



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 246 603**

② Número de solicitud: 200201554

⑤ Int. Cl.:

**C07C 69/007** (2006.01)

**C07C 69/025** (2006.01)

**C07C 69/16** (2006.01)

**A61K 31/222** (2006.01)

**A61Q 19/00** (2006.01)

**A61P 3/02** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **03.07.2002**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2006**

Fecha de la concesión: **18.04.2007**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **16.06.2007**

⑯ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**16.06.2007**

⑰ Titular/es:  
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas  
c/ Serrano, 117  
28006 Madrid, ES  
Universidad de Sevilla**

⑱ Inventor/es: **Alcudia González, Felipe;  
Cert Ventulá, Arturo;  
Espartero Sánchez, José Luis;  
Mateo Briz, Raquel y  
Trujillo Pérez-Lanzac, Mariana**

⑲ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol, ésteres obtenidos y utilización.**

㉑ Resumen:

Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol, ésteres obtenidos y utilización.

El objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de una amplia gama de ésteres de hidroxitirosol. La síntesis de los compuestos se lleva a cabo por reacción de hidroxitirosol sintético o de los compuestos naturales hidroxitirosol, oleuropeína o aglucones de la oleuropeína (que se encuentran en el aceite de oliva, alpechín, orujo de oliva u hojas de olivo) con un agente acilante que es un compuesto que contiene al menos un grupo acílico de resto R, donde R es H, un radical alquilo de entre 1 y 21 átomos de carbono, sea lineal ó ramificado, un radical alqueno de hasta 21 átomos de carbono ó un grupo arilo. Los ésteres preparados mediante el procedimiento de la invención pueden utilizarse como aditivo en productos alimenticios y cosméticos, así como en preparaciones farmacéuticas.

ES 2 246 603 B1

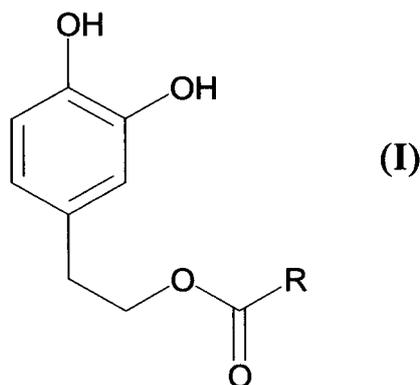
Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol, ésteres obtenidos y utilización.

5 **Objeto de la invención**

El procedimiento objeto de la presente invención proporciona un procedimiento simple y eficaz para la preparación de una amplia gama de ésteres de hidroxitirosol de fórmula general:



10

15

20

25

30

35

La síntesis de los compuestos se lleva a cabo por reacción de hidroxitirosol sintético o de los compuestos naturales hidroxitirosol, oleuropeína o aglucones de la oleuropeína (que se encuentran en el aceite de oliva, alpechín, orujo de oliva u hojas de olivo) con un agente acilante que es un ácido orgánico o un éster que contiene al menos un grupo acílico de resto R, donde R es H, un radical alquilo de entre 1 y 21 átomos de carbono, sea lineal ó ramificado, un radical alqueno de hasta 21 átomos de carbono ó un grupo arilo. Los ésteres preparados mediante el procedimiento de la invención pueden utilizarse como aditivo en productos alimenticios y cosméticos, así como en preparaciones farmacéuticas.

**Estado de la técnica**

40

Los antioxidantes se añaden a aceites y grasas, así como a los alimentos, para prevenir la formación de colores y sabores no deseables y de otros compuestos que se originan en la oxidación de los lípidos [“Food Antioxidants”, B.J.F. HUDSON ed., Elsevier, Londres, 1990; G. PASCAL en “Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias”, L.J. Multon ed., Ed. Acribia, Zaragoza (España), 1988, pag. 157 y ss.]. Se estima que la vida útil de muchos productos alimenticios aumenta entre un 15 y un 200% por el empleo de antioxidantes [R. MAESTRO DURÁN Y R. BORJA PADILLA, *Grasas y Aceites*, **44** (1993) 101].

45

Actualmente, se utiliza una amplia gama de aditivos antioxidantes en la elaboración de productos alimenticios [R.D. 145/1997, BOE de 22/3/97, pag. 9378 y ss.] y cosméticos [“Inventario de Ingredientes Cosméticos”, Centro de Publicaciones del Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid, 1996], tanto de origen natural como sintético, dependiendo de la naturaleza, más o menos lipídica, del producto que se pretende proteger de la oxidación.

