1)	23	Oleico (C18:1)	59	Oleico (C18:1)	38
Linoleico (C18:2)	64	Linoleico (C18:2)	21	Linoleico (C18:2)	10
		Linolénico (C18:3)	10		
<b>Sebo</b>		<b>Pescado (menhaden oil)</b>		<b>Palmiste</b>	
%		%		%	
Mirístico (C14:0)	3	Mirístico (C14:0)	6	C8:0	5
Palmítico (C16:0)	26	Palmítico (C16:0)	16	C10:0	4
Palmitoleico(C16:1)	4	Palmitoleico(C16:1)	9	Láurico (C10:0)	47
Esteárico (C18:0)	19	Esteárico (C18:0)	3	Mirístico (C14:0)	16
Oleico (C18:1)	42	Oleico (C18:1)	10	Palmítico (C16:0)	8
Linoleico (C18:2)	4	C18:4	3	Esteárico	3



				(C18:0)	
		EPA (C20:5)	13	Oleico (C18:1)	14
		DHA (C22:6)	14	Linoleico (C18:2)	3

**Tabla 1**

En cada caso los esteres de hidroxitirosilo que se forman son los de estos  
 5 ácidos mayoritarios, aunque la proporción entre ellos no es igual a la que existe  
 entre los ácidos grasos, aunque si es parecida.

A parte de estos ácidos de la tabla, los aceites contienen otros ácidos en  
 proporciones menores que no intervienen en la reacción o lo hacen en cantidad  
 10 tal que sus esteres de hidroxitirosilo no se detectan en cantidades significativas  
 en el producto final.

Según una realización preferida, los ésteres de hidroxitirosilo derivan de ácidos  
 grasos saturados o insaturados.

15 Según otra realización preferida el radical R de los ésteres de ácidos grasos de  
 hidroxitirosilo, es un grupo alquilo de 3 a 23 átomos de carbono cuando los  
 ácidos grasos son saturados.

20 Según otra realización preferida el radical R de los ésteres de ácidos grasos de  
 hidroxitirosilo, es un grupo alquenilo de 13 a 23 átomos de carbono cuando los  
 ácidos grasos son insaturados.

Otra realización preferida, se refiere al aceite o la grasa para su uso como  
 25 medicamento.

Un tercer aspecto de la presente invención, se refiere a una composición nutricional, cosmética o farmacéutica que comprende el aceite obtenido por el presente procedimiento.

- 5 En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende al menos el aceite o grasa y al menos un transportador farmacéuticamente aceptable, adyuvante y/o vehículo.

- 10 En otra realización preferida, la composición farmacéutica además comprende otro principio activo.

Un cuarto aspecto de la presente invención se refiere al uso del aceite o grasa obtenido como aditivo antioxidante.

- 15 Según una realización preferida, el aceite o grasa obtenidos, se usa como bloqueador de radicales libres.

- 20 Un quinto aspecto de la presente invención se refiere a la composición nutricional como nutracéutico.

Un sexto aspecto de la presente invención se refiere al aceite o la grasa y a la composición nutricional como aditivo en alimentos funcionales.

- 25 Un séptimo aspecto de la presente invención se refiere al aceite o la grasa obtenidos y a la composición cosmética como producto cosmético.

Un octavo aspecto de la presente invención se refiere al aceite o grasa obtenidos como preparado farmacéutico.

- 30 Un noveno aspecto de la presente invención se refiere al uso del aceite o grasa para la fabricación de un medicamento.

En una realización preferida el aceite o grasa se usa para la fabricación de un medicamento que comprende como principios activos o excipientes sustancias lipídicas susceptibles de oxidación, para la protección de la oxidación de los componentes lipídicos, sólo o junto con otros antioxidantes naturales  
5 (tocoferoles) o sintéticos (BHA, BHT, TBHQ, galatos). Como por ejemplo y sin sentido limitativo: Vitamina E, preparados de ácidos grasos omega-3.

En preparados que utilizan excipientes de naturaleza grasa, se usa para prevenir la oxidación del excipiente, prolongando la vida útil del preparado.

10

Como principio activo tienen actividad como antiagregante plaquetario y como preventivo de enfermedades neurodegenerativas.

