

Οργανισμός  
Βιομηχανικής  
Ιδιοκτησίας (ΟΒΙ)



(21) Αριθμός αίτησης:

**GR 20190100077**

(12)

## ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΥΡΕΣΙΤΕΧΝΙΑΣ (B)

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

(11) Αριθμός Χορήγησης: **1010545**

(22) Ημ/νία Κατάθεσης: **13.02.2019**

(51) Διεθνής Ταξινόμηση (Int. Cl.):

**B01D 11/04** <sup>(2020.01)</sup>

**A23L 33/105** <sup>(2020.01)</sup>

**A01N 65/00** <sup>(2020.01)</sup>

**A61K 36/63** <sup>(2020.01)</sup>

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

(45) Ημ/νία Δημοσίευσης της Χορήγησης:  
**10.10.2023 ΕΔΒΙ 9/2023**

(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):

**ΟΜΡΗΑΧ Α.Ε.**; Υμηττού 76, 11634 ΑΘΗΝΑ (ΑΤΤΙΚΗΣ) - GR.

GR20190100077

(54) Τίτλος (Ελληνικά)

**ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ ΣΕΚΟΪΡΙΔΟΕΙΔΩΝ ΤΥΠΟΥ ΕΛΑΙΟΚΑΝΘΑΛΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΩΝ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ**

(54) Τίτλος (Αγγλικά)

**METHOD FOR OBTAINING OLEOCANTHAL SECOIRIDOIDS AND METHOD FOR PRODUCING RESPECTIVE PHARMACEUTICAL PREPARATIONS**

(57) Περίληψη

Η παρούσα εφεύρεση αφορά τη μέθοδο παραλαβής σε καθαρή μορφή ή σε μίγμα των βιοδραστικών διολικών μορφών των κυριότερων σεκοΐριδοειδικών φαινολών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο και ορισμένων ισομερών μορφών τους ή παραγώγων τους. Συγκεκριμένα αφορά τη μέθοδο παραγωγής S-(E)-ελαιοκανθαδιόλης, S-(E)-ελαιασινοδιόλης, 5S-(E)-ελαιομισσιοναδιόλης, 5S-(E)-ελαιοκορωναδιόλης, ελευρωπαΐνοδιόλης και λιγκστροδιόλης και των αντίστοιχων πολυαιθυλενογλυκολικών ή αλκοολικών ημιακεταλικών παραγώγων τους μέσω εκχύλισης ειδικά επιλεγμένου ελαιολάδου με πολυαιθυλενογλυκόλη ή/και νερό. 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.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**«Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών τύπου ελαιοκανθάλης και παραγωγής των αντίστοιχων φαρμακευτικών παρασκευασμάτων»**

- 5 Η παρούσα εφεύρεση αφορά τη μέθοδο παραλαβής σε καθαρή μορφή ή σε μίγμα των βιοδραστικών διολικών μορφών των κυριότερων σεκοϊριδοειδικών φαιολών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο και ορισμένων ισομερών μορφών τους ή παραγώγων τους. Συγκεκριμένα αφορά τη μέθοδο παραγωγής S-(E)-ελαιοκανθαδιόλης, S-(E)-ελαισινοδιόλης, 5S-(E)-ελαιομισσιοναδιόλης, 5S-(E)-ελαιοκορωναδιόλης, ελευρωπαϊνοδιόλης και λιγκστροδιόλης και
- 10 των αντίστοιχων πολυαιθυλενογλυκολικών ή αλκοολικών ημιακεταλικών παραγώγων τους μέσω εκχύλισης ειδικά επιλεγμένου ελαιολάδου με πολυαιθυλενογλυκόλη ή/και νερό. 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,
- 15 της υπερλιπιδαιμίας, των φλεγμονωδών παθήσεων και για την πρόληψη δημιουργίας αθηρωματικών πλακών και θρόμβων.

## ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

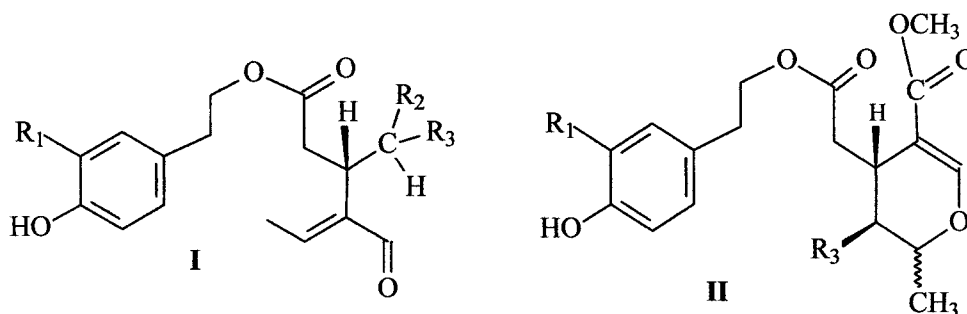
«Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών τύπου ελαιοκανθάλης και παραγωγής των αντίστοιχων φαρμακευτικών παρασκευασμάτων»

## ΤΟ ΠΕΔΙΟ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

- 5 Η αίτηση αφορά την κατοχύρωση της μεθόδου παραλαβής σε καθαρή μορφή ή σε μίγμα των βιοδραστικών διολικών μορφών των κυριότερων σεκοϊριδοειδικών φαινολών που υπάρχουν στο ελαιόλαδο και ορισμένων ισομερών μορφών τους ή παραγώγων τους, τα φαρμακευτικά παρασκευάσματα που τις περιέχουν και τις θεραπευτικές χρήσεις των παρασκευασμάτων αυτών. Η αίτηση αφορά το γνωστικό πεδίο της ιατρικής, φαρμακευτικής και επιστήμης
- 10 τροφίμων.

## ΣΤΑΘΜΗ ΤΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ

Το ελαιόλαδο που προέρχεται από το είδος *Olea europaea* L και όλα τα υποείδη και καλλιεργητικές ποικιλίες αυτού περιέχει σεκοϊριδοειδή του τύπου I ή/και II



- 15 Όπου R1 = H ή OH, R2 = H ή COOCH<sub>3</sub>, R3 = CHO και τα ταυτομερή αυτών.

- Ειδικότερα, τα σεκοϊριδοειδή του τύπου I, η S-(E)-ελαιοκανθάλη (1) (R1 = R2 = H, R3 = CHO), η S-(E)-ελιασίνη (2) (R1 = OH, R2 = H, R3 = CHO), η R/S-(E)-ελευρωπαϊνοδιάλη (3a,b) (R1 = OH, R2 = COOCH<sub>3</sub>, R3 = CHO) και η R/S-(E)-λιγκστροδιάλη (4a,b) (R1 = H, R2 = COOCH<sub>3</sub>, R3 = CHO) αποτελούν τις κυριότερες φαινολικές ενώσεις που συναντώνται στις περισσότερες ποικιλίες ελαιολάδων σε συγκεντρώσεις που ποικίλουν από 0 ως 3000 mg/Kg ( Journal of Agricultural and Food Chemistry 2014, 62(3), 600-607, OLIVAE 2015, 122, 22-35). Οι ουσίες (3a,b) και (4a,b) βρίσκονται σε ισορροπία με τις ταυτομερείς διαλδεϊδικές μορφές S-(E)-ελαιομισσιονάλη (3) και S-(E)-ελαιοκορωνάλη (4) ενώ ανάλογα με τις συνθήκες μπορεί να μετατραπούν στις μονοαλδεϊδικές μορφές (5a,b και 6a,b) του γενικού τύπου II, οι οποίες υπάρχουν στο ελαιόλαδο
- 20
- 25 συνήθως σε μικρότερη συγκέντρωση.