50

55

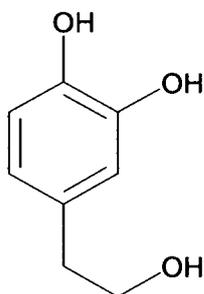
Entre los antioxidantes naturales destacan por su elevada actividad los compuestos polifenólicos, sobre todo los *orto* y *paracatecoles*. El hidroxitirosol (II) es uno de tales *o*-catecoles, y se encuentra en diversas fuentes naturales, siendo especialmente importante su presencia en el olivo [A. VÁZQUEZ RONCERO, *Rev. Fr. Corps Gras*, **25** (1978) 21], ya sea libre o en forma de derivados (fundamentalmente oleuropeína, III, [L.M. PANIZZI *et al*, *Gazz. Chim. Ital.*, **90** (1960) 1449]). El hidroxitirosol presenta una capacidad protectora frente a la oxidación mucho mayor que los aditivos antioxidantes normalmente utilizados en la conservación de productos alimenticios grasos: los tocoferoles (antioxidantes de origen natural) y el butil hidroxitoluol (BHT, antioxidante de origen sintético) [M. SERVILI *et al*, *Rev. Ital. Sostanze Grasse*, **73** (1996) 55]. No obstante, al ser prácticamente insoluble en un medio lipofílico no puede ser usado para este tipo de alimentos.

60

65

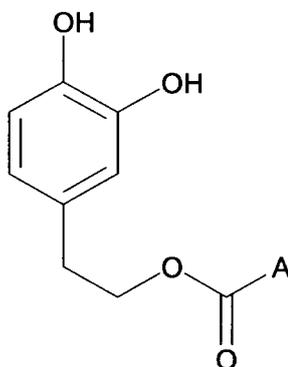
Sin embargo, se sabe que el aceite de oliva virgen (AOV) mantiene ciertos niveles de aglucones de la oleuropeína (IV y V), que poseen sabor amargo, el cual comunican al aceite [G.F. MONTEODORO *et al*, *J. Agric. Food Chem.*, **41** (1993) 2228; A. VÁZQUEZ RONCERO *et al*, *Grasas y Aceites*, **25** (1974) 269]. Estos derivados (IV y V) poseen una actividad antioxidante similar a la que presenta el hidroxitirosol libre [M. SERVILI *et al*, *Rev. Ital. Sostanze Grasse*, **73** (1996) 55], lo cual indica que la presencia de un enlace éster en la molécula no afecta al poder antioxidante.

5



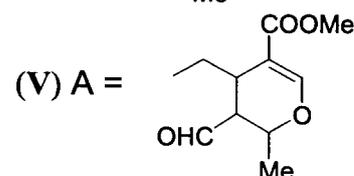
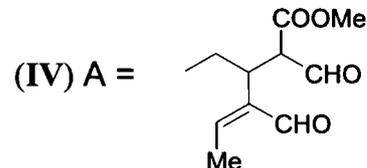
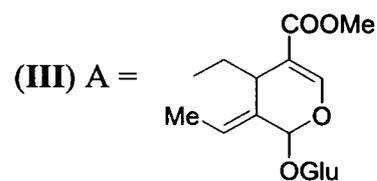
(II)

10



15

20



25

Recientemente, se ha detectado en el AOV la presencia de otro éster de hidroxitirosol: el acetato de hidroxitirosol (VI) [M. BREVES *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **47** (1999) 3535; J.L. ESPARTERO *et al.*, *Libro de Resúmenes de la XXVII Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Química*, Tenerife, 1999, Ref. **S6-C-10**, pag. 165; R. MATEOS *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **49** (2001) 2185]. Este compuesto se ha sometido a estudios para comprobar su capacidad antioxidante, habiendo resultado tener la misma actividad frente a la oxidación que el propio hidroxitirosol libre. Además, es liposoluble y no es amargo, características que lo hacen especialmente atractivo para su posible uso como aditivo alimentario.

