

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 822 575**

51 Int. Cl.:

A61K 31/12 (2006.01)

A61K 36/185 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 3/14 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.07.2013 PCT/EP2013/065804**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014 WO14016409**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.07.2013 E 13742623 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2020 EP 2877167**

54 Título: **Usos de composiciones que contienen un extracto tostado y xantohumol**

30 Prioridad:

26.07.2012 DE 102012014745

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.05.2021

73 Titular/es:

**ARCAINI, ANTONIO (100.0%)
Le St André, 20 Boulevard de Suisse
98000 Monaco, MC**

72 Inventor/es:

**BACK, WERNER;
ZÜRCHER, ACHIM y
WUNDERLICH, SASCHA**

74 Agente/Representante:

ZUAZO ARALUZE, Alexander

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 822 575 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Usos de composiciones que contienen un extracto tostado y xantohumul

5 La presente invención se refiere principalmente a usos específicos de una composición que contiene un extracto tostado y xantohumul con fines de promoción de la salud.

10 Es bien sabido que el xantohumul tiene efectos positivos muy diversos sobre la salud humana y animal. Por ejemplo, además de los efectos antimicrobianos, se observa actividad preventiva contra una amplia gama de enfermedades mediante diversos mecanismos.

Por ejemplo, se ha informado de actividad preventiva del cáncer, acción protectora contra la osteoporosis, síndrome metabólico, diabetes y enfermedades cardiovasculares.

15 Cabe mencionar que estas subdivisiones no pueden ser estrictas. Por ejemplo, los efectos antioxidantes son tan positivos en la prevención de tumores como, por ejemplo, con el síndrome metabólico u otras enfermedades que hasta ahora no han sido investigadas en relación con el xantohumul.

20 Una gran cantidad de estudios describen los mecanismos de prevención del cáncer y se realizaron in vitro, principalmente en cultivos celulares. Se hace referencia separada a las pruebas in vivo. La génesis de un tumor es un fenómeno multifactorial; muchos mecanismos funcionan de forma interactiva, muchos son conocidos, muchos desconocidos. Una clasificación aplicada con frecuencia resume los eventos moleculares tempranos como "iniciación tumoral", los mecanismos del desarrollo y establecimiento de un tumor como "promoción tumoral" y el crecimiento de un tumor como "progresión tumoral". El efecto del xantohumul se examinó en una amplia diversidad de sistemas de acuerdo con los muchos mecanismos; estos se han resumido y descrito de la siguiente manera.

25 Las enzimas de fase I denotan las enzimas responsables de la transformación metabólica de sustancias procarcinogénicas en metabolitos cancerígenos reactivos, es decir, la toxicación. La inhibición de tales enzimas por el xantohumul en células tumorales en cultivo, en hígado de rata y en enzimas humanas recombinantes ha sido descrita por Henderson et al. (2000), *Xenobiotica*, 30, 235-251; Miranda et al. (2000), *Cancer Lett*, 149, 21-29; Miranda et al. (2000), *Drug Metab Dispos.*, 28, 1297-1302 y Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969.

30 Las enzimas de fase II son aquellas que son responsables en el organismo de la conjugación de metabolitos cancerígenos reactivos, secretándolos de las células hacia la desintoxicación. Por tanto, la estimulación de esta clase de enzima es protectora. La estimulación mediante xantohumul en células de cultivo de tumores de hígado humano también ha sido descrita por Henderson et al. (2000), *Xenobiotica*, 30, 235-251; Miranda et al. (2000), *Cancer Lett*, 149, 21-29; Miranda et al. (2000), *Drug Metab Dispos.*, 28, 1297-1302 y Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969.

35 La oxidación celular es un proceso necesario para el organismo para sustentar la vida (obtención de energía, respiración, defensa bacteriana). Durante su curso se produce un daño oxidativo que el organismo sano eliminará utilizando sus propios sistemas de reparación. Si estos sistemas son inadecuados, ya sea por defectos, por un exceso de daño oxidativo, como por ejemplo en las inflamaciones crónicas, las moléculas oxidativas reactivas pueden reaccionar con las macromoléculas del propio organismo y dar lugar a defectos y mutaciones que pueden ser la causa de una tumor así como de otras enfermedades. Por esta razón, las características antioxidantes son altamente significativas para la prevención de tumores y otras lesiones celulares. El xantohumul inhibe la formación y la acción de moléculas reactivas de oxígeno e hidrógeno en cultivos celulares, en fracciones de hígado de rata y en sistemas de modelos enzimáticos, como describen Miranda et al. (2000), *J. Agric. Food Chem.*, 48, 3876-3884; Rodríguez et al. (2001), *Food Chem. Toxicol.*, 39, 437-445; Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969, Stevens et al. (2003) *Chem. Res. Toxicol.*, 16, 1277-1286 y Vogel et al. (2008), *Natural and non-natural prenylated chalcones: Synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity*. *Bioorg. Med. Chem.*, e-pub. Debe decirse que el xantohumul no es capaz de interceptar el radical difenilpicrilhidrazilo estable (DPPH) en interacción química directa (Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969; Dietz et al. (2005), *ChemRes. Taxieal.*, 18, 1296-1305; Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 821823; Jung et al. (2005), *Arch. PharmRes.*, 28, 534-540). Parece que el efecto antioxidante del xantohumul se deriva de mecanismos celulares indirectos.

