

(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 2010/070168 A1**

(43) Fecha de publicación internacional  
24 de junio de 2010 (24.06.2010)

PCT

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61K 8/34 (2006.01) A61K 36/63 (2006.01)  
A61K 8/97 (2006.01) A61K 36/28 (2006.01)  
C07C 37/82 (2006.01) A61K 36/185 (2006.01)

Instituto de la Grasa (IG), Avda. Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **LAMA MUÑOZ, Antonio** [ES/ES]; Instituto de la Grasa (IG), Avda. Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES).

(21) Número de la solicitud internacional:  
PCT/ES2009/070541

(74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Ángel**; Glorieta de Rubén Darío, 4, E-28010 Madrid (ES).

(22) Fecha de presentación internacional:  
30 de noviembre de 2009 (30.11.2009)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:  
P200803630  
19 de diciembre de 2008 (19.12.2008) 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, 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, IS, JP, KE, KG, KM, 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, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)** [ES/ES]; C/ Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES).

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (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, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **FERNÁNDEZ-BOLAÑOS GUZMÁN, Juan** [ES/ES]; Instituto de la Grasa (IG), Avda. Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **GUILLÉN BEJARANO, Rafael** [ES/ES]; Instituto de la Grasa (IG), Avda. Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **JIMENEZ ARAUJO, Ana** [ES/ES]; Instituto de la Grasa (IG), Avda. Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **RODRÍGUEZ ARCOS, Rocío** [ES/ES]; Instituto de la Grasa (IG), Avda. Padre García Tejero, 4, E-41012 Sevilla (ES). **RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ, Guillermo** [ES/ES];

Publicada:

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

(54) Title: METHOD FOR PURIFYING 3,4-DIHYDROXYPHENYLGLYCOL (DHPG) FROM PLANT PRODUCTS

(54) Título : PROCEDIMIENTO DE PURIFICACIÓN DE 3,4-DIHIDROXIFENILGLICOL (DHFG) A PARTIR DE PRODUCTOS VEGETALES

(57) Abstract: The invention relates to a method for purifying 3,4-dihydroxyphenylglycol (DHPG) from any part of the plant, the products or the by-products obtained from the olive tree or any other plant product of the *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*, *Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae* and/or *Scrophulariaceae* families, including one or more steps in which the initial product is introduced into at least one ionic resin column, and possible subsequent steps in which the product eluted in the preceding column is introduced into a column containing ionic resin and/or non-ionic adsorption resin. The invention also relates to the DHPG extract which can be obtained by means of the aforementioned method and to the uses thereof.

(57) Resumen: Procedimiento de purificación de 3,4-dihidroxifenilglicol (DHFG) a partir de cualquier parte de la planta, productos ó subproductos derivados del olivo o cualquier otro producto vegetal de la familia *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*, *Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae* y/o *Scrophulariaceae*, y que comprende 1 o más etapas en las que se introduce el producto inicial en al menos una columna de resina iónica, en posibles posteriores etapas se introduce el producto eluido en la columna anterior en una columna de resina iónica y/o de resina de adsorción no iónica. Además, se refiere al extracto de DHFG obtenible mediante el procedimiento descrito y a sus aplicaciones.

WO 2010/070168 A1

**PROCEDIMIENTO DE PURIFICACIÓN DE 3,4-DIHIDROXIFENILGLICOL  
(DHFG) A PARTIR DE PRODUCTOS VEGETALES**

La presente invención se refiere a procedimiento de purificación de 3,4-  
5 dihidroxifenilglicol (DHFG) a partir de cualquier parte de la planta,  
productos ó subproductos derivados del olivo o cualquier otro producto  
vegetal de la familia *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*,  
*Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae*, y/o *Scrophulariaceae*. Dada las  
diferentes aplicaciones del DHFG, la presente invención se engloba al  
10 sector de la alimentación, farmacéutico o de la cosmética.

**ESTADO DE LA TECNICA ANTERIOR**

Estudios epidemiológicos indican que la dieta Mediterránea está asociada  
15 a una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares,  
ateroesclerosis y ciertos tipos de cánceres (piel, pecho, próstata, tracto  
digestivo). Se trata de una dieta rica en frutas y vegetales frescos, con una  
relativa baja proporción de grasa animal y teniendo al aceite de oliva como  
principal fuente de grasa. Estos efectos beneficiosos se los han atribuido  
20 no solo a una baja proporción ácidos grasos saturados/monoinsaturados  
del aceite de oliva, sino también a otras moléculas adicionales presentes  
en menor concentración, en particular a los compuestos fenólicos  
antioxidantes.

25 El interés en los antioxidantes naturales se está incrementando hoy en día  
porque crecen las evidencias que indican que son capaces de  
contrarrestar los efectos geno y citotóxicos de los radicales libres y  
especies reactivas de oxígeno, que se producen en casos de estrés  
oxidativo y, que están implicadas en varios procesos patológicos, tales  
30 como enfermedades renales y hepáticas y en procesos inflamatorios. Es  
por eso que a partir de la aceituna se aíslan varios de ellos destacando

entre todos el hidroxitirosol (HT).

Según la “European Olive Oil Medical Information Library”, el HT es un compuesto fenólico de una reconocida especial eficacia antioxidante. Sus propiedades antioxidantes se atribuyen especialmente a la presencia de dos grupos hidroxilo en posición orto, es decir un grupo ortodifenol, característico de los biofenoles.

