



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 349 976**

⑫ Número de solicitud: 200901296

⑮ Int. Cl.:
A61K 36/63 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **14.05.2009**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **13.01.2011**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
13.01.2011

⑰ Solicitante/s: **SANIDAD Y RESIDENCIAS 21, S.A.**
Cronista Rey Díaz, 2
14006 Córdoba, ES

⑱ Inventor/es: **Luque de Castro, María Dolores;**
Casado Díaz, Antonio;
Santiago Mora, Raquel María y
Quesada Gómez, José Manuel

⑲ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

⑳ Título: **Utilización de extractos de hojas de olivo en una composición farmacéutica para inducir angiogénesis y vasculogénesis.**

㉑ Resumen:

Utilización de extractos de hojas de olivo en una composición farmacéutica para inducir angiogénesis y vasculogénesis.

El objeto de la presente invención es la utilización de extractos de hojas de olivo en una composición para la inducción de angiogénesis y vascularización. La capacidad de los extractos de hojas de olivo para inducir angiogénesis y vascularización, puede utilizarse en general para preparar composiciones terapéuticas o en aplicaciones concretas en las que se desee promover la diferenciación de células madre a células endoteliales progenitoras (EPCs) y/o células endoteliales maduras, junto con la inducción de la formación de vasos a partir de esas células endoteliales. Entre otras, las enfermedades cardiovasculares, los procesos isquémicos en general, las úlceras y la cicatrización de las heridas, son patologías que pueden ser tratadas con esta composición angiogénica e inductora de la vascularización.

ES 2 349 976 A1

DESCRIPCIÓN

Utilización de extractos de hojas de olivo en una composición farmacéutica para inducir angiogénesis y vasculogénesis.

Sector y objeto de la invención

La presente invención se encuadra dentro del sector médico-farmacéutico y específicamente en el campo técnico de la promoción de la angiogénesis y vascularización, la reparación endotelial y el tratamiento de las heridas y úlceras.

Constituye el objeto de la presente invención la utilización de extractos de hojas de olivo para la elaboración de una composición farmacéutica con capacidad de inducir la angiogénesis y vascularización. Esta composición puede utilizarse en general para aplicaciones terapéuticas en las que se desee promover la diferenciación de células madre a células endoteliales progenitoras (EPCs) y/o células endoteliales maduras, así como la inducción de la formación de vasos a partir de esas células endoteliales. Entre otras aplicaciones, las enfermedades cardiovasculares, los procesos isquémicos en general, las úlceras y la cicatrización de las heridas, son patologías a las que estará dirigida esta composición angiogénica e inductora de la vascularización tanto en el ámbito de la medicina como en el veterinario.

Estado de la técnica

La formación y remodelación de vasos sanguíneos ocurre en los procesos denominados vasculogénesis, angiogénesis y arteriogénesis Carmeliet, P. (2004). "Manipulating angiogenesis in medicine". *J Intern Med* 255(5): 538-61. La vasculogénesis consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de células precursoras endoteliales (EPCs) que migran y se diferencian a células endoteliales en aquellos lugares en donde se inicia la vascularización. La angiogénesis consiste en la formación de nuevas ramificaciones de capilares a partir de vasos sanguíneos existentes. La arteriogénesis por su parte, se refiere al remodelado de una arteria existente como consecuencia de su adaptación al flujo sanguíneo.

La arteriogénesis difiere del de la angiogénesis en su mecanismo En la primera se produce principalmente como consecuencia de estrés físico (p. ej. la rotura u obstrucción de un vaso) y la segunda se produce principalmente por hipoxia. Fisiológicamente, el organismo regula la angiogénesis, a través de una serie de mecanismos que actúan como interruptores "on" y "off". Los interruptores "on" son conocidos como factores de crecimiento angiogénico, mientras que los "off" se les conoce como inhibidores angiogénicos endógenos. Cuando ocurre un aumento descontrolado y/o excesivo de la angiogénesis pueden desarrollarse patologías como cáncer, aterosclerosis y retinopatía diabética, entre otras. Mientras que una disminución de la angiogénesis favorece el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, procesos isquémicos en general, úlceras y dificultad en la cicatrización de heridas, etc....

El tratamiento de patologías asociadas a una menor angiogénesis comprende la utilización de factores de crecimiento que promueven la formación de vasos, como el factor de crecimiento endotelial (EGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor-1 alfa inducible de hipoxia (HIF-1 α), FGF-4, el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), la péptidasa tejido kallikrein (TK), activadores de los receptores activados por proteinasas (PAR-activadores), la trombina, la proteína "frizzled-A" y el óxido nítrico [Madeddu, P. (2005). "Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration". *Exp Physiol* 90(3): 315-26], entre otros.

El uso de los factores de crecimiento como el VEGF, para el tratamiento de procesos isquémicos no está aún bien establecido debido a que es complicado aplicar la dosificación adecuada y a que pueden producir importantes efectos secundarios como hipotensión y edemas tisulares. [Simons M. and Ware J.A. (2003) "Therapeutic angiogenesis in cardiovascular disease". *Nat Rev Drug Discov* 2(11):863-711.