40 Como ya se describió, los procesos inflamatorios son a menudo la causa de la formación de sustancias nocivas oxidativas que pueden ser responsables de una serie de enfermedades. No solo esto, en muchos tumores humanos se detectan sustancias que indican la participación de procesos inflamatorios. Por este motivo, los agentes antiinflamatorios actúan de forma preventiva frente a los tumores. En Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969; Zhao et al. (2003), *BiolPharm. Bull.*, 26, 61 -65 y Cho et al. (2008), *Int.Immunopharmacol.*, 8, 567-573, el xantohumul se describe en cultivo celular como antiinflamatorio; en Monteiro et al. (2008) *Xanthohumul inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts*, *J. Cell Biochem*, e-pub, el efecto inhibitor

sobre la inflamación también se estableció in vivo en ratones después de la administración oral de una dosis de 4 a 6 mg/kg por día para 60 días en agua de beber.

El estrógeno es un factor de crecimiento y proporciona a las células degeneradas una ventaja en el crecimiento. Por esta razón, se considera que los antiestrógenos tienen una acción preventiva del cáncer con tumores que dependen de hormonas. En Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969; Effenberger et al. (2005), *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 96, 387-399; Monteiro et al. (2006), *J. Agric. Food Chem.*, 54, 2938-2943 y Monteiro et al. (2007) *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 105, 124130, se ha descrito el efecto antiestrógeno del xantohumol in vitro; esto también se describe en Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969 en un modelo de cultivo de órganos de la glándula mamaria de ratón. En una prueba in vivo en ratas, también fue posible detectar la acción antiestrógeno después de la aplicación oral de tres x 100 mg/kg de xantohumol durante tres días (Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 821823).

Una característica significativa en la génesis y el crecimiento de un tumor es el pronunciado crecimiento de las células tumorales. La inhibición de la proliferación sirve para prevenir el cáncer y proporcionar terapia tumoral. Por este motivo se buscan sustancias antiproliferativas que inhiban el crecimiento de las células tumorales, pero al mismo tiempo no destruyan las células sanas. En muchos casos, por supuesto, se trata de una cuestión de dosis y del momento de inicio de la acción de la sustancia. Se ha descrito que el xantohumol inhibe el crecimiento en 24 líneas celulares tumorales diferentes (Miranda et al. (1999), *Alimentos Chem. Toxicol.*, 37, 271 - 285; Gerhauser et al. (2002), *Mol. Cancer Ther.*, 1, 959-969; Herath et al. (2003), *ChemPharm. Bull. (Tokio)*, 51, 1237-1240; Dietz et al. (2005), *ChemRes. Taxieal.*, 18, 1296-1305; Goto et al. (2005), *Cancer Lett.*, 219, 215-222; Lust et al. (2005), *Mol. Nutr. Food Res.* 49, 844850; Pan et al. (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 837-843; Albini et al. (2006), *FASEB J.*, 20, 527-529; Oelmulle et al. (2006), *Phytomedicine.*, 13, 732-734; Colgate et al. (2007), *Cancer Lett.*, 246, 201-209; Dell'Eva et al. (2007), *Cancer*, 110, 2007-201 1; Lee et al. (2007), *ArchPharm. Res.*, 30, 14351439; Monteiro et al. (2007), *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 105, 124130; Delmulle et al. (2008), *PhytotherRes.*, 22, 197-203; Monteiro et al. (2008), Xanthohumol inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts, *J. Cell Biochem*, e-pub y Vogel et al. (2008) Natural and non-natural prenylated chalcones: Synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity, *Bioorg. Medicina. Chem*, e-pub).

La apoptosis es un fenómeno ambivalente y en el tejido sano se considera perjudicial. Sin embargo, es deseable para la eliminación de células dañadas y células cancerosas. Por tanto, las sustancias inductoras de la apoptosis pueden ser tanto preventivas como terapéuticas. La inducción de apoptosis por xantohumol pudo detectarse en cultivos celulares (Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 821823; Lust et al. (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 844850; Pan et al. (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 837-843; Vanhoecke (2005), entrevista. *J Cancer*, 1 17, 889-895; Colgate et al. (2007), *Cancer Lett.*, 246, 201-209; Dell'Eva et al. (2007), *Cancer*, 110, 2007-201 1; Yang et al. (2007), *Apoptosis.*, 12, 1953-1963) e in vivo en ratones (Monteiro et al. (2008) Xanthohumol inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts, *J. Cell Biochem.*, E-pub) después de 4-6 mg/kg por día durante 60 días en el agua de beber.

Para crecer, un tumor necesita recibir nutrientes. Una vez que ha alcanzado un cierto tamaño, se forman nuevos vasos sanguíneos para este propósito, sin los cuales el crecimiento del tumor se estancaría. Por tanto, los inhibidores de la angiogénesis actúan para prevenir el cáncer y son eficaces en la terapia del cáncer. La acción antiangiogénica del xantohumol se describe en cultivo celular (Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 821823; Albini et al. (2006), *FASEB J.*, 20, 527-529; Dell'Eva et al., *Cancer*, 110, 2007-201 1) e in vivo en ratones (Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 821823; Albini et al. (2006), *FASEB J.*, 20, 527-529; Monteiro et al. (2008), Xanthohumol inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts, *J. Cell Biochem.*, E-pub) después de dosis de aproximadamente 1 mg/kg por día (Albini et al. (2006), *FASEB J.*, 20, 527-529) durante tres días por vía oral, 4-6 mg/kg por día durante 60 días en agua de beber (Monteiro et al. (2008), *J. Cell Biochem.*, E-pub) o 1000 mg/kg por vía subcutánea (Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 821823).