Για όλα τα συστατικά (1-6) 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).

- 5 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 πραγματικότητα, οι ουσίες (1-6) 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)-ελαιοκανθαδιόλης (7), S-(E)-  
10 ελαιασινοδιόλης (8), 5S-(E)-ελαιομισσιοναδιόλης (9), 5S-(E)-ελαιοκορωναδιόλης (10) ελευρωπαϊνοδιόλης (11) και λιγκοτροδιόλης (12) οι οποίες εμφανίζουν αυξημένη δραστικότητα και πολύ αυξημένη υδατοδιαλυτότητα σε σχέση με τις ουσίες (1-6).

- Επομένως είναι πολύ σημαντικό να αναπτυχθούν μέθοδοι που θα επιτρέπουν την παραγωγή των ουσιών (7-12) σε καθαρή μορφή ή μίγμα και φαρμακευτικών παρασκευασμάτων ή  
15 συμπληρωμάτων διατροφής ή καλλυντικών στα οποία θα υπάρχουν οι βιοδιαθέσιμες μορφές (7-12) μεμονωμένες ή σε μίγμα και δεν θα χρειάζεται να γίνει η ενεργοποίηση τους κατά την είσοδο στον ανθρώπινο οργανισμό. Παράλληλα είναι πολύ σημαντικό να βρεθούν και νέες μέθοδοι που θα οδηγούν στην παραγωγή των προϊόντων (1-6) ή μιγμάτων αυτών με υψηλότερη απόδοση σε σχέση με τις υπάρχουσες μεθόδους και χωρίς τη χρήση μεθόδων υγρής  
20 χρωματογραφίας για τον καθαρισμό τους.

- Μέχρι σήμερα οι δομές των ουσιών (7, 8, 10, 11, 12) δεν έχουν ποτέ πλήρως χαρακτηριστεί σωστά φασματοσκοπικά ούτε έχει περιγραφεί μέθοδος είτε εκλεκτικής παραγωγής τους είτε σε μορφή μίγματος με δυνατότητα βιομηχανικής αξιοποίησης. Τα φασματοσκοπικά στοιχεία της ουσίας (9) έχουν περιγραφεί (J. Chem. Soc., Perkin trans. 1995, 1, 1519-1523) μετά από  
25 ενζυματική υδρόλυση καθαρής ελευρωπαϊνης ενώ η ουσία (9) έχει παραχθεί με πολύ μικρές αποδόσεις, σε μίγματα με άλλες ουσίες που δεν μπορούν να αξιοποιηθούν από εκχυλίσματα καρπών ελιάς (Food Res. Intl. 2000, 33, 475-485)

- Πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν στη βιβλιογραφία αναφορές σχετικά με τη χρήση φυτών από είδη *Phillygea* τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή των ισομερών S-(Z)-  
30 ελαιασινοδιόλης και S-(Z)-ελαιοκανθαδιόλης με πολύ μικρές αποδόσεις, σε μίγματα με άλλες ουσίες που δεν μπορούν να αξιοποιηθούν (Phytochemistry Letters 2014, 8, 163-170). Επίσης οι ισομερείς ουσίες S-(Z)-ελαιασινοδιόλη, S-(Z)-ελαιοκανθαδιόλη, 5S-(Z)-ελαιομισσιοναδιόλη, 5S-(Z)-ελαιοκορωναδιόλη εμφανίζονται να παράγονται με πολύ μικρές αποδόσεις, σε μίγματα με

άλλες ουσίες που δεν μπορούν να αξιοποιηθούν, κατά τη εκχύλιση ελαιολάδου με μίγμα μεθανόλης νερού. (J. Agric. Food Chem.2018, 66, 6053-6063.)

Είναι πολύ σημαντικό να σημειωθεί ότι οι ουσίες (1-6) 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 (7-12) με συγκεκριμένες θεραπευτικές δράσεις δεν είναι προφανής αλλά έχει εφευρετικό χαρακτήρα.

Επίσης πρέπει να τονιστεί ότι υπάρχει μια γνωστή μέθοδος παραγωγής της ουσίας (1) που περιγράφεται στην αίτηση διπλώματος ευρεσιτεχνίας WO2018017967 και η οποία χρησιμοποιεί εκχύλιση ελαιολάδου με νερό. Στη μέθοδο αυτή αναφέρεται η παραγωγή υδατικού νανογαλακτώματος της ουσίας (1) και όχι αληθούς υδατικού διαλύματος της ουσίας (7) όπως περιγράφεται στην παρούσα εφεύρεση. Αυτό αποδεικνύεται με τη σχετική λήψη του φάσματος NMR σε δευτεριωμένο νερό (Σχήμα 1) όπου φαίνεται η σχεδόν πλήρης εξάλειψη της αλδεϋδομάδας από τη θέση 3. Αυτό το σημείο αποτελεί πολύ σημαντική διαφορά σε σχέση την διεθνή αίτηση διπλώματος ευρεσιτεχνίας WO2018017967 που χρησιμοποιεί παρόμοια διαδικασία με αυτή που αναφέρεται στην παρούσας αίτηση αλλά τελικά καταλήγει σε γαλάκτωμα της αλδεϋδικής μορφής της ελαιοκανθάλης (1) και όχι στη διολική μορφή (7).

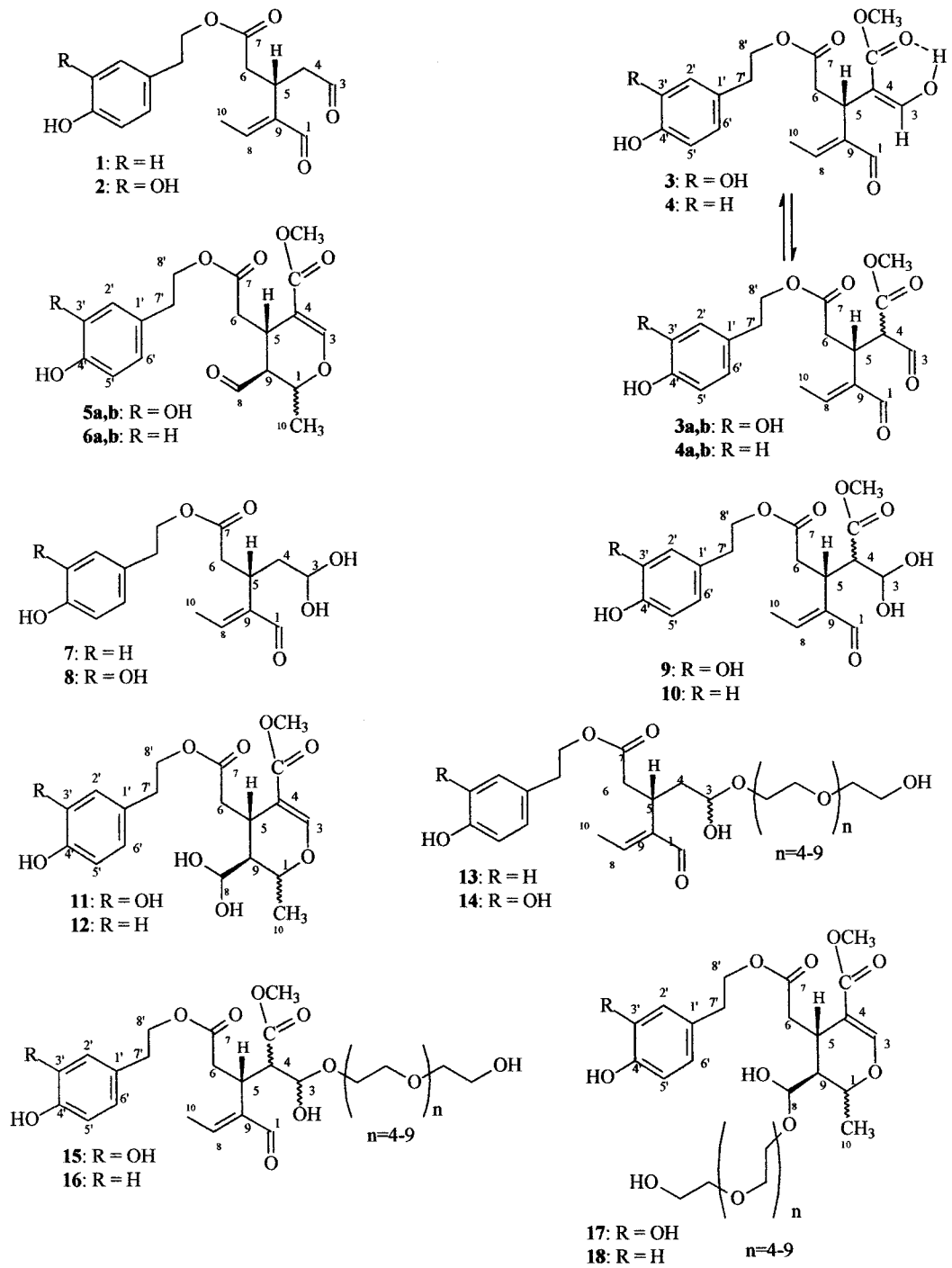
Επίσης υπάρχει ευρεσιτεχνία FR2904312 (A1)2008-02-01 κατά την οποία γίνεται εκχύλιση ελαιολάδου με μίγμα νερού/αλκοόλης, αλλά και πάλι δεν υπάρχει κανένα στοιχείο που να αφορά τις ουσίες (7-12), τη δράση τους και τη δυνατότητα φαρμακευτικής χρήσης του υδατικού διαλύματος που τις περιέχει.