En otra realización preferida el aceite o grasa se usa para la preparación de un medicamento con actividad antiagregante plaquetaria o para la prevención de  
15 enfermedades neurodegenerativas.

Un décimo aspecto de la presente invención se refiere al uso del aceite o grasa obtenidos, como aceite funcionalizado con concentraciones de compuestos de  
20 hidroxitirosol inferiores a 2 milimol/kg.

En la presente invención el término "alquilo" se refiere a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 23 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, tert-butilo, sec-butilo, n-pentilo, etc.  
25 Los radicales alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, azida, ácido carboxílico o un grupo sustituido o no sustituido seleccionado de entre amino, amido, éster carboxílico, éter, tiol, acilamino o carboxamido. alcóxido, tiol, amino, acilamino, ciano, carboxilato, carboxamida, carboxiéster, arilo o heteroarilo o  
30 combinaciones de estos grupos. Cuando el grupo alquilo está sustituido, lo está preferentemente por un o varios grupos amina, amida o éter, que a su vez

pueden estar o no sustituidos por grupos alquilo, amida, cicloalquilo o éteres y estos a su vez, pueden estar igualmente sustituidos o no.

5 El compuesto descrito en la presente invención, sus sales, profármacos y/o solvatos así como las composiciones farmacéuticas, cosméticas y nutricionales que los contienen pueden ser utilizados junto con otros fármacos, o principios activos, adicionales para proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una  
10 composición separada para su administración simultánea o no a la de la composición farmacéutica que comprende el compuesto anteriormente descrito, o una sal, profármaco o solvato del mismo.

15 En una realización preferida de la presente invención, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para la administración oral, en forma sólida o líquida. Las posibles formas para la administración oral son tabletas, cápsulas, siropes o soluciones y pueden contener excipientes convencionales conocidos en el ámbito farmacéutico, como agentes agregantes (p.e. sirope, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinil pirrolidona), rellenos (p.e. lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina), disgregantes (p.e.  
20 almidón, polivinil pirrolidona o celulosa microcristalina) o un surfactante farmacéuticamente aceptable como el lauril sulfato de sodio.

25 Las composiciones para administración oral pueden ser preparadas por los métodos convencionales de Farmacia Galénica, como mezcla y dispersión. Las tabletas se pueden recubrir siguiendo métodos conocidos en la industria farmacéutica.

30 Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración parenteral, como soluciones estériles, suspensiones, o liofilizados de los productos de la invención, empleando la dosis adecuada. Se pueden emplear excipientes adecuados, como agentes tamponadores del pH o surfactantes.

Las formulaciones anteriormente mencionadas pueden ser preparadas usando métodos convencionales, como los descritos en las Farmacopeas de diferentes países y en otros textos de referencia.

5 La administración de los compuestos o composiciones de la presente invención puede ser realizada mediante cualquier método adecuado, como la infusión intravenosa y las vías oral, intraperitoneal o intravenosa. La administración oral es la preferida por la conveniencia de los pacientes y por el carácter crónico de las enfermedades a tratar.

10

La cantidad administrada de un compuesto de la presente invención dependerá de la relativa eficacia del compuesto elegido, la severidad de la enfermedad a tratar y el peso del paciente. Sin embargo, los compuestos de la presente invención son administrados una o más veces al día, por ejemplo 1, 2, 3 ó 4  
15 veces diarias, con una dosis total entre 0.1 y 1000 mg/Kg/día. Es importante tener en cuenta que puede ser necesario introducir variaciones en la dosis, dependiendo de la edad y de la condición del paciente, así como modificaciones en la vía de administración.

20 Los compuestos y composiciones de la presente invención pueden ser empleados junto con otros medicamentos en terapias combinadas. Los otros fármacos pueden formar parte de la misma composición o de otra composición diferente, para su administración al mismo tiempo o en tiempos diferentes.

25 En la presente invención se entiende como “nutracéutico” o “alimento funcional”, un alimento que posee un efecto beneficioso sobre la salud. Del mismo modo, el término nutracéutico puede aplicarse a extractos o compuestos químicos obtenidos de alimentos comunes. Ejemplos de alimentos a los que se les atribuyen propiedades nutracéuticas son el aceite de oliva, el vino tinto, el  
30 brócoli, la soja etc. Los nutracéuticos son normalmente empleados en mezclas nutricionales y en la industria farmacéutica. Del mismo modo que algunos alimentos pueden ser clasificados como nutracéuticos, también se clasifican así

a algunos suplementos nutricionales, como por ejemplo ácidos grasos como los omega-3 derivados del aceite de pescado y de algunos vegetales o los antioxidantes y vitaminas.