30

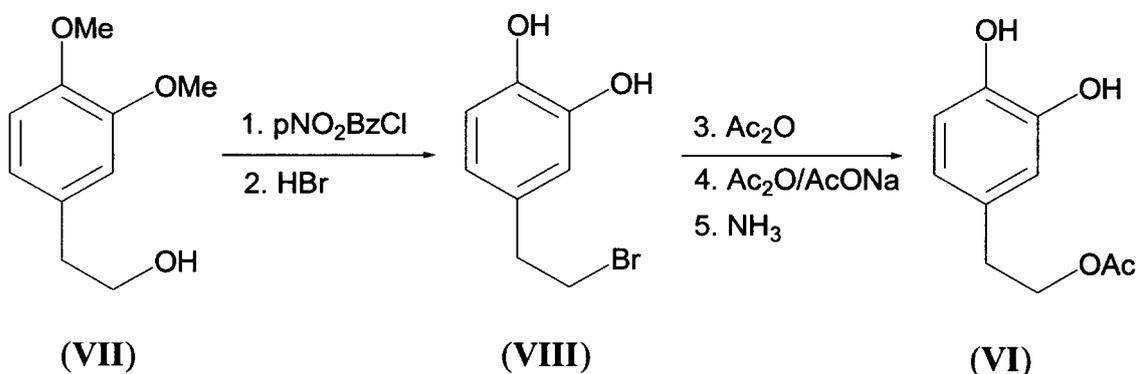
Por otra parte, desde hace tiempo se sospecha que los fenoles contenidos en el aceite de oliva tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana [F. VISIOLI y C. GALLI, *J. Agric. Food Chem.* **46** (1998) 4292]. Se ha visto que el hidroxitirosol previene el daño oxidativo del DNA y la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad [o. I. ARUOMA *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **46** (1998) 5181], inhibe la agregación plaquetaria [A. PETRONI *et al.*, *Thromb. Res.* **78** (1995) 151], inhibe la actividad de ciertas lipoxigenasas [N. KOHYAMA *et al.*, *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **61** (1997) 347; R. De la PUERTA *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* **57** (1999) 445], y se absorbe por el organismo humano en la ingestión del aceite de oliva [F. VISIOLI *et al.*, *FEBS Lett.* **468** (2000) 159]. Todos estos estudios sugieren que el hidroxitirosol y sus derivados pueden tener un uso farmacológico.

35

40

Una referencia sobre la preparación de un éster de hidroxitirosol fue publicada por Baraldi en 1983 [P. G. BARALDI *et al.*, *Liebigs Ann. Chem.*, **83** (1983) 684]. En este caso se obtenía el acetato de hidroxitirosol mediante una ruta sintética, investigada previamente por Schöpf [c. SCHÖPF *et al.*, *Liebigs Ann. Chem.*, **563** (1949) 86], que implicaba cinco etapas a partir de 2-(3,4-dimetoxifenil)etanol (VII), tal como se muestra en el siguiente esquema:

45



55

60

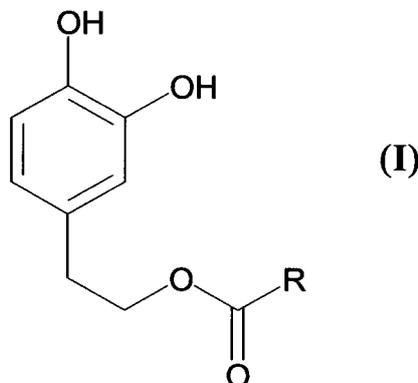
Recientemente se ha descrito [M. H. GORDON *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **49** (2001) 2480] una nueva síntesis a partir del hidroxitirosol que consta de tres pasos: tratamiento con bromuro de bencilo para dar 2-(3,4-dibenciloxifenil)etanol, acetilación con ácido acético en piridina para obtener el acetato del producto anterior y, por último, eliminación de los grupos bencilicos por hidrogenación con catalizador de paladio.

65

Ambos procedimientos son largos, alguna de las etapas requieren condiciones especiales y/o manipulación especialmente cuidadosa para evitar pérdidas innecesarias de producto y los rendimientos totales son bajos. Mediante estos procedimientos además, sólo se puede acceder al mencionado acetato de hidroxitirosol (VI).

**Explicación de la invención**

El objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol de fórmula general:



El procedimiento es una reacción de esterificación regioselectiva que consta de las siguientes etapas:

a) contacto entre hidroxitirosol o ésteres naturales del hidroxitirosol (oleuropeína, aglucones de la oleuropeína), y un agente acilante en una relación de concentraciones comprendida entre 10:1 y 1:1000 (hidroxitirosol/agente acilante), a una temperatura comprendida entre 0 y 150°C durante un periodo de tiempo comprendido entre 30 minutos y 1 mes, en presencia de un catalizador.

b) aislamiento y purificación de los ésteres de hidroxitirosol obtenidos en la etapa anterior.

El agente acilante es un ácido orgánico o un éster que contiene al menos un grupo achico de resto R. El radical R de la fórmula general puede ser H, un radical alquilo, un radical alquenilo ó un grupo arilo. El radical alquilo puede ser cualquier radical procedente de un alcano de cadena lineal o ramificada de hasta 21 átomos de carbono inclusive. El radical alquenilo puede ser cualquier radical procedente de un alqueno de cadena lineal o ramificada de hasta 21 átomos de carbono inclusive que tenga uno o más grados de insaturación en cualquier posición de la cadena. El radical arilo es un grupo fenilo o un derivado del mismo sustituido. Particularmente, pueden utilizarse como agentes acilantes los triglicéridos contenidos en el aceite de oliva.