Además de su capacidad de donar electrones y de neutralizar radicales libres, su elevada eficacia antioxidante radica en su capacidad de secuestro o quelación de iones metálicos como Fe o Cu, responsables de la formación de radicales libres durante el proceso de la oxidación. En los últimos años, se ha comprobado que este antioxidante natural posee además importantes propiedades biológicas. Mediante ensayos *in vitro* e *in vivo* se ha demostrado su capacidad para actuar como antiagregante plaquetario y como inhibidor de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) ricas en colesterol, lo que ayudarían a reducir la aterosclerosis. El HT es también capaz de modular la ciclooxigenasa, lipoxigenasa y óxido nítrico o NO-sintetasa, contribuyendo, por tanto, a paliar los procesos trombogénicos e inflamatorios. Además, es capaz de reducir la producción de radicales libres como el anión superóxido, y por tanto, presenta efecto inhibitor sobre la iniciación de procesos mutagénicos y carcinogénicos, e induce la apoptosis en células HL-60. Se ha demostrado también su capacidad para actuar sobre bacterias Gram-negativa y Gram-positiva y sobre el virus VIH. En estudios *in vivo* de biodisponibilidad en humanos, se han detectado en el plasma conjugados de dicho compuesto y su metabolito, el 3-O-metil-hidroxitirosol, siendo la cantidad absorbida dependiente de la dosis ingerida.

Actualmente, son, por tanto, numerosas las investigaciones que intentan demostrar la actuación de este compuesto en la prevención y tratamiento

de gran número de enfermedades. Protege contra enfermedades neurodegenerativas, previene contra el ictus cerebral isquémico e incluye el tratamiento de la piel. Todos estos antecedentes sugieren además el uso del HT como componente funcional en alimentos, así como su empleo  
5 para la prevención del deterioro de los mismos debido a su demostrada capacidad para inhibir la oxidación de los lípidos.

Por otro lado, el 3,4-dihidroxifenilglicol (DHFG) es un compuesto muy similar al HT pero con un grupo hidroxilo adicional. Esta sustancia ha sido  
10 descrita en la aceituna, alpechín y aceite de oliva.

El DHPG presenta además una elevada actividad antioxidante superior incluso al HT, siendo su eficacia antioxidante en agua 2-3 veces más alta que el ácido ascórbico o el HT mientras que en medio lipídico es el doble  
15 que el HT y similar a la vitamina E (Rodríguez, G., Rodríguez, R., Fernández-Bolaños, J., Guillen, R., & Jiménez, A. (2007), European Food Research and Technology, 224, 733-741.) También es importante destacar que tanto el HT como el DHFG forman parte de la misma familia, los glucósidos fenilpropanoides, también llamados acteósidos o  
20 hidroxiacteósidos, dependiendo si es el HT o el DHFG los que forman parte de la molécula. La molécula está además formada por el ácido caféico y un di- o trisacárido, y están ampliamente distribuidas como metabolitos secundarios en muchas especies de plantas, muy utilizadas en la medicina tradicional oriental (china, japonesa y coreana) (Nishibe, S.  
25 (2002). Yakugaku Zasshi, 122, 363-379), por su amplia variedad de actividades biológicas (antiproliferativas, antiinflamatorias, neurodegenerativas, etc), todas ellas explicables por su elevado poder antioxidante.

30 Debido a su similitud con el HT y al formar parte de los glucósidos de fenilpropanoides, es deseable desarrollar un método que produzca esta

sustancia, DHFG, ya sea pura o en extracto acuoso, con alto porcentaje de pureza.

## DESCRIPCION DE LA INVENCION

5

La presente invención proporciona un procedimiento para la obtención de un concentrado natural, bioactivo, a partir de productos y/o subproductos derivados del olivo y o cualquier otro producto vegetal de la familia *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*, *Compositae*, *Lamiaceae*,  
10 *Acanthaceae*, y/o *Scrophulariaceae*, que contienen DHFG, así como la obtención del DHFG de alta pureza.

El compuesto que se obtiene mediante el procedimiento de la presente invención es un extracto fenólico muy rico en DHFG.

15

El DHFG está presente, sobre todo, en la aceituna y el aceite de oliva virgen. También se encuentra en el organismo humano al ser un metabolito de la hormona simpático mimética noradrenalina. Posee mayor capacidad antioxidante que su acompañante en la aceituna como es el HT.

20

Mediante el procedimiento de la invención se obtiene el DHFG con una elevada pureza mediante técnicas cromatográficas sencillas en donde la ausencia de disolventes orgánicos simplifica y reduce sustancialmente los costos, llegándose a un sistema sencillo y muy económico, y haciéndolo  
25 totalmente compatible con los productos alimenticios.

El procedimiento de obtención de DHFG purificado de la presente invención es a partir de productos y subproductos derivados del olivo y o cualquier otro producto vegetal de la familia *Oleaceae*, *Orobanchaceae*,  
30 *Plantaginaceae*, *Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae*, y/o *Scrophulariaceae*. El sistema de purificación se basa en el uso y

combinación de diversos sistemas cromatográficos. Se emplean resinas de adsorción y de resinas iónicas, preferentemente resinas iónicas fuertes o débiles. Combinando columnas en serie de estas resinas se llega a obtener una disolución rica en DHFG.

5

La fuente de DHFG se introduce en dichas columnas obteniéndose, en función a la combinación usada, una disolución tras su elución con agua que contiene un DHFG con una pureza en peso de entre el 10-100%, acompañado de otros compuestos como el tirosol o el HT entre otros.

10

El procedimiento de la invención utiliza un sistema cromatográfico en una, dos, tres o más fases para la obtención de un producto natural no aislado hasta ahora. El número de fases que se van a utilizar en este procedimiento de la invención dependerá de la pureza con la que se desee obtener el producto final, DHFG.

15

Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de DHFG purificado (a partir de productos y subproductos derivados del olivo y o cualquier otro producto vegetal de la familia) a partir de un producto inicial procedente de especies vegetales seleccionadas de la familia de las *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*, *Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae*, *Scrophulariaceae*, o cualquiera de sus combinaciones, caracterizado porque comprende (a partir de ahora procedimiento de la invención):

20

25

- a. introducir el producto inicial en una columna de resina iónica;
- b. eluir el compuesto retenido en la columna del paso (a).

30

En una realización preferida, la elución del paso (b) se hace pasar por una segunda columna que contiene una resina que se selecciona de entre una resina iónica o de una resina de adsorción no iónica y posteriormente se eluye el compuesto retenido.

