

HUMULUS LUPULUS L.

* *Manuela Zavatti,*
Paola Zanoli

Humulus L. appartiene, insieme a Cannabis L., alla famiglia delle Cannabaceae (o Cannabinaceae o anche Cannabidaceae). La specie più nota e più diffusa è *H. lupulus* L., nativa del continente euroasiatico e coltivata in tutte le regioni temperate del Nord e Sud America, Sud Africa, Australia. Nell'Asia orientale è endemica la specie *H. japonicus*, che presenta però un profilo fitochimico nettamente diverso da *H. lupulus*. Le specie presenti in America (*H. americanus*, *neomexicanus*, *volubilis*, *vulgaris*, *communis*) sono considerate in realtà varietà diverse o sinonimi di *H. lupulus*. La pianta del luppolo viene indicata nei diversi Paesi con nomi comuni come orticaccio in italiano, hops (o hop strobiles o hop-pes) in inglese, houblon (o vigne du Nord) in francese, Hopfen (o Hopfenzapfen) in tedesco, betiguera (o hambrecillo) in spagnolo. Oggi esistono più di cento cultivar di luppolo e si riconoscono diversi chemotipi: questo è in larga parte dovuto alla necessità di selezionare particolari caratteristiche organolettiche per migliorare la qualità della birra. Alcuni cultivar sono stati ottenuti per produrre un contenuto

superiore al 20% di acidi amari, mentre altri sono stati selezionati per il loro contenuto in olio volatile (Neve, 1991).

BOTANICA

Il luppolo è una pianta rampicante destrorsa che ogni anno si sviluppa a partire da un tronco permanente raggiungendo 7-10 m. di altezza. È una specie dioica: solo gli individui femminili vengono coltivati, mentre quelli maschili vengono tenuti lontano dalle aree di coltivazione per impedire la formazione dei semi e garantire un prodotto geneticamente costante. I semi vengono utilizzati solo al fine di ottenere nuove varietà. Infatti le nuove piante vengono generalmente ottenute dai rizomi opportunamente tagliati e trapiantati direttamente in terra all'inizio della primavera. Il fusto cresce molto rapidamente in senso verticale e necessita di una struttura di sostegno su cui arrampicarsi: si presenta angoloso, volubile, scabro per la presenza di brevi peli rigidi e ricurvi.

Le foglie, lungamente picciolate e ricoperte di peli, sono profondamente incise in 3-5 lobi ovali, acuti all'apice, con margine grossolanamente seghettato. I fiori maschili verdastri sono disposti



Humulus lupulus L.



Humulus japonicus

in grappoli composti all'ascella delle foglie. La droga è rappresentata dalle infiorescenze femminili detti coni o strobili, riuniti in grappoli all'estremità dei rami. Di lunghezza attorno ai 2-4 cm e di colore verde giallognolo, i coni sono formati da brattee fogliacee di forma ovale, con aspetto membranoso a maturità, embricate le une sulle altre, ricoperte di peli ghiandolari gialli. Questi, ottenuti dalla droga per setacciamento, prendono il nome di luppolino che si presenta come una polvere di colore giallo, odore speziato e sapore amaro (Maugini, 1994; Blumenthal, 1998). I coni di luppolo vengono raccolti, nell'emisfero nord, nel periodo agosto-settembre, quando iniziano ad assumere un colore giallo, consistenza cartacea, odore caratteristico e presentano alla base tracce di polvere gialla.

Per stabilizzare al meglio la composizione della droga, utilizzata nell'industria della birra, le condizioni di crescita, raccolta, essiccamento, trasporto e stoccaggio sono state rigorosamente ottimizzate e in qualche caso anche brevettate.

FITOCHIMICA

Nei coni di luppolo sono state finora identificate più di 1000 sostanze chimiche, che possono essere raggruppate in componenti dell'olio essenziale, acidi amari e flavonoidi prenilati. Sono presenti anche glicosidi flavonolici (astragalina, kempferolo, quercetina, quercitrina, rutina) e quantità apprezzabili di tannini (2-4%).

Olio essenziale

La presenza di olio essenziale nel luppolo (0,2-0,5%) dipende dalla varietà, dal metodo di essiccamento, dall'età e dalle condizioni

di conservazione della droga. Monoterpeni, sesquiterpeni e alcani semplici ossidati sono i costituenti volatili dell'essenza di luppolo (Eri et al., 2000). I più importanti rappresentanti di questi gruppi sono il mircene tra i monoterpeni, l'_cariofillene (umulene) e il _cariofillene tra i sesquiterpeni.