Se emplea un catalizador ácido si el agente acilante es un ácido orgánico, y un catalizador ácido o enzimático si el agente acilante es un éster. En el caso de que el agente acilante sea un éster, la reacción es regioselectiva al menos en un 95%.

La reacción se realiza en presencia de un disolvente inerte. El disolvente se selecciona de entre algunos de los siguientes: ésteres, éteres o hidrocarburos halogenados.

El catalizador ácido puede ser un ácido mineral, ácido fosfórico ó un ácido organilsulfónico y el catalizador enzimático preferentemente una lipasa. En presencia de ácido sulfúrico, la reacción transcurre a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo comprendido entre 30 minutos y 24 horas.

El procedimiento objeto de la invención puede incluir tras la etapa de contacto el aislamiento y purificación de los ésteres de hidroxitirosol obtenidos.

Los ésteres de hidroxitirosol, obtenidos mediante el procedimiento de la invención, tienen un resto achico constituido por una cadena que contiene entre 3 y 21 átomos de carbono y pueden utilizarse como aditivos en formulaciones alimentarias, en productos cosméticos y en preparaciones farmacéuticas.

Asimismo pueden utilizarse los productos de la reacción obtenidos, sin posterior aislamiento de los ésteres, como aditivos en las aplicaciones mencionadas previa purificación.

En particular, para la utilización en formulaciones alimentarias, los ésteres se pueden adicionar solos o junto con otros antioxidantes naturales de tipo ortodifenólico o diterpénico, en una cantidad tal que su concentración total en la fase apolar del alimento no exceda de 200 ppm.

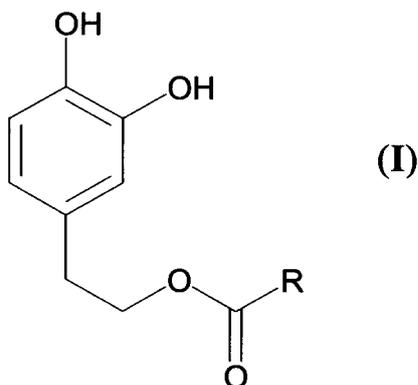
Constituye asimismo objeto de la presente invención una formulación alimentaria que contiene como aditivo ésteres de hidroxitirosol obtenidos mediante el procedimiento de la invención solos o junto con otros oxidantes naturales de tipo ortodifenólico o diterpénico en una cantidad tal que su concentración total en la fase apolar del alimento no exceda de 200 ppm.

## ES 2 246 603 B1

Por último constituyen asimismo objeto de la presente invención un producto cosmético y una preparación farmacéutica que contienen ésteres de hidroxitirosol obtenidos mediante el procedimiento de la invención.

### Descripción de la invención

Esta invención describe un nuevo procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol [2-(3,4-dihidroxifenil)etanol] de fórmula general (I)



donde

R es H, un radical alquilo de entre 1 y 21 átomos de carbono, sea lineal ó ramificado, un radical alquenilo de hasta 21 átomos carbono o un grupo arilo