En una realización más preferida del procedimiento de la invención, la disolución eluida de la segunda columna se hace pasar por una tercera columna que contiene una resina que se selecciona de entre una resina iónica o de una resina de adsorción no iónica y posteriormente se eluye el compuesto retenido.

En una realización aún más preferida del procedimiento de la invención, la disolución eluida de la tercera columna se hace pasar por una cuarta columna que contiene una resina que se selecciona de entre una resina iónica o de una resina de adsorción no iónica y posteriormente se eluye el compuesto retenido.

Preferiblemente cualquiera de las eluciones del producto retenido en cualquiera de las columnas se lleva a cabo con agua.

Preferentemente se utiliza en la primera columna una resina iónica, que a su vez puede ser una resina iónica fuerte o una resina iónica débil, que permite obtener una disolución rica en DHFG tras su elución con agua. Este tipo de resina es preferiblemente de base de poliestireno, fácilmente regenerable, de gran durabilidad mecánica y funcional, bajo costo de inversión, regeneración y de operación.

En la segunda y tercera fase se pueden emplear o bien una resina iónica y una resina adsorbente no iónica o bien una resina adsorbente no iónica y una resina iónica, respectivamente.

Las resinas adsorbentes preferiblemente son polimérica XAD, esta es una resina macroreticular, no iónica, en base poliestireno, que adsorbe y libera las sustancias a través de interacciones hidrofóbicas y polares.

En una realización preferida, el producto inicial, para obtener DHFG, procedente de especies vegetales de la familia *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*, *Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae*, y/o *Scrophulariaceae* es de la planta entera, la parte aérea, las hojas, las flores, las semillas o los frutos.

Las especies vegetales procedentes de las familias de *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*, *Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae* y/o *Scrophulariaceae*, se utilizan, en el procedimiento de la invención, al llevar incluido hidroxiacteosidos.

En una realización preferida, los productos iniciales que se utilizan en el procedimiento de la invención son los de especies vegetales de la familia de *Oleaceae*. Ejemplos de géneros de esta familia son entre otros *Abeliophyllum*, *Chionanthus* L., *Comoranthus*, *Fontanesia* Labill., *Forestiera* Poir., *Forsythia* Vahl, *Menodora* Bonpl., *Myxopyrum*, *Nestegis* Raf., *Noronhia*, *Notelaea*, *Nyctanthes* o *Olea*. En una realización más preferida las especies vegetales son del género *Olea*, y más preferiblemente es el olivo, sus frutos, el aceite que se extrae de ellos y los productos o subproductos derivados de sus industrias, aceite de oliva o aceitunas de mesa.

Preferiblemente la materia prima es procedente del olivo. Los productos o subproductos derivados del olivo, de la producción de aceite o de aceitunas se pueden seleccionar de entre, pero sin limitarse a los orujos de dos fases (alperujo), orujos de tres fases, alpechín, lejías, aguas de lavado del aderezo de aceitunas, la hoja de olivo procedentes del procesado de aceitunas, los huesos de aceituna o cualquiera de sus combinaciones.



Previamente a su utilización en el procedimiento de la invención estos materiales se pueden someter a un pretratamiento, que puede consistir en un tratamiento térmico o a una extracción con disolventes orgánicos.

- 5 Cuando el pretratamiento del producto inicial se lleva a cabo mediante un proceso térmico, calentamiento por contacto directo o indirecto usando vapor de agua, gases u otros líquidos calefactantes o a través de resistencia eléctrica, a una temperatura de entre 40°C y 200°C, a baja o alta presión, con o sin proceso de explosión al vapor.

10

Otra realización preferida del procedimiento de la invención, además comprende la regeneración de las columnas de resinas iónicas o adsorbentes, para su reutilización en el mismo procedimiento.

- 15 La regeneración de las columnas iónicas consiste en un lavado con disolución ácida fuerte o débil y orgánica e inorgánica como por ejemplo, pero sin limitarse a ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido cítrico ó ácido nítrico, y cada muchos ciclos de carga y descarga en uno previo con disolución alcalina.

20

Preferiblemente, la regeneración de la resina iónica se lleva a cabo mediante las siguientes etapas:

- 25 i. lavado con disolución básica, fuertes o débiles, orgánicas o inorgánicas como por ejemplo, pero sin limitarse a NaOH, KOH, NaOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, piridina, carbonatos de sodio, magnesio o aluminio;  
y  
ii. lavado con disolución ácida, fuerte o débil, y orgánica o inorgánica como por ejemplo, pero sin limitarse a ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido cítrico o  
30 ácido nítrico.

En el caso de la regeneración de columnas de resina adsorbente no iónica, se realiza mediante un lavado con una disolución de alcohol orgánico, como por ejemplo etanol ó metanol, u otros disolventes como el acetoneitrilo, butanol, propanol, hexano, diclorometano, trifluorometano o cloroformo. Si fuera necesario, además puede comprender su lavado con disoluciones fuertemente básicas como por ejemplo, pero sin limitarse a NaOH, KOH, NaOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, piridina, carbonatos de sodio, magnesio o aluminio.

10 Otro aspecto de la presente invención se refiere al extracto que contiene DHFG obtenible mediante el procedimiento de la invención, con una pureza de entre el 10% y el 100% en peso seco. Preferiblemente con una pureza de entre el 50% y el 100% en peso seco.

15 El DHFG es un antioxidante natural que puede ser utilizado en la conservación de alimentos y en la prevención de ciertas enfermedades humanas, inducidas por radicales libres durante el estrés oxidativo. En este sentido se puede emplear en el desarrollo de alimentos funcionales y en la preparación de diversos preparados tópicos, antienviejimiento y antiinflamatorios. Dada su similitud con el HT, con un grupo hidroxilo más, y que este compuesto presenta una mayor capacidad antioxidante que el propio HT, al que se le atribuyen interesantes efectos farmacológicos, el DHFG puede tener un papel favorable en la prevención de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y tumorales.