Acidi amari

Le sostanze amare del luppolo, che rappresentano il 5-20% della droga, sono derivati prenilati del floriglucunolo con una catena laterale 3-,4-,5- o 6-carbonio ossialchilica: gli _acidi (di-prenilati) e i _acidi (tri-prenilati). Gli _acidi, comprendenti umulone (35-70% degli _acidi totali), cumulone (20-65%), adumulone (10-15%), sono considerati i componenti più importanti per la qualità del luppolo (Fig. 1). In particolari condizioni (elevata temperatura e pH basico) gli _

acidi isomerizzano ai corrispondenti iso-_acidi, che, per la loro maggiore solubilità e il più spiccato sapore amaro rispetto ai composti di origine, rappresentano la componente quantitativamente più elevata del luppolo nella birra. I _acidi comprendono una miscela di lupulone, colupulone, adlupulone (Fig.1). Queste sostanze sono poco solubili e non vanno incontro a reazioni di isomerizzazione come gli _acidi. La biosintesi, l'isomerizzazione, l'ossidazione e la degradazione degli _ e _acidi sono stati ampiamente studiati (Verzele e De Keukeleire, 1991).

Flavonoidi prenilati

Insieme all'olio volatile e agli acidi amari, nel luppolo sono presenti almeno 30 diverse molecole appartenenti chimicamente a quella particolare classe di flavonoidi, denominati calconi. Tra questi lo xantoumolo (XU) è quello quantitativamente più importante (0,01-0,5%) (Stevens et al., 1999). Anche questo composto, in condizioni di aumento del pH, isomerizza a isoxantoumolo (IX). Oltre ai composti della serie dello xantoumolo, sono presenti diversi flavonoidi prenilati derivati del desmetilxantoumolo (DMX). L'isomerizzazione del "pro-estrogeno" DMX porta alla sua conversione in una miscela (ca 3:2) di 6-prenilnaringenina (6-PN) e 8-prenilnaringenina (8-PN), il principale fitoestrogeno contenuto nel luppolo (Hänsel e Schulz, 1988). Tale composto è un prodotto racemico 1:1 (± - 8-PN) (De Keukeleire et al., 2001) (Fig.2).

USI TRADIZIONALI

L'utilizzo del luppolo nella medicina tradizionale come blando sedativo nacque dall'osservazione che coloro che raccoglievano,

lavoravano o maneggiavano le infiorescenze del luppolo presentavano sonnolenza e forme di stanchezza cronica. Il luppolo ha trovato indicazione negli stati di ipereccitabilità nervosa, nell'insonnia, negli stati di tensione. Un antico rimedio popolare è la bevanda sonnifera di coni freschi di luppolo, che si usavano anche chiusi dentro un cuscino da tenere sotto la testa durante la notte, per facilitare il sonno.

Dall'osservazione di turbe mestruali nelle donne raccogliatrici di luppolo, scaturì l'idea della presenza di sostanze ormonosimili di tipo estrogenico nella pianta. Così il luppolo trovò indicazione come anafrodisiaco maschile e come tale viene utilizzato, in aggiunta alle sue proprietà sedative, nella attuale medicina veterinaria.

Il luppolo per il suo caratteristico sapore amaro produce un'azione stimolante sulla secrezione di succo gastrico configurandosi così un blando stomachico. Il suo impiego nei disturbi digestivi risale a Paracelso, ma è citato anche nei "Discorsi" di Mattioli come rimedio nei disturbi del fegato e dello stomaco. Infine per uso esterno il luppolo è consigliato per il trattamento di lesioni che cicatrizzano difficilmente.

FARMACOLOGIA

Attività sedativa

L'iniziale tentativo di confermare l'effetto sedativo osservato nei raccoglitori di luppolo, somministrando un estratto della pianta per via orale ad animali da esperimento, non portò a risultati concreti (Hänsel e Wagener, 1967; Stocker, 1967). Soltanto alcuni anni dopo, Bravo et al. (1974) dimostrarono l'attività sedativa di un estratto etereo di luppolo nel topo osservando una ridotta attività locomotoria del-

l'animale senza effetto miorilassante. L'azione sedativa è stata poi confermata da un altro studio condotto nel topo in cui un estratto di luppolo ha mostrato oltre alla proprietà ipnotica anche attività ipotermica, analgesica e anticonvulsivante (Lee et al. 1993).

L'effetto sedativo venne attribuito al 2-metil-3-buten-2-olo, composto che si forma durante lo stoccaggio del luppolo o in vivo per metabolizzazione degli _acidi (Wohlfarth et al., 1983a). Tale composto, però, dimostrava



Humulus lupulus L.



Humulus lupulus L. Orto Botanico Università di Torino. Da: "Iconografia Taurinensis", vol.VII, tav.35. Nel "Trattato Universale delle droghe semplici" (Padova 1735) si trova scritto che le cime delle giovani piante "sono buone da mangiare come asparagi" e che "le foglie e le cime tenere del luppolo sono usate in decozione nelle malattie del fegato, della milza, per purificare il sangue, per muovere l'urina".

attività sedativa in topi e ratti soltanto se somministrato a dosaggi elevati, superiori alla sua concentrazione negli estratti di luppolo presenti in commercio (Wohlfarth et al., 1983b).

