



Οργανισμός
Βιομηχανικής
Ιδιοκτησίας (ΟΒΙ)



(21) Αριθμός αίτησης:

GR 20190100075

(12)

ΑΙΤΗΣΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΥΡΕΣΙΤΕΧΝΙΑΣ (Α)

(41) Ημ/νία Δημοσίωσης: **13.08.2020**

(11) Αριθμός Χορήγησης:

(22) Ημ/νία Κατάθεσης: **13.02.2019**

(51) Διεθνής Ταξινόμηση (Int. Cl.):

C07C 67/31 ^(2020.01)

A61K 31/222 ^(2020.01)

A61P 3/06 ^(2020.01)

A61P 25/28 ^(2020.01)

C07C 69/738 ^(2020.01)

A61K 31/25 ^(2020.01)

A61P 9/10 ^(2020.01)

A61P 35/00 ^(2020.01)

(43) Ημ/νία Δημοσίευσης της Αίτησης:
16.09.2020 ΕΔΒΙ 8/2020

(71) Αρχικός (οί) Καταθέτης (ες):

ΜΑΓΙΑΤΗΣ ΠΡΟΚΟΠΙΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗ; Ελ. Βενιζέλου 118,,
18902 ΑΜΠΕΛΑΚΙΑ (ΑΤΤΙΚΗΣ) - GR. **ΜΕΛΛΙΟΥ ΕΛΕΝΗ
ΙΩΑΝΝΗ**; Ελ. Βενιζέλου 118,, 18902 ΑΜΠΕΛΑΚΙΑ (ΑΤΤΙΚΗΣ)
- GR. **ΔΙΑΜΑΝΤΑΚΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ**; Ελευθερίας
43,, 16673 ΒΟΥΛΑ (ΑΤΤΙΚΗΣ) - GR. **ΡΗΓΑΚΟΥ ΑΙΜΙΛΙΑ
ΠΕΤΡΟΥ**; Ξηροκάμπι Λακωνίας,, 23054 ΞΗΡΟΚΑΜΠΙ
(ΛΑΚΩΝΙΑΣ) - GR.

(72) Εφευρέτης (ες):

ΜΑΓΙΑΤΗΣ ΠΡΟΚΟΠΙΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗ; , GR. **ΜΕΛΛΙΟΥ
ΕΛΕΝΗ ΙΩΑΝΝΗ**; , GR. **ΔΙΑΜΑΝΤΑΚΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ
ΓΕΩΡΓΙΟΥ**; , GR. **ΡΗΓΑΚΟΥ ΑΙΜΙΛΙΑ ΠΕΤΡΟΥ**; , GR.

(73) Δικαιούχος (οι):

ΜΑΓΙΑΤΗΣ ΠΡΟΚΟΠΙΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗ; Ελ. Βενιζέλου 118,,
18902 ΑΜΠΕΛΑΚΙΑ (ΑΤΤΙΚΗΣ) - GR. **ΜΕΛΛΙΟΥ ΕΛΕΝΗ
ΙΩΑΝΝΗ**; Ελ. Βενιζέλου 118,, 18902 ΑΜΠΕΛΑΚΙΑ (ΑΤΤΙΚΗΣ)
- GR. **ΔΙΑΜΑΝΤΑΚΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ**; Ελευθερίας
43,, 16673 ΒΟΥΛΑ (ΑΤΤΙΚΗΣ) - GR. **ΡΗΓΑΚΟΥ ΑΙΜΙΛΙΑ
ΠΕΤΡΟΥ**; Ξηροκάμπι Λακωνίας,, 23054 ΞΗΡΟΚΑΜΠΙ
(ΛΑΚΩΝΙΑΣ) - GR.

(54) Τίτλος (Ελληνικά)

**ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΣΕΚΟΪΡΙΔΟΕΙΔΩΝ ΤΥΠΟΥ ΕΛΑΙΑΣΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΛΑΙΟΜΙΣΣΙΟΝΑΛΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥΣ**

(54) Τίτλος (Αγγλικά)

**METHOD OF OBTAINING OLECEIN AND OLEOMISSIONAL SECOIRIDOIDS AND METHOD OF PRODUCING PHARMACEUTICAL
PREPARATIONS THEREOF**

(57) Περίληψη

Η παρούσα εφεύρεση αφορά τη μέθοδο παραλαβής σε καθαρή μορφή ή σε μίγμα των ουσιών ελαιασίνη και ελαιομισσιονάλη από καρπούς και φύλλα ελιάς και ορισμένων παραγώγων τους, των βιοδραστικών διολικών μορφών, μέσω εκλεκτικής εκχύλισης ειδικά επιλεγμένων φύλλων ή καρπών με νερό ή οργανικούς διαλύτες. Επίσης αφορά τα φαρμακευτικά παρασκευάσματα που περιέχουν τις παραπάνω ουσίες σε διάφορους συνδυασμούς και τις θεραπευτικές ιδιότητες των παρασκευασμάτων αυτών για την θεραπεία του καρκίνου, των εκφυλιστικών παθήσεων του κεντρικού νευρικού συστήματος, του διαβήτη, της υπερλιπιδαιμίας, των φλεγμονωδών παθήσεων και για την πρόληψη δημιουργίας αθηρωματικών πλακών και θρόμβων.

GR 20190100075

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

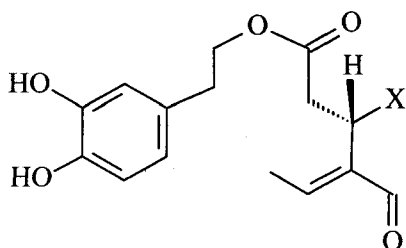
«Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών τύπου ελαιασίνης και ελαιομισσιονάλης και των αντίστοιχων φαρμακευτικών παρασκευασμάτων τους»

ΤΟ ΠΕΔΙΟ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

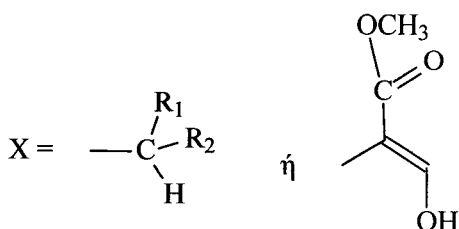
- 5 Η αίτηση αφορά την κατοχύρωση της μεθόδου παραγωγής σε καθαρή μορφή των ουσιών ελαιασίνη και ελαιομισσιονάλη από καρπούς και φύλλα ελιάς και ορισμένων παραγώγων τους, τα φαρμακευτικά παρασκευάσματα που περιέχουν ορισμένες από αυτές και τις θεραπευτικές ιδιότητες των παρασκευασμάτων αυτών. Η αίτηση αφορά το γνωστικό πεδίο της ιατρικής, φαρμακευτικής και επιστήμης τροφίμων.