25 El DHFG resulta, por lo tanto, un compuesto interesante susceptible de ser incluido dentro de una dieta saludable con el fin de proteger contra la oxidación lipídica, inducida por el estrés oxidativo, que provoca diversas patologías de alto impacto actual en la población. Además, puede contribuir al emergente y prometedor papel de los antioxidantes en general como herramienta terapéutica contra enfermedades neurodegenerativas

30

tales como Alzheimer y el Parkinson. La utilización de un DHFG purificado y barato podría ayudar, al mismo tiempo, a desarrollar nuevas rutas para la preparación de productos biológicamente activos, ayudando a producir nuevas drogas más baratas.

5

Por tanto, otro aspecto de la presente invención se refiere al uso del extracto de DHFG de la invención, para el enriquecimiento nutricional de alimentos, preferiblemente esos alimentos son leche o sus derivados, zumos o grasas.

10

Debido a sus propiedades antioxidantes, el extracto de la invención puede utilizarse para el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo. Estas enfermedades son conocidas por cualquier experto en la materia y se pueden seleccionar de la lista que comprende

15 aterosclerosis, procesos trombogénicos e inflamatorios, procesos mutagénicos o carcinogénicos, enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo Alzheimer), ictus cerebral isquémico, entre otras.

20

De esta forma, otro aspecto de la presente invención se refiere al uso del extracto de la invención, para la elaboración de una composición farmacéutica, y preferiblemente para el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

25

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el extracto de la invención, junto con un vehículo farmacéuticamente efectivo.

30

Por "vehículo farmacéuticamente efectivo" se refiere a los adyuvantes y/o vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un alimento funcional que comprende el extracto de la invención, para la prevención y/o tratamiento de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo.

- 5 Por "alimento funcional" se entiende, en la presente invención, 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, en este caso se le  
10 añade DHFG que es un antioxidante.

Otros usos del extracto de la invención vendrán dados por sus propiedades antioxidantes.

- 15 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  
20 ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

### **BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS**

- 25 **Fig. 1.** Esquema de cuatro posibles combinaciones del procedimiento de purificación de DHFG a nivel de laboratorio.

**Fig. 2.** Esquema y balance del sistema llevado a cabo a nivel semiindustrial o de planta piloto.

## EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del procedimiento de la invención.

El procedimiento de obtención de DHFG purificado se ha desarrollado a partir de una muestra de alperujo sometida un tratamiento térmico. Se han desarrollado dos tipos de experiencias, una a nivel de laboratorio en la que se han seleccionado cuatro de las mejores combinaciones de los tres tipos de resina, y la otra a nivel de planta piloto o semiindustrial. Ésta última se ha llevado a cabo seleccionando una de las mejores opciones en función a su simplicidad, reproducibilidad y reducción de costos.

### 15      **A) Experiencia a nivel de laboratorio:**

Unos 7 Kg de alperujo se sometieron a un tratamiento térmico a 70 °C durante dos horas. Una vez finalizado se centrifugó obteniendo una disolución de 4,75L con una concentración de DHFG de 0,2 g/L y un sólido residual con un 50% de humedad, lo cual implica que había 950 mg de dicho compuesto en lo que constituye la muestra denominada A1. Se repitió la experiencia cuatro veces para llevar acabo los cuatro esquemas de la Figura 1:

- 25      A1: muestra inicial, fuente de DHFG (fracción acuosa).
- C1: columna de resina iónica fuerte en donde el compuesto se eluye preferentemente con agua.
- C2: columna de adsorción tipo XAD, en donde o bien únicamente retiene otros compuestos eluyéndose el DHFG con el propio licor de carga o bien, parte o todo es necesario eluirlo de la columna
- 30      preferentemente con agua.

C3: columna de resina iónica débil en donde el compuesto se eluye preferentemente con agua, y es dónde se produce el mayor salto de pureza del compuesto.

5 DHFG I-IV: fracciones del compuesto purificado con un rango de pureza de 10-100%.

Descripción de cada esquema:

Esquema I:

10

1<sup>er</sup> Paso: La muestra A1 se introdujo en la primera columna (C1) con 1L de resina iónica fuerte. El DHFG quedó completamente retenido en la columna. Se realizaron lavados con agua. Se unieron las fracciones centrales más puras desechando unos 360 mg más impurificados más unos 136 mg que no se llegaron a eluir de la columna. La fracción resultante (B1) fue de 7,85 L con unos 454 mg de DHFG con una pureza de entre un 5 y un 20% en peso seco.

15

2<sup>o</sup> Paso: La fracción B1 se hizo pasar a través de una columna (C2) con 3L de resina tipo XAD en donde el DHFG quedó totalmente retenido. Tras eluir con agua se obtuvo una fracción (B2) de 8,5 L que contienen 257 mg del compuesto con una pureza de 20-30% en peso seco.

20

3<sup>er</sup> Paso: B2 se concentró antes de ser pasada a través de la columna (C3) de 0,5 L de resina iónica débil, en donde se obtuvo una fracción de 150 mg de DHFG-I con una pureza de un 60-80%.

25

Esquema II:

30 1<sup>er</sup> Paso: Se partió de la misma muestra A1 y se hizo pasar por la misma columna (C1) que en el caso anterior, obteniendo la misma fracción B1.

2º Paso: En este caso la fracción B1 se concentró antes de su pase por una columna (C3) con 0,9 L de resina iónica débil. La fracción concentrada presentó 412 mg de DHFG en 1,45 L. El DHFG quedó totalmente retenido en la columna. Tras eluir con agua se obtuvo una fracción (D1) de 5 L que  
5 contienen 300 mg del compuesto con una pureza de 15-30% en peso seco.

3<sup>er</sup> Paso: D1 se pasó a través de la columna (C2) de 1,9 L de resina adsorbente tipo XAD. Tras la elución con agua se obtuvo una fracción de  
10 180 mg de DHFG-II con una pureza de un 70-90%.