Actualmente, se están probando también terapias celulares con la aplicación de células madre o EPCs para promover la angiogénesis con fines terapéuticos [Tarzami, S. T. and J. P. Singh (2004) "Pharmacological revascularisation in coronary and peripheral vascular disease". *Expert Opin Investig Drugs* 13(10): 1319-26)]. Las células madre debido a su plasticidad, pueden diferenciarse en elementos vasculares y no vasculares, por lo que pueden regenerar la parte dañada por la isquemia. Así, por ejemplo, en el caso de infarto de miocardio, dichas células, pueden, además, diferenciarse en miocitos, recuperando el tejido dañado.

La estrategia de la utilización de terapia celular, presenta el problema de la pérdida de funcionalidad de las EPCs a las pocas horas después del trasplante. Para disminuir este fenómeno se ha propuesto: 1) una liberación local de las células en lugar de sistémica, 2) administración de quimioquinas que promuevan la movilización de las EPCs, 3) enriquecimiento y expansión de los cultivos de EPCs y 4) aumento de la funcionalidad de las EPCs por modificación genética [Madeddu, P. (2005). "Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration". *Exp Physiol* 90 (3): 315-26].

La formación de nuevos vasos está implicada también en la cicatrización de heridas, en donde se distinguen distintas etapas: angiogénesis, depósito de colágeno, formación de tejido granular, epitelización y contracción de la herida. En los procesos angiogénicos que ocurren durante la cicatrización intervienen las EPCs [Eming, S.A., Smola, H. Krieg, T. Treatment of chronic wounds: state of the art and future concepts. *Cells Tissues Organs* 2002; 172, 105-17].

En fases posteriores de la curación de la herida, se induce una angiogénesis adicional por el incremento de VEGF en el tejido dañado, con un máximo a los varios días tras el daño [Karayiannakis AJ, Zbar A, Polychronidis A, Simopoulos C. Serum and drainage fluid vascular endothelial growth factor levels in early surgical wounds. *Eur Surg Res* 2003; 35, 492-6]. De la misma manera, la presencia del factor VEGF, en determinadas concentraciones, en el medio de cultivo de células madre mesenquimales (MSCs) es la causa de la diferenciación de estas células hacia células del endotelio [Liu, JW, Dunoyer-Geindre S, Serre-Beinier V, Mai G, Lambert JF, Fish RJ, Pernod G, Buehler L, Bounameaux H, Kruithof EK. Characterization of endothelial-like cells derived from human mesenchymal stem cells. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 826-34]. En tumores el sistema vascular se desarrolla de manera desordenada e irregular. Como consecuencia, el aporte sanguíneo en el tumor es inadecuado y provoca una disminución de la eficacia de quimio y radioterapias [Jain, R. K. (2005). "Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy". *Science* 307(5706): 58-62]. Por lo que, actualmente las terapias más innovadoras contra el cáncer están utilizando la acción combinada de agentes anti y proangiogénicos para revertir la anomalía del sistema vascular en el tumor [Ellis, L. M. and D. J. Hicklin (2008). "VEGF-targeted therapy: mechanisms of anti-tumour activity". *Nat Rev Cancer* 8(8): 579-91]. Actualmente, una gran cantidad de extractos vegetales ricos en compuestos antioxidantes, están siendo estudiados además de por su actividad antioxidante, por su influencia en distintos procesos fisiológicos como la inflamación, la diferenciación celular, la tumorigénesis, o angiogénesis, por ejemplo la patente WO 2005/105127 describe la utilización de un extracto de piel de frutas cítricas con capacidad de acelerar la cicatrización de heridas en ratas y promover la angiogénesis.

En la presente invención, se describe la utilización de extractos de hojas de olivo para ser utilizados solos, en combinación con otros compuestos o con células madre, para el tratamiento de patologías en las que sea necesaria la inducción de neovascularización.

Explicación de la invención

Constituye el objeto de la presente invención una composición farmacéutica que contiene extractos de hojas de olivo, que cumplan la definición de extracto de hojas de Olivo publicado en *Pharmeuropa Olive* [(2007) Leaf dry extract *Pharmeuropa* 19(3): 510-511] para su utilización en la inducción de angiogénesis y vasculogénesis.

Específicamente, la composición que contiene extractos de hojas de olivo puede utilizarse, sola o en asociación con otras sustancias, en la formación de células endoteliales derivadas de células madre mesenquimales y también en la formación de vasos a partir de células endoteliales.

Constituye igualmente un objeto de la presente invención la utilización de extractos de hojas de olivo en la preparación de una composición farmacéutica para la inducción de angiogénesis y vasculogénesis.

La composición se prepara para administración oral, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, intratraqueal, intramuscular, intravenosa o para inhalación.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. A y B compara dos imágenes de microscopía óptica de células madre mesenquimales. Las células tratadas con extracto de hojas de olivo, imagen B, forma estructuras tubulares típicas del proceso angiogénico. Esas mismas células sin el tratamiento con extracto de hojas de olivo no son capaces de formar dichas estructuras, imagen A.