En estudios adicionales sobre los mecanismos moleculares de la acción protectora del xantohumol, se observó la influencia sobre el NF- κ B (factor nuclear kappa B). NF- κ B es un factor de transcripción celular que interviene en la estimulación y producción de genes diana proinflamatorios como la interleucina, el factor de necrosis tumoral α , la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la ciclooxigenasa inducible (Cox-2) y tiene una influencia determinante sobre la progresión y la duración de una inflamación. Las enfermedades que presentan genes regulados por NF- κ B incluyen eventos inflamatorios con glomerulonefritis, arteriosclerosis, choque séptico o fibrosis pulmonar, así como enfermedades crónicas como asma y artritis reumatoide. En Albini et al. (2006), *FASEB J.*, 20, 527-529; Colgate (2007), *Cancer Lett.*, 246, 201-209; Dell'Eva et al. (2007), *Cancer*, 110, 2007-201 1 y Monteiro et al. (2008), *J. Cell Biochem.*, E-pub, la inhibición de NF- κ B se describe en cultivo celular e in vivo.

En estudios con animales, se investigó el xantohumol por su acción en la prevención del cáncer. Se pudo demostrar que en tres modelos de tumores diferentes, el xantohumol inhibió la formación del tumor. Células de tumor de mama humano (células MX-1 en el estudio Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49,821823; Las células MXF7

del estudio Monteiro et al. (2008), Xanthohumol inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts, *J. Cell Biochem.*, E-pub) se transfirieron a ratones inmunodeficientes y se midió el crecimiento del tumor. Como se describe en Gerhauser y Frank (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 821823, después de una administración subcutánea diaria de 1000 mg/kg de xanthohumol, el crecimiento del tumor se inhibió en un 46% en una semana y en un 83% en dos semanas. Como se describe en Monteiro et al. (2008), Xanthohumol inhibits inflammatory factor production and angiogenesis in breast cancer xenografts, *J. Cell Biochem.*, E-pub, con una dosis diaria de 4-6 mg/kg de xanthohumol en el agua de beber, el crecimiento del tumor se inhibió en un 35%, sin embargo, este resultado no se pudo validar estadísticamente al nivel del 95%. Como se describe en Albini et al. (2006), *FASEB J.*, 20, 527-529, las células de un sarcoma de Kaposi humano (KS-IMM) se transfirieron a ratones inmunodeficientes y se trataron con aproximadamente 1.2 mg/kg de xanthohumol durante 23 días; el crecimiento del tumor se inhibió en un 68%.

Los estudios antimutagénicos/antigenotóxicos de Miranda et al. (2000), *Cancer Lett.*, 149, 21-29; Dietz et al. (2005), *ChemRes. Toxicol.*, 18, 1296-1305; Plazar et al. (2007), *MutatRes.*, 632, 1-8; Kac et al. (2008), *Phytomedicine.*, 15,216-220 y Plazar et al. (2008), *Toxicol In Vitro*, 22, 318-327, describen actividades antimutagénicas y antigenotóxicas del xanthohumol. Las células en cultivo o en hígado de rata se pre-incubaban con xanthohumol y posteriormente se tratan con sustancias genotóxicas o cancerígenas que forman radicales. Tanto en la llamada prueba de Ames, una prueba de daño mutagénico en cultivo bacteriano, como en el ensayo Comet, una prueba que describe el daño del ADN causado por sustancias genotóxicas, el xanthohumol podría inhibir los daños hasta en un 100%, dependiendo de dosis que oscilen entre 0,01 a 10 μ M.

El xanthohumol actúa contra los microorganismos (Herath (2003), *ChemPharm.Bull. (Tokio)*, 51, 1237-1240; Buckwold et al. (2004), *Antiviral Res.*, 61, 57-62; Wang (2004), *Antiviral Res.*, 64, 189-194; Frolich (2005), *J. Antimicrob. Chemother.*, 55, 883-887; Allen (2007), *Avian Dis.*, 51, 21-26). Los estudios de Miranda et al. (2000), *Drug Metab Dispos.*, 28, 1297-1302 y de Frolich et al. (2005), *J. Antimicrob. Chemother.*, 55, 883-887 describen un efecto contra 4 cepas diferentes de plasmodiums generadores de malaria y el estudio de Allen (2007), *Avian Dis.*, 51, 21-26, da una descripción de la acción contra la coccidia, un parásito que coloniza principalmente en el tracto gástrico-intestinal de los animales domésticos. El xanthohumol actúa in vitro como antiviral contra el VIH-1 (virus de inmunodeficiencia humana) (Wang et al. (2004), *Antiviral Res.*, 64, 189-194), contra BVDV (virus de la diarrea viral bovina), HSV-1 y 2 (virus del herpes simple) y contra CMV (citomegalovirus) (Buckwold et al. (2004), *Antiviral Res.*, 61, 57-62).

La estabilidad de los huesos depende del equilibrio entre las células formadoras de hueso (osteoblastos) y las células reabsorbentes de hueso (osteoclastos). Si la actividad de los osteoclastos es proporcionalmente mayor, se produce osteoporosis. Se pudo demostrar in vitro que el xanthohumol inhibe la reabsorción ósea en un 35% en una concentración de 1 μ M y en un 94% con 10 μ M (Tobe et al. (1997), *Biosci. Biotechnol. BioChem.*, 61, 158-159). Otro estudio (Effenberger et al. (2005), *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 96, 387-399) describe la activación de osteoclastos.