10 ΣΤΑΘΜΗ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ

Τα σεκοϊριδοειδή του παρακάτω γενικού τύπου



Όπου



- 15 και R1 = H ή COOCH₃, R2 = CHO

- αποτελούν σημαντικά συστατικά του ελαιολάδου. Ειδικότερα, η S-(E)-ελαιασίνη (1) και η S-(E)-ελαιομισσιονάλη (2) αποτελούν φαινολικές ενώσεις που συναντώνται στις περισσότερες ποικιλίες ελαιολάδων σε συγκεντρώσεις που ποικίλουν από 0 ως 1000 mg/Kg (Journal of Agricultural and Food Chemistry 2014, 62(3), 600-607, OLIVAE 2015, 122, 22-35). Η ουσία (2)
- 20 βρίσκεται σε ισορροπία με τις αντίστοιχες διαλδεϋδικές μορφές (2a,b). Για όλα τα συστατικά αυτά υπάρχουν δημοσιευμένες διάφορες μέθοδοι απομόνωσης από φυσικές πηγές ή μέθοδοι χημικής σύνθεσης και επίσης για όλες υπάρχει πλήθος δημοσιευμένων βιολογικών και

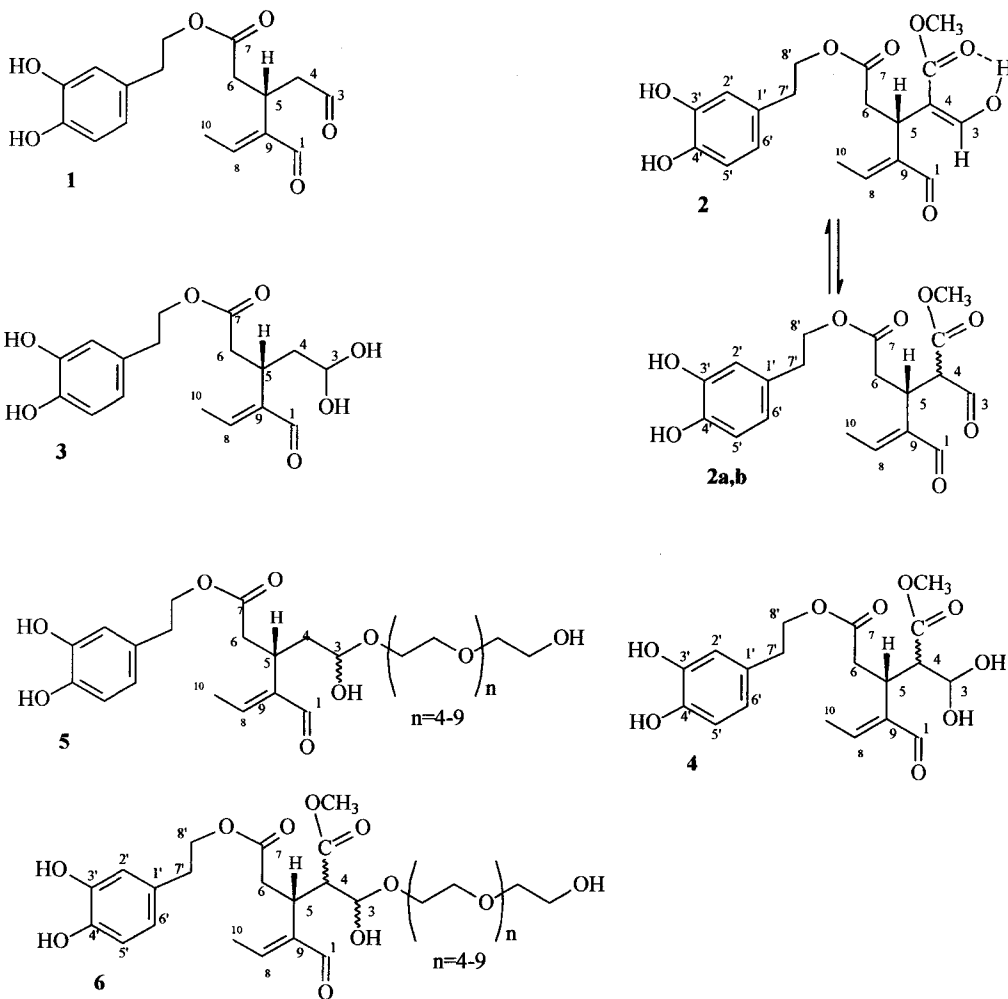
φαρμακευτικών ιδιοτήτων (αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές, αντιδιαβητικές, νευροπροστατευτικές, αντιοξειδωτικές).

- Οι εφευρέτες όμως γνωρίζουν από πειράματα που έχουν εκπονήσει ότι οι ουσίες αυτές δεν αποτελούν την πραγματική βιοδιαθέσιμη μορφή με την οποία επιτυγχάνεται η δράση τους. Στην
- 5 πραγματικότητα, οι ουσίες (1), (2) κατά την επαφή τους με τα ανθρώπινα βιολογικά υγρά αντιδρούν χημικά με το νερό με σχετικά αργό ρυθμό, διαφορετικό ανάλογα με την ουσία και σταδιακά μετατρέπονται στις δραστικές μορφές της S-(E)-ελαιασινοδιόλης (3), 5S-(E)-ελαιομισσιοναδιόλης (4) οι οποίες εμφανίζουν αυξημένη δραστικότητα και πολύ αυξημένη υδατοδιαλυτότητα σε σχέση με τις ουσίες (1), (2).
- 10 Επομένως είναι πολύ σημαντικό να αναπτυχθούν μέθοδοι που θα επιτρέπουν την παραγωγή των ουσιών (3), (4) σε καθαρή μορφή και φαρμακευτικών παρασκευασμάτων ή συμπληρωμάτων διατροφής ή καλλυντικών στα οποία θα υπάρχουν οι βιοδιαθέσιμες μορφές (3), (4) μεμονωμένες ή σε μίγμα και δεν θα χρειάζεται να γίνει η ενεργοποίηση τους κατά την
- 15 είσοδο στον ανθρώπινο οργανισμό. Παράλληλα είναι πολύ σημαντικό να βρεθούν και νέες μέθοδοι που θα οδηγούν στην παραγωγή των προϊόντων (1), (2) με υψηλότερη απόδοση σε σχέση με τις υπάρχουσες μεθόδους και χωρίς τη χρήση μεθόδων υγρής χρωματογραφίας για τον καθαρισμό τους.
- Μέχρι σήμερα οι δομές των ουσιών (3), (4) δεν έχουν ποτέ πλήρως χαρακτηριστεί σωστά ούτε έχει περιγραφεί μέθοδος είτε εκλεκτικής παραγωγής τους είτε σε μορφή μίγματος με
- 20 δυνατότητα βιομηχανικής αξιοποίησης.
- Πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν στη βιβλιογραφία αναφορές σχετικά με τη χρήση φυτών από είδη *Phillyrea*, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή S-(Z)-ελαιασινοδιόλης με πολύ μικρές αποδόσεις, σε μίγματα με άλλες ουσίες που δεν μπορούν να αξιοποιηθούν (*Phytochemistry Letters* 8 (2014) 163–170).
- 25 Είναι πολύ σημαντικό να σημειωθεί ότι οι ουσίες (1), (2) διαθέτουν διάφορες χαρακτηριστικές ομάδες και ιδίως δυο αλδεϋδικές ομάδες που η κάθε μια από τις αλδεϋδικές ομάδες μπορεί να αντιδράσει με το νερό με διαφορετικό τρόπο και υπό διαφορετικές συνθήκες (pH, θερμοκρασία, χρόνος) και επομένως η συσχέτιση των συγκεκριμένων δομών (3), (4) με συγκεκριμένες θεραπευτικές δράσεις δεν είναι προφανής και έχει στοιχεία εφευρετικότητας.
- 30 Στην παρούσα εφεύρεση σημαντικό στοιχείο καινοτομίας είναι η χρήση πολυμερών υδρόφιλων αλκοολών ως μέσο διαλυτοποίησης. Οι προτεινόμενες αλκοόλες είναι βιοσυμβατές και έχουν