Στην παρούσα εφεύρεση σημαντικό επίσης στοιχείο καινοτομίας είναι η χρήση πολυμερών υδρόφιλων αλκοολών που δεν αναμιγνύονται με το ελαιόλαδο, ως εκχυλιστικό μέσο. Οι προτεινόμενες αλκοόλες (πολυαιθυλενογλυκόλη με μέγεθος από PEG200 ως PEG400) είναι βιοσυμβατές και έχουν την ικανότητα να εκχυλίζουν πλήρως τις ουσίες στόχους με αναλογία έως και 1:100 (διαλύτης: ελαιόλαδο) σε αντίθεση πχ με το νερό που απαιτεί αναλογία 1:1. Η παρούσα μέθοδος προσφέρει το πλεονέκτημα ότι οι ουσίες εκχυλίζονται με ελάχιστη ποσότητα από ένα βιοσυμβατό και μη τοξικό διαλύτη ο οποίος στη συνέχεια μπορεί να αναμιχθεί με νερό και να αποδεσμεύσει τις διολικές μορφές (7-12) υπό τη μορφή αληθούς διαλύματος και ταυτόχρονα να ενσωματωθεί αυτούσιος σε διάφορες φαρμακευτικές μορφές.

Τα διαλύματα των ουσιών (13-18) σε πολυαιθυλενογλυκόλη με μέγεθος από PEG200 ως PEG400 σε αντίθεση με τα υδατικά διαλύματα ή διαλύματα απλών αλκοολών (π.χ. μεθανόλη) που έχουν

- χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για την εκχύλιση του ελαιολάδου εμφανίζουν πολύ μεγάλη σταθερότητα και επιτρέπουν την αξιοποίηση τους για παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων. Το στάδιο αυτό χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη καινοτομία σε σχέση με παλαιότερες μεθόδους εκχύλισης καθώς τα προκύπτοντα διαλύματα παραμένουν σταθερά από υδρόλυση, οξείδωση και πολυμερισμό για τουλάχιστον 12 μήνες. Επίσης πρέπει να τονιστεί ότι η χρήση μεθανόλης κατά την εκχύλιση του ελαιολάδου που έχει αναφερθεί στο παρελθόν (J. Agric. Food Chem.2018, 66, 6053-6063) καθιστά αδύνατη τη χρήση του προκύπτοντος διαλύματος για την παραγωγή φαρμακευτικών παρασκευασμάτων για ανθρώπινη χρήση λόγω της τοξικότητας της μεθανόλης.
- 10 Εναλλακτικά αντί για πολυαιθυλενογλυκόλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί αιθανόλη ή ισοπροπανόλη οι οποίες οδηγούν αντίστοιχα στις αιθυλικές ή ισοπροπυλικές ημιακετάλες των ουσιών (1-6), οι οποίες επίσης κατά την επαφή με νερό απελευθερώνουν τις διολικές μορφές (7-12).

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



**ΛΕΠΤΟΜΕΡΗΣ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΡΟΤΙΜΩΜΕΝΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ**

1. Αρχή μεθόδου παραλαβής των ουσιών S-(E)-ελαιοκανθαδιόλης (7), S-(E)-ελαιασινοδιόλης (8), 5S-(E)-ελαιομισσιοναδιόλης (9), 5S-(E)-ελαιοκορωναδιόλης (10), ελευρωπαϊνοδιόλης (11) και λιγκστροδιόλης (12) ή μίγματος οποιωνδήποτε εξ αυτών.

- 5 Οι εφευρέτες με πειράματα που πραγματοποίησαν ανακάλυψαν ότι οι ουσίες (1-6) που υπάρχουν σε διάφορες αναλογίες στο ελαιόλαδο υπό λιπόφιλη αλδεϋδική μορφή μπορούν να αντιδράσουν με υδρόφιλες πολυμερείς αλκοόλες μεσαίου μεγέθους, μη αναμίξιμες με το ελαιόλαδο και να μετατραπούν σε πολυαιθυλενογλυκολικές ημιακετάλες (13-18) οι οποίες
- 10 επόμενο στάδιο οι πολυαιθυλενογλυκολικές ημιακετάλες μετά από ανάμιξη με νερό μπορούν να αποδώσουν τις διόλες (7-12).

**Σύμφωνα με μία ενδεικτική προτιμώμενη εφαρμογή της εφευρέσεως, η μέθοδος παραλαβής συνίσταται από τα εξής στάδια:**

- 1α. Ελαιόλαδο που προέρχεται από το είδος *Olea europaea* L και όλα τα υποείδη και
- 15 καλλιεργητικές ποικιλίες αυτού που περιέχει τις ουσίες (1-6) αναμιγνύεται με πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG 200 ή PEG400) και αναδεύεται έντονα για χρόνο από 5 λεπτά ως 24 ώρες με αναλογία 1 PEG : 1 ως 100 ελαιόλαδο. Το μίγμα αφήνεται να ηρεμήσει και διαχωρίζονται δυο φάσεις είτε βαρυτικά είτε με φυγοκέντρηση.

- 1β. Παραλαμβάνεται η βαρύτερη στοιβάδα η οποία περιέχει τις ουσίες διαλυμένες υπό τη
- 20 μορφή πολυαιθυλενογλυκολικής ημιακετάλης (13-18) και αν χρειαστεί διαυγάζεται με διήθηση, οπότε προκύπτει το διάλυμα A1.

- 1γ. Το διάλυμα A1 αραιώνεται με απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με pH  $\leq 7$  σε αναλογία PEG:νερό = 1:1 ή 1:10 ή 1:20 ή 1:100 κτλ και οι ουσίες μετά από παρέλευση κατ'ελάχιστο 1 ώρας
- 25 και κατά το μέγιστο 24 ωρών μετατρέπονται πλήρως σε ελαιοκανθαδιόλη, ελαιασινοδιόλη, ελαιομισσιοναδιόλη, ελαιοκορωναδιόλη, ελευρωπαϊνοδιόλη και λιγκστροδιόλη. Τυχόν αδιάλυτα συστατικά απομακρύνονται με διήθηση, οπότε προκύπτει το διάλυμα B.