Diacilglicerol acetiltransferasa (DGAT) denota una enzima que es importante para la formación y acumulación de triglicéridos en la célula en el contexto del síndrome metabólico. Los estudios de Tabata et al. (1997), *Phytochemistry*, 46, 683-687 y Casaschi et al. (2004), *JNutr.*, 134, 13401346, muestran una inhibición de esta enzima por el xanthohumol in vitro; en el estudio dado a conocer por Nozawa et al. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 336, 754-761 se pudo detectar una reducción de los triglicéridos y del nivel de glucosa en plasma en ratones.

El xanthohumol se absorbe mal después de ser aplicada por vía oral en la rata y permanece prácticamente sin cambios en los excrementos (Avula et al. (2004), *JChromatogr. Sci.* 42, 378-382; Stevens (2004), *Phytochemistry*, 65, 1317-1330; Hanske (2005), *Mol. Nutr. Food Res.* 49, 868-873); in vitro se une a proteínas citosólicas (Pang et al. (2007), *Mol. Nutr. Food Res.*, 51, 872-879) que da como resultado la glucuronidación in vitro (Yilmazer (2001), *FEBS Lett.*, 491, 252-256; Ruefer et al. (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49,851 -856; Kim et al. (2006), *JNatProd.*, 69,1522-1524) e in vivo (Stevens (2004), *Phytochemistry*, 65,1317-1330). El excremento presentaba una amplia diversidad de metabolitos (Nookandeh et al. (2004), *Phytochemistry*, 65, 561 -570), que, sin embargo, también puede derivarse de la actividad microbiana en el intestino. La flora intestinal en sí no está influenciada en ratas (Hanske et al. (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 868-873).

La aplicación oral de xanthohumol en el agua de beber (5x10⁻⁴ M ad libitum correspondiente aproximadamente a 28 mg/kg/día) durante 4 semanas no mostró un impacto desfavorable en la salud de las hembras de ratones C3H. El desarrollo del peso y la apariencia de los órganos, los parámetros hematológicamente clínicos, los valores de las enzimas hepáticas y el parámetro del metabolismo de la glucosa no se vieron influenciados por el xanthohumol (Vanhoecke et al. (2005), *In Vivo*, 19, 103-107). En un estudio en ratas, se administraron diariamente 100 mg/kg de xanthohumol durante 4 semanas en agua de beber, 500 mg/kg mezclados con el alimento y 1000 mg/kg aplicados sobre el tubo faríngeo. Excepto por una reducción en el peso del hígado debido a la descomposición del glucógeno en los grupos de dosis altas (500 mg/kg/día y 1000 mg/kg/día), no se pudieron determinar efectos tóxicos de ningún tipo (Hussong et al. (2005), *Mol. Nutr. Food Res.*, 49,861 -867). Dado que el xanthohumol presenta actividad antiestrógena, la investigación se centró en si la reproducción con ratas se ve afectada. Los animales fueron tratados durante cuatro semanas con 100 mg/kg/día de xanthohumol en el agua de beber y posteriormente se aparearon. Ni el

pretratamiento de las hembras ni de los machos influyó en la fertilidad o la lactancia (Hussong et al. (2005), Mol. Nutr. Food Res., 49.861 -867).

5 Es notable lo extremadamente polifacético que es el espectro de actividad del xantohumol. Por ejemplo, inhibe los mecanismos de carcinogénesis en la fase de inicio y en las fases de promoción y progresión. Las características antioxidantes y antiinflamatorias son tan importantes como la actividad antiestrógeno, la inhibición de la proliferación celular, la inducción de la apoptosis y la inhibición de la angiogénesis. Todas estas características encontradas inicialmente in vitro, ahora también se han detectado in vivo en experimentos con animales.

10 Los estudios de toxicidad aguda y subcrónica (4 semanas) con hasta 100 mg/kg/día por vía oral no dieron indicios de toxicidad en ratones y ratas. La glucogenólisis en el hígado de rata después de dosis diarias superiores a 500 mg/kg de xantohumol puede explicarse fácilmente por el aumento significativo del requerimiento de energía que culmina en el metabolismo de grandes cantidades de xenobióticos. Se debe enfatizar que concentraciones tan altas solo se administran para probar la posible toxicidad. Estudios recientes presentaron efectos de prevención del cáncer con
15 dosis de mg/kg de un dígito.

Debido a que los mecanismos de carcinogénesis en roedores y humanos son comparables, dado que los efectos metabólicos de ambos son muy similares y muchos estudios se realizan con enzimas humanas recombinantes, células humanas en cultivo o con células humanas en ratones inmunodeficientes, también se pueden anticipar resultados
20 similares para humanos.

La invención descrita en el presente documento se basa en el objetivo principal de proporcionar medios mediante los cuales se puedan potenciar uno, varios o todos los efectos de promoción de la salud del xantohumol en seres humanos y/o animales.

25 El xantohumol (en lo sucesivo también denominado XN), un prenilflavonoide (polifenol) del lúpulo, se encuentra en las glándulas de lupulina de los conos de lúpulo. El contenido de XN en el lúpulo varía según la variedad de lúpulo entre 0,1 y 1%. Las variedades de lúpulo que tienen un alto contenido de XN suelen contener una gran proporción de sustancias amargas.