- 5 En la presente invención se entiende como “alimento funcional” a aquellos alimentos que son elaborados no sólo por sus características nutricionales sino también para cumplir una *función específica* como puede ser el mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. Para ello se les agregan componentes biológicamente activos, como minerales, vitaminas, ácidos  
10 grasos, fibra alimenticia o antioxidantes, etc.

En la presente invención se entiende como “cosmético” a aquellas preparaciones constituidas por sustancias naturales o sintéticos o sus mezclas, de uso externo en las diversas partes del cuerpo humano: piel, sistema capilar,  
15 uñas, labios, órganos genitales externos, dientes y membranas mucosas de la cavidad oral, con el objeto exclusivo o principal de higienizarlas, perfumarlas, cambiarles su apariencia, protegerlos o mantenerlos en buen estado y /o corregir olores corporales.

- 20 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se  
25 proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

## **EJEMPLOS**

- 30 A continuación se ilustra la invención mediante unos ensayos realizados, que demuestran la efectividad del procedimiento descrito en la presente invención.

### Ejemplo 1

500 mg de hidroxitirosol siruposo con una riqueza del 96% se mezclaron con 3,5 g de tierra de infusorios (con tamaño de partícula inferior a 0,2 mm) para  
5 obtener un sólido pulverulento. La mezcla se dispersó por agitación en 40 g de aceite de girasol refinado comestible y se añadieron 50 mg de la enzima lipasa *Candida antarctica* (actividad  $\geq 1,0$  U/mg).

10 La mezcla se mantuvo en agitación durante 24 horas, a una temperatura de 38 °C.

La mezcla resultante se filtró a través de papel de filtro en un embudo Buchner a vacío y se obtuvieron 37,8 g de aceite que contiene derivados de hidroxitirosol en las concentraciones siguientes:

15  
Hidroxitirosol libre: 1,1 milimoles/kg  
Palmitato+oleato de hidroxitirosilo: 22,4 milimoles/kg  
Estearato de hidroxitirosilo: 5,6 milimoles/kg  
Linoleato de hidroxitirosilo: 41,2 milimoles/kg  
20 Total: 70,3 milimoles/kg

Rendimiento de hidroxitirosol libre + esteres de hidroxitirosilo solubilizados en el aceite: 85,2%.

25 La composición en ácidos grasos mayoritarios del aceite de girasol de partida fue:

30 Palmítico: 6,5 %  
Esteárico: 3,8 %  
Oleico: 22,8 %  
Linoleico: 63,5 %

**Ejemplo 2**

154 mg de un concentrado siruposo, obtenido a partir del agua residual producida en un molino de aceite, con un contenido de 52% de hidroxitirosol, se mezclaron con 800 mg de talco (con tamaño de partícula inferior a 0,2 mm) para obtener un sólido pulverulento. La mezcla se dispersó por agitación en 10 g de aceite de pescado (Menhaden oil) refinado comestible y se añadieron 150 mg de la enzima lipasa *Candida antártica* recombinante expresada en *Aspergillus oryzae*, inmovilizada sobre resina acrílica (actividad  $\geq 10.000$  U/g). La mezcla se mantuvo en agitación durante 48 horas, en atmósfera de nitrógeno, a una temperatura de 38 °C. La mezcla resultante se filtró a través de papel de filtro a presión atmosférica y se obtuvieron 9,4 g de aceite que contiene derivados de hidroxitirosol en las concentraciones siguientes:

15            Hidroxitirosol libre: 1.9 milimoles/kg  
               Miristato de hidroxitirosilo: 4.5 milimoles/kg  
               Palmitato+oleato de hidroxitirosilo: 17.2 milimoles/kg  
               Palmitoleato de hidroxitirosilo: 4,2 milimoles/kg  
               Estearato de hidroxitirosilo: 2,8 milimoles/kg  
 20            Octadecatetraenoato + eicosapentaenoato + docosaheptaenoato de hidroxitirosilo: 14,0 milimoles/kg  
               Total: 44,6 milimoles/kg