- 1δ. Το διάλυμα A1 ή B μπορεί να χρησιμοποιηθεί για απευθείας χορήγηση στον άνθρωπο σαν συστατικό σε φαρμακευτικά προϊόντα ή συμπληρώματα διατροφής ή καλλυντικά με υδατικό φορέα: σιρόπια, διαλύματα, εναιωρήματα, ή σαν συστατικό σε ενέσιμα διαλύματα ή σαν
- 30 συστατικό σε διαδερμικά χορηγούμενα προϊόντα (ενσωμάτωση σε κρέμες ή γέλες) ή σαν συστατικό σε εισπνεόμενα προϊόντα.

1ε. Το διάλυμα A1 ή B μπορεί σε κατάλληλη συγκέντρωση να χρησιμοποιηθεί για να παρασκευασθούν δισκία μετά από ανάμιξη με έκδοχα (πχ λακτόζη), ξήρανση με fluid bed και συμπίεση ή υπόθετα μετά από ανάμιξη με κατάλληλη βάση (υποθετόμαζα). 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.

10 1στ. Το διάλυμα B διέρχεται από στήλη με ρητίνη προσρόφησης (πχ XAD4 ή XAD16), η ρητίνη εκπλένεται με οργανικό διαλύτη χαμηλού σημείου ζέσεως (<100 °C) αναμίξιμο με το νερό (πχ μεθανόλη, αιθανόλη ή ακετόνη) και το διάλυμα που παραλαμβάνεται συμπυκνώνεται με εξάτμιση υπό κενό παρέχοντας τις ουσίες (1-6) (προϊόν Γ).

15 **Ειδική περίπτωση:** Σε περίπτωση που το αρχικό ελαιόλαδο του σταδίου 1α είναι ειδικά επιλεγμένο ώστε να περιέχει μόνο μια από τις ουσίες (1) ή (2) ή (3) ή (4) ή (5) ή (6) και κανένα από τα υπόλοιπα φαινολικά παράγωγα, τότε η διαδικασία 1α οδηγεί στο στάδιο 1β όπου το διάλυμα A1 περιέχει την ουσία διαλυμένη υπό την αντίστοιχη μορφή πολυαιθυλενογλυκολικής ημιακετάλης (13) ή (14) ή (15) ή (16) ή (17) ή (18) και αντίστοιχα στο στάδιο 1γ το διάλυμα B περιέχει την ουσία υπό την διολική μορφή (7) ή (8) ή (9) ή (10) ή (11) ή (12). Κατ' αντιστοιχία το στάδιο 1στ παρέχει καθαρή την ουσία (1) ή (2) ή (3) ή (4) ή (5) ή (6).

20 **Φαρμακευτικές ιδιότητες των ουσιών ελαιοκανθαδιόλη (7), ελαιασινοδιόλη (8), ελαιομισσιοναδιόλη (9), ελαιοκορωναδιόλη (10), ελευρωπαϊνοδιόλη (11) και λιγκστροδιόλη (12) ή μίγματος οποιωνδήποτε εξ αυτών.**

1ζ. Το διάλυμα A1 ή B σε ισομοριακή συγκέντρωση 0.5 μM έδειξε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση παρεμποδίζοντας την λιπιδική υπεροξειδωση κατά 50%.

25 1η. Μελέτη της κυτταροτοξικής δράσης του διαλύματος A1 ή B έδειξε ότι το μίγμα ελαιοκανθαδιόλης (7), ελαιασινοδιόλης (8), ελαιομισσιοναδιόλης (9) ελαιοκορωναδιόλης (10) ελευρωπαϊνοδιόλης (11) και λιγκστροδιόλης (12) σε ισομοριακή συγκέντρωση 2.5 μM μπορούσε να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο το 50% των καρκινικών κυττάρων HeLa και MCF-7 και επομένως το διάλυμα A1 ή B και όσα φαρμακευτικά παρασκευάσματα προκύπτουν από αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία του καρκίνου.

30 1θ. Το διάλυμα A1 ή B σε ισομοριακή συγκέντρωση 25 μM έδειξε αναστολή του ενζύμου COX-2 σε ποσοστό 60% και επομένως το διάλυμα A1 ή B και όσα φαρμακευτικά παρασκευάσματα προκύπτουν από αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία φλεγμονωδών παθήσεων.

1ι. Κατ' επέκταση με τις περυπτώσεις 1ζ-1θ, τα διαλύματα Α1 ή Β έχουν τις ίδιες θεραπευτικές ιδιότητες (νευροπροστατευτικές, αντιδιαβητικές, αντιθρομβωτικές) οι οποίες είναι γνωστές για τις ουσίες (1-6) καθώς σε όλες τις περυπτώσεις τουλάχιστον εν μέρει μετατρέπονται σε ελαιοκανθαδιόλη (7), ελαιασινοδιόλη (8), ελαιομισσιοναδιόλη (9), ελαιοκορωναδιόλη (10) 5 ελευρωπαϊνοδιόλη (11) και λιγκστροδιόλη (12) στο υδατικό περιβάλλον στο οποίο πραγματοποιούνται τα πειράματα μέτρησης των βιολογικών τους δράσεων.

1ια. Το διάλυμα Α1 ή Β με περιεκτικότητα στις ουσίες (13-18) ή (7-12) από 10% ως 40% β/ο έδειξε ότι μπορούσε να σκοτώσει όλους τους μικροοργανισμούς στην επιφάνεια ενός στερεού υλικού δρώντας ως αποστειρωτικό.

10 Όλα τα παραπάνω φαρμακευτικά παρασκευάσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν με αντικαρκινικές, καρδιοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιδιαβητικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες.

#### Παράδειγμα 1

Ελαιόλαδο (100 L) με περιεκτικότητα σε ελαιοκανθάλη, ελαιασίνη, ελαιομισσιονάλη, 15 ελαιοκορωνάλη, άγλυκο ελευρωπαϊνης και λιγκστροσίδη συνολικά 1g/Kg αναμιγνύεται με PEG200 (1 L) και αναδεύεται μηχανικά έντονα για 10 λεπτά. Το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία για 1 ώρα και γίνεται βαρυτικά διαχωρισμός των δυο στιβάδων. Παραλαμβάνεται η βαρύτερη στιβάδα και διηθείται για την απομάκρυνση αδιάλυτων ουσιών. Το διαυγές διάλυμα αραιώνεται με απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με pH =<7 σε αναλογία PEG200 :νερό = 1:20 20 και οι ουσίες μετά από παρέλευση 24 ωρών μετατρέπονται σε ελαιοκανθαδιόλη, ελαιασινοδιόλη, ελαιομισσιοναδιόλη, ελαιοκορωναδιόλη, ελευρωπαϊνοδιόλη και λιγκστροδιόλη. Τυχόν αδιάλυτα συστατικά απομακρύνονται με διήθηση. Το τελικό διάλυμα έχει περιεκτικότητα σε ελαιοκανθαδιόλη, ελαιασινοδιόλη, ελαιομισσιοναδιόλη, ελαιοκορωναδιόλη, ελευρωπαϊνοδιόλη και λιγκστροδιόλη συνολικά 5g/Kg.

