

*C12C 3/00* (2006.01)  
*C07D 311/32* (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2014-913**  
(22) Přihlášeno: **16.12.2014**  
(40) Zveřejněno: **29.06.2016**  
**(Věstník č. 26/2016)**  
(47) Uděleno: **25.07.2018**  
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **05.09.2018**  
**(Věstník č. 36/2018)**

(56) Relevantní dokumenty:  
(BARTMANŠKA, AGNIESZKA; BIOTRANSFORMATIONS OF PRENYLATED HOP FLAVONOIDS FOR DRUG DISCOVERY AND PRODUCTION; CURRENT DRUG METABOLISM, 2013(14), 1083-1097), 12. 2013.  
US 8067622 B2; CA 2549662 A1.

(73) Majitel patentu:  
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,  
Praha 6 - Dejvice, CZ  
BIOMEDICA, spol. s r.o., Praha 5, CZ

(72) Původce:  
prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc., Mělník, CZ  
Ing. Tereza Hudcová, Praha 6, CZ  
Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D., Středokluky, CZ  
Ing. Kristýna Fialová, Plzeň, CZ  
Ing. Marcel Karabín, Ph.D., Havířov - Prostřední  
Suchá, CZ

(74) Zástupce:  
Oddělení VaV VŠCHT Praha, Ing. Iveta  
Pospíšilová, Technická 5, 166 28 Praha 6

(54) Název vynálezu:  
**Způsob přípravy chmelového materiálu se  
zvýšeným obsahem 8-prenylaringeninů a  
chmelový materiál**

(57) Anotace:  
Řešení poskytuje způsob přípravy chmelového materiálu se zvýšeným obsahem 8-prenylaringeninů v chmelu a/nebo chmelovém materiálu, kdy se chmel a/nebo chmelový materiál o vlhkosti nepřesahující 10 % hmotn. inkubuje po dobu 2 až 10 dní při teplotě v rozmezí 40 až 80 °C za přítomnosti alespoň jednoho oxidu kovu jako katalyzátoru. Dále řešení poskytuje chmelový materiál, vyznačený tím, že obsahuje alespoň 0,03 % hmotn. 8-prenylaringeninů. Výsledný chmelový materiál je vhodný pro potravinářské a farmaceutické využití nebo pro izolaci biologicky aktivních látek.

## Způsob přípravy chmelového materiálu se zvýšeným obsahem 8–prenylnaringeninů a chmelový materiál

### 5 Oblast techniky

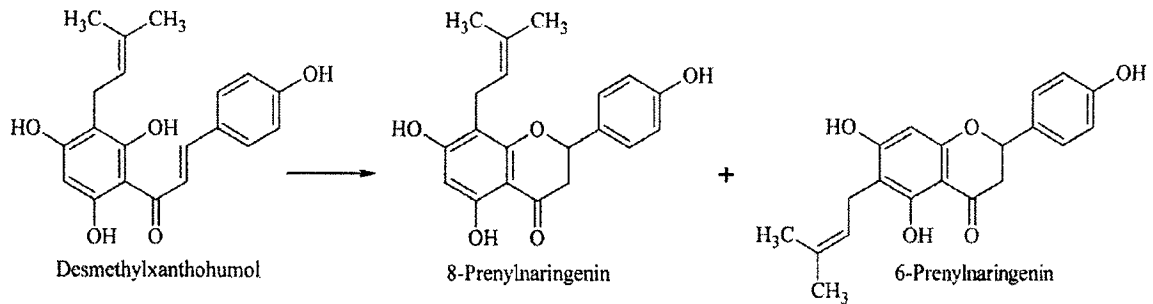
Vynález spadá do oblasti fyzikálně–chemického zpracování rostlinných materiálů využívaných k farmaceutickým účelům a týká se konkrétně způsobu zpracování sušených chmelových hlávek či odhořčeného chmelového materiálu do formy chmelového preparátu bohatého na přírodní  
10 fytoestrogen 8–prenylnaringenin.