#### Esquema III:

1<sup>er</sup> Paso: La muestra A1 se introdujo en la primera columna (C3) con 2,6L  
15 de resina iónica débil, en donde el DHFG quedó completamente retenido. Se realizaron lavados con agua. Se unieron las fracciones centrales más puras desechando unos 243 mg más impurificados más unos 147 mg que no se llegaron a eluir de la columna. La fracción resultante (E1) fue de 6,25 L con unos 560 mg de DHFG con una pureza de entre un 5 y un 20% en  
20 peso seco.

2º Paso: La fracción E1 se hizo pasar a través de la columna C1 con 1,9L de resina iónica fuerte en donde el DHFG quedó totalmente retenido. Tras eluir con agua se obtuvo una fracción (E2) de 11,36 L que contienen 345  
25 mg del compuesto con una pureza de 20-40% en peso seco.

3<sup>er</sup> Paso: E2 se pasó a través de la columna (C2) de 2,3 L de resina adsorbente tipo XAD. Tras la elución con agua se obtuvo una fracción de  
30 273 mg de DHFG-III con una pureza de un 70-90%.

#### Esquema IV:

1<sup>er</sup> Paso: Se repitió la misma experiencia en el primer paso del esquema III obteniendo una fracción resultante (E1) de 6,25 L con 560 mg de DHFG con una pureza de entre un 5 y un 20% en peso seco.

5 2<sup>o</sup> Paso: La fracción E1 se hizo pasar a través de una columna (C2) con 3L de resina tipo XAD en donde el DHFG queda totalmente retenido. Tras eluir con agua se obtuvo una fracción (F1) de 16 L que contienen 537 mg del compuesto con una pureza de 50-70% en peso seco.

10 Antes de cada columna la disolución que contiene al DHFG puede concentrarse disminuyendo la cantidad de resina a utilizar. Las disoluciones finales obtenidas pueden también concentrarse para aumentar su concentración en dicho compuesto. Siempre que se realice una operación de concentración ha de mantenerse un valor de pH de entre  
15 6 y 6,5 para evitar degradaciones. Por el mismo motivo el producto ha de conservarse a un pH siempre inferior a 6,5, y si es posible en frío o congelado.

### **B) Experiencia a nivel semiindustrial:**

20

La experiencia se llevó a cabo partiendo de una fracción líquida obtenida de la misma forma que en las experiencias anteriores con un alperujo diferente. En base a los resultados obtenidos en laboratorio se estableció como una combinación óptima de las resinas la que aparece en la Figura  
25 2. Esta combinación reduce las etapas de concentración, evita que la resina de tipo iónica débil esté en contacto con grandes cantidades de otros compuestos fenólicos que dificultan su regeneración, y simplifica el tamaño y uso de la resina del tipo XAD. Con este esquema se reduce los costos de operación resultando un sistema sencillo y económico en el que  
30 el agua es el único eluyente.



En la Figura 2, C1, C2 y C3 son el mismo tipo de columnas que en la Figura 1.

Se trataron unos 250 Kg de alperujo en varias tandas. Tras la centrifugación se obtuvo una fracción (G0) de 150 L con una concentración de 0,45 g/L de DHFG que constituye la fuente de partida de esta experiencia (Figura 2):

10 1<sup>er</sup> Paso: La muestra G0 se introdujo en la primera columna (C1) con 90L de resina iónica fuerte. El DHFG quedó completamente retenido en la columna. Se realizaron lavados con agua. Se unieron las fracciones centrales más puras resultando una fracción G1 de 325L con unos 32 g de DHFG con una pureza de entre un 5 y un 20% en peso seco.

15 2<sup>o</sup> Paso: La fracción G1 se hizo pasar a través de una columna (C2) con 20 L de resina tipo XAD en donde la mayor parte de DHFG no se retiene. Se recoge la misma fracción de partida más 30L de lavado con agua, obteniendo una fracción G2 de 355 L con 25 g del compuesto con una pureza de entre 20-40% en peso seco.

20 3<sup>er</sup> Paso: G2 hizo pasar a través de la columna (C3) de 30L de resina iónica débil, en donde se retiene todo el compuesto y recoge tras eluir con agua una fracción DHFG-P de 235L con 15g de DHFG con una pureza de un 80-95%.

25 4<sup>o</sup> Paso: Para aumentar la pureza de esta última fracción se concentró DHFG-P hasta 10L con 13g del compuesto. El concentrado se pasó a través de una columna (C3) con 2L de resina aniónica débil. El compuesto se retuvo por completo y tras su elución con agua se obtuvo finalmente  
30 una fracción de 10g de DHFG puro con una pureza comprendida entre 95-100% en peso seco.

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de DHFG purificado a partir de un producto inicial procedente de especies vegetales seleccionada de la familia  
5 *Oleaceae, Orobanchaceae, Plantaginaceae, Compositae, Lamiaceae, Acanthaceae, Scrophulariaceae* o sus combinaciones, caracterizado porque comprende:
  - a. introducir el producto inicial en una columna de resina iónica;
  - b. eluir el compuesto retenido en la columna del paso (a).
- 10 2. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 1, donde la disolución eluida del paso (b) se hace pasar por una segunda columna que contiene una resina que se selecciona de entre una resina iónica o de una resina de adsorción no iónica y posteriormente  
15 se eluye el compuesto retenido.
3. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 2, donde la disolución eluida de la segunda columna se hace pasar por una  
20 tercera columna que contiene una resina que se selecciona de entre una resina iónica o de una resina de adsorción no iónica y posteriormente se eluye el compuesto retenido.
4. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 3, donde la disolución eluida de la tercera columna se hace pasar por una cuarta  
25 columna que contiene una resina que se selecciona de entre una resina iónica o de una resina de adsorción no iónica y posteriormente se eluye el compuesto retenido.
5. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las  
30 reivindicaciones 1 a 4, donde la elución del producto retenido en la columna se lleva a cabo con agua.