30 Los productos de lúpulo pueden dividirse en lúpulo crudo, gránulos de lúpulo y extractos de lúpulo. Dado que XN se encuentra en las glándulas de lupulina del cono de lúpulo, los gránulos de lúpulo generalmente exhiben un alto contenido de XN correspondiente a la acumulación de alfa-ácidos. Los extractos de lúpulo pueden obtenerse mediante extracción con CO₂ y/o etanol. De manera convencional, los productos enriquecidos con XN se producen mediante
35 una combinación de ambos métodos de extracción. Dependiendo del método de producción se alcanzan contenidos de XN de entre el 8 y el 99%. La producción de extractos de lúpulo enriquecidos con XN y bebidas que comprenden XN se describe por ejemplo en las patentes DE 19939350, DE 10256031, DE 10240065 y EP 1431385.

40 En el proceso de elaboración de la cerveza, el XN es relativamente inestable y se precipita principalmente vía poso, levadura, por filtración y estabilización debido a su limitada solubilidad. Además, el XN se isomeriza a iso-XN que también tiene un efecto positivo, sin embargo, en un grado bastante menor en comparación con XN. Con métodos convencionales se alcanzan menos de 0,2 mg/l de XN en la cerveza final en la mayoría de los casos. En algunas cervezas oscuras tipo "stout" o "porter" se encontraron contenidos de XN de hasta 1,2 mg/l de XN (Walker et al., Brauwelt 2003). Con un método de preparación especial que aplica añadir el lúpulo más tarde y un enfriamiento rápido del mosto de cerveza, es posible aumentar el contenido de XN en cervezas claras sin filtrar (DE 102 56 166).
45

Estudios internos anteriores en nombre del solicitante, que se centraban en un campo técnico diferente al objeto aquí descrito, han demostrado que las sustancias tostadas solubles parecen ser capaces de adsorber o unir XN y, por lo tanto, aparentemente mantenerlo en solución, lo que da como resultado rendimientos mucho más altos de XN en
50 extractos de lúpulo. En este contexto, se ha proporcionado un método para producir un extracto tostado que comprende XN a partir de productos tostados de cereales, malta de cereales, café o cacao y un extracto de lúpulo que comprende XN. El extracto de lúpulo que comprende XN se caracteriza por un contenido particularmente alto de XN. Debido al uso de este extracto tostado, se pueden obtener cervezas con un contenido significativamente mayor de XN en comparación con el estado de la técnica de acuerdo con la ley de pureza alemana, por ejemplo (cf. EP 1 761 245 B1). Además, la isomerización de XN a iso-XN se suprime en gran medida debido a la mejora del método de
55 elaboración. Por lo tanto, es posible aumentar las cantidades de dosis de XN sin permitir que las cervezas se vuelvan desagradablemente amargas, por ejemplo. Además, es posible la adición de estabilizadores, lo que normalmente conduciría a una disminución importante del contenido de XN.

60 Aunque también es deseable un alto contenido de XN para explotar los efectos de promoción de la salud del XN, en primer lugar se esperaba que la unión y/o adsorción de XN a las sustancias tostadas sería perjudicial para la actividad beneficiosa de XN.

Sin embargo, otros estudios posteriores que comparan directamente la actividad de un extracto tostado que contiene XN con la actividad del XN puro ahora muestran sorprendentemente que una composición que contiene un extracto tostado y XN es incluso más eficaz que el XN puro. Por tanto, las interacciones de las sustancias tostadas con XN parecen no solo facilitar un mayor rendimiento de XN en el extracto, sino que además parecen potenciar las actividades beneficiosas de XN.

Por lo tanto, el objetivo primario anterior se cumple con una composición, preferiblemente una composición farmacéutica, que comprende xantohumol (XN), preferiblemente en una cantidad terapéuticamente eficaz, para

- (i) uso en el tratamiento y/o prevención del cáncer, y/o
 - (ii) uso en el tratamiento y/o prevención de la osteoporosis, y/o
 - (iii) uso en el tratamiento y/o prevención del síndrome metabólico, y/o
 - (iv) uso en el tratamiento y/o prevención de la diabetes, y/o
 - (v) uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades cardiovasculares, y/o
 - (vi) uso como antioxidante, y/o
 - (vii) uso como agente desintoxicante, preferiblemente como agente inductor de enzimas desintoxicantes carcinógenas, y/o
 - (viii) uso en la inhibición de la activación metabólica de procarcinógenos, y/o
 - (ix) uso como agente antimutagénico y/o antígenotóxico, y/o
 - (x) uso como agente antiestrogénico y/o estrogénico, y/o
 - (xi) uso en la inducción de apoptosis, y/o
 - (xii) uso como agente antiangiogénico, y/o
 - (xiii) uso como agente antiinflamatorio, y/o
 - (xiv) uso en la inhibición de NF-κB, y/o
 - (xv) uso como agente antimicrobiano, y/o
- donde la composición está definida en la reivindicación 1.

"Extracto tostado" denota preferiblemente un extracto frío o caliente de malta tostada molida o sin moler.

"Extracto de lúpulo que comprende XN" denota preferiblemente un extracto de lúpulo que se obtuvo con la ayuda de un disolvente y presenta un contenido de XN, preferiblemente aumentado.

Los estudios mencionados anteriormente indican que en combinación con sustancias tostadas, los efectos beneficiosos de XN sobre la salud humana y/o animal se mejoran sinérgicamente.