### Dosavadní stav techniky

15 Hlávky samičích rostlin chmele otáčivého (*Humulus lupulus* L.) jsou bohatým zdrojem řady látek s prokazatelně pozitivními účinky na lidské zdraví. V současnosti je předmětem zájmu zejména skupina prenylflavonoidů, která v sobě kombinuje fyzikálně–chemické vlastnosti chmelových pryskyřic a polyfenolů (Basařová et al., 2004). Z biologického hlediska se jedná o látky, u  
20 kterých byly prokázány výjimečné antioxidační (Gerhauser C. et al, 2002), antikancerogenní (Gerhauser C. et al., 2005), kardioprotektivní (Anthony M. et al., 1997) a estrogenní (Chadwick L. R. et al., 2006) účinky. Velmi zajímavým zástupcem prenylflavonoidů je jeden z nejsilnějších doposud izolovaných fytoestrogenů 8–prenylnaringenin. Estrogenní aktivita této látky je odvozena od její schopnosti interagovat s estrogenními receptory ER $\alpha$  a ER $\beta$ , přičemž samotný  
25 účinek interakce je založen na principu kompetitivní inhibice těchto receptorů (Bacciottini L., et al, 2007). V současné době probíhá intenzivní výzkum, zaměřený na využití 8–prenylnaringeninů pro potlačení řady klimakterických symptomů (deprese, únava atd.), prevenci rakoviny prsu a léčení osteoporózy (Chadwick L. R. et al., 2006).

8–prenylnaringenin vyskytuje téměř výhradně ve chmelových hlávkách, kde jeho množství  
30 nepřesáhne 0,02 % hmotn. Pivo je tudíž jediným přirozeným zdrojem 8–prenylnaringeninů v lidské stravě. Zde je však obsažen jen v minimálním množství, které je ze zdravotního hlediska bezvýznamné (Jurková M. et al., 2013). Lidská mikroflóra tlustého střeva je však schopna tuto látku sama tvořit z jiného chmelového prenylflavonoidu, isoxanthohumolu (Possemiers S. et. al.,  
35 2006), který je v pivu relativně hojně zastoupen (Jurková M. et al., 2013). Účinnost zmíněné biokonverze může být u zdravého člověka až 80 % a množství takto vzniklého 8–prenylnaringeninů dosahuje často až desetinásobku množství původně přijatého z piva. Je třeba si ovšem uvědomit, že míra této přeměny je vysoce závislá na mnoha faktorech, zejména pak na věku, genetické výbavě a zdravotním stavu jedince (Possemiers S. et. al., 2006).

40 Výše zmíněná biokonverze isoxanthohumolu na 8–prenylnaringenin by byla ovšem z výrobního hlediska velmi složitý a ekonomicky nesmírně nákladný biotechnologický proces, a proto jsou v současné době hledány snadnější a úspornější alternativy výroby této látky. Jednu z možností může představovat využití chmelového prenylflavonoidů desmethylxanthohumolu, který je v chmelových hlávkách relativně hojně zastoupený (Atlas českých odrůd chmele, *Chmelařský  
45 institut s.r.o.*, Žatec 2012) a který může za určitých podmínek snadno izomerovat na směs 6–prenylnaringeninů (velmi slabé estrogenní účinky) a 8–prenylnaringeninů (viz obr. 1).



Obr. 1.: Izomerace desmethylxanthohumolu na 6– a 8–prenylnaringenin

5 V současnosti je znám pouze jediný způsob zvýšení obsahu 8–prenylnaringeninů v chmelu a chmelových materiálech. Metodika je popsána v patentu z roku 2009 (EP1727555 B1) a je založena na izomeraci prenylflavonoidů ve vlhčeném chmelovém materiálu za zvýšené teploty a v zásadité oblasti pH. Tato metoda se však jeví jako finančně nákladná a časově zdouhavá.

#### 10 Literatura:

- Basarová G. et al., *Chem. Listy* (2004), 98, 825–830.  
 Gerhauser C. et al., *Mol. Cancer Ther.* (2002), 1, 959–969.  
 Gerhauser C., *Eur. J. Cancer* (2005), 41, 1941–1954.  
 15 Anthony M. et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (1997), 17, 2524–2531.  
 Chadwick L. R. et al., *Phytomedicine* (2006), 13, 119–131.  
 Jurková M. et al., *Kvasný Prům.* (2013), 59, 41–49.  
 Possemiers S. et al., *J. Agric. Food Chem* (2005), 53, 6281–6288.  
 Bacciottini L., et al., *Clin. Cases Miner. Bone. Metab.* (2007), 4, 123.  
 20 De Keukeleire D. et al., *U.S. Patent Application 2009–04–24*. EP1727555 B1  
 Atlas českých odrůd chmele, *Chmelařský institut s.r.o.*, Žatec 2012