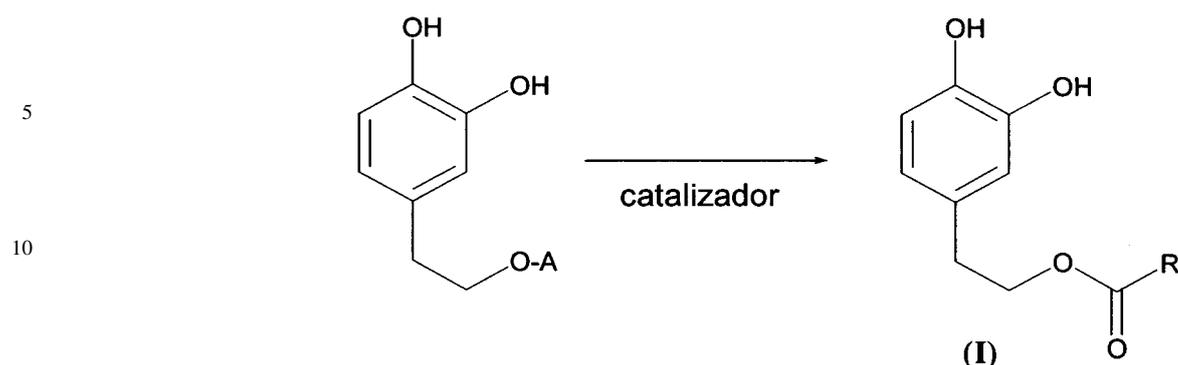
a partir de hidroxitirosol o ésteres naturales de hidroxitirosol (oleuropeína, aglucones de la oleuropeína) y un agente acilante que es un ácido orgánico o un éster que contiene al menos un grupo acílico de resto R. El hidroxitirosol puede ser de procedencia sintética [R. CAPASSO *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **47** (1999)1745; c. BAI *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **46** (1998) 3998; R. VERHE *et al.*, *Bull. Liaison Groupe Polyphenols*, **15** (1992) 237; A. BIANCO *et al.*, *Synth. Commun.* **18** (1988) 1765; P. G. BARALDI *et al.*, *Liebigs Ann. Chem.*, **83** (1983) 684; J. C. SPIN *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **49** (2001) 1187] o natural. La oleuropeína y aglucones de la oleuropeína son de procedencia natural. Tanto el hidroxitirosol como la oleuropeína y sus aglucones pueden estar contenidos en la aceituna, el aceite de oliva, las hojas de olivo y en los productos de desecho de la elaboración del aceite de oliva o de las aceitunas de mesa, fundamentalmente, en el alpechín, el orujo de oliva y las aguas de lavado que se obtienen en la preparación de aceitunas verdes de estilo español. [ M. J. AMIOT, *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **34** (1986) 823; R. BRIANTE *et al.*, *J. of Biotechnol.* **93** (2002) 109; M. BRENES *et al.*, *J. Agric Food Chem.* **43** (1995) 2702; R. MATEOS *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **49** (2001) 2185; R. CAPASSO *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **47** (1999) 1745; R. CAPASSO *et al.*, *Agrochimica*, **38** (1994) 165; R. CAPASSO *et al.*, *Phytochemistry*, **12** (1992) 4125; E. RAGAI *et al.*, *Ann. Chim.*, **57** (1967) 1476] y R. CAPASSO *et al.*, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **60** (1996) 365; L.M. PANIZZI *et al.*, *Gazz. Chim. Ital.*, **90** (1960) 1449].

Por el término “radical alquilo de entre 1 y 21 átomos de carbono” se debe entender, en el sentido utilizado en esta descripción, cualquier radical procedente de un alcano de cadena lineal o ramificada de hasta 21 átomos de carbono inclusive.

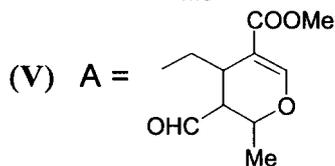
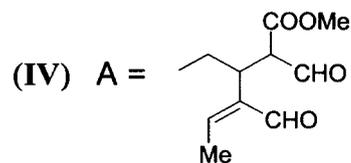
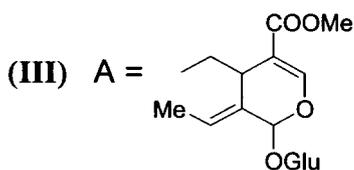
Análogamente, por el término “radical alquenilo de entre 1 y 21 átomos de carbono” debe entenderse cualquier radical procedente de un alqueno de cadena lineal o ramificada de hasta 21 átomos de carbono inclusive que tenga uno o más grados de insaturación en cualquier posición de la cadena.

De manera similar, por el término “arilo” se debe entender un grupo fenilo o un derivado bencénico sustituido con uno o más grupos de cualquier naturaleza.

La síntesis de los compuestos (I), objeto de la presente invención, se lleva a cabo por reacción de hidroxitirosol (II) sintético (obtenido por cualquiera de los métodos descritos anteriormente) o de los productos naturales: hidroxitirosol (II), oleuropeína (III), y aglucones de la oleuropeína (IV y V) (procedentes de cualquiera de las fuentes mencionadas anteriormente), con un ácido orgánico o un éster, donde R tiene el significado antes mencionado. Esta reacción se puede llevar a cabo bien calentando o bien a temperatura ambiente, y en presencia de un catalizador ácido si el agente acilante es un ácido orgánico, y de un catalizador ácido o enzimático si el agente acilante es un éster, de acuerdo con el siguiente esquema:



15 (II) A = H



35

40 Como catalizador ácido se puede utilizar cualquier sustancia de naturaleza ácida, con preferencia: ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), cloruro de hidrógeno (HCl), ácido fosfórico, ácido trifluoroacético ( $\text{CF}_3\text{COOH}$ ), ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), ácido *p*-toluenosulfónico ( $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$ ), o ácido canforsulfónico ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{S}$ ).

45 Como catalizador enzimático se puede utilizar cualquier enzima con actividad de esterasa o lipasa, cruda o purificada, con preferencia: lipasa pancreática porcina (PPL), papaina, esterasa de hígado de caballo, de cerdo, de vaca, de conejo, o de oveja.

La reacción se puede realizar en ausencia o en presencia de disolventes que sean inertes.