την ικανότητα να διαλυτοποιούν πλήρως τις ουσίες (1), (2) ενώ παράλληλα όταν έρθουν σε επαφή με νερό μπορούν να απελευθερώσουν τις δραστικές μορφές (3), (4).

- Πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν στη βιβλιογραφία αναφορές σχετικά με τη χρήση φυτών από είδη *Ligustrum* τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ελαιασίνης με πολύ μικρές αποδόσεις, σε μίγματα με άλλες ουσίες και με περίπλοκες διαδικασίες καθαρισμού (Journal of Ethnopharmacology 120 (2008) 220–225).

Παρατίθενται οι χημικοί τύποι των ουσιών που περιγράφονται στην παρούσα εφεύρεση:



10 ΛΕΠΤΟΜΕΡΗΣ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΡΟΤΙΜΩΜΕΝΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ

1. Αρχή μεθόδου παραγωγής Ελαιαινοδιόλης (3) και ελαιασίνης (1):

Η ουσία ελαισινοδιόλη (3) παράγεται από την αντίδραση της ουσίας ελαιασίνη (1) με το νερό. Η ουσία ελαιασίνη παράγεται βιοσυνθετικά από την πρόδρομη ουσία ελευρωπαϊνή με τη δράση της β-γλυκοσιδάσης επακολουθούμενη από μια αντίδραση απομεθυλίωσης και αποκαρβοξυλίωσης. Οι εφευρέτες γνωρίζουν ότι η πιο άφθονη πηγή ελευρωπαϊνης είναι τα νωπά φύλλα ελιάς (*Olea europaea* L. και όλων των υποειδών και καλλιεργητικών ποικιλιών) ή φύλλα μερικώς αποξηραμένα στα οποία όμως διατηρείται ενεργή η δράση της γλυκοσιδάσης και της απομεθυλάσης. Τα ένζυμα διατηρούνται σε ξεχωριστά κυτταρικά διαμερίσματα σε σχέση με την πρόδρομη ουσία ώστε να μην γίνεται αντίδραση όταν το φύλλο είναι σε ακέραιη μορφή. Αν τα φυτικά ένζυμα έρθουν σε επαφή με την πρόδρομη ουσία παρουσία νερού κατά τον τεμαχισμό των φύλλων τότε επιτυγχάνεται η μετατροπή της ελευρωπαϊνης σε ελαισινοδιόλη με απόδοση που μπορεί να φτάσει το 1% ως προς το βάρος νωπού φύλλου. Είναι εξαιρετικά κρίσιμο ότι αν ο τεμαχισμός των φύλλων γίνει απουσία νερού τότε η αντίδραση αυτή γίνεται με πολύ μικρή απόδοση (<0,1%) χωρίς δυνατότητα πρακτικής αξιοποίησης. Επίσης η αντίδραση δεν γίνεται σε ικανοποιητικό βαθμό ή και καθόλου αν το νερό είναι σε θερμοκρασία διαφορετική από 15-40°C.

Επίσης οι εφευρέτες από πειράματα που έχουν εκπονήσει έχουν διαπιστώσει ότι η ουσία ελαισινοδιόλη όταν έρθει σε επαφή με άπολο οργανικό διαλύτη όπως διχλωρομεθάνιο ή οξικό αιθυλεστέρα εκχυλίζεται ποσοτικά και εκλεκτικά στην οργανική φάση αποβάλλοντας ένα μόριο νερού και επανέρχεται στην αλδεϋδική λιπόφιλη μορφή. Οι εφευρέτες αξιοποιώντας όλη την παραπάνω γνώση που προέκυψε από πειράματα τους, ανέπτυξαν την παρακάτω μέθοδο παραγωγής διαλύματος καθαρής ελαισινοδιόλης:

1αi. Νωπά φύλλα ελιάς (ή φύλλα με υγρασία 0,1-10%) τεμαχίζονται παρουσία νερού με αναλογία (φύλλα:νερό β/β) από 1:5 ως 1:20 σε θερμοκρασία 25°C και αφήνονται σε επαφή για χρονικό διάστημα από 30 λεπτά ως 12 ώρες (μίγμα Α).

1αii. Εναλλακτικά, άθικτοι νωποί καρποί ελιάς ή καρποί που έχουν ψυχθεί ή καταψυχθεί έρχονται σε επαφή με νερό με αναλογία από 1:5 ως 1:20 σε θερμοκρασία δωματίου για χρονικό διάστημα από 30 λεπτά ως 24 ώρες. Η απόδοση είναι υψηλότερη εάν ο καρπός είναι κατεψυγμένος καθώς κατά τη διαδικασία της απόψυξης γίνεται ρήξη των κυττάρων και επιτυγχάνεται στιγμιαία επαφή του υποστρώματος (ελευρωπαϊνή) με τα ένζυμα απογλυκοζυλίωσης και απομεθυλίωσης.

1β. Το υδατικό μίγμα Α που προκύπτει από το 1αi ή 1αii διηθείται και παραλαμβάνεται η υδατική φάση. Το διάλυμα αυτό περιέχει ελαισινοδιόλη σε μίγμα με σάκχαρα και άλλες υδατοδιαλυτές φαινόλες.

1γ. Το υδατικό διάλυμα από το στάδιο 1β εκχυλίζεται με οργανικό διαλύτη μη αναμίξιμο με το νερό σε αναλογία από 1:10 ως 10:1 (πχ διχλωρομεθάνιο ή οξικό αιθελεστέρα ή υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα) και παραλαμβάνεται η οργανική φάση.

5 1δ. Η οργανική φάση από το στάδιο 1γ εξατμίζεται και παραλαμβάνεται το προϊόν Β το οποίο περιέχει ελαιασίνη καθαρότητας 95% χωρίς να χρειάζεται καμία διαδικασία περαιτέρω χρωματογραφικού καθαρισμού, σε αντίθεση με όλες τις ως τώρα γνωστές μεθόδους παραγωγής ελαιασίνης.