#### Podstata vynálezu

25 Výše uvedené nedostatky stavu techniky odstraňuje předkládaný vynález, jehož předmětem je nový způsob zpracování chmele a chmelových materiálů do formy preparátu se zvýšeným obsahem fytoestrogenů 8–prenylnaringeninů. Tento způsob zpracování je založen na principu tzv. suché izomerace, kdy z chmelového prenylflavonoidů desmethylxanthohumolu vzniká směs  
 30 izomerů 6– a 8–prenylnaringeninů.

Podstata vynálezu spočívá v tom, že se chmel a/nebo chmelový materiál o vlhkosti nepřesahující 10 % hmotn. inkubuje po dobu 2 až 10 dní při teplotě v rozmezí 40 až 80 °C za přítomnosti  
 35 alespoň jednoho oxidu kovu, například oxidu přechodného kovu či oxidu kovu alkalických zemin (potravinářská čistota), jako katalyzátoru.

Chmelový materiál s výhodou zahrnuje sušené chmelové hlávky nebo chmelové pelety, odhořčený chmelový materiál (např. odhořčený zbytek po CO<sub>2</sub> extrakci) a chmelový extrakt.

40 S výhodou se použije vstupní chmelový materiál s co nejvyšším obsahem desmethylxanthohumolu. Z tohoto hlediska je z českých chmelů nejvíce vyhovující odrůda Vital, která podle údajů Chmelařského institutu, s. r. o. (Atlas českých odrůd chmele, Chmelařský institut s.r.o., Žatec 2012) obsahuje 0,25 až 0,40 % hmotn. desmethylxanthohumolu. Jako výhodné se rovněž ukázalo využití odhořčeného zbytku (chmelový materiál zbavený pryskyřic  
 45 prostřednictvím CO<sub>2</sub> extrakce) granulovaného chmele této odrůdy. Podíl desmethylxanthohumolu u odhořčeného zbytku je stejný nebo mírně zvýšený v porovnání s původním chmelovým

materiálem, nicméně není zde přítomna řada balastních látek, zejména  $\alpha$ - a  $\beta$ -hořké kyseliny. Další nespornou výhodou odhořčených chmelových zbytků je jejich nízká cena.

5 Pro zajištění co nejvyšší míry izomerace je nezbytné, aby vstupní chmelový materiál reagoval suchý. Použití materiálu s vlhkostí převyšující 10 % hmotn., vede k výraznému snížení reakčního výtěžku. Vlhký chmelový materiál sebou rovněž přináší zvýšené riziko plísňové kontaminace. Teplotní rozmezí izomerace je 40 až 80 °C, s výhodou 50 až 70 °C. Použití nižší teploty se projeví nižší výtěžností reakce. Naopak použití vyšších teplot neumožní dosáhnout vyšších výtěžností a při překročení uvedené maximální teploty může dojít i k termické degradaci 8-  
10 prenylnaringenin. Rychlost a výtěžnost izomerace desmethylxanthohumolu na 6- a 8- prenylnaringenin je krom výše zmíněné teploty závislá také na přítomnosti katalyzátoru (např. oxid hořečnatý či oxid titaničitý), jehož dávka se s výhodou pohybuje v rozmezí 0,1 až 0,5 % původní (vstupní) hmotnosti chmelového materiálu. Aplikace katalyzátoru se provádí tak, že ke chmelovému materiálu je přidán jemně mletý katalyzátor a vzniklá směs je následně důkladně  
15 promíchána tak, aby došlo k distribuci částic katalyzátoru v celém objemu směsi.

Doba reakce se pohybuje od 2 do 10 dní, maximálního výtěžku 8-prenylnaringenin se dosáhne při době reakce v intervalu 7 až 9 dní izomerace.

20 Použitím postupu podle předkládaného vynálezu lze navýšit množství 8-prenylnaringenin přítomného v původním chmelovém materiálu o více než 60 %, což představuje významně vyšší výtěžek než v postupech známých ze stavu techniky.

25 K výrobě chmelového preparátu se zvýšeným obsahem 8-prenylnaringenin lze v průmyslovém měřítku využít jakoukoliv vsádkově či kontinuálně pracující sušárnu vybavenou zařízením pro regulaci teploty.