#### 25 Παράδειγμα 2

Ελαιόλαδο (100 L) με περιεκτικότητα σε ελαιοκανθάλη 1g/Kg, το οποίο δεν περιέχει τις άλλες φαινόλες 2-6, αναμιγνύεται με PEG200 (1 L) και αναδεύεται μηχανικά έντονα για 10 λεπτά. Το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία για 1 ώρα και γίνεται βαρυτικά διαχωρισμός των δυο στιβάδων. Παραλαμβάνεται η βαρύτερη στιβάδα και διηθείται για την απομάκρυνση αδιάλυτων ουσιών. 30 Το διαυγές διάλυμα αραιώνεται με απεσταγμένο νερό σε αναλογία PEG200 :νερό = 1:10 και η ουσία μετά από παρέλευση 24 ωρών μετατρέπεται σε ελαιοκανθαδιόλη. Τυχόν αδιάλυτα

συστατικά απομακρύνονται με διήθηση. Το τελικό διάλυμα έχει περιεκτικότητα σε ελαιοκανθαδιόλη 10g/L.

### Παράδειγμα 3

5 Το τελικό διάλυμα του παραδείγματος 2 (5 mL) αναμιγνύεται με κορεσμένο διάλυμα σάκχαρης (95 ml) και προκύπτει σιρόπι ελαιοκανθαδιόλης 50mg/100mL με αντιφλεγμονώδη δράση.

### Παράδειγμα 4

10 Το πολυαθυλενογλυκολικό διάλυμα του παραδείγματος 1 (5 mL) αναμιγνύεται με νερό (95 ml) και προστίθεται υδροξυπροπυλοκυτταρίνη (2 g). Η γέλη που προκύπτει έχει περιεκτικότητα σε ελαιοκανθαδιόλη, ελαιασινοδιόλη, ελαιομισσιοναδιόλη, ελαιοκορωναδιόλη, ελευρωπαϊνοδιόλη και λιγκτροδιόλη συνολικά 500 mg/100 mL και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τοπική εφαρμογή σε φλεγμονώδεις παθήσεις.

**2. Αρχή μεθόδου παραλαβής S-(E)-ελαιοκανθαδιόλης (7), S-(E)-ελαιασινοδιόλης (8), 5S-(E)-ελαιομισσιοναδιόλης (9), 5S-(E)-ελαιοκορωναδιόλης (10), ελευρωπαϊνοδιόλης (11) και λιγκτροδιόλης (12) ή μίγματος οποιωνδήποτε εξ αυτών σε υδατικό διάλυμα**

15 Σύμφωνα με έτερη ενδεικτική προτιμώμενη εφαρμογή της εφευρέσεως, η μέθοδος παραλαβής συνίσταται από τα εξής στάδια:

2α. Ελαιόλαδο που περιέχει τις ουσίες (1-6) αναμιγνύεται με απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με pH = <7 και αναδεύεται έντονα για χρόνο από 5 λεπτά ως 24 ώρες με αναλογία 1 νερό : 1 ως 100 ελαιόλαδο. Το μίγμα αφήνεται να ηρεμήσει και διαχωρίζονται δυο φάσεις είτε 20 βαρυτικά είτε με φυγοκέντρηση.

2β. Παραλαμβάνεται η βαρύτερη στοιβάδα η οποία περιέχει τις ουσίες ελαιοκανθαδιόλη (7), ελαιασινοδιόλη (8), ελαιομισσιοναδιόλη (9), ελαιοκορωναδιόλη (10) ελευρωπαϊνοδιόλη (11) και λιγκτροδιόλη (12) διαλυμένες στο νερό. Τα αδιάλυτα συστατικά απομακρύνονται με διήθηση με φίλτρο κυτταρίνης και παράγεται το διάλυμα A2.

25 2γ. Το διάλυμα A2 συμπυκνώνεται με εξάτμιση υπό κενό μέχρι το σημείο κορεσμού στο οποίο το διάλυμα αρχίζει να αποκτά γαλακτώδη μορφή.

30 2δ. Αν η εξάτμιση από το στάδιο 2γ συνεχιστεί μέχρι πλήρους εξατμίσεως του νερού ή υποστεί λυοφιλοποίηση θα παραληφθεί μίγμα ελαιοκανθάλης, ελαιασίνης, ελαιομισσιονάλης, ελαιοκορωνάλης, άγλυκο ελευρωπαϊνης και λιγκτροσίδης (και των ισομερών μορφών τους) (προϊόν Δ).

2ε. Το διάλυμα A2 ή το διάλυμα που προκύπτει από το στάδιο 2γ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για απευθείας χορήγηση στον άνθρωπο σαν συστατικό σε φαρμακευτικά προϊόντα ή συμπληρώματα διατροφής ή καλλυντικά με υδατικό φορέα: σιρόπια, διαλύματα, εναιωρήματα, ή σαν συστατικό σε ενέσιμα διαλύματα ή σαν συστατικό σε διαδερμικά χορηγούμενα προϊόντα  
5 (ενσωμάτωση σε κρέμες ή γέλες) ή σαν συστατικό σε εισπνεόμενα προϊόντα

2στ. Το διάλυμα από το στάδιο 2γ μπορεί σε κατάλληλη συγκέντρωση να χρησιμοποιηθεί για να παρασκευασθούν δισκία μετά από ανάμιξη με έκδοχα (πχ λακτόζη), ξήρανση με fluid bed και συμπίεση ή υπόθετα μετά από ανάμιξη με κατάλληλη βάση (υποθετόμαζα).

Όλα τα παραπάνω φαρμακευτικά παρασκευάσματα μπορούν κατ' αναλογία να  
10 χρησιμοποιηθούν με αντικαρκινικές, καρδιοπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιδιαβητικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες.

**Ειδική περίπτωση:** Σε περίπτωση που το αρχικό ελαιόλαδο του σταδίου 2α είναι ειδικά επιλεγμένο ώστε να περιέχει μόνο μια από τις ουσίες (1) ή (2) ή (3) ή (4) ή (5) ή (6) και κανένα  
15 από τα υπόλοιπα φαινολικά παράγωγα, τότε η διαδικασία 2α οδηγεί στο στάδιο 2β όπου το υδατικό διάλυμα περιέχει την κάθε ουσία διαλυμένη υπό την αντίστοιχη διολική μορφή (7) ή (8) ή (9) ή (10) ή (11) ή (12) και αντίστοιχα στο στάδιο 2δ η εξάτμιση του διαλύματος οδηγεί στις ουσίες (1-6) με καθαρότητα >95%.

**Ειδική επεξήγηση:**

20 Πρέπει να τονιστεί ότι τα διαλύματα που λαμβάνονται στα προαναφερόμενα στάδια 2β και 2γ πρόκειται για αληθή διαλύματα των ουσιών (7-12) σε νερό και όχι για γαλακτώματα των αλδεϋδικών μορφών (1-6) εντός υδατικού περιβάλλοντος. Αυτό αποδεικνύεται με τη σχετική λήψη του φάσματος NMR σε δευτεριωμένο νερό όπου φαίνεται η σχεδόν πλήρης εξάλειψη της αλδεϋδομάδας από τη θέση 3 των ουσιών (1-4). Αυτό το σημείο αποτελεί πολύ σημαντική  
25 διαφορά σε σχέση την διεθνή αίτηση διπλώματος ευρεσιτεχνίας WO2018017967 που χρησιμοποιεί παρόμοια διαδικασία με αυτή που αναφέρεται στο τμήμα 5 της παρούσας αίτησης αλλά τελικά καταλήγει σε γαλακτώμα της διαλδεϋδικής μορφής της ελαιοκανθάλης (1) και όχι στη διολική μορφή (7).