Sin desear ceñirse a ninguna teoría, actualmente se supone que las interacciones entre las sustancias tostadas y XN aumentan la biodisponibilidad de XN. Por un lado, esto significa que el cuerpo o una célula pueden absorber más XN. Por otro lado, una mayor estabilidad frente a la degradación metabólica puede desempeñar un papel en los efectos observados. Como resultado, cantidades más pequeñas de XN en el extracto tostado exhiben una mayor actividad en comparación con el XN puro.

Por tanto, una composición de acuerdo con la presente invención es idealmente adecuada para el tratamiento y la prevención de una diversa gama de enfermedades.

Por ejemplo, en el tratamiento y/o prevención del cáncer, una composición de acuerdo con la invención puede interferir con la génesis, el crecimiento y/o la proliferación del tumor por diversas interacciones que incluyen antioxidantes, antiestrogénicos o inductores de apoptosis así como actividad antiangiogénica. La desintoxicación mejorada de carcinógenos y la inhibición de la activación metabólica de procarcinógenos por una composición de acuerdo con la invención así como la actividad antimutagénica y/o antígenotóxica pueden servir ventajosamente para prevenir eficazmente el cáncer.

Cualquiera de los efectos mencionados anteriormente puede estar implicado al mismo tiempo en el tratamiento y/o prevención de otros trastornos o enfermedades tales como osteoporosis o síndrome metabólico.

El síndrome metabólico incluye una amplia gama de trastornos que conducen a enfermedades graves, como enfermedades cardiovasculares y/o diabetes. Por tanto, son muy deseables las medidas preventivas y el tratamiento precoz del síndrome metabólico.

También se puede aplicar una composición según la invención por su acción antiinflamatoria.

Entre los efectos beneficiosos en este contexto, se observa una inhibición eficaz de NF-κB y permite su uso en el tratamiento y/o prevención de eventos inflamatorios con glomerulonefritis, arteriosclerosis, choque séptico, fibrosis pulmonar, asma y/o artritis reumatoide.

En una realización preferida, una composición según la invención tiene un contenido de XN de al menos 10 mg/kg, preferiblemente de al menos 20 mg/kg, preferiblemente de al menos 50 mg/kg, en particular de al menos 200 mg/kg.

5 Preferiblemente, la cantidad de extracto tostado es suficiente para potenciar, preferiblemente para potenciar sinérgicamente, el efecto o efectos terapéuticos del XN descritos anteriormente.

Debido a la mejora sinérgica de la actividad del XN en una composición de acuerdo con la invención, incluso cantidades bajas de XN en la composición muestran efectos beneficiosos pero el contenido puede incrementarse significativamente si se desea ya que la prueba de toxicidad descrita anteriormente indica un uso seguro.

10 El extracto tostado en una composición de acuerdo con la invención se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en un extracto frío o caliente de malta tostada.

15 Preferiblemente, para producir un extracto tostado, se prepara un extracto acuoso caliente de las maltas tostadas molidas.

Una composición de acuerdo con la invención se puede obtener o se obtiene preferiblemente mediante un método que comprende la etapa de mezclar XN o, respectivamente, un extracto de lúpulo que comprende XN, con un extracto tostado seleccionado del grupo que consiste en un extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida.

20 El XN en una composición de acuerdo con la invención se puede proporcionar sintéticamente, por ejemplo, como describen Khupse y Erhardt en "Total synthesis of xanthohumol ", J Nat. Prod., 2007, 70 (9), 1507-9, o puede proporcionarse en un extracto de lúpulo.

25 Preferiblemente, el extracto de lúpulo que comprende XN se agrega al comienzo del período de calentamiento cuando se prepara el extracto tostado ya que la presencia de los productos tostados conduce a un contenido de XN que es mucho más alto que el límite de solubilidad de XN en soluciones acuosas típicas.

30 En una realización preferida de la composición según la invención, el extracto de lúpulo usado que comprende XN tiene un contenido de XN que está en el intervalo de 0,5 a 99% p/p (peso/porcentaje en peso) de XN.

35 El contenido de XN en una composición de acuerdo con la invención puede ser bajo ya que los efectos beneficiosos se mejoran sinérgicamente por las sustancias tostadas en el extracto tostado. Alternativamente, se puede usar un extracto de lúpulo altamente enriquecido en XN y se puede diluir fuertemente en la composición resultante si es conveniente para la aplicación pretendida.

40 En una realización preferida adicional, después de mezclar el extracto de lúpulo que comprende XN con el extracto tostado, la mezcla resultante se concentra, preferiblemente por evaporación, liofilización o a presión reducida, a materia seca de 40-50% p/p (peso/peso por ciento), particularmente de 47 a 48% p/p (peso/porcentaje en peso).

Dependiendo del uso previsto, la mezcla se puede concentrar y posteriormente diluir en un medio adecuado.

45 El método mediante el cual se obtiene o se puede obtener una composición de acuerdo con la invención puede comprender además la etapa de (pre) disolver el extracto de lúpulo en etanol para disolver el XN, preferiblemente mediante calentamiento, agitación, mezcla, sacudida, tratamiento supersónico, la aplicación de corriente alterna y/o tratamiento con un medio dispersante.

50 Cualquiera de los tratamientos mencionados anteriormente puede servir para aumentar la cantidad de XN en solución facilitando el procesamiento posterior y asegurando la interacción eficiente de una cantidad máxima de XN con las sustancias tostadas en la posterior mezcla con el extracto tostado.