Předmětem předkládaného vynálezu je dále chmelový materiál s obsahem alespoň 0,03 % hmotn. 8-prenylnaringenin. Chmelovým materiálem jsou s výhodou sušené chmelové hlávky, odhořčené chmelové hlávky, chmelový extrakt.  
30

Předmětem předkládaného vynálezu je také chmelový materiál s obsahem alespoň 0,03 % hmotn. 8-prenylnaringenin, připravitelný způsobem podle vynálezu.

35

#### Příklady uskutečnění vynálezu

##### Příklad 1

40

K 50 kg mletého a suchého (vlhkost max. 10 % hmotn.) zbytkového materiálu vzniklého CO<sub>2</sub> extrakcí pelet typu 90 odrůdy Vital (obsah desmethylxanthohumolu – 0,50 % hmotn.; obsah 8-prenylnaringenin – 0,02 % hmotn.) bylo přidáno 150 g (tj. 0,3 % hmotn. jemně mletého oxidu titaničitého (potravinářská čistota). Vzniklá směs byla důkladně promíchána minimálně 10 minut,  
45 aby došlo k distribuci částic katalyzátoru v celém objemu směsi, která byla v následujícím kroku umístěna do vsádkové či kontinuální sušárny, kde byla ponechána 8 dní při teplotě 60 °C. Obsah 8-prenylnaringenin v nově vzniklém chmelovém preparátu převyšoval hranici 0,032 % hmotn..

##### 50 Příklad 2

K 50 kg mletého a suchého (vlhkost max. 10 % hmotn.) zbytkového materiálu vzniklého CO<sub>2</sub> extrakcí pelet typu 90 odrůdy Vital (obsah desmethylxanthohumolu – 0,50 % hmotn. obsah 8-prenylnaringenin – 0,02 % hmotn.) bylo přidáno 150 g (tj. 0,3 % hmotn.) jemně mletého oxidu hořečnatého (potravinářská čistota). Vzniklá směs byla důkladně promíchána minimálně 10  
55

minut, aby došlo k distribuci částic katalyzátoru v celém objemu směsi, která byla v následujícím kroku umístěna do vsádkové či kontinuální sušárny, kde byla ponechána 8 dní při teplotě 60 °C. Obsah 8–prenylnaringeninů v nově vzniklém chmelovém preparátu převyšoval hranici 0,032 % hmotn.

5

### Průmyslová využitelnost

Nový způsob zpracování chmelových materiálů podle předkládaného vynálezu umožňuje získat chmelový preparát s relativně vysokým obsahem fytoestrogenů 8–prenylnaringeninů. Tento preparát představuje velmi dobrou surovinu pro potravinářský nebo farmaceutický průmysl, kde může být použit buď samostatně jako doplněk stravy, případně z něj mohou být biologicky aktivní látky izolovány k dalšímu využití.

15

## PATENTOVÉ NÁROKY

20

1. Způsob přípravy chmelového materiálu se zvýšeným obsahem 8–prenylnaringeninů v chmelu a/nebo chmelovém materiálu, **vyznačený tím**, že se chmel a/nebo chmelový materiál o vlhkosti nepřesahující 10 % hmotn. inkubuje po dobu 2 až 10 dní při teplotě v rozmezí 40 až 80 °C za přítomnosti alespoň jednoho oxidu kovu jako katalyzátoru.

25

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačený tím**, že chmelový materiál je vybrán ze skupiny zahrnující sušené chmelové hlávky, odhořčené chmelové hlávky, chmelový extrakt.

30

3. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že se inkubace provádí při teplotě v rozmezí 50 až 70 °C.

35

4. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že se oxid kovu použije v množství 0,1 až 0,5 % vstupní hmotnosti chmelového materiálu.

5. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že oxidem kovu je oxid přechodného kovu a/nebo oxid kovu alkalických zemin, s výhodou oxid titaničitý a/nebo oxid hořečnatý.

40

6. Způsob podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačený tím**, že doba inkubace je v rozmezí 7 až 9 dní.

7. Chmelový materiál, připravitelný způsobem podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, **vyznačený tím**, že obsahuje alespoň 0,03 % hmotn. 8–prenylnaringeninů.

45

---

Konec dokumentu

---

50