Με αναφορά στο Σχήμα 1 όπου παρουσιάζεται φάσμα <sup>1</sup>H-NMR ελαιοκανθαδιόλης (7) σε  
30 δευτεριωμένο νερό, αποδεικνύεται ότι πρόκειται για αληθές διάλυμα της διολικής μορφής με μια μόνο αλδεϋδομάδα (που δεν έχει αντιδράσει με το νερό) και δεν πρόκειται για γαλακτώμα της διαλδεϋδικής μορφής εντός του ύδατος, η οποία υπάρχει σε πολύ μικρό ποσοστό.

**Παράδειγμα 5**

Ελαιόλαδο (100 L) με περιεκτικότητα σε ελαιοκανθάλη, ελαιασίνη, ελαιομισσιονάλη, ελαιοκορωνάλη, άγλυκο ελευρωπαϊνης και λιγκτροσίδη συνολικά 1g/Kg αναμιγνύεται με απεσταγμένο και απιονισμένο νερό (100 L) με  $pH < 7$ , και αναδεύεται μηχανικά για 24 ώρες. Το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία για 1 ώρα και γίνεται βαρυτικά διαχωρισμός των δυο στιβάδων. Παραλαμβάνεται η βαρύτερη στιβάδα και διηθείται για την απομάκρυνση αδιάλυτων ουσιών. Το τελικό διάλυμα έχει περιεκτικότητα σε ελαιοκανθαδιόλη, ελαιασινοδιόλη, ελαιομισσιοναδιόλη, ελαιοκορωναδιόλη, ελευρωπαϊνοδιόλη και λιγκτροδιόλη συνολικά 500mg/L.

**10 Παράδειγμα 6**

Ελαιόλαδο (100 L) με περιεκτικότητα σε ελαιοκανθάλη 1g/Kg που δεν περιέχει τις ουσίες 2-6 αναμιγνύεται με απεσταγμένο και απιονισμένο νερό (100 L) και αναδεύεται μηχανικά για 24 ώρες. Το μίγμα αφήνεται σε ηρεμία για 24 ώρες και γίνεται βαρυτικά διαχωρισμός των δυο στιβάδων. Παραλαμβάνεται η βαρύτερη στιβάδα και διηθείται για την απομάκρυνση αδιάλυτων ουσιών. Το τελικό διάλυμα έχει περιεκτικότητα σε ελαιοκανθαδιόλη 500 mg/L.

**3. Αρχή μεθόδου παραλαβής της μονοαλδεϊδικής μορφής του κυκλικού άγλυκου ελευρωπαϊνης (5) και λιγκτροσίδη (6)**

**Σύμφωνα με προτιμώμενη εφαρμογή της εφευρέσεως, η μέθοδος συνίσταται στα κάτωθι στάδια:**

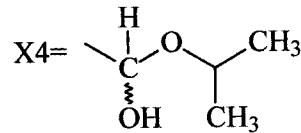
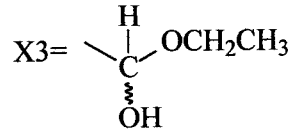
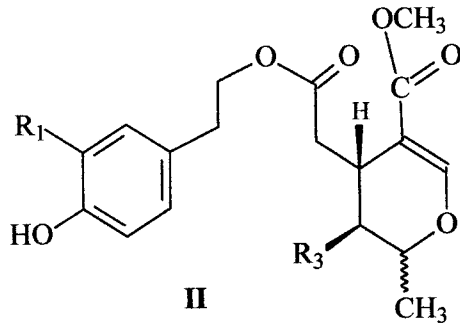
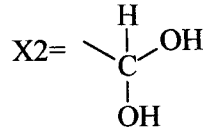
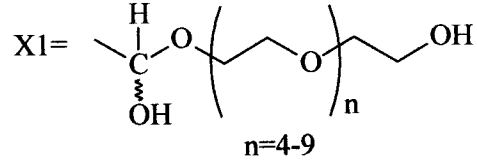
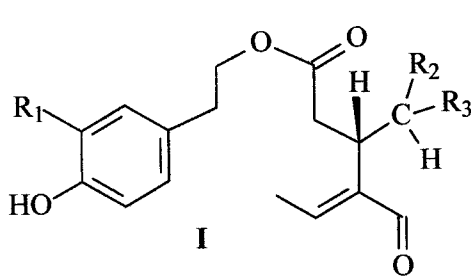
20 3α. Αν το pH του υδατικού διαλύματος A2 στο οποίο περιέχεται η ουσία ελαιομισσιοναδιόλη (9) ρυθμιστεί σε ελαφρά αλκαλικό (7,5-8) τότε κατά την εξάτμιση παραλαμβάνεται σε καθαρή μορφή η ουσία μονοαλδεϊδική μορφή του κυκλικού άγλυκου της ελευρωπαϊνης που υπάρχει σε δυο ισομερείς μορφές (5α,β). Για να απαλλαγεί από τυχόν ανόργανα υπολείμματα, το προϊόν της εξάτμισης από το τελευταίο στάδιο διαλύεται σε οργανικό διαλύτη (πχ διχλωρομεθάνιο ή 25 οξικό αιθυλεστέρα), διηθείται και επανεξατμίζεται αποδίδοντας το προϊόν E.

3β. Αν το αρχικό διάλυμα A2 αντί για ελαιομισσιοναδιόλη (9) περιέχει ελαιοκορωναδιόλη (10) τότε η παραπάνω διαδικασία οδηγεί σε καθαρή μονοαλδεϊδική μορφή του κυκλικού άγλυκου του λιγκτροσίδη που υπάρχει σε δυο ισομερείς μορφές (6α,β).

**Παράδειγμα 7**

30 Ελαιόλαδο (10 L) με περιεκτικότητα σε ελαιοκορωνάλη 1g/Kg που δεν περιέχει τις ουσίες (1-3,5,6) αναμιγνύεται με απεσταγμένο νερό (100 L) και αναδεύεται μηχανικά για 24 ώρες. Το

μίγμα αφήνεται σε ηρεμία για 24 ώρες και γίνεται βαρυτικά διαχωρισμός των δυο στιβάδων. Παραλαμβάνεται η βαρύτερη στιβάδα και διηθείται για την απομάκρυνση αδιάλυτων ουσιών. Ρυθμίζεται το pH της υδατικής στιβάδας σε 7,6 και το διάλυμα μένει υπό ανάδευση για 24 ώρες, διηθείται και παραλαμβάνεται διάλυμα μονοαλδεϊδικής μορφής του κυκλικού άγλυκου λιγκτροσίδη. Το διάλυμα εξατμίζεται, το υπόλειμμα επαναδιαλύεται σε διχλωρομεθάνιο (500 ml), διηθείται και το διάλυμα επανεξατμίζεται αποδίδοντας τη μονοαλδεϊδική μορφή του κυκλικού άγλυκου του λιγκτροσίδη (**6α,β**) (7 g) με καθαρότητα >95%.