10 1ε. Το προϊόν Β (ελαιασίνη) αναμιγνύεται με απιονισμένο και απεσταγμένο νερό, υπό έντονη ανάδευση, σε θερμοκρασία 25°C για 30 λεπτά και κατά τη χημική αντίδραση με το νερό μετατρέπεται σε διάλυμα ελαιασινοδιόλης με συγκέντρωση μέχρι 2% (διάλυμα Γ). Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στο pH του νερού το οποίο πρέπει να είναι ουδέτερο (6,9-7,1)

15 1στ. Εναλλακτικά το προϊόν Β (ελαιασίνη από το στάδιο 1δ) μπορεί να αναμιχθεί με πολυαιθυλενογλυκόλη με μέγεθος από PEG200 ως 400 (διάλυμα ΣΤ) και να μετατραπεί σε σταθερή πολυαιθυλενογλυκολική ημιακετάλη (5) όπου στον παρατιθέμενο τύπο το μέγεθος της αλυσίδας πρέπει υποχρεωτικά να είναι μεταξύ $n=4-9$.

20 1ζ. Το διάλυμα ΣΤ μπορεί να αραιωθεί με νερό σε αναλογία PEG200 (ή 400):νερό = 1:10 ή 1:20 ή 1:100 κτλ αποδίδοντας το διάλυμα Ι και να μετατραπεί η πολυαιθυλενογλυκολική ημιακετάλη της ελαιασίνης (5) σε ελαιασινοδιόλη (3). Το διάλυμα Ι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για απευθείας χορήγηση στο άνθρωπο per os (σιρόπια, διαλύματα, εναιωρήματα), ενέσιμο ή διαδερμικά (ενσωμάτωση σε κρέμες ή γέλες)

25 1η. Το διάλυμα Γ ή ΣΤ ή Ι μπορεί σε κατάλληλη συγκέντρωση να χρησιμοποιηθεί για να παρασκευασθούν υπόθετα μετά από ανάμιξη με κατάλληλη βάση (υποθετόμαζα) ή για παρασκευή δισκίων μετά από ανάμιξη με έκδοχα (πχ λακτόζη), ξήρανση με fluid bed (ρευστή κλίνη) και συμπύεση. Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την παρασκευή των δισκίων η χρήση κατάλληλου εκδόχου και η ρύθμιση των επιπέδων υγρασίας κατά την ξήρανση επιτρέπει στην ουσία να παραμένει στη διολική μορφή. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται από τη στιγμιαία διάλυση του δισκίου σε νερό που δεν θα συνέβαινε αν η ουσία ήταν στη λιπόφιλη αλδεϋδική μορφή.

30 Όπως προκύπτει από τη φασματοσκοπική εξέταση του διαλύματος Γ με τη χρήση φασματοσκοπίας NMR εντός δευτεριωμένου ύδατος (D_2O) (Σχήμα 1) πρόκειται για αληθές διάλυμα της διολικής μορφής και όχι για γαλάκτωμα της διαλδεϋδικής μορφής εντός της υδατικής φάσης, η οποία υπάρχει σε πολύ μικρό ποσοστό.

Φαρμακευτικές ιδιότητες Ελαιασινοδιόλης:

1θ. Το διάλυμα Γ ή ΣΤ ή Ι έδειξε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση παρεμποδίζοντας την λιπιδική υπεροξειδωση σε συγκέντρωση 1μΜ.

5 1ι. Μελέτη της κυτταροτοξικής δράσης του διαλύματος Γ ή ΣΤ ή Ι έδειξε ότι η ελαιασινοδιόλη σε συγκέντρωση 5 μΜ μπορούσε να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο το 50% των καρκινικών κυττάρων HeLa και MCF-7 και επομένως το διάλυμα Γ ή ΣΤ ή Ι και όσα φαρμακευτικά παρασκευάσματα προκύψουν από αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία του καρκίνου.

10 1ια. Το διάλυμα Γ ή ΣΤ ή Ι σε συγκέντρωση ελαιασινοδιόλης 50 μΜ έδειξε αναστολή του ενζύμου COX-2 σε ποσοστό 65% και επομένως το διάλυμα Γ ή ΣΤ ή Ι και όσα φαρμακευτικά παρασκευάσματα προκύψουν από αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία φλεγμονωδών παθήσεων.

15 1ιβ. Κατ'επέκταση με τις περιπτώσεις 1θ-1ια, τα διαλύματα Γ ή ΣΤ ή Ι έχουν τις ίδιες θεραπευτικές ιδιότητες (νευροπροστατευτικές, αντιδιαβητικές, αντιθρομβωτικές) οι οποίες είναι γνωστές για την ελαιασίνη καθώς σε όλες τις περιπτώσεις η ελαιασίνη τουλάχιστον εν μέρει μετατρέπεται σε ελαιασινοδιόλη στο υδατικό περιβάλλον στο οποίο πραγματοποιούνται τα πειράματα μέτρησης των βιολογικών της δράσεων.

Παράδειγμα 1

20 Αποξηραμένα φύλλα ελιάς ποικιλίας Καλαμών (10 Kg) με υγρασία 1% τεμαχίζονται παρουσία νερού (100 L) σε θερμοκρασία 25°C και αφήνονται σε επαφή για 30 min. Το μίγμα διηθείται και παραλαμβάνεται η υδατική φάση. Το υδατικό διάλυμα εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο (80 L) και παραλαμβάνεται η στιβάδα του διχλωρομεθανίου η οποία εξατμίζεται υπό κενό σε θερμοκρασία 30°C. Το υπόλειμμα που παραμένει αποτελείται από ελαιασίνη με καθαρότητα 95% με βάρος 100 g. Η ελαιασίνη αναμιγνύεται με νερό (10 L) υπό έντονη ανάδευση για 30 min
25 και μετατρέπεται σε διάλυμα καθαρής ελαιασινοδιόλης. Εναλλακτικά η ελαιασίνη (1 g) αναμιγνύεται με PEG200 ή PEG 400 (5 ml) και μετατρέπεται σε σταθερή πολυαιθυλενογλυκολική ημιακετάλη της ελαιασίνης. Το διάλυμα αυτό είναι σταθερό σε συνθήκες δωματίου για 12 μήνες. Το διάλυμα αυτό μπορεί να αραιωθεί μέχρι τα 100 ml με κορεσμένο διάλυμα σάκχαρης και να προκύψει σιρόπι περιεκτικότητας 1% σε ελαιασινοδιόλη
30 σταθερό για 15-30 ημέρες με αντιφλεγμονώδη χρήση.