Figura 2. Imágenes obtenidas con microscopio óptico comparando la formación de estructuras tubulares en células HUVECs en medio endotelial sin tratamiento (figura 2A), tratadas con VEGF (figura 2B) y tratadas con extracto de hojas de olivo (figura 2C) sobre matrigel.

Descripción detallada de la invención

La actividad angiogénica de los extractos de hojas de olivo que cumplan como mínimo los requisitos de extracto de hojas de Olivo publicado en *Pharmeuropa Olive* [(2007) Leaf dry extract *Pharmeuropa* 19(3): 510-511] queda demostrada por:

- 1) *Evidencias fenotípicas*: tras 15-28 días de cultivo de células madre mesenquimales con extractos de hojas de olivo se forman estructuras típicas de células endoteliales tales como microvasos.
- 2) *Evidencias de expresión de marcadores de membrana*: El tratamiento con extractos de hojas de olivo provoca un aumento de células con marcadores de superficie CD144 y VEGFR2.
- 3) *Evidencias de expresión de genes implicados en la diferenciación endotelial*: VEGF, PCAM, PDGFR y VEGFR1

Estas evidencias se han puesto de manifiesto mediante la siguiente metodología:

Cultivo de células madre mesenquimales

Las células madres mesenquimales obtenidas de médula ósea humana fueron expandidas y crecidas en medio esencial mínimo modificación alfa (α -MEM) suplementado con 10% de suero fetal bovino, 2 mM Ultraglutamina y con antibióticos. Cuando las células estuvieron próximas a la confluencia se trataron con extractos de hojas de olivo. Como controles, una parte de los cultivos no fueron tratados.

Las células fueron incubadas a 37°C con 5% de CO₂ y los medios fueron cambiados cada 3 días a lo largo de todo experimento.

Células endoteliales

La línea establecida de células endoteliales obtenidas de vena umbilical humana (HUVE) fue suministrada por Lonza Group, Ltd. Switzerland, estas células fueron expandidas en frasco con medio básico endotelial (EBM, Lonza) suplementado con antibióticos y suero fetal bovino. Cuando las células llegaron a la confluencia fueron subcultivadas. El medio fue cambiado cada 3 días. Para llevar a cabo estos experimentos se utilizaron las células del 2º y 3er pase. Los tratamientos que recibieron estas células fueron:

1.- Extracto de hojas a diversas concentraciones

2.- VEGF 10 µg/mL

3.- Control, sin tratamiento

Estudios de citometría de flujo y anticuerpos monoclonales

Para el estudio y análisis de los marcadores celulares de membrana se realizaron ensayos de citometría de flujo. Las células fueron lavadas con PBS + 3% suero fetal bovino, los anticuerpos monoclonales anti-humano conjugados, CD144-FITC y VEGFR2-PE fueron incubados durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las células marcadas fueron lavadas tres veces, resuspendidas en 0.5 ml de PBS y analizado el mareaje con un citómetro de flujo FACScan Caliber (Benton-Dickinson).

Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR)

Para analizar la expresión de marcadores génicos angiogénicos se utilizó la PCR en tiempo real. El RNA total de las células fue obtenido utilizando el reactivo Tri Reagent (Sigma Aldrich) y siguiendo las instrucciones del fabricante. El cDNA fue sintetizado a partir de un microgramo de RNA total, que previamente había sido tratado con DNase (Sigma Aldrich), utilizando el kit iScript TM cDNA Síntesis Kit de Biorad, La PCR en tiempo real utilizada para cuantificar los mRNA analizados fue llevada a cabo en un sistema Light-Cycler (Roche) utilizando SYBR®Green. Estas reacciones fueron realizadas en un volumen final de 10 µL con 1 µL de cDNA, 10 pmol de cada primer y Quantitec® SYBR®Green master mix (Qiagen). Las condiciones para el Light-Cycler fueron 95°C durante 15 min, 40 ciclos de 95°C durante 30 s, 60°C durante 15 s y 72°C durante 30 s. El ciclo umbral (Ct) del gen diana fue estandarizado con el correspondiente del gen constitutivo pGAPDH.

Angiogénesis

Para llevar a cabo los ensayos de angiogénesis *In Vitro* se utilizó el kit Endothelial Tube Formation Assay, Cell Biolab Inc. Las condiciones del ensayo son las que se indicaban en las instrucciones del proveedor. Los medios utilizados fueron medio endotelial básico suplementado sin tratar (control negativo) y tratado con VEGF (control positivo) o con extracto de hojas de olivo. Las estructuras formadas fueron marcadas mediante un anticuerpo conjugado con calcein AM suministrado en el kit, específico para los túbulos.

Resultados obtenidos en la diferenciación de células madre mesenquimales a células endoteliales

La capacidad de los extractos de hojas de olivo para promover la angiogénesis en células madres se pone de manifiesto en la Figura 1, donde pueden observarse las estructuras tubulares, característica de células endoteliales obtenidas por diferenciación de células madre mesenquimales tratadas con los extractos de hojas de olivo.