50 Los ésteres de hidroxitirosol obtenidos mediante el procedimiento de la invención han sido sometidos a estudios para comprobar su capacidad antioxidante, habiendo resultado tener la misma actividad frente a la oxidación que el propio hidroxitirosol libre. La ventaja que presentan con respecto a éste es la de ser mucho más solubles en ambientes lipídicos (aceites, mantecas, grasas, ...). Por ello, estos compuestos de fórmula (I) son útiles para la industria alimentaria y cosmética como aditivos antioxidantes. Por otra parte los ésteres de hidroxitirosol poseen efectos farmacológicos similares a los observados con el hidroxitirosol, que pueden ser mayores debido al mayor carácter liposoluble de estas moléculas.

Respecto al estado de la técnica anterior, el procedimiento de la invención presenta las siguientes ventajas:

- 60
- 1) Es la primera vez que se describe la preparación de ésteres del hidroxitirosol mediante una reacción de transesterificación.
  - 2) Se utilizan catalizadores que pueden ser fácilmente eliminados, evitando así la necesidad de un proceso de purificación posterior.
  - 65 3) Mediante el procedimiento de la invención se puede acceder en principio a cualquier éster del hidroxitirosol, con sólo cambiar la naturaleza del reactivo RCOX.
  - 4) La reacción transcurre con altos rendimientos químicos.

## ES 2 246 603 B1

- 5) Es un método más simple y eficaz que el descrito en el estado de la técnica para la síntesis del acetato de hidroxitirosol.
- 6) Los ésteres de hidroxitirosol obtenidos mediante el procedimiento de la invención son muy solubles en lípidos y no presentan sabor amargo.
- 7) Su actividad antioxidante es mayor que la de otros aditivos utilizados en la actualidad (tocoferoles y BHT).
- 8) Se preparan a partir de hidroxitirosol o de los derivados naturales del hidroxitirosol antes mencionados, que se encuentra en abundante cantidad en las aguas residuales de la obtención del aceite de oliva (alpechín), en el residuo sólido (orujo) y en las hojas del olivo, de donde se puede extraer por procedimientos conocidos. Ello permitiría el aprovechamiento de los productos de desecho de las almazaras.
- 9) Se pueden preparar fácilmente los ésteres de hidroxitirosol cuyo resto R sea el de un ácido graso presente de forma natural en las grasas animales y/o aceites vegetales (palmítico, esteárico, oleico, linoleico, ...), lo cual los hace candidatos para ser usados como aditivos antioxidantes en alimentación humana y en aplicaciones farmacológicas.

### Modo de realización de la invención

La invención se ilustra en los siguientes ejemplos, que en modo alguno pretenden limitar el alcance de la presente invención.

#### Ejemplo 1

##### *Preparación de acetato de 2-(3,4-dihidroxifenil)etilo*

##### *Acetato de hidroxitirosol*

##### Método A

##### *A partir de hidroxitirosol*

A una disolución de 50 mg de hidroxitirosol (II) en 2 mL de acetato de etilo se adicionan 50 mg de lipasa pancreática porcina cruda (Aldrich) y la mezcla resultante se agita durante 48 horas. La suspensión resultante se filtra a través de celita y se evapora el disolvente a vacío, obteniéndose el acetato de hidroxitirosol puro, con un rendimiento del 86%.

##### Método B

##### *A partir de oleuropeína*

A una disolución de 50 mg de oleuropeína (III) en 4 mL de acetato de etilo se adicionan 0,4 mL de ácido clorhídrico 12 N y la mezcla resultante se agita durante 16 horas a temperatura de 40°C. La solución resultante se lava con disolución saturada de bicarbonato sódico, se seca sobre sulfato sódico anhidro, se filtra y se evapora hasta residuo. El producto se purifica por cromatografía en columna obteniéndose el acetato de hidroxitirosol puro con un rendimiento del 72%.

### Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

$^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 6.63 (d, 1H), 6.60 (d, 1H), 6.46 (dd, 1H), 4.10 (t, 2H), 2.68 (t, 2H), 1.97 (s, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 170.2, 145.0, 143.7, 128.5, 119.4, 116.1, 115.5, 64.6, 33.5, 20.6 ppm.

### Espectrometría de Masas (MS)

Calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 197.081384.  
Determinado por HRMS (CI): 197.080136 (6.3 ppm).

### Análisis elemental

Calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$ : C, 76.59; H, 10.64.  
Encontrado: C, 76.32; H, 10.91.