25            Rendimiento de hidroxitirosol libre + ésteres de hidroxitirosilo solubilizados en el aceite: 80,7 %

La composición en ácidos grasos mayoritarios del aceite de pescado de partida fue:

30            Mirístico: 6,5 %  
               Palmítico: 15,8 %  
               Palmitoleico: 9,2 %



Esteárico:3,2 %

Oleico:10,1 %

Octadecatetraenoico: 3,0 %

Eicosapentaenoico (EPA): 13,0 %

5 Docosahexaenoico (DHA):13,9 %

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de aceites o grasas antioxidantes que comprende las etapas de:

5

a) adsorción de hidroxitirosol sobre un soporte sólido;

b) agitación de la mezcla de la etapa a) con un aceite o grasa en presencia de un catalizador; y

10

c) separación del soporte, del catalizador y de las impurezas hidrofílicas del hidroxitirosol, del aceite o grasa.

2. El procedimiento según la reivindicación 1, donde el hidroxitirosol, es de naturaleza sintética o es un extracto de origen natural.

15

3. El procedimiento según la reivindicación 2, donde el hidroxitirosol es de origen natural, obtenido de hojas de olivo o de productos residuales de la elaboración del aceite de oliva.

20

4. El procedimiento según la reivindicación 1, donde el soporte sólido es pulverulento y químicamente inerte.

5. El procedimiento según la reivindicación 4, donde el soporte es un polvo de naturaleza mineral u orgánica, de origen natural o sintético, con diámetro de partícula inferior a 5 mm.

25

6. El procedimiento según la reivindicación 5, donde el soporte es de naturaleza mineral y está formado por tierra de radiolarios, tierra de infusorios, tierra de diatomeas, talco, carbonato cálcico, arcillas decolorantes o gel de sílice.

30

7. El procedimiento según la reivindicación 5, donde el soporte es de naturaleza orgánica y es de tipo celulósico, de ciclodextrinas o de polímeros sintéticos.

5 8. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el hidroxitirosol y el soporte están en una proporción desde 1:0,5 hasta 1:50 en peso.

9. El procedimiento según la reivindicación 8, donde el hidroxitirosol y el  
10 soporte están en una proporción desde 1:1 hasta 1:25 en peso.

10. El procedimiento según la reivindicación 1, donde el aceite o grasa es de naturaleza glicéridica, de origen vegetal, animal o sintético, así como crudo o procedente de transformaciones físicas de aceites y grasas, refinado o  
15 fraccionado, o químicas, hidrogenado.

11. El procedimiento según la reivindicación 1, donde el catalizador es de tipo enzimático.

20 12. El procedimiento según la reivindicación 11, donde el catalizador enzimático es una lipasa.

13. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 11 ó 12, donde el catalizador enzimático esta como polvo, liofilizado o como enzima  
25 inmovilizada sobre un soporte.

14. El procedimiento según la reivindicación 1, donde en la etapa b) la mezcla obtenida en la etapa a) con el aceite o grasa en presencia de un catalizador, está en una proporción inferior a 1:10.000 en peso.

30

15. El procedimiento según la reivindicación 1, donde en la etapa b), la agitación se lleva a cabo a una temperatura entre 10 y 100 °C, durante un periodo de tiempo entre 1 minuto y 1 mes.

5 16. El procedimiento según la reivindicación 1, donde en la etapa c), la separación de los sólidos de la mezcla de reacción se lleva a cabo mediante filtración, sedimentación o centrifugación.

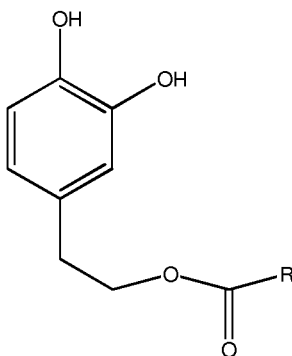
17. El procedimiento según la reivindicación 16, donde la filtración del aceite se  
10 lleva a cabo en filtros de papel, celulosa, polímeros o tierras filtrantes.