El análisis por citometría de los marcadores de superficie característicos de células endoteliales, como son el CD144 y VEGFR2 mostró que estos se encuentran en MSCs tratadas con extracto de hojas de olivo y en todos los casos analizados el porcentaje de estos marcadores endoteliales en las células tratadas con los extractos muestran diferencias significativas con respecto al cultivo control).

La expresión génica de diferentes genes involucrados en la diferenciación endotelial como VEGF, PCAM, PDGFR y VEGFR1, mostró un aumento con el tratamiento con extracto de hojas de olivo.

Resultados obtenidos en la inducción de angiogénesis en células endoteliales

La capacidad de los extractos de hojas de olivo para promover la angiogénesis en células endoteliales fue probada y evaluada mediante experimentos celulares en sustrato de matrigel. Las células endoteliales tratadas con extracto de
 5 hojas de olivo presentaron una capacidad equiparable al VEGF de promover la formación de estructuras tubulares típicas de la formación de vasos sanguíneos (Figura 2).

Comparación de los resultados con el estado de la técnica

Como ya se ha hecho referencia en apartados anteriores de este documento, la angiogénesis comienza con un daño
 10 tisular lo que provoca la activación de la proliferación de las células endoteliales y el ensamblaje de las mismas en estructuras tubulares alrededor de las cuales se formaran las nuevas paredes del vaso [Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis 2008 Biochemistry]; Los resultados aquí presentados con los extractos de hojas de olivo permiten
 15 proponer la aplicación de éstos como factor angiogénico, debido a su capacidad de diferenciar células madre hasta células endoteliales capaces de formar estructuras tubulares.

Los resultados obtenidos con los extractos de hojas de olivo como promotor de angiogénesis son equiparables o su-
 periores a los del VEGF. Este factor es uno de los más importante agentes angiogénicos, y está involucrado en estudios
 20 actuales cuyo objetivo es hallar terapias para patologías relacionadas con la angiogénesis como son las isquemias, o la cicatrización de heridas entre otras. En los resultados presentados los efectos mostrados por los extractos de hojas de olivo son similares o superiores a los mostrados por el VEGF lo que respalda la utilización de estos como inductores
 angiogénicos [Jabbarzadeh, E. Induction of angiogenesis in tissue-engineered scaffolds designed for bone repair: a
 combined gene therapy-cell transplantation approach. PNAS 2008]; [Guerrero, M., K. Athota, *et al.* (2008). "Vascular
 endothelial growth factor-165 gene therapy promotes cardiomyogenesis in reperfused myocardial infarction". J Interv
 25 Cardiol 21(3): 242-51]; [Michaels, J. T., M. Dobryansky, *et al.* (2005). "Topical vascular endothelial growth factor re-
 verses delayed wound healing secondary to angiogenesis inhibitor administration". *Wound Repair Regen* 13(5): 506-
 12]; [Galiano, R. D., O. M. Tepper, *et al.* (2004). "Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic
 wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells". *Am J*
Pathol 164(6): 1935-47].

El tratamiento de células madre mesenquimales humanas con extractos de hojas de olivo ha propiciado la diferen-
 ciación de estas células a células endoteliales, y más aún hasta células que han sido capaces de formar las estructuras
 tubulares requeridas en todo proceso angiogénico y vasculogénico. Esto se encuentra en consonancia con lo descrito
 por Alviano *et al.*, entre otros, quienes han mostrado el potencial de diferenciación de células madre mesenquimales a
 35 células endoteliales, bajo la influencia de factores angiogénicos como el VEGF [Alviano, F., V. Fossati, *et al.* (2007).
 "Term Amniotic membrane is a high throughput source for multipotent Mesenchymal Stem Cells with the ability to
 differentiate into endothelial cells *in vitro*". *BMC Dev Biol* 7: 11].

Los resultados obtenidos tanto en la expresión génica de marcadores endoteliales como en el análisis de los mar-
 40 cadores de superficie de las células madre mesenquimales diferenciadas a endoteliales con extractos de hojas y VEGF
 pone de manifiesto que el efecto inductor que tienen estos extractos sobre las misma es equiparable al del VEGF,
 reconocido inductor de la diferenciación de estas células a endoteliales.

REIVINDICACIONES

5 1. Composición que comprende extractos de hojas de olivo enriquecidos en polifenoles y/o factores estimulantes de angiogénesis y vasculogénesis.

2. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicha composición es para administración oral, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, intratraqueal, intramuscular, intravenosa o para inhalación.

10 3. Uso de una composición según la reivindicación 1 para fabricación de un medicamento para la inducción de angiogénesis y vasculogénesis.