## ES 2 246 603 B1

### Ejemplo 2

#### Preparación de oleato de 2-(3,4-dihidroxifenil)etilo

5 Oleato de hidroxitirosol

Método A

A partir de oleato de etilo

10

A una disolución de 50 mg de hidroxitirosol (II) en 1.0 mL de oleato de etilo se adicionan 5 mg de ácido *p*-toluenosulfónico (Aldrich) y la mezcla resultante se calienta a 60°C durante 24 horas. Después de dejar enfriar, se lava con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, se recoge la fracción orgánica, se seca sobre sulfato sódico y se introduce la mezcla en una columna de cromatografía para su purificación, obteniéndose el oleato de hidroxitirosol puro, con un  
15 rendimiento del 76%.

#### Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

20 <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 6.62 (d, 1H), 6.59 (d, 1H), 6.44 (dd, 1H), 5.31 (m, 2H), 4.10 (t, 2H), 2.67 (t, 2H), 2.23 (t, 2H), 1.97 (q, 4H), 1.47 (m, 2H), 1.25 (m, 20H), 0.84 (t, 3H) ppm.

<sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 172.7, 145.0, 143.7, 129.6, 128.5, 119.3, 116.1, 115.4, 64.5, 33.7, 33.4, 31.2, 29.0, 28.9, 28.7, 28.6, 28.5, 28.4, 28.3, 26.5, 24.3, 22.0, 13.8 ppm.

#### 25 Espectrometría de Masas (MS)

Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 419.316135.

Determinado por HRMS (CI): 419.315427 (1.7 ppm).

30

#### Análisis elemental

Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>4</sub>·1/2H<sub>2</sub>O: C, 73.07; H, 10.07.

Encontrado: C, 73.58; H, 10.48.

35

Método B

A partir de aceite de oliva

40

A una disolución de 50 mg de hidroxitirosol (II) en 0,5 mL de aceite de oliva se adiciona 1 gota de ácido sulfúrico y la mezcla resultante se agita durante 24 horas. Se lava la mezcla con disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, se recoge la fracción orgánica, se seca sobre sulfato sódico y se evapora el disolvente. La mezcla de ésteres grasos de hidroxitirosol (fundamentalmente oleato de hidroxitirosol), diluida en el aceite de oliva restante, se puede usar sin necesidad de purificación. Si se quiere purificar se puede realizar mediante columna cromatográfica, obteniéndose una mezcla  
45 líquida de oleato de hidroxitirosol (83%), palmitato de hidroxitirosol (11%) y linoleato de hidroxitirosol (6%).

50

55

60

65

## REIVINDICACIONES

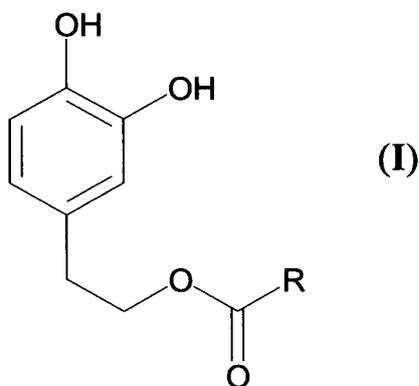
1. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol de fórmula general

5

10

15

20



mediante una reacción de esterificación regioselectiva que se lleva a cabo por contacto entre alguno de los siguientes compuestos

25

- hidroxitirosol

- oleuropeína

30

- aglucones de la oleuropeína

y un agente acilante, **caracterizado** porque dicho agente acilante es un ácido orgánico o un éster que contiene al menos un grupo acílico de resto R y se emplea en una relación de concentraciones comprendida entre 10:1 y 1:1000 (hidroxitirosol o compuesto asimilado/agente acilante), a una temperatura comprendida entre 0 y 150°C, durante un periodo de tiempo comprendido entre 30 minutos y 1 mes, en presencia de un catalizador catalizador ácido si el agente acilante es un ácido orgánico, y de un catalizador ácido o enzimático si el agente acilante es un éster.

35

2. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la esterificación llevada a cabo con un éster como agente acilante es regioselectiva al menos en un 95%.

40

3. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-2 **caracterizado** porque el radical R es un H, un radical alquilo, un radical alquenilo o un grupo arilo.

45

4. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-3, **caracterizado** porque el radical alquilo puede ser cualquier radical con estructura de cadena carbonada lineal, ramificada ó cíclica, sustituida ó no, de hasta 21 átomos de carbono inclusive.

50

5. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-3, **caracterizado** porque el radical alquenilo puede ser cualquier radical con estructura de cadena carbonada lineal, ramificada ó cíclica, sustituida ó no, de hasta 21 átomos de carbono inclusive y que tenga uno o más grados de insaturación en cualquier posición de la cadena.

6. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-3, **caracterizado** porque el radical arilo es un grupo fenilo o un derivado del mismo sustituido.

55

7. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-6, **caracterizado** porque el agente acilante utilizado son triglicéridos contenidos en el aceite de oliva.