Παράδειγμα 2

Άθικτοι καρποί ελιάς (200 g) τοποθετούνται στην κατάψυξη (-20 °C) για 24 ώρες και στη συνέχεια αφήνονται σε επαφή για 24 ώρες με νερό (500 ml) σε θερμοκρασία 25°C. Το μίγμα διηθείται και παραλαμβάνεται η υδατική φάση. Το υδατικό διάλυμα εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο (250 ml) και παραλαμβάνεται η στιβάδα του διχλωρομεθανίου η οποία εξατμίζεται υπό κενό. Το υπόλειμμα που παραμένει αποτελείται από ελαιασίνη με καθαρότητα 95% με βάρος 1 g. Η ελαιασίνη αναμιγνύεται με νερό (100 ml) υπό ανάδευση για 30 min και μετατρέπεται σε διάλυμα καθαρής ελαιασινοδιόλης. Εναλλακτικά η ελαιασίνη (1 g) αναμιγνύεται με PEG200 ή PEG 400 (5 ml) και μετατρέπεται σε σταθερή πολυαιθυλενογλυκολική ημιακετάλη της ελαιασίνης. 100 mL του πολυαιθυλενογλυκολικού διαλύματος αναμιγνύονται με τηγμένη υποθετόμαζα (2g) και αφήνονται να ψυχθούν αποδίδοντας υπόθετα περιεκτικότητας 100 mg.

2. Αρχή μεθόδου παραγωγής Ελαιομισσιοναδιόλης (4) και ελαιομισσιονάλης (2)

Οι εφευρέτες με πειράματα που πραγματοποίησαν ανακάλυψαν ότι αν τα φύλλα της ελιάς ή οι άθικτοι άγουροι πράσινοι καρποί της ελιάς έρθουν σε επαφή με οργανικό λιπόφιλο διαλύτη χωρίς η φυτική ύλη να είναι τεμαχισμένη τότε πραγματοποιείται μόνο το πρώτο στάδιο της απογλυκοζυλίωσης και δεν γίνεται το δεύτερο στάδιο της απομεθυλίωσης. Με αυτό τον τρόπο η πρόδρομη ουσία ελευρωπαϊνή μετατρέπεται εκλεκτικά σε ελαιομισσιονάλη.

Η ουσία αυτή, μετά την απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη, μπορεί να έρθει σε επαφή με υδατικό διάλυμα και πολύ αργά να αντιδράσει με το νερό και να μετατραπεί σε Ελαιομισσιοναδιόλη (4) η οποία είναι υδατοδιαλυτή. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να διαχωριστεί από τα αδιάλυτα στο νερό τερπένια που εκχυλίζονται στο πρώτο στάδιο με τον οργανικό διαλύτη. Με διήθηση παραλαμβάνεται το καθαρό διάλυμα της ελαιομισσιοναδιόλης.

Με εξάτμιση του υδατικού διαλύματος μπορεί να παραληφθεί καθαρή ελαιομισσιονάλη (2) καθώς γίνεται αντίδραση αφυδάτωσης και σταδιακή επαναφορά της αλδεϋδικής/ενολικής μορφής. Στο στάδιο αυτό συνυπάρχει η ελαιομισσιονάλη με τις δυο στερεοϊσομερείς ελευρωπαϊνοδιόλες (2a,b).

Οι εφευρέτες αξιοποιώντας όλη την παραπάνω γνώση, που προέκυψε από πειράματα τους, ανέπτυξαν την παρακάτω μέθοδο παραγωγής διαλύματος καθαρής ελαιομισσιοναδιόλης:

2α. Νωπά φύλλα ελιάς ή νωποί άθικτοι καρποί ελιάς χωρίς να τεμαχίζονται έρχονται σε επαφή με οργανικό διαλύτη μη αναμίξιμο με το νερό (πχ διχλωρομεθάνιο ή οξικό αιθυλεστέρα ή υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα) με αναλογία από 1:5 ως 1:15 σε θερμοκρασία δωματίου και αφήνονται σε επαφή για χρονικό διάστημα από 30 λεπτά ως 3 ώρες (μίγμα Α).

2β. Το μίγμα διηθείται και παραλαμβάνεται η οργανική φάση. Το διάλυμα αυτό περιέχει ελαιομισσιονάλη σε μίγμα με τερπένια (κυρίως ολεανολικό και μασλινικό οξύ).

2γ. Το διάλυμα εξατμίζεται υπό ελαττωμένη πίεση και θερμοκρασία 30°C και παραλαμβάνεται το υπόλειμμα.

- 5 2δ. Το υπόλειμμα διαλύεται σε νερό (με pH που δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 7) με ανάδευση για διάστημα από 1 ως 24 ώρες και κατά τη χημική αντίδραση με το νερό η ελαιομισσιονάλη (και τα ισομερή της) μετατρέπεται σε διάλυμα ελαιομισσιοναδιόλης ενώ όλα τα υπόλοιπα συστατικά παραμένουν αδιάλυτα. Τα αδιάλυτα απομακρύνονται με διήθηση και παραλαμβάνεται το υδατικό διάλυμα Δ που περιέχει καθαρή ελαιομισσιοναδιόλη (4).
- 10 2ε. Το διάλυμα εξατμίζεται και παραλαμβάνεται το προϊόν Ε που περιέχει ελαιομισσιονάλη (σε ισορροπία με τα ισομερή της) με ολική καθαρότητας >95% υπό τη μορφή παχύρευστου υγρού.
- 2στ. Το προϊόν Ε διαλύεται σε PEG200 ή 400 και μετατρέπεται σε διάλυμα Θ που περιέχει την σταθερή πολυαιθυλενογλυκολικής ημιακετάλης της ελαιομισσιονάλης (6).
- 2ζ. Το διάλυμα Θ μπορεί να αραιωθεί με νερό σε αναλογία PEG200 (ή 400):νερό = 1:10 ή 1:20 ή 15 1:100 κτλ αποδίδοντας διάλυμα ΙΑ στο οποίο έχει μετατραπεί η πολυαιθυλενογλυκολική ημιακετάλη της ελαιομισσιονάλης (6) σε ελαιομισσιοναδιόλη (4). Το διάλυμα ΙΑ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για απευθείας χορήγηση στον άνθρωπο *per os* (σιρόπια, διαλύματα, εναιωρήματα), ενέσιμο ή διαδερμικά (ενσωμάτωση σε κρέμες ή γέλες)
- 2η. Το διάλυμα Δ ή Θ ή ΙΑ μπορεί σε κατάλληλη συγκέντρωση να χρησιμοποιηθεί για να 20 παρασκευασθούν υπόθετα μετά από ανάμιξη με κατάλληλη βάση (υποθετόμαζα) ή για παρασκευή δισκίων μετά από ανάμιξη με έκδοχα (πχ λακτόζη), ξήρανση με fluid bed και συμπίεση. Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την παρασκευή των δισκίων η χρήση κατάλληλου εκδόχου και η ρύθμιση των επιπέδων υγρασίας κατά την ξήρανση επιτρέπει στην ουσία να παραμένει στη διολική μορφή.
- 25 Όπως προκύπτει από τη φασματοσκοπική εξέταση του διαλύματος Δ με τη χρήση φασματοσκοπίας NMR (Σχήμα 2) πρόκειται για αληθές διάλυμα της διολικής μορφής η οποία υπάρχει σε δυο διαστερομερείς μορφές και όχι για γαλάκτωμα της διαλδεϋδικής μορφής.