15 4. Uso de la composición según la reivindicación anterior, **caracterizado** porque dicha composición se administra por vía oral, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, intratraqueal, intramuscular, intravenosa o para inhalación.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

FIG 1

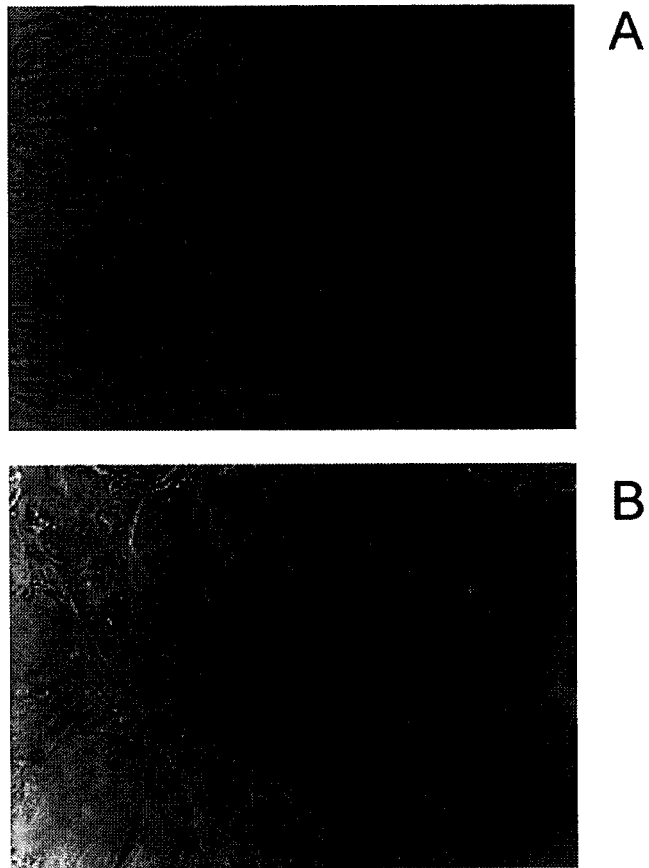


FIG 2

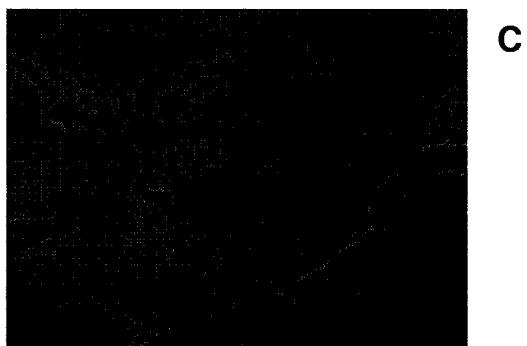


FIG 3

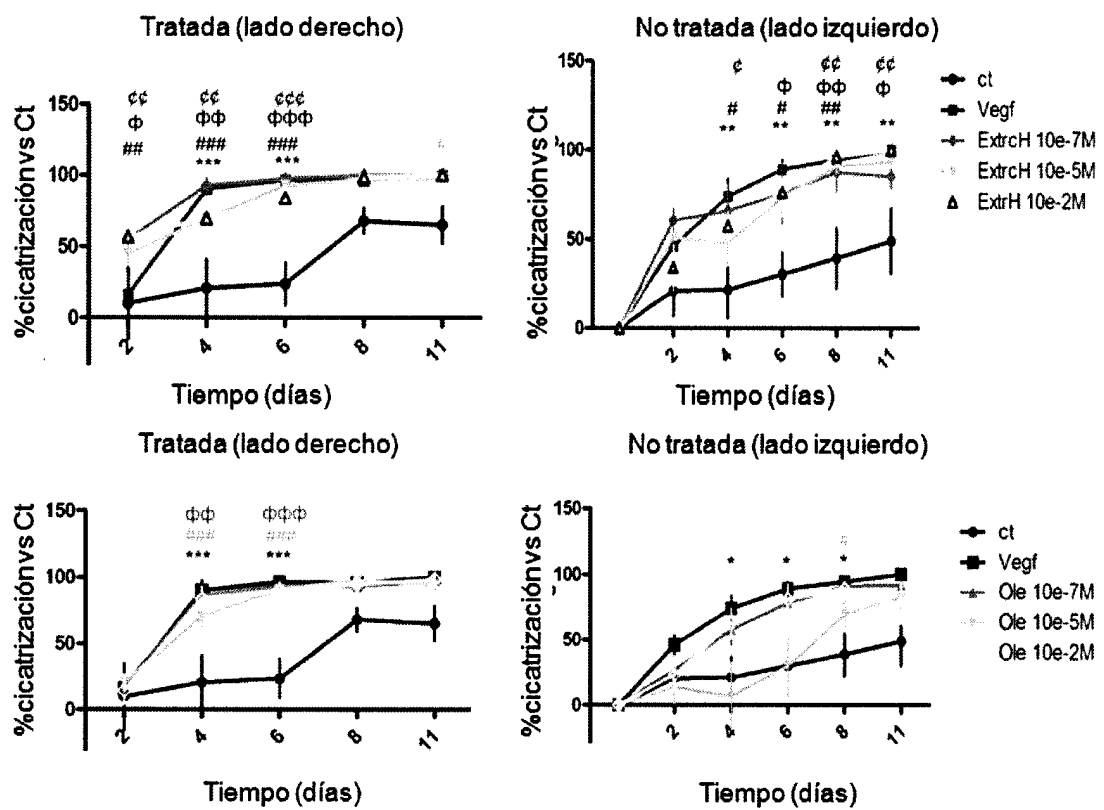


FIG 4

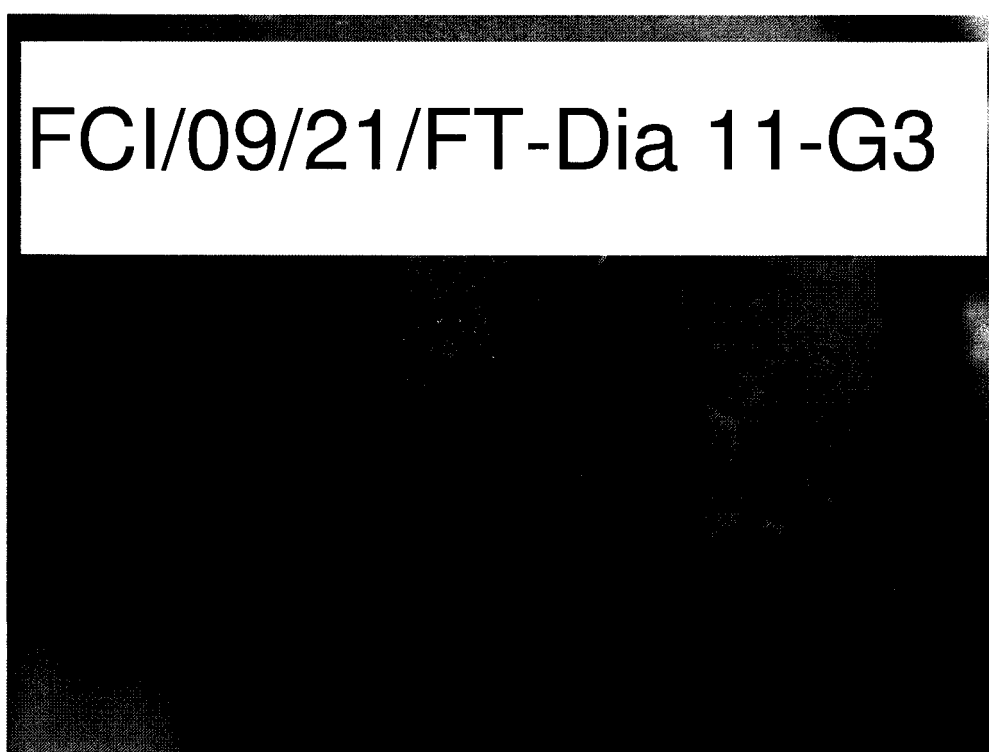


FIG 5

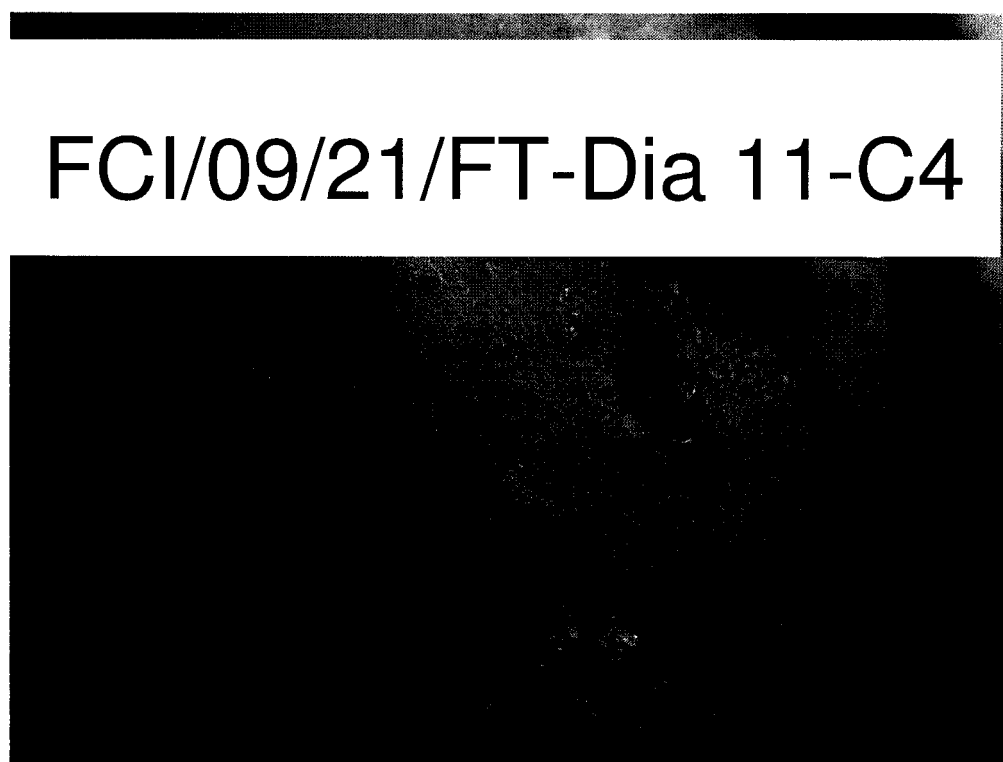
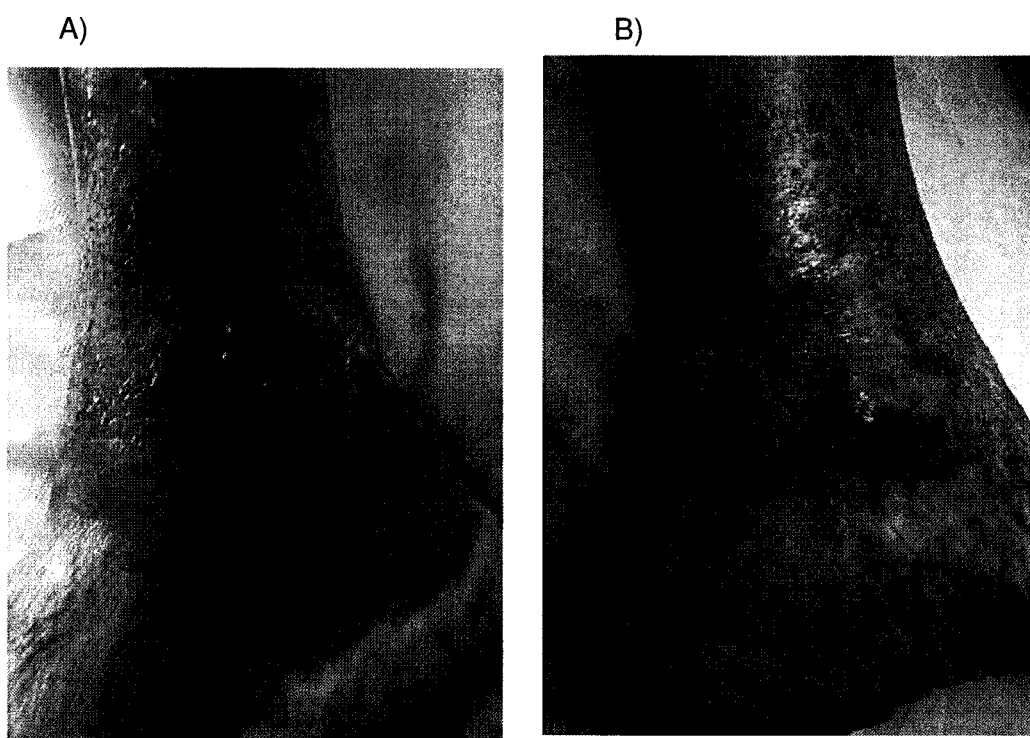


FIG 6





OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 200901296

22 Fecha de presentación de la solicitud: 14.05.2009

32 Fecha de prioridad: 00-00-0000
00-00-0000
00-00-0000

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ALTINYAY, C. & ALTUN, M. L. "HPLC analysis of oleuropein in Olea europaea L." Ankara Ecz. Fak. Derg., 2006. Vol. 35, nº 1, páginas 1-11. Ver página 2.	1-4
X	US 2002110600 A1 (VOORHEES et al.) 15.08.2002, página 1, [0004],[0006],[0009].	1,2
X	BRAUN, L. "Olive-leaf extract". Journal of Complementary Medicine, 2005. Vol. 4, nº 3, páginas 69-73. ISSN: 1446-8263.	1