18. El procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 16 ó 17, donde la filtración se lleva a cabo a presión atmosférica, sobrepresión hasta 2 atmósferas o a vacío y a temperaturas entre 15 °C y 100 °C.

15

19. El aceite o grasa antioxidante, que comprende hidroxitirosol libre y los ésteres de hidroxitirosilo, de fórmula general (I), de los ácidos grasos del aceite o grasa utilizada,

20



25

(I)

donde R es un grupo alquilo o alquenilo de 3 a 23 átomos de carbono.

30 20. El aceite o grasa según la reivindicación 19, donde los ésteres de hidroxitirosilo derivan de ácidos grasos saturados o insaturados.

21. El aceite o grasa según la reivindicación 20, donde el ácido graso es de tipo saturado y R es un grupo alquilo de 3 a 23 átomos de carbono.
22. El aceite o grasa según la reivindicación 20, donde el ácido graso es de tipo insaturado y R es un grupo alquenoilo de 13 a 23 átomos de carbono.
23. El aceite o grasa según las reivindicaciones 19 a 22, para su uso como medicamento.
24. Composición nutricional, que comprende el aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22.
25. Composición cosmética, que comprende el aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22.
26. Composición farmacéutica, que comprende al menos el aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22 y al menos un transportador farmacéuticamente aceptable, adyuvante y/o vehículo.
27. La composición farmacéutica según la reivindicación 26, que comprende además otro principio activo.
28. Uso del aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22 como antioxidante.
29. El uso según la reivindicación 28, como bloqueador de radicales libres.
30. Uso del aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22 o de la composición nutricional de la reivindicación 24, como nutracéutico.
31. Uso del aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22 o de la composición nutricional de la reivindicación 24, como aditivo en alimentos funcionales.

32. Uso del aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22 o de la composición cosmética de la reivindicación 25, como producto cosmético.

5 33. Uso del aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22, para la fabricación de un medicamento.

10 34. El uso del aceite o grasa según la reivindicación 33 para la preparación de un medicamento con actividad antiagregante plaquetaria o para la prevención de enfermedades neurodegenerativas.

15 35. El uso del aceite o grasa según la reivindicación 33 para la preparación de un medicamento que comprenda como principios activos o excipientes sustancias lipídicas susceptibles de oxidación, para la protección de la oxidación de los componentes lipídicos, sólo o junto con otros antioxidantes naturales o sintéticos.

36. Uso del aceite o grasa de las reivindicaciones 19 a 22, como aceite funcionalizado.



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201031431

②② Fecha de presentación de la solicitud: 27.09.2010

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2233208 A1 (PULEVA BIOTECH S.A.) 01.06.2005, página 3, líneas 19-35,45-46; página 4, líneas 47-48; página 4, línea 60 – página 5, línea 24; página 5, línea 65; página 6, línea 23; página 7, líneas 6-12; fórmula (I); resumen.	19-24,30,31,36
X	FR 2919800 A1 (SOCIETE LA BIOCHIMIE APPLIQUEE SOLABIA) 13.02.2009, página 1, líneas 5-25; página 3, líneas 9-22; página 4, líneas 20-33; página 6, líneas 15-26; reivindicación 9.	19-23,25,29,32
X	US 20030236202 A1 (GEELINGS et al.) 25.12.2003, párrafos [0002]-[0004],[0015],[0058],[0061],[0062]; reivindicación 1.	19-24,26-31,33-36
X	US 20030225160 A1 (GEERLINGS et al.) 04.12.2003, párrafos [0001],[0011],[0012],[0046]; reivindicaciones 6,10,24.	19-33,35,36
X	US 20050154058 A1 (GONZALEZ et al.) 14.07.2005, párrafos [0002]-[0003],[0014]-[0016],[0018],[0033],[0044].	19-36

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
10.09.2012

Examinador  
S. González Peñalba

Página  
1/5

## CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**C12P7/62** (2006.01)

**A61K31/215** (2006.01)

**A61K8/37** (2006.01)

**A23L1/30** (2006.01)

**C08K5/10** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12P, A61K, A23L, C08K

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

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, XPESP



Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 10.09.2012

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-18	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 19-36	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-18	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 19-36	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2233208 A1 (PULEVA BIOTECH S.A.)	01.06.2005
D02	FR 2919800 A1 (SOCIETE LA BIOCHIMIE APPLIQUEE SOLABIA)	13.02.2009
D03	US 20030236202 A1 (GEELINGS et al.)	25.12.2003
D04	US 20030225160 A1 (GEERLINGS et al.)	04.12.2003
D05	US 20050154058 A1 (GONZALEZ et al.)	14.07.2005