6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde la resina iónica es una resina iónica fuerte o una resina iónica débil.
- 5 7. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde la resina de adsorción no iónica es de tipo XAD.
8. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el producto inicial procedente de especies vegetales de la familia *Oleaceae*, *Orobanchaceae*, *Plantaginaceae*,  
10 *Compositae*, *Lamiaceae*, *Acanthaceae* o *Scrophulariaceae* es de la planta entera, la parte aérea, las hojas, las flores, las semillas o los frutos.
9. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las  
15 reivindicaciones 1 a 8, donde el producto inicial procede del olivo o de los productos y/o subproductos obtenidos de la producción de aceite de oliva.
10. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 9, donde  
20 el producto inicial es orujo de dos fases (alperujo).
11. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 9, donde  
el producto inicial es orujo de tres fases, sus alpechines o combinación  
de ambos.  
25
12. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 9, donde  
el producto inicial son huesos de aceitunas.
13. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 9, donde  
30 el producto inicial son hojas, ramones, madera de olivo o cualquiera de sus combinaciones.

14. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 9, donde el producto inicial son las soluciones del proceso de elaboración de aceituna para alimentación.
- 5 15. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, donde el producto inicial se somete a pretratamiento antes de introducirlo en la primera columna.
- 10 16. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 15, donde el pretratamiento es un proceso térmico o una extracción acuosa u orgánica.
- 15 17. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 16, donde el proceso térmico es un proceso de calentamiento por contacto directo o indirecto usando vapor de agua, gases u otros líquidos calefactantes o a través de resistencia eléctrica, a una temperatura de entre 40°C y 200°C.
- 20 18. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, que además comprende la regeneración de las columnas de resinas, de intercambio iónico o adsorbente, para su reutilización en el mismo procedimiento.
- 25 19. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 18, donde la regeneración de la resina iónica se lleva a cabo mediante lavado con disolución ácida.
- 30 20. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 19, donde la disolución ácida es de ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido cítrico o ácido nítrico.

21. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las reivindicaciones 19 ó 20, donde previamente al lavado en una disolución ácida se realiza un lavado con disolución básica.
- 5 22. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 18, donde la regeneración de la resina adsorbente se lleva a cabo mediante su lavado con disoluciones acuosas que contienen disolventes orgánicos.
- 10 23. Procedimiento de obtención de DHFG según la reivindicación 22, donde los disolventes orgánicos se seleccionan de la lista que comprende etanol, metanol, acetonitrilo, butanol, propanol, hexano, diclorometano, trifluorometano o cloroformo.
- 15 24. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las reivindicaciones 22 ó 23, donde la regeneración de la resina adsorbente además comprende su lavado con disolución básica.
- 20 25. Procedimiento de obtención de DHFG según cualquiera de las reivindicaciones 21 ó 24, donde la disolución básica es de NaOH, KOH, NaOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, piridina o carbonatos de sodio, magnesio o aluminio.
- 25 26. Extracto de DHFG obtenible mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, con una pureza de entre el 10% y el 100% de riqueza en peso seco total.
27. Extracto según la reivindicación 26, donde DHFG está en un pureza de entre el 50% y el 90% de riqueza en peso seco total.
- 30 28. Uso del extracto según cualquiera de las reivindicaciones 26 ó 27, para el enriquecimiento nutricional de alimentos.

29. Uso según la reivindicación 28, donde los alimentos se seleccionan de entre leche o sus derivados, zumos o grasas.

5 30. Uso del extracto según cualquiera de las reivindicaciones 26 ó 27, para la elaboración de una composición farmacéutica.

31. Uso del extracto según la reivindicación 30, para el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo.

10 32. Composición farmacéutica que comprende un extracto según cualquiera de las reivindicaciones 26 o 27, junto con un vehículo farmacéuticamente efectivo.

15 33. Alimento funcional que comprende un extracto según cualquiera de las reivindicaciones 26 o 27, para la prevención y/o tratamiento de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo.