X	MICOL, V. et al. "New applications of herbal extracts for functional food and pharmaceuticals. Part 2". Agro Food Industry hi-tech, 2003. Vol. 14, nº 6, páginas 14-16.	1
X	KHAYYAL, M. T. et al. "Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (Olea europaea) in L-NAME induced hypertension in rats". Arzneimittel-Forschung, 2002. Vol. 52, nº 11, páginas 797-802. ISSN: 0004-4172.	1
A	US 2003004117 A1 (HAMDI et al.) 02.01.2003, página 2, [0015],[0016],[0026]; página 3, [0032]; página 9, [0104]-[0106]; página 10, [0110]-[0112]; página 11, [0126],[130],[132].	1-4
A	GOULAS, V. et al. "Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells". Molecular Nutrition & Food Research, 1 mayo 2009. Vol. 53, nº 5, páginas 600-608. ISSN: 1613-4125. Ver página 602, columna 2, "Results and discussion".	1-4
A	ES 2274721 A1 (LABORATORIOS BELMAC, S.A.) 16.05.2007, columnas 2,3.	1-4
E	WO 2010070183 A1 (SANIDAD Y RESIDENCIAS 21,S.A.U.) 24.06.2010, todo el documento.	1-4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
16.08.2010

Examinador
Asha Sukhwani

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 36/63 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

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

A61K, A61P

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

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, X-FULL, NPL, HCAPLUS, FSTA, AGRICOLA, CABA, LIFESCI, HEALSAFE, PASCAL, SCISEARCH, INTERNET

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.08.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones _____	SÍ
	Reivindicaciones 1 - 4	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones _____	SÍ
	Reivindicaciones 1 - 4	NO

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

Base de la Opinión.-

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

Consideraciones:

La presente invención tiene por objeto una composición que comprende extractos de hojas de olivo enriquecidos en polifenoles y/o factores estimulantes de angiogénesis y vasculogénesis (reivindicación 1) y es para administración oral, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, trasdérmica, intratraqueal, intramuscular, intravenosa o para inhalación (reivindicación 2).