La presente invención también se refiere al uso de un extracto tostado para potenciar, preferiblemente para potenciar sinérgicamente, uno o más efectos terapéuticos de XN.

55 Los efectos terapéuticos a potenciar mediante el uso según la invención son preferiblemente uno, varios o todos los efectos seleccionados del grupo que consiste en efectos preventivos de tumores, efectos antioxidantes, efectos de antiproliferación tumoral, efectos de desintoxicación de carcinógenos, efectos antimutagénicos, efectos antígenotóxicos, inhibición de la activación metabólica de procarcinógenos, efectos antiestrogénicos, efectos estrogénicos, inducción de apoptosis, efectos antiangiogénicos, efectos anti-osteoporosis, efectos anti-síndrome metabólico, efectos antiinflamatorios, e inhibición de NF-κB.

60 En una realización preferida del uso según la invención, el XN está presente en forma de o como componente de un extracto de lúpulo.

En una realización preferida adicional del uso según la invención, el extracto tostado se selecciona del grupo que consiste en un extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida.

5 En una realización particularmente preferida del uso según la invención, tanto el extracto tostado como el XN o, respectivamente, el extracto de lúpulo, son componentes de una composición farmacéutica.

10 Para el uso, en el que el extracto tostado así como el XN o, respectivamente, el extracto de lúpulo, son componentes de una composición farmacéutica, se consiguen preferiblemente los mismos efectos y ventajas que los descritos anteriormente en el contexto del uso según la invención.

15 La presente invención se refiere además a un método para mejorar, preferiblemente para mejorar sinérgicamente, uno o más efectos terapéuticos de XN, en el que el método comprende la siguiente etapa:

- mezclar XN con un extracto tostado, seleccionándose el extracto tostado preferiblemente del grupo que consiste en un extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida, con la condición de que el XN sea XN puro, o XN producido sintéticamente y/o no derivado del lúpulo.

20 El XN puro puede o producirse sintéticamente o purificarse a partir de un extracto de lúpulo excluyendo cualquier componente potencialmente indeseable que pueda interferir con los efectos beneficiosos mejorados aquí descritos y puede servir para evitar efectos secundarios indeseables, que pueden resultar de la presencia de otros componentes.

25 Los efectos terapéuticos a potenciar mediante el método de acuerdo con la invención son los mismos que los mencionados en el contexto de los usos descritos anteriormente.

Además, la presente invención también se refiere a un método para producir una composición, preferiblemente una composición farmacéutica, en el que el método comprende la siguiente etapa:

30 - mezclar XN con un extracto tostado, seleccionándose el extracto tostado preferiblemente del grupo que consiste en un extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida, con la condición de que el XN sea XN puro, o XN producido sintéticamente y/o no derivado del lúpulo.

35 Para el método para producir una composición, se aplican preferiblemente los mismos efectos y ventajas que los detallados anteriormente.

40 Por último, la presente invención también se refiere a una composición, preferiblemente una composición farmacéutica, que consiste en o comprende un extracto tostado, seleccionándose preferiblemente el extracto tostado del grupo que consiste en un extracto frío o caliente de malta cereales, café o cacao tostados molidos gruesos o no molidos, y XN, con la condición de que el XN sea XN puro, o XN producido sintéticamente y/o no derivado del lúpulo.

45 Para la composición según la invención, se aplican preferiblemente los mismos efectos y ventajas que se describen en el contexto de las composiciones, usos y métodos detallados anteriormente.

50 Es evidente que una composición como se describe en este documento, en particular una composición farmacéutica como se describe en este documento, puede - dependiendo del uso previsto - contener uno o más componentes adicionales, tales como aditivos farmacéuticos convencionales, preferiblemente uno, dos, tres o más portadores y/o diluyentes y/o ingredientes adicionales farmacéuticamente aceptables, en particular uno, dos, tres o más excipientes farmacéuticos.

55 Los ingredientes farmacéuticamente aceptables pueden ser, por ejemplo, aglutinantes tales como polímeros naturales o sintéticos, excipientes, desintegrantes, lubricantes, tensioactivos, edulcorantes y otros agentes aromatizantes, materiales de revestimiento, conservantes, colorantes, espesantes, adyuvantes, agentes antimicrobianos y portadores para los diversos tipos de formulación.

60 Las composiciones farmacéuticas preferidas de acuerdo con la presente invención son formulaciones orales y pueden ser formulaciones sólidas tales como cápsulas, comprimidos, píldoras y trociscos, o una formulación en suspensión líquida; particularmente preferidos son los comprimidos de gel.

65 La composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede usarse directamente en forma de jarabe o gel o puede combinarse con otros ingredientes farmacéuticamente aceptables mezclando los componentes y eventualmente dividiéndolos finamente y/o llenándolos en cápsulas, compuestas por ejemplo de gelatina dura o blanda y/o comprimiéndolos en comprimidos, píldoras o trociscos y/o suspendiéndolos en un medio líquido. Se pueden aplicar recubrimientos después de la compresión para formar píldoras.

La presente invención también se refiere a una composición para uso en un método para el tratamiento y/o prevención de una, dos o todas las enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en cáncer, síndrome metabólico,

diabetes, enfermedad (es) cardiovascular (es) y osteoporosis que comprende la etapa de administrar a un sujeto que necesite del mismo una cantidad eficaz de una composición farmacéutica como se describe anteriormente.