20

25

30

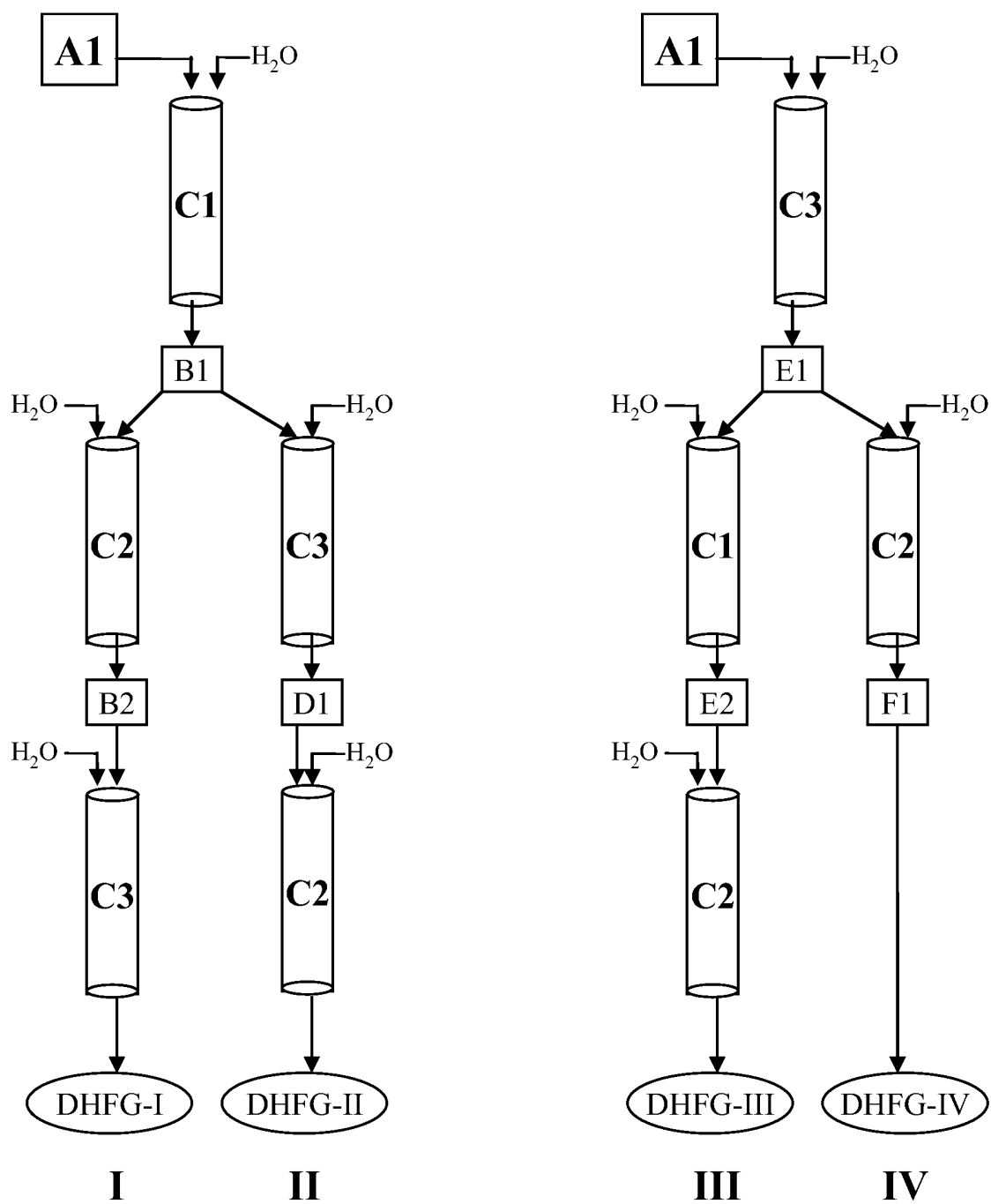
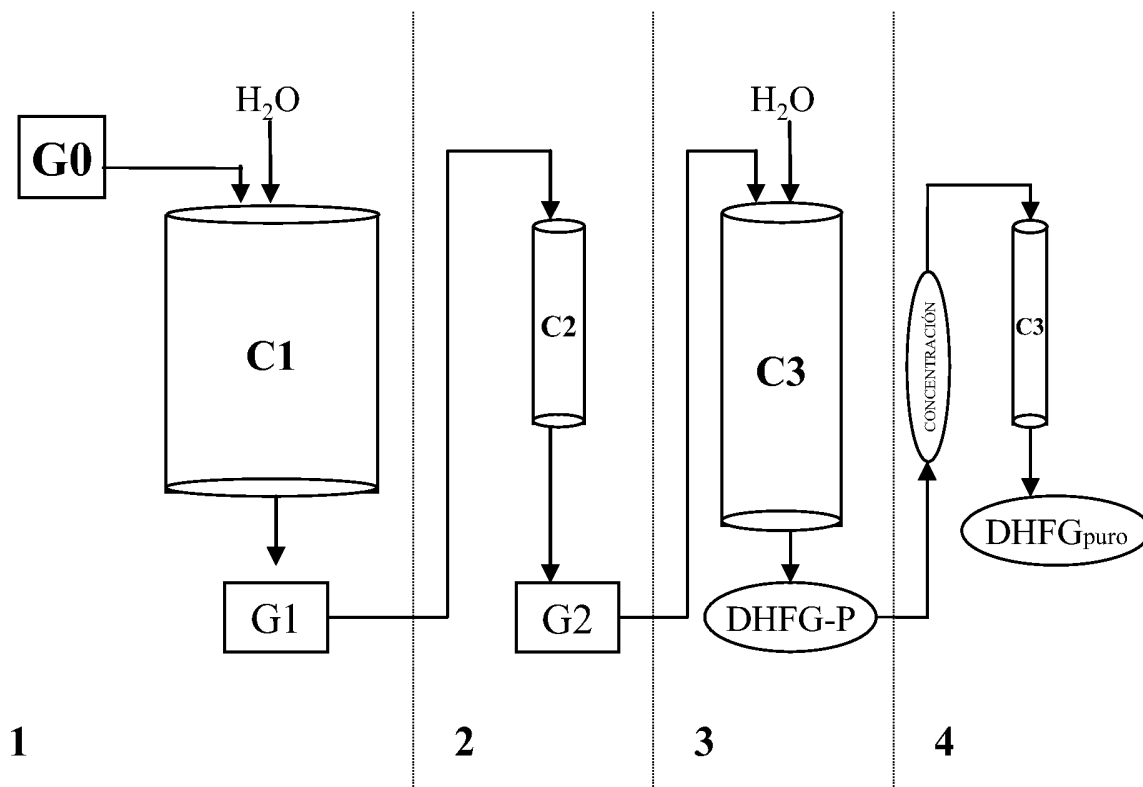


FIG. 1



**FIG. 2**



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 2009/070541

## 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)

A61K, C07C

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)

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

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/064536 A1 (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA)) 22.08.2002. Page 2, line 22 a page 9, line 25; claims 1,3-6,13-15, 20-22,28,32.	1, 15-17, 26-33
Y		2-14, 18-25
Y	WO 02/064537 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 22.08.2002. Page 1, line 3-23; page 5, line 14 a page 9, line 6; claims 1-6.	2-14, 18-25
A	ES 2172429 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS) 16.09.2002. The whole document.	1-2
A	ES 2291111 A1 (UNIVERSIDAD DE GRANADA HOSPITAL REAL) 16.02.2008, the whole document.	1
A	ES 2283191 A1 (ANTAS PHARMA, S.A.) 16.10.2007. The whole document.	1

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
---	--

Date of the actual completion of the international search

26 January 2010 (26.01.2010)

Date of mailing of the international search report

(09/03/2010)

Name and mailing address of the ISA/

O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.