60

8. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-7, **caracterizado** porque opcionalmente la reacción se realiza en presencia de un disolvente seleccionado de entre algunos de los siguientes: ésteres, éteres o hidrocarburos halogenados.

9. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-8, **caracterizado** porque el catalizador es un ácido mineral.

65

10. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según la reivindicación 9, **caracterizado** porque el catalizador es ácido fosfórico.

## ES 2 246 603 B1

11. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-8, **caracterizado** porque el catalizador es un ácido organilsulfónico.
- 5 12. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-8, **caracterizado** porque el catalizador es una lipasa.
13. Procedimiento para la preparación de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicaciones 1-12, **caracterizado** porque incluye tras la etapa de contacto el aislamiento y purificación de los ésteres de hidroxitirosol obtenidos.
- 10 14. Ésteres de hidroxitirosol obtenidos mediante un procedimiento según las reivindicaciones 1-13, **caracterizado** porque el resto achico está constituido por una cadena que contiene entre 3 y 21 átomos de carbono y porque entre dichos ésteres no están incluidos los siguientes:
- 15 2-(3,4-dihidroxifenil)etil oleato (oleato de hidroxitirosol)
- 2-(3,4-dihidroxifenil)etil estearato (estearato de hidroxitirosol)
- 2-(3,4-dihidroxifenil)etil docosahexaenoato
- 20 2-(3,4-dihidroxifenil)etil eicosapentaenoato
15. Utilización de ésteres de hidroxitirosol según la reivindicación 14 como aditivo en formulaciones alimentarias.
- 25 16. Utilización de ésteres de hidroxitirosol como aditivo en formulaciones alimentarias según las reivindicación 15, **caracterizado** porque dichos ésteres se adicionan bien solos o junto con otros antioxidantes naturales de tipo ortodifenólico o diterpénico, en una cantidad tal que su concentración total en la fase apolar del alimento no exceda de 200 ppm.
- 30 17. Utilización de la mezcla de productos obtenidos en la reacción mediante un procedimiento según las reivindicaciones 1-12, previa eliminación del catalizador y del disolvente, como aditivo en formulaciones alimentarias.
18. Utilización de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicación 14 como aditivo en productos cosméticos.
- 35 19. Utilización de la mezcla de productos obtenidos en la reacción mediante un procedimiento según las reivindicaciones 1-12, previa eliminación del catalizador y el disolvente, como aditivo en productos cosméticos.
20. Utilización de ésteres de hidroxitirosol según las reivindicación 14 en, preparaciones farmacéuticas.
- 40 21. Utilización de la mezcla de productos obtenidos en la reacción mediante un procedimiento según las reivindicaciones 1-12, previa eliminación del catalizador y del disolvente, en preparaciones farmacéuticas.
- 45 22. Formulación alimentaria que contiene como aditivo ésteres de hidroxitirosol según las reivindicación 14, solos o junto con otros antioxidantes naturales de tipo ortodifenólico o diterpénico, en una cantidad tal que su concentración total en la fase apolar del alimento no exceda de 200 ppm.
23. Producto cosmético que contiene como aditivo ésteres de hidroxitirosol según la reivindicación 14.
24. Preparación farmacéutica que contiene ésteres de hidroxitirosol según las reivindicación 14.

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 246 603

② Nº de solicitud: 200201554

③ Fecha de presentación de la solicitud: 03.07.2002

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: Ver hoja adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	BUISMAN, G.J.H. y col. Enzymatic esterifications of functionalized phenols for the synthesis of lipophilic antioxidants. Biotechnology Letters. 1998, Vol.20, Nº 2, páginas 131-136, ISSN 0141-5492.	1-13
X	Página 132, columna 1, párrafo 5; página 133, columna 2, párrafo 3 - página 134, columna 1, párrafo 1.	14,15-17, 22-24
A	GORDON, M.H. y col. Antioxidant activity of hidroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, Vol 49, Nº 5, páginas 2480-2485, ISSN 0021-8561.	1-13
X	Página 2481, columna 1, párrafo 3.	17,19,21
A	BARALDI, P.G. y col. Preparation of 3,4-dihydroxy-1-benzeneethanol: a reinvestigation.Liebigs Annalen der Chemie. 1983, Vol 4, páginas 684-686, ISSN 0170-2041. Todo el documento	1-13
E	ES 2193874 A1 (PULEVA BIOTECH, S.A.) 01.11.2003, reivindicaciones 1,2,6-11,18,19,21,22.	14-24

#### 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

30.11.2005

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**C07C 69/007** (2006.01)

**C07C 69/025** (2006.01)

**C07C 69/16** (2006.01)

**A61K 31/222** (2006.01)

**A61Q 19/00** (2006.01)

**A61P 3/02** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)