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente solicitud de patente hace referencia, tal y como ha sido redactada, a un procedimiento de obtención de aceites o grasas antioxidantes que comprende las etapas de: a) adsorción de hidroxitirosol sobre un soporte sólido, b) agitación de la mezcla de la etapa a) con un aceite o grasa en presencia de un catalizador; y c) separación del soporte, del catalizador y de las impurezas hidrofílicas del hidroxitirosol, del aceite o grasa (reivindicación 1). El hidroxitirosol es de naturaleza sintética o es un extracto de origen natural (reivindicaciones 2-3). El soporte sólido es pulverulento y químicamente inerte, de naturaleza mineral, tales como tierra de radiolarios, tierra de infusorios, tierra de diatomeas, talco etc; u orgánica, tal como de tipo celulósico, de ciclodextrinas o polímeros (reivindicaciones 4-7). La proporción entre el hidroxitirosol y el soporte (reivindicaciones 8-9). El aceite o grasa utilizados son de naturaleza glicérida, de origen vegetal, animal o sintético (reivindicación 10). El catalizador empleado es de tipo enzimático, concretamente una lipasa (reivindicaciones 11-14). Dicho procedimiento se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 10 y 100°C durante un tiempo comprendido entre 1 minuto y 1 mes (reivindicación 15). La etapa de separación de los sólidos de la mezcla se realiza mediante filtración, sedimentación o centrifugación (reivindicaciones 16-18). Se reivindica también el aceite o grasa antioxidante de fórmula general (I) (reivindicaciones 19-23); la composición que puede ser nutricional (reivindicación 24), cosmética (reivindicación 25), o farmacéutica (reivindicación 26-27) y el uso de dicho aceite o grasa antioxidante (reivindicaciones 28-36).

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA, LP ARTS. 6 y 8.

El documento D01 hace referencia a una preparación enzimática de compuestos antioxidantes como son los ésteres de hidroxitirosol (véase fórmula I de dicho documento) donde  $R_1$  se selecciona del grupo formado por radicales OCO alquilo y OCO alqueno (véase resumen). Además  $R_1$  contiene un grupo hidroxilo protegido por una cadena de ácido graso unida por medio de un enlace tipo éster, con una longitud de entre 2 y 22 átomos de carbono (véase página 3, líneas 19-35). El grupo hidroxilo se encuentra unido a ácido oleico y palmítico a través de un enlace tipo éster (véase página 3, líneas 45-46 y página 5, línea 65). Un objeto adicional del citado documento es proporcionar un suplemento dietético que comprende un extracto que contiene dichos ésteres de hidroxitirosol (véase página 4, líneas 47-48 y página 7, línea 6-12). El procedimiento de dicho documento comprende las siguientes etapas: a) preparar un extracto enriquecido de hidroxitirosol a partir de aceituna, pulpa de aceituna, etc, b) hacer reaccionar el extracto preparado en a) con una fuente alquímica o alquénica en presencia de una enzima lipasa o esterasa y c) opcionalmente purificar el éster de hidroxitirosol de la mezcla de reacción (véase página 4, línea 60-página 5, línea 24). La lipasa utilizada procede de una levadura del género *Cándida* (véase página 6, línea 23).

El documento D02 se refiere a composiciones cosméticas que contienen compuestos de fórmula (I) (de dicho documento) que son, entre otros, hidroxitirosoles esterificados con ácidos grasos (véase resumen; página 1, líneas 5-25 y página 4, líneas 20-33). La síntesis se lleva a cabo mediante síntesis enzimática (véase página 3, líneas 9-22) utilizando la lipasa de *Cándida antártica* (véase página 6, líneas 15-26). Y por último, dichas composiciones se utilizan también como bloqueadores de radicales libres (véase reivindicación 9).