Φαρμακευτικές ιδιότητες Ελαιασινοδιόλης:

- 30 2θ. Το διάλυμα Δ ή Θ ή ΙΑ έδειξε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση παρεμποδίζοντας την λιπιδική υπεροξειδωση σε συγκέντρωση 1μM.

2ι. Μελέτη της κυτταροτοξικής δράσης του διαλύματος Δ ή Θ ή ΙΑ έδειξε ότι η ελαιομισσιοναδιόλη σε συγκέντρωση 50 μM μπορούσε να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο το 50% των καρκινικών κυττάρων HeLa και MCF-7 και επομένως το διάλυμα Δ ή Θ ή ΙΑ και όσα φαρμακευτικά παρασκευάσματα προκύψουν από αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη
5 θεραπεία του καρκίνου.

2ια. Το διάλυμα Δ ή Θ ή ΙΑ σε συγκέντρωση ελαιασινοδιόλης 40μM έδειξε αναστολή του ενζύμου COX-2 σε ποσοστό 62% και επομένως το διάλυμα Δ ή Θ ή ΙΑ και όσα φαρμακευτικά παρασκευάσματα προκύψουν από αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία φλεγμονωδών παθήσεων.

10 Παράδειγμα 3

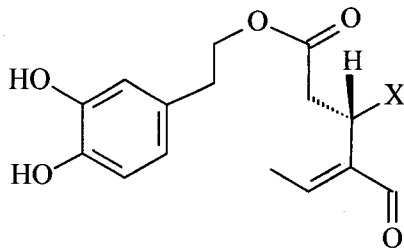
Νωπά φύλλα ελιάς ποικιλίας Κορωνέικη (100 g) αφήνονται σε επαφή με διχλωρομεθάνιο (500 g) σε θερμοκρασία 25°C για 30 min. Το μίγμα διηθείται και παραλαμβάνεται η οργανική φάση η οποία εξατμίζεται υπό κενό. Το υπόλειμμα που παραμένει διαλύεται σε απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με pH = 6 (100 ml) υπό ανάδευση για 24 ώρες, διηθείται και παραλαμβάνεται
15 διάλυμα καθαρής ελαιομισσιοναδιόλης. Το διάλυμα εξατμίζεται ή λυοφιλοποιείται και παραλαμβάνεται ελαιομισσιονάλη (160 mg) με καθαρότητα >95%. Εναλλακτικά η ελαιομισσιονάλη (160 mg) αναμιγνύεται με PEG200 ή PEG 400 (5 ml) και μετατρέπεται σε σταθερή πολυαιθυλενογλυκολική ημιακετάλη της ελαιομισσιονάλης. Το διάλυμα που προκύπτει μπορεί να αραιωθεί μέχρι τα 100 ml με κορεσμένο διάλυμα σάκχαρης και να
20 προκύψει σιρόπι περιεκτικότητας 0,16% σε ελαιομισσιοναδιόλη σταθερό για 15-30 ημέρες αντιφλεγμονώδη δράση.

Παράδειγμα 4

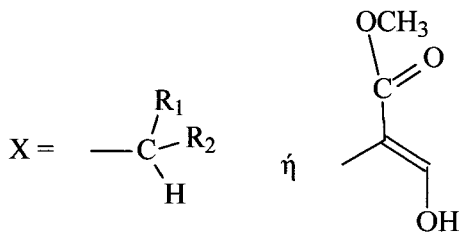
Νωπά άθικτοι καρποί ελιάς ποικιλίας Κορωνέικη (200 g) αφήνονται σε επαφή με διχλωρομεθάνιο (500 g) σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min. Το μίγμα διηθείται και
25 παραλαμβάνεται η οργανική φάση η οποία εξατμίζεται υπό κενό. Το υπόλειμμα που παραμένει διαλύεται σε απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με pH = 6 (100 ml) υπό ανάδευση για 24 ώρες, διηθείται και παραλαμβάνεται διάλυμα καθαρής ελαιομισσιοναδιόλης. Το διάλυμα εξατμίζεται ή λυοφιλοποιείται και παραλαμβάνεται ελαιομισσιονάλη (200 mg) με καθαρότητα >95%. Εναλλακτικά η ελαιομισσιονάλη (1 g) αναμιγνύεται με PEG200 ή PEG 400 (5 ml) και
30 μετατρέπεται σε σταθερή πολυαιθυλενογλυκολική ημιακετάλη της ελαιομισσιονάλης.

Αξιώσεις:

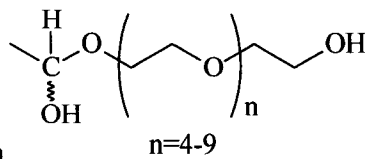
1. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών του τύπου



Όπου



5

Και R1 = H ή COOCH₃,R2 = CHO ή CH(OH)₂ ή

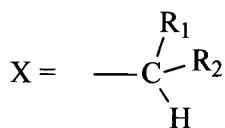
10 που συνίσταται από τα εξής στάδια:

Φυτικό υλικό προερχόμενο από το είδος *Olea europaea* L, συμπεριλαμβανομένων όλων των υποειδών και καλλιεργητικών ποικιλιών, φέρεται σε επαφή με διαλυτικό μέσο με αναλογία από 1:1 ως 1:20 σε θερμοκρασία 15-40°C, αφήνεται σε επαφή για χρονικό διάστημα από 30 λεπτά ως 12 ώρες και παράγεται μίγμα (A).

15 2. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 1, όπου σαν φυτικό υλικό χρησιμοποιούνται νωπά ή αποξηραμένα φύλλα με υγρασία από 0,1% μέχρι 10% που προηγουμένως έχουν τεμαχιστεί εμβαπτισμένα σε υδατικό διάλυμα ή άθικτοι νωποί καρποί ή καρποί που έχουν ψυχθεί (στους 2-8 °C) ή καταψυχθεί (στους -18 ως -24°C) για τουλάχιστον 24 ώρες, σαν διαλυτικό μέσο χρησιμοποιείται νερό και επιπλέον περιλαμβάνει:

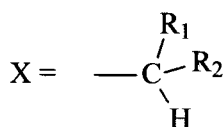
20 Διήθηση του μίγματος (A), παραλαβή της υδατικής φάσης, εκχύλιση αυτής με οργανικό διαλύτη μη αναμίξιμο με το νερό (πχ διχλωρομεθάνιο ή οξικό αιθυλεστέρα ή υπερκρίσιμο διοξείδιο του

άνθρακα) σε αναλογία από 10:1 ως 1:10, παραλαβή της οργανικής φάσης και εξάτμιση αυτής, η οποία αποδίδει προϊόν (B), το οποίο εμπεριέχει την ουσία με:



Και R1 = H και R2 = CHO

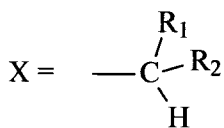
- 5 3. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 2, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει ανάμιξη του προϊόντος (B) με απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με pH =<7 σε αναλογία ως 2% β/β και θερμοκρασία 15-40°C για χρόνο από 5 λεπτά ως 24 ώρες, η οποία αποδίδει διάλυμα (Γ), το οποίο εμπεριέχει την ουσία με:



- 10 Και R1 = H και R2 = CH(OH)₂.

4. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 1, όπου σαν φυτικό υλικό χρησιμοποιούνται άθικτα νωπά φύλλα ή καρποί, σαν διαλυτικό μέσο χρησιμοποιείται οργανικός διαλύτης μη αναμίξιμος με το νερό (όπως διχλωρομεθάνιο ή οξικός αιθυλεστέρας ή υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα) και επιπλέον περιλαμβάνει:

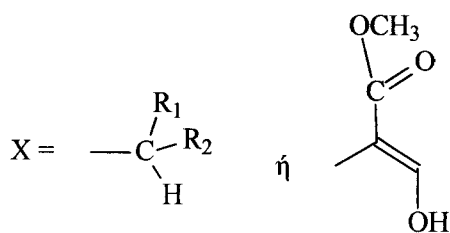
- 15 Διήθηση του μίγματος (A), παραλαβή της οργανικής φάσης, εξάτμιση αυτής, παραλαβή του υπολείμματος, διάλυση αυτού σε απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με pH =<7 με ανάδευση σε αναλογία ως 2% β/β και θερμοκρασία 15-35°C για χρόνο από 1 ως 24 ώρες, απομάκρυνση των αδιάλυτων συστατικών με διήθηση και παραλαβή διαλύματος (Δ), το οποίο εμπεριέχει την ουσία με:



20

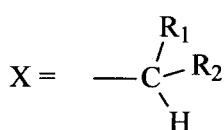
Και R1 = COOCH₃ και R2 = CH(OH)₂,

5. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 4, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει εξάτμιση του διαλύματος (Δ) υπό ελαττωμένη πίεση και θερμοκρασία <40 °C, η οποία αποδίδει προϊόν (E), στο οποίο εμπεριέχονται ουσίες με:

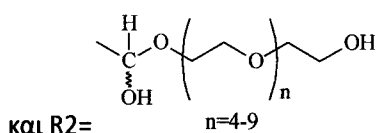


και R1 = COOCH₃ και R2 = CHO

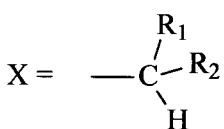
6. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 2, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει ανάμιξη του προϊόντος (B) με πολυαιθυλενογλυκόλη με μέσο μοριακό βάρος από 200 ως 400 (PEG200 ως 400), η οποία αποδίδει διάλυμα (ΣΤ), το οποίο εμπεριέχει την ουσία με:



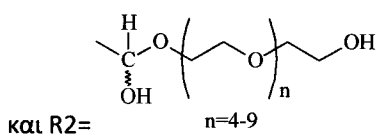
R1 = H



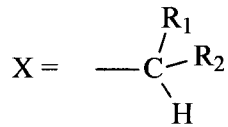
7. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 5, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει ανάμιξη του προϊόντος (E) με πολυαιθυλενογλυκόλη με μέσο μοριακό βάρος από 200 ως 400 (PEG200 ως 400), η οποία αποδίδει διάλυμα (Θ), το οποίο εμπεριέχει την ουσία με:



R1 = COOCH₃

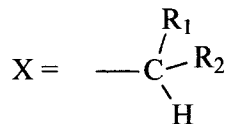


8. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 6, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει αραίωση του διαλύματος (ΣΤ) με νερό σε αναλογία πολυαιθυλενογλυκόλη: νερό = 1:10 ή 1:20 ή 1:100, η οποία αποδίδει διάλυμα (I) το οποίο εμπεριέχει την ουσία με:



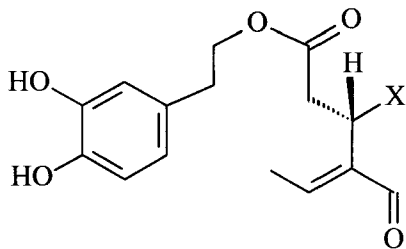
R1 = H και R2 = CH(OH)₂,

9. Μέθοδος παραγωγής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 7, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει αραιώση του διαλύματος (Θ) με νερό σε αναλογία πολυαιθυλενογλυκόλη: νερό = 1:10 ή 1:20 ή 1:100, η οποία αποδίδει διάλυμα (ΙΑ) το οποίο εμπεριέχει την ουσία με:

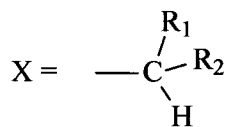


R1 = COOCH₃ και R2 = CH(OH)₂,

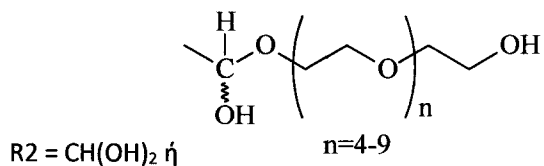
10. Σεκοϊριδοειδή του τύπου



- 10 Όπου



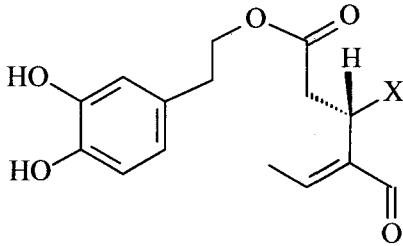
Και R1 = H ή COOCH₃,



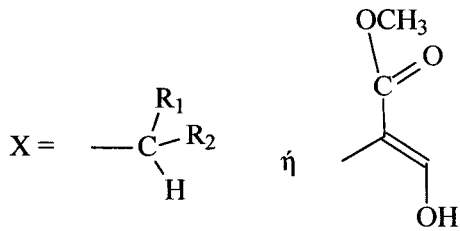
- 15 παραγόμενα σύμφωνα με οποιαδήποτε των αξιώσεων 3,4,6-9 και αναμεμιγμένα με κατάλληλα έκδοχα για την παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων ή συμπληρωμάτων διατροφής για χορήγηση είτε από το στόμα (σιρόπια, εναιωρήματα, διαλύματα) είτε διαδερμικά (κρέμες ή

γέλες) ή ενέσιμα διαλύματα ή υπόθετα ή δισκία που παράγονται μετά από ξήρανση και συμπύεση.