5 En particular, la presente invención se refiere a una composición para uso en un método para conferir uno o más de los efectos seleccionados del grupo que consiste en efectos preventivos de tumores, efectos antioxidantes, efectos anti proliferación antitumoral, efectos de desintoxicación, efectos antimutagénicos, efectos antigenotóxicos, inhibición de la activación metabólica de procarcinogenes, efectos antiestrogénicos, efectos estrogénicos, inducción de apoptosis, efectos antiangiogénicos, efectos anti-osteoporosis, efectos anti-síndrome metabólico, efectos antiinflamatorios, e inhibición de NF-κB, en un sujeto que los necesite, que comprenden el paso de administrar al
10 sujeto una cantidad eficaz de una composición farmacéutica como se describe anteriormente.

Para los métodos para el tratamiento y/o prevención y el método para conferir los efectos enumerados anteriormente, se aplican preferiblemente los mismos efectos y ventajas que se describen en el contexto de las composiciones, usos y métodos detallados anteriormente.

15 **Ejemplo 1:** Preparación de una composición farmacéutica para fines médicos como se describe en este documento.

Después del macerado de malta que comprende 1,9 kg de malta de cebada tostada (Carafa (TM), tipo 2, Fa. Weyermann, Bamberg) y 0,1 kg de malta tipo Pilsen según el método "congress" y separación del macerado, se añade
20 25 g/l de un extracto de lúpulo enriquecidos con XN (XanthoExtrakt, Simon H. Steiner Hopfen GmbH, XN 2,0%) durante la ebullición de la malta tostada. Después de la separación del sedimento caliente y una separación con tierra de diatomeas, la malta tostada que comprende XN se concentra al vacío (200 mbar, aprox. 55°C) hasta un contenido de extracto de aproximadamente 50% p/p. El extracto parecido a un jarabe ("densidad 1,25" kg/l) tiene un contenido de XN de aproximadamente 1320 mg/kg. El extracto de malta tostada que contiene XN se puede mezclar directamente
25 con cualquier portador y aditivo farmacéutico convencional según se desee.

REIVINDICACIONES

1. Composición, preferiblemente composición farmacéutica, que comprende xantohumol (XN), preferiblemente en una cantidad terapéuticamente eficaz, para
- 5 (i) uso en el tratamiento y/o prevención del cáncer, y/o
(ii) uso en el tratamiento y/o prevención de la osteoporosis, y/o
(iii) uso en el tratamiento y/o prevención del síndrome metabólico, y/o
(iv) uso en el tratamiento y/o prevención de la diabetes, y/o
10 (v) uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedad(es) cardiovascular(es), y/o
(vi) uso como antioxidante terapéutico, y/o
(vii) uso como agente desintoxicante, y/o
(viii) uso en la inhibición de la activación metabólica de procarcinógenos, y/o
(ix) uso como agente antimutagénico y/o antígenotóxico, y/o
(x) uso como agente antiestrogénico y/o estrogénico, y/o
15 (xi) uso en la inducción de apoptosis, y/o
(xii) uso como agente antiangiogénico, y/o
(xiii) uso como agente antiinflamatorio, y/o
(xiv) uso en la inhibición de NF-κB,
donde la composición comprende o consiste en (a) extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida
20 y (b) XN, preferiblemente un extracto de lúpulo que comprende XN, y/o en la que la composición se puede ser obtenida o se obtiene mezclando (a) extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida y (b) XN o, preferiblemente, un extracto de lúpulo que comprende XN.
2. Composición para uso según la reivindicación 1, en la que la composición tiene un contenido de XN de al
25 menos 10 mg/kg, preferiblemente de al menos 20 mg/kg, preferiblemente de al menos 50 mg/kg, preferiblemente de al menos 200 mg/kg
3. Composición para uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición puede ser obtenida o se obtiene por un método que comprende la etapa de mezclar XN o, respectivamente, un extracto de
30 lúpulo que comprende XN con un extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida.
4. Composición según la reivindicación 3, en la que el extracto de lúpulo usado que comprende XN tiene un contenido de XN que está en el intervalo de 0,5 a 99% p/p (peso/porcentaje en peso) de XN.
- 35 5. Composición según la reivindicación 3 o 4, en la que después de mezclar el extracto de lúpulo que comprende XN con el extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida, la mezcla resultante se concentra, preferiblemente por evaporación, liofilización o a presión reducida, a materia seca de 40-50% p/p (peso/porcentaje en peso), particularmente de 47 a 48% p/p (peso/porcentaje en peso).
- 40 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en la que el extracto de lúpulo es (pre)disuelto en etanol para disolver el XN, preferiblemente mediante calentamiento, agitación, mezcla, sacudida, tratamiento supersónico, la aplicación de una corriente alterna y/o tratamiento con un medio dispersante.
- 45 7. Extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida para uso en un método para mejorar, preferiblemente para mejorar sinérgicamente uno, más o todos los efectos terapéuticos del XN descritos en la reivindicación 1.
- 50 8. Extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida para uso según la reivindicación 7, en el que XN está presente en forma de o como un componente de un extracto de lúpulo.
9. Extracto frío o caliente de malta tostada molida gruesa o no molida para uso según las reivindicaciones 7 u 8 en la que tanto el extracto de malta tostada como el XN o, respectivamente, el extracto de lúpulo son componentes de una composición farmacéutica.