**Αξιώσεις:****1. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών του τύπου I ή/και II**

5 όπου

R<sub>1</sub> = H ή OH, R<sub>2</sub> = H ή COOCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = X<sub>1</sub> ή X<sub>2</sub> ή X<sub>3</sub> ή X<sub>4</sub>

είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών

κατά την οποία:

10 Ελαιόλαδο από το είδος *Olea europaea* L και όλα τα υποείδη και καλλιεργητικές ποικιλίες αυτού, που περιέχει σεκοϊριδοειδή του τύπου I ή/και II με

R<sub>1</sub> = H ή OH, R<sub>2</sub> = H ή COOCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = CHO και τα ταυτομερή αυτών

είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών,

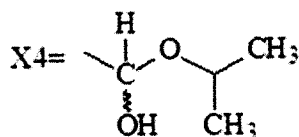
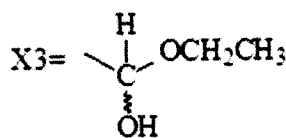
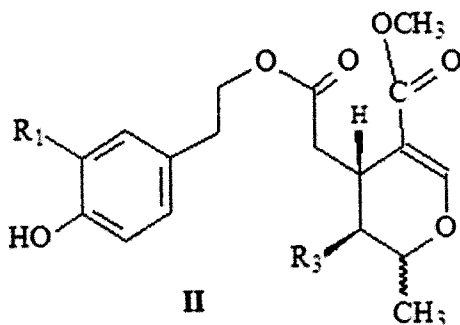
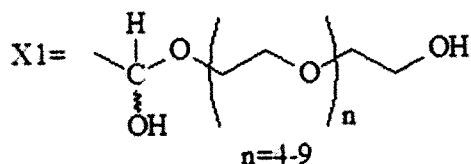
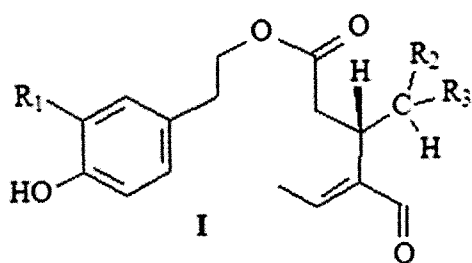
15 φέρεται σε επαφή με υδρόφιλο διαλυτικό μέσο μη αναμίξιμο με το ελαιόλαδο σε αναλογία από 1:1 ως 1:100 και αναδεύεται έντονα για χρόνο από 5 λεπτά ως 24 ώρες. Το μίγμα αφήνεται να ηρεμήσει, γίνεται διαχωρισμός δυο φάσεων είτε βαρυτικά είτε με φυγοκέντρηση, παραλαβή της βαρύτερης στοιβάδας, διαυγασμός του διαλύματος με διήθηση και παραλαβή διαλύματος (A).

2. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 1, κατά την οποία το διαλυτικό μέσο που χρησιμοποιείται είναι πολυαιθυλενογλυκόλη με μέσο μοριακό βάρος από 200 ως 400 (PEG 200 ως PEG400) και αποδίδει διάλυμα (A1), το οποίο εμπεριέχει τις ουσίες του τύπου I ή/και II με  $R1 = H$  ή  $OH$ ,  $R2 = H$  ή  $COOCH_3$ ,  $R3 = X1$ , είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών.
- 5
3. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 1, κατά την οποία το διαλυτικό μέσο που χρησιμοποιείται είναι απιονισμένο και απεσταγμένο νερό και αποδίδει διάλυμα (A2), το οποίο εμπεριέχει τις ουσίες του τύπου I ή/και II με  $R1 = H$  ή  $OH$ ,  $R2 = H$  ή  $COOCH_3$ ,  $R3 = X2$ , είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών.
- 10
4. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 1, κατά την οποία το διαλυτικό μέσο που χρησιμοποιείται είναι αλειφατική αλκοόλη με αριθμό ατόμων άνθρακα  $C = 2$  ή/και 3 και αποδίδει διάλυμα (A3) το οποίο εμπεριέχει τις ουσίες του τύπου I ή/και II με  $R1 = H$  ή  $OH$ ,  $R2 = H$  ή  $COOCH_3$ ,  $R3 = X3$  ή  $X4$ , είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών.
- 15
5. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 2, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει τα εξής στάδια:
- Ανάμιξη του διαλύματος (A1) με απιονισμένο και απεσταγμένο νερό με  $pH = <7$  σε αναλογία PEG:νερό = 1:1 ή 1:10 ή 1:20 ή 1:100, ανάδευση για διάστημα από 1 ως 24 ώρες, απομάκρυνση των αδιάλυτων συστατικών με διήθηση και παραλαβή διαλύματος (B), το οποίο εμπεριέχει τις ουσίες του τύπου I ή/και II με  $R1 = H$  ή  $OH$ ,  $R2 = H$  ή  $COOCH_3$ ,  $R3 = X2$ , είτε μεμονωμένη η κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών.
- 20
6. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 5, όπου η οποία επιπλέον περιλαμβάνει τα εξής στάδια:
- Διέλευση του διαλύματος (B) από στήλη με ρητίνη προσρόφησης (XAD), έκπλυση της ρητίνης με οργανικό διαλύτη χαμηλού σημείου ζέσεως ( $<100$  °C) αναμίξιμο με το νερό (μεθανόλη, αιθανόλη ή ακετόνη), παραλαβή του διαλύματος και συμπύκνωση αυτού με εξάτμιση υπό κενό για την παραγωγή προϊόντος (Γ), το οποίο εμπεριέχει τις ουσίες του τύπου I ή/και II με  $R1 = H$  ή  $OH$ ,  $R2 = H$  ή  $COOCH_3$ ,  $R3 = CHO$  και τα ταυτομερή αυτών, είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών.
- 25
7. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 3, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει την εξάτμιση ή λυοφιλοποίηση του διαλύματος (A2) για την παραγωγή προϊόντος (Δ), το οποίο εμπεριέχει τις ουσίες του τύπου I ή/και II με  $R1 = H$  ή  $OH$ ,  $R2 = COOCH_3$ ,  $R3 = CHO$
- 30

και τα ταυτομερή αυτών, είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών.

8. Μέθοδος παραλαβής σεκοϊριδοειδών σύμφωνα με την αξίωση 7, η οποία επιπλέον περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

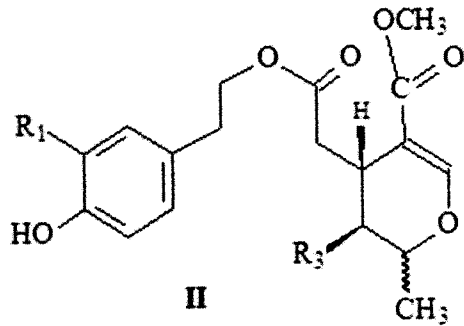
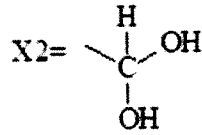
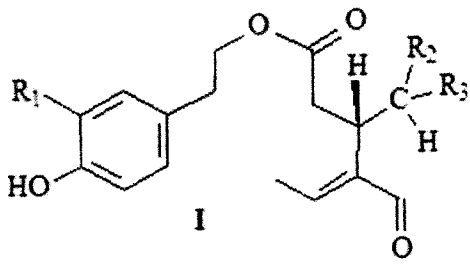
- 5 Διάλυση του προϊόντος (Δ) σε νερό του οποίου ρυθμίζεται το pH σε τιμή 7,5-8 με χρήση βάσης (πχ  $\text{NaHCO}_3$ ), εξάτμιση του διαλύματος, επαναδιάλυση του υπολείμματος σε οργανικό διαλύτη (πχ διχλωρομεθάνιο ή οξικό αιθυλεστέρα), διήθηση, εξάτμιση και παραλαβή προϊόντος (Ε), το οποίο εμπεριέχει τις ουσίες του τύπου II με  $\text{R}_1 = \text{H}$  ή  $\text{OH}$ ,  $\text{R}_3 = \text{CHO}$  και τα ταυτομερή αυτών, είτε μεμονωμένη την κάθε μια ουσία είτε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών.
- 10 9. Σεκοϊριδοειδή του τύπου I ή/και II



όπου

$\text{R}_1 = \text{H}$  ή  $\text{OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$  ή  $\text{COOCH}_3$ ,  $\text{R}_3 = \text{X}_1$  ή  $\text{X}_3$  ή  $\text{X}_4$