El documento D03 describe el uso de compuestos fenólicos y sus derivados para la protección de enfermedades neurodegenerativas (véase párrafos [0002]-[0004]. Concretamente, compuestos como el hidroxitirosol y ésteres del mismo (véase párrafo [0015]). Los compuestos fenólicos corresponden a la fórmula (I) (de dicho documento) donde  $R_1$  y  $R_2$  se seleccionan independientemente de OH, OCO alquilo u OCO alqueno y  $R_3$  es o bien H, OH, OCO alquilo u OCO alqueno que contienen de 2 a 22 átomos de carbono (véase reivindicación 1). Se describen, además, composiciones empleadas como suplementos alimenticios (véase párrafos [0061] y [0062] y composiciones farmacéuticas (véase párrafo [0058]).

El documento D04 trata sobre el uso de compuestos fenólicos y sus derivados representados por la fórmula (I) (de dicho documento), en la que  $R_1$  y  $R_2$  se seleccionan de entre OH, OCO alquilo u OCO alqueno, y  $R_3$  puede ser H, OH, OCO alquilo u OCO alqueno, en donde las cadenas de alquilo o alqueno tienen de 2 a 22 átomos de carbono, para prevenir y tratar enfermedades cardiovasculares hepáticas o renales, así como para aplicaciones cosméticas (véase resumen y párrafos [0001], [0011], [0012], [0046] y reivindicación 1). Se reivindica también, composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad efectiva de dicho compuesto polifenólico (véase reivindicación 6), así como una composición nutricional (véase reivindicación 10). Y para finalizar, en el procedimiento de preparación de dichos compuestos se utiliza un catalizador inorgánico o enzimático (véase reivindicación 24).

El documento D05 hace referencia a un método para la preparación de ésteres de hidroxitirosol de fórmula (I) (de dicho documento) (véase párrafos [0002]-[0003] y [0014]-[0016]). La reacción puede llevarse a cabo mediante catálisis enzimática (véase párrafo [0018] y en ausencia o presencia de disolventes inertes (véase párrafo [0033]). Por otro lado se pueden preparar ésteres de ácidos grasos tales como palmítico, esteárico, oleico y linoleico (véase párrafo [0044]). Dichos ésteres preparados se utilizan en alimentación, en productos cosméticos y en preparaciones farmacéuticas (véase párrafo [0003]).

A la vista de los documentos citados anteriormente, se puede decir que las reivindicaciones 1 a 18 son nuevas y poseen actividad inventiva, debido a que no se ha encontrado un procedimiento de obtención de aceites o grasas antioxidantes, en el que el hidroxitirosol sea adsorbido en un soporte sólido, tal como tierra de radiolarios, tierra de infusorios, tierra de diatomeas etc., aunque si se ha encontrado el uso, en procedimientos de síntesis de ésteres de hidroxitirosol, de catalizadores de tipo enzimático, concretamente lipasa *Cándida antártica* (véase documento D02 página 6, líneas 24-25).

En cuanto a las reivindicaciones 19-23, de producto, se puede indicar que éstas carecen de novedad y actividad inventiva, ya que se han encontrado dichos productos en el estado de la técnica (véase documentos D01-D05). En todos ellos se reivindican ésteres grasos de hidroxitirosilo correspondientes a la fórmula general (I) de la presente solicitud de invención. Por otro lado las reivindicaciones 24, 25, 26 y 27 de composición nutricional, cosmética y farmacéutica tampoco son nuevas ni inventivas por encontrarse recogidas en los documentos D01 (composición nutricional), D02 (composición cosmética) y D03 (como composición farmacéutica contra enfermedades neurodegenerativas). Y lo mismo sucede con las reivindicaciones de uso de dichos compuestos, reivindicaciones 28-36, ya que se encuentran divulgados dichos compuestos para sus usos como antioxidante (véase documento D04), como bloqueador de radicales libres (véase documento D02 , reivindicación 9), como nutracéutico (véase documentos D01, página 4, líneas 47-48 y página 7, líneas 6-12), como cosmético (véase documento D02, resumen) y para la fabricación de un medicamento para la prevención de enfermedades neurodegenerativas (véase documento D03, resumen).

Por consiguiente, las reivindicaciones 1-18 se considera que son nuevas y poseen actividad inventiva, mientras que las reivindicaciones 19-36 carecen de novedad y de actividad inventiva según los arts. 6 y 8 de la LP