Facsimile No. 34 91 3495304

Authorized officer

A. Amaro Roldán

Telephone No. +34 91 349 84 13

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/ ES 2009/070541

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 02064536 A1	22.08.2002	FR 2820738 AB	16.08.2002		
		CA 2437970 A	22.08.2002		
		US 6824797 B	30.11.2004		
		EP 1362021 AB	19.11.2003		
		EP 20020704833	14.02.2002		
		NZ 527545 A	27.08.2004		
		MX P	14.02.2005		
		AU 2002238644 B	07.06.2007		
		AT 438606 T	15.08.2009		
		DK 1362021 T	14.12.2009		
		ES 2332039 T	25.01.2010		
		WO 02064537 A1	22.08.2002	ES 2172429 A	16.09.2002
				ES 2177457 AB	01.12.2002
EP 1369407 AB	10.12.2003				
EP 20020710893	08.02.2002				
MA 26001 A	31.12.2003				
US 2004102657 A	27.05.2004				
US 6849770 B	01.02.2005				
AU 2002229784 B	22.06.2006				
AT 411974 T	15.11.2008				
PT 1369407 E	22.01.2009				
ES 2315351 T	01.04.2009				
ES 2172429 AB	16.09.2002	WO 02064537 A	22.08.2002		
		ES 2177457 AB	01.12.2002		
		EP 1369407 AB	10.12.2003		
		EP 20020710893	08.02.2002		
		MA 26001 A	31.12.2003		
		US 2004102657 A	27.05.2004		
		US 6849770 B	01.02.2005		
		AU 2002229784 B	22.06.2006		
		AT 411974 T	15.11.2008		
		PT 1369407 E	22.01.2009		
		ES 2315351 T	01.04.2009		
ES 2291111 AB	16.02.2008	WO 2007093659 A	23.08.2007		
		AR 059569 A	16.04.2008		
		EP 1987868 A	05.11.2008		
		EP 20070730328	16.02.2007		
		US 2009179175 A	16.07.2009		
ES 2283191 AB	16.10.2007	EP 1844666 A	17.10.2007		
		EP 20060380239	31.08.2006		

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2009/070541

## CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

**A61K 8/34** (2006.01)

**A61K 8/97** (2006.01)

**C07C 37/82** (2006.01)

**A61K 36/63** (2006.01)

**A61K 36/28** (2006.01)

**A61K 36/185** (2006.01)

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

VERSIÓN CORREGIDA

Solicitud internacional N°

PCT/ ES 2009/070541

## 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)

A61K, C07C

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)

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

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X	WO 02/064536 A1 (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA)) 22.08.2002. Página 2, línea 22 a página 9, línea 25; reivindicaciones 1,3-6,13-15, 20-22, 28,32.	1, 15-17, 26-33
Y		2-14, 18-25
Y	WO 02/064537 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 22.08.2002. Página 1, línea 3-23; página 5, línea 14 a página 9, línea 6; reivindicaciones 1-6.	2-14, 18-25
A	ES 2172429 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 16.09.2002. Todo el documento.	1-2
A	ES 2291111 A1 (UNIVERSIDAD DE GRANADA HOSPITAL REAL) 16.02.2008. Todo el documento.	1
A	ES 2283191 A1 (ANTAS PHARMA, S.A.) 16.10.2007. Todo el documento.	1

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.

26 Enero 2010 (26.01.2010)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

**09 de marzo 2010 (09/03/2010)**

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la Búsqueda internacional O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.  
N° de fax 34 91 3495304

Funcionario autorizado

A. Amaro Roldán

N° de teléfono +34 91 349 84 13

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/ES 2009/070541

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación		
WO 02064536 A1	22.08.2002	FR 2820738 AB	16.08.2002		
		CA 2437970 A	22.08.2002		
		US 6824797 B	30.11.2004		
		EP 1362021 AB	19.11.2003		
		EP 20020704833	14.02.2002		
		NZ 527545 A	27.08.2004		
		MX P	14.02.2005		
		AU 2002238644 B	07.06.2007		
		AT 438606 T	15.08.2009		
		DK 1362021 T	14.12.2009		
		ES 2332039 T	25.01.2010		
		WO 02064537 A1	22.08.2002	ES 2172429 A	16.09.2002
				ES 2177457 AB	01.12.2002
EP 1369407 AB	10.12.2003				
EP 20020710893	08.02.2002				
MA 26001 A	31.12.2003				
US 2004102657 A	27.05.2004				
US 6849770 B	01.02.2005				
AU 2002229784 B	22.06.2006				
AT 411974 T	15.11.2008				
PT 1369407 E	22.01.2009				
ES 2315351 T	01.04.2009				
ES 2172429 AB	16.09.2002			WO 02064537 A	22.08.2002
				ES 2177457 AB	01.12.2002
		EP 1369407 AB	10.12.2003		
		EP 20020710893	08.02.2002		
		MA 26001 A	31.12.2003		
		US 2004102657 A	27.05.2004		
		US 6849770 B	01.02.2005		
		AU 2002229784 B	22.06.2006		
		AT 411974 T	15.11.2008		
		PT 1369407 E	22.01.2009		
		ES 2315351 T	01.04.2009		
		ES 2291111 AB	16.02.2008	WO 2007093659 A	23.08.2007
				AR 059569 A	16.04.2008
EP 1987868 A	05.11.2008				
EP 20070730328	16.02.2007				
US 2009179175 A	16.07.2009				
ES 2283191 AB	16.10.2007	EP 1844666 A	17.10.2007		
		EP 20060380239	31.08.2006		

**CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD**

**A61K 8/34** (2006.01)

**A61K 8/97** (2006.01)

**C07C 37/82** (2006.01)

**A61K 36/63** (2006.01)

**A61K 36/28** (2006.01)

**A61K 36/185** (2006.01)