También es objeto de protección el uso de la composición anterior para la fabricación de un medicamento para la inducción de angiogénesis y vasculogénesis (reivindicación 3) que se administra por vía oral, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, trasdérmica, intratraqueal, intramuscular, intravenosa o para inhalación (reivindicación 4).

1. Documentos considerados.-

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ALTINYAY, C. & ALTUN, M. L. "HPLC analysis of oleuropein in Olea europaea L." Ankara Ecz. Fak. Derg., 2006. Vol. 35, nº 1, páginas 1 - 11. Ver página 2	2006
D02	US 2002110600 A1	15.08.2002
D03	BRAUN, L. "Olive-leaf extract". Journal of Complementary Medicine, 2005. Vol. 4, nº 3, páginas 69 - 73. ISSN: 1446-8263	2005
D04	MICOL, V. et al. "New applications of herbal extracts for functional food and pharmaceuticals. Part 2". Agro Food Industry hi-tech, 2003. Vol. 14, nº 6, páginas 14 - 16	2003
D05	KHAYYAL, M. T. et al. "Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (Olea europaea) in L-NAME induced hypertension in rats". Arzneimittel-Forschung, 2002. Vol. 52, nº 11, páginas 797 - 802. ISSN: 0004-4172	2002
D06	US 2003004117 A1	02.01.2003
D07	GOULAS, V. et al. "Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells". Molecular Nutrition & Food Research, 2009. Vol. 53, nº 5, páginas 600 - 608. ISSN: 1613-4125. Ver página 602, columna 2, "Results and discussion"	01.05.2009
D08	ES 2274721 A1	16.05.2007
D09	WO 2010070183 A1	24.06.2010

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

Los documentos citados se refieren al extracto de hoja de olivo y hacen referencia al extracto de hoja de olivo en composiciones. En efecto,

* D01 es el documento más relevante y divulga que el extracto de hoja de olivo se ha descrito para el tratamiento de fiebre y malaria. Entre sus componentes activo están los polifenoles, principalmente la oleuropeina y enumera varias de sus propiedades farmacológicas que promueve entre ellas la angiogénesis (página 2), anticipando las características técnicas de las reivindicaciones 1 - 4.

* D02 se refiere a composiciones para tratar síntomas de gripe que comprende 80-88% de extracto de hojas de olivo (página 1, [0004], [0006], [0009]). Por lo tanto divulga composiciones que comprenden extractos de hojas de olivo, anticipando las características técnicas de las reivindicaciones 1 y 2.

Por lo tanto, a la vista de los documentos D01 y D02, se puede concluir que las reivindicaciones 1 - 4 carecen de novedad según el Artículo 6 LP 11/86.

ACTIVIDAD INVENTIVA

El objeto de incorporar hojas de olivo en composiciones ricas en polifenoles resulta evidente para el experto en la técnica, a la vista de los documentos D01 y D02, que además de la novedad afectan a la actividad inventiva. Pero además, los documentos D03 - D05 también resultan relevantes para el estudio de la actividad inventiva, así:

* D03 se refiere al extracto de hoja de olivo y a sus aplicaciones terapéuticas gracias a sus polifenoles como la oleuropeina.

* D04 divulga aplicaciones de extractos de hierbas como alimentos funcionales y farmacéuticos citando específicamente al extracto de hojas de olivo rico en polifenoles (página 14).

* D05 hace referencia a los efectos hipotensores y vasodilatadores del extracto de hoja de olivo (página 798, columna 1).

Hoja adicional

A la vista de estos documentos, el experto en la técnica incorporaría extractos de hojas de olivo en composiciones y los usaría sin ningún esfuerzo inventivo, lo cual es el objeto de la reivindicación 1 - 4.

Por ello, a la vista de los documentos D01 a D05 se puede concluir que las reivindicaciones 1 - 4 carecen de actividad inventiva según el Artículo 8 LP 11/86.

Es de señalar que los documentos citados D06 y D07 divulgan la actividad del extracto de hoja de olivo por su inhibición de la angiogénesis. En efecto,

* D06 se refiere a un método para inhibir la angiogénesis (página 2, [0015], [0016], [0026]; página 3, [0032]; página 9, [0104] - [0106]; página 10, [0110] - [0112]; página 11, [0126], [130], [132]).

* D07 se refiere a fitoquímicos de extracto de hoja de olivo y a su actividad antiproliferativa contra cáncer y células endoteliales (página 602, columna 2, "Results and discussion").

Este efecto de inhibición es el contrario a la inducción de angiogénesis y vasculogénesis que la solicitud en estudio propone conseguir al incorporar extractos de hojas de olivo a composiciones y medicamentos.