11. Σεκοϊριδοειδή του τύπου



5 Όπου

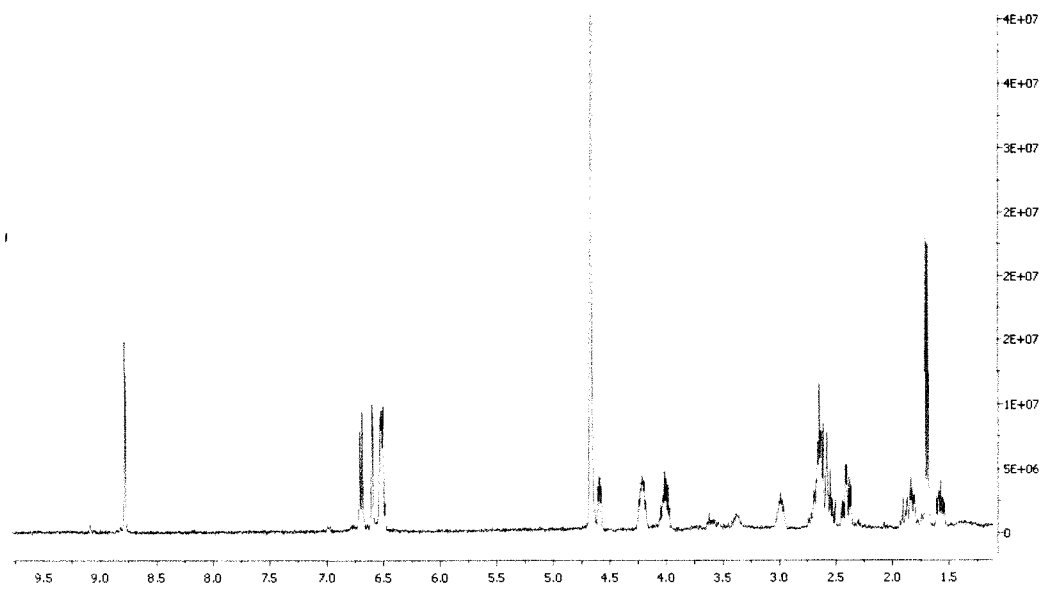


Και R1 = H ή COOCH₃,

R2 = CHO

10 παραγόμενα σύμφωνα με οποιαδήποτε των αξιώσεων 2 ή 5 και αναμεμιγμένα με κατάλληλα έκδοχα για την παραγωγή μη υδατικών φαρμακευτικών προϊόντων ή συμπληρωμάτων διατροφής για χορήγηση είτε από το στόμα (ελαιώδη διαλύματα) είτε διαδερμικά (αλοιφές) ή υπόθετα ή δισκία.

12. Χρησιμοποίηση των φαρμακευτικών παρασκευασμάτων των αξιώσεων 10 ή 11 για την 15 θεραπεία του καρκίνου, των εκφυλιστικών παθήσεων του κεντρικού νευρικού συστήματος, του διαβήτη, της υπερλιπιδαιμίας, των φλεγμονωδών παθήσεων και για την πρόληψη δημιουργίας αθηρωματικών πλακών και θρόμβων.



Σχήμα 1.

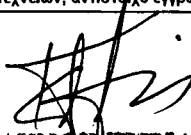


ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ
(Ο.Β.Ι.)

ΤΕΛΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμός αίτησης
20190100075

ΕΓΓΡΑΦΑ ΘΕΩΡΟΥΜΕΝΑ ΩΣ ΣΧΕΤΙΚΑ			
Κατηγορία	Σχετικό έγγραφο με επισήμανση, όπου χρειάζεται, των σχετικών παραγράφων	Σχετικό με αξίωση	Διεθν. Ταξινόμηση Int. Cl. 01/01/2020(AL)
A	ΕΛΛΕΙΨΗ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΕΦΕΥΡΕΣΗΣ / (βλέπε ΦΥΛΛΟ Β) XP055644797 / ANTONIO PROCOPIO ET AL 9/12/2009 "Syntesis, Biological Evaluation, and Molecular Modeling of Oleuropein and Its Semisynthetic Derivatives as Cyclooxygenase Inhibitors", JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, τόμος 57, No 23, σελίδες 11161-11167, US, ISSN: 0021-8561, DOI: 10.1021/jf9033305, *περίληψη, σχέδιο 2, πίνακας 3*	1-11	C07C 67/31 C07C 69/738 A61K 31/222 A61K 31/25 A61P 3/06 A61P 9/10 A61P 25/28 A61P 35/00
X	WO2017/077134A1 / INST D' INVESTIGACIO BIOMEDICA DE GIRONA ET AL 11/5/2017 *περίληψη* *σελίδες 21-31*	12,14 10,11	Τεχνικά πεδία που ερευνηθήκαν
A	JP2009263295A / J OIL MILLS INC 12/11/2009 *τύπος 5 (σελίδα 8)*	13,14	
A	XP025938085 / CONDE E ET AL 1/6/2009 "Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning", FOOD CHEMISTRY, ELSEVIER LTD, NL, τόμος 114, No 3, σελίδες 806-812, ISSN: 0308-8146, DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2008.10.017, [ανακτήθηκε στις 17/10/2008], *σελίδα 807, αριστερή στήλη*	1-9	C07C A61K A61P
Ημερομηνία περάτωσης της έρευνας :		10/09/2020	
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΔΗΛΟΥΜΕΝΩΝ ΕΓΓΡΑΦΩΝ			
<p>X: ιδιαίτερα σχετικό αν ληφθεί μεμονωμένα Y: ιδιαίτερα σχετικό αν συνδυαστεί με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας A: τεχνολογικό υπόβαθρο O: μη έγγραφη αποκάλυψη P: ενδιάμεσο έγγραφο</p>		<p>T: βασική θεωρία ή αρχή στην οποία βασίζεται η εφεύρεση E: προγενέστερο δίπλωμα ευρεσιτεχνίας, το οποίο δημοσιεύτηκε την ημερομηνία κατάθεσης ή μετά από αυτήν D: έγγραφο αναφερόμενο στην αίτηση L: έγγραφο αναφερόμενο για άλλους λόγους &: μέλος της ίδιας οικογένειας ευρεσιτεχνιών, αντίστοιχο έγγραφο</p>	


ΓΑΥΝΟΥΚΥΡΙΑΚΗ
ΒΕΒΤΑΣΤΡΙΑ

**ΕΛΛΕΙΨΗ ΕΝΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗΝ ΕΦΕΥΡΕΣΗ
ΦΥΛΛΟ Β**

Η παρούσα αίτηση για δίπλωμα ευρεσιτεχνίας δεν συμμορφώνεται με τις απαιτήσεις για ενότητα της εφεύρεσης και αναφέρεται σε περισσότερες εφευρέσεις ή ομάδες εφευρέσεων. Συγκεκριμένα:

1. Αξιώσεις 1-9

Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών του γενικού τύπου, όπως εμφανίζεται στην αξίωση 1.

2. Αξιώσεις 10, 11

Υδρίτες και ημιακετάλες που υπάγονται στον γενικό τύπο της αξίωσης 1

3. Αξιώσεις 12-14

Φαρμακευτικές χρήσεις και συνθέσεις διαφορετικού υποσυνόλου ενώσεων, που υπάγονται στον γενικό τύπο της αξίωσης 1

Εντούτοις, η έρευνα και η σύνταξη της έκθεσης έρευνας πραγματοποιήθηκαν και για τις τρεις ομάδες εφευρέσεων.