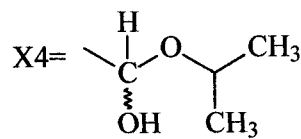
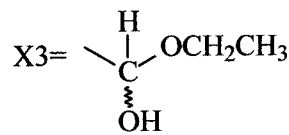
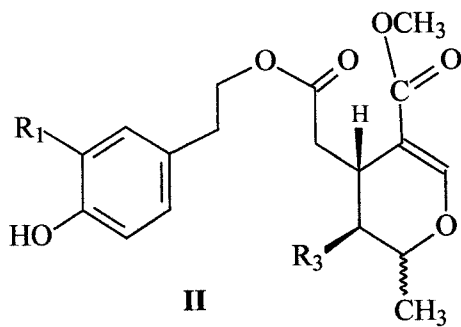
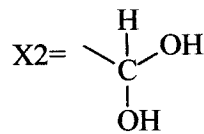
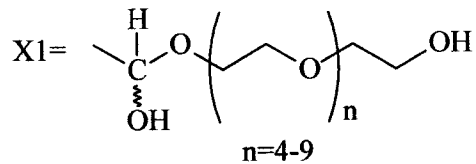
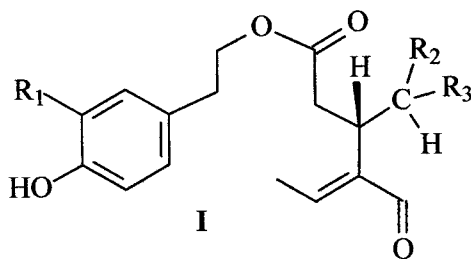
- 15 10. Σεκοϊριδοειδή του τύπου I ή/και II



όπου

$R_1 = H \text{ ή } OH, R_2 = H, R_3 = X_2$

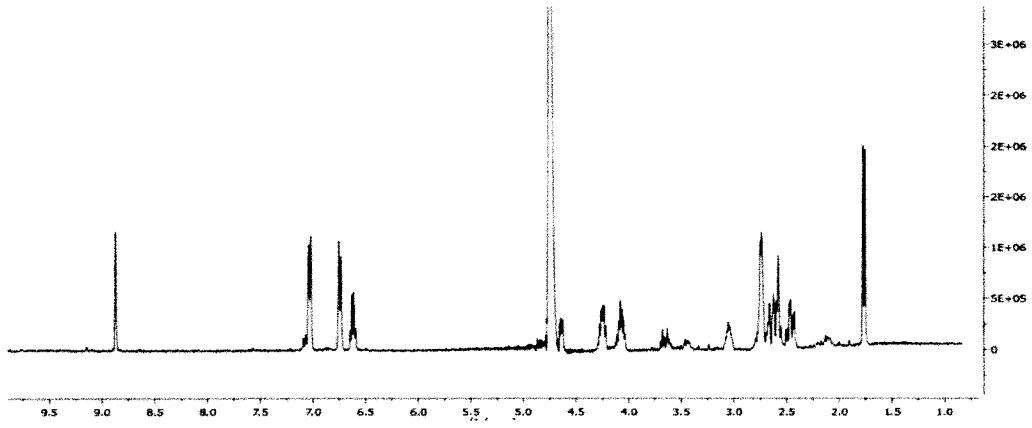
5 11. Χρήση των σεκοϊριδοειδών του τύπου I ή/και II



όπου

- R1 = H ή OH, R2 = H ή COOCH<sub>3</sub>, R3 = X1 ή X2 ή X3 ή X4 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
- 5 διαλύματα ή υπόθετα ή δισκία που παράγονται μετά από ξήρανση και συμπίεση.
12. Τα φαρμακευτικά παρασκευάσματα της αξίωσης 11 για χρήση στην 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.
- 10 13. Χρήση των ουσιών που παραλαμβάνονται σύμφωνα με οποιαδήποτε από τις αξιώσεις 1-8 για την παρασκευή διαλυμάτων για την αποστείρωση στερεών υλικών.

201901000077



Σχήμα 1



ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ  
(O.B.I.)

## ΤΕΛΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμός αίτησης  
20190100077

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	WO2018/017967 A1 / BOARD OF SUPERVISORS FOR THE UNIV OF LOUISIANA SYSTEM 25/1/2018 *αξιώσεις* *παράγραφοι [0054], [0095]*	1-13	B01D 11/04 A01N 65/00 A23L 33/105 A61K 36/63
A	JP6351124 B2 / SHODOSHIMA HEALTHY LAND KK 4/7/2018 *παραδείγματα* *παράγραφος [0022]*	1-13	
A	XP055040704 / EVAGELOS KATSOYANNOS ET AL 9/8/2012 "Evaluation of the suitability of low hazard surfactants for the separation of phenols and carotenoids from red-flesh orange juice and olive mill wastewater using cloud point extraction", JOURNAL OF SEPARATION SCIENCE, τόμος 35, No 19, σελίδες 2665-2670, ISSN: 1615-9306, DOI: 10.1002/jssc.201200356, *τμήμα 2.1, τμήμα 2.2, τμήμα 2.5, τμήμα 4*	1-13	
A	XP021222812 / LORETA KUBILIENE ET AL 27/5/2015 "Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities", BMC COMPLEMENTARY AND ALTERNATIVE MEDICINE, BIOMED CENTRAL LTD., LONDON, GB, τόμος 15, No 1, σελίδα 156, ISSN: 1472-6882, DOI: 10.1186/S12906-015-0677-5, *πίνακας 1*	9,11-13	Τεχνικά πεδία που ερευνήθηκαν  B01D A01N A23L A61K
Ημερομηνία περάτωσης της έρευνας :		27/07/2020	
<b>ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΔΗΛΟΥΜΕΝΩΝ ΕΓΓΡΑΦΩΝ</b>			
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			
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			



ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ  
(Ο.Β.Ι.)

### ΤΕΛΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμός αίτησης  
20190100077

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	WO2016/156528 A1 / FRESENIUS KABI DEUTSHLAND GMBH 6/10/2016 *αξιώσεις*  ΑΤΕΛΗΣ ΕΡΕΥΝΑ (βλ. φύλλο Γ)  Αξιώσεις που ερευνήθηκαν εν μέρει: 1-8,13	9,11-13	B01D 11/04 A01N 65/00 A23L 33/105 A61K 36/63
			Τεχνικά πεδία που ερευνήθηκαν
			B01D A01N A23L A61K
Ημερομηνία περάτωσης της έρευνας :		27/07/2020	
<b>ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΔΗΛΟΥΜΕΝΩΝ ΕΓΓΡΑΦΩΝ</b>			
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			
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			

**ΑΤΕΛΗΣ ΕΡΕΥΝΑ  
ΦΥΛΟ Γ**

20190100077

**Αξιώσεις που ερευνήθηκαν εν μέρει : 1-8, 13**

Στην παρούσα έκθεση έρευνας δεν κατέστη εφικτή η πραγματοποίηση πλήρους έρευνας για τις αξιώσεις 1-8, 13 διότι :

Στην αξίωση 1 της αίτησης ο ορισμός για το στάδιο της διήθησης είναι ευρύς. Με βάση τα αναφερόμενα στην περιγραφή και μετά από τις παρατηρήσεις του καταθέτη στην αρχική έκθεση έρευνας, κρίνεται ουσιώδες για την εφεύρεση ότι η διήθηση γίνεται με φίλτρο κυτταρίνης και μέγεθος πόρων 0.22 μm. Επομένως ερευνήθηκε η αξίωση 1 με αυτόν τον περιορισμό, καθώς και οι εξαρτημένες από αυτήν αξιώσεις.

Συνεπώς οι αξιώσεις 1-8, 13 ερευνήθηκαν εν μέρει.