Recentemente nel nostro laboratorio abbiamo indagato l'attività esercitata da un estratto di luppolo in CO₂ e dalle singole frazioni contenenti α -acidi e β -acidi a livello del sistema nervoso centrale nel ratto (Zanoli et al., 2005 e 2006). L'estratto in CO₂ e la frazione contenente α -acidi hanno mostrato proprietà sedative ed antidepressive; al contrario, la

somministrazione della frazione contenente β -acidi ha determinato un aumento dell'attività locomotoria dell'animale, una riduzione dell'effetto ipnoinducente esercitato da pentobarbital ed un peggioramento delle convulsioni provocate da picrotossina. Inoltre, anche la frazione α ha mostrato attività antidepressiva. Negli studi di elettrofisiologia condotti in vitro i α -acidi hanno mostrato la capacità di ridurre la trasmissione GABAergica. Quindi sarebbe la frazione contenente α -acidi e non quella contenente i β -acidi responsabile dell'effetto ipnoinducente osservato dopo somministrazione dell'estratto di luppolo in CO₂.

Per quanto riguarda gli studi in vitro, è stata recentemente messa in evidenza la capacità di un estratto secco di luppolo, contenente flavonoidi ma non acidi amari, di legare il recettore serotoninergico 5HT₆ (coinvolto nella patologia depressiva e nei

disturbi del sonno) e quello melatoninergico ML1 (coinvolto nella regolazione del ciclo sonno-veglia) (Abourashed et al., 2004). È stata, invece, esclusa l'attività agonista del luppolo sul recettore dell'adenosina A1 (Müller et al., 2002).

Attività estrogenica

L'ipotesi che il luppolo contenesse sostanze con proprietà ormonale nacque dall'osservazione di disturbi mestruali nelle donne addette alla raccolta manuale del luppolo, poco dopo l'inizio del loro lavoro. Inoltre i bagni a base di luppolo venivano consigliati per curare disturbi dell'apparato genitale femminile e preparati di luppolo venivano utilizzati per limitare i sintomi tipo vampate di calore delle donne in menopausa. Oggi sono presenti in commercio prodotti erboristici contenenti luppolo, consigliati per aumentare il volume del seno.

La prima osservazione scientifica di una attività estrogenica della pianta si deve a Koch e Heim (1953) i quali, tramite un test in vivo su ratte ovariectomizzate, trovarono un'attività estrogenica del luppolo equivalente a 20-300 μ g di estradiolo/g. Gli studi successivi riportarono risultati contraddittori: alcuni confermavano l'attività estrogenica, mentre altri la negavano. Ciò può trovare giustificazione nell'utilizzo di differenti tipi di estratti e di differenti tipi di test utilizzati per saggiare l'attività estrogenica.

Studi in vitro hanno dimostrato la capacità di un estratto metanolico di luppolo di legare i recettori per gli estrogeni ER₁ e ER₂, di indurre l'attività della fosfatasi alcalina, di aumentare l'espressione dei recettori per il progesterone in cellule endometriali in coltura e di aumentare l'espressione della preselina-2, un gene estrogeno-inducibile

(Liu et al., 2001). Parallelemente alle indagini farmacologiche gli studi fitochimici tentavano nel frattempo di isolare il principio responsabile della ancora incerta attività estrogenica. Tutti i dubbi scomparirono quando nel 1999 venne identificata la struttura chimica della 8-prenilnaringenina (8-PN) (Milligan et al., 1999). È stato dimostrato che la 8-PN è circa 100 volte più potente della genisteina (isoflavone della soia), ma al contrario presenta una maggiore affinità per gli ER₁ rispetto agli ER₂ (Schaefer et al., 2003). Pertanto, esistono i presupposti per orientare gli studi sulla 8-PN verso il trattamento dei principali disturbi peri- e post-menopausali. A tale proposito uno studio clinico ha riportato che la somministrazione per sei settimane di un estratto di luppolo, in grado di fornire una dose giornaliera pari a 100 μ g di 8-PN, riduce l'incidenza delle vampate di calore e di altri disturbi associati ad una carenza estrogenica nelle donne in post-menopausa (Heyerick et al., 2006).

Attività antitumorale

La capacità di inibire la proliferazione di linee cellulari di carcinoma mammario (MCF-7), di cancro al colon (HT-29) e di carcinoma ovarico (A2780) è stata dimostrata già da tempo per xantoumolo (XU), desmetilxantoumolo (DMX) e isoxantoumolo (IX) (Miranda et al., 1999). Tra questi lo xantoumolo è il composto ad azione chemopreventiva più studiato. Questa molecola è in grado di inibire l'attivazione metabolica dei procarcinogeni, di indurre la formazione di enzimi carcinogeno-detossificanti e di inibire la crescita dei tumori allo stadio iniziale (Stevens e Page, 2004). Recentemente è stata trovata una potente attività antipro-

liferativa sulle cellule PC-3 e DU145 di cancro alla prostata per XU e 6-PN, mentre 8-PN e IX avrebbero un'attività meno pronunciata e DMX sarebbe decisamente il meno efficace (Delmulle et al., 2006).

Studi condotti nel topo hanno correlato l'attività chemopreventiva dei flavonoidi prenilati del luppolo con l'induzione della quinone riduttasi (un enzima metabolizzante epatico di fase II) e una ridotta espressione di CYP1A1 (un enzima di fase I responsabile dell'attivazione dei cancerogeni) (Miranda et al., 2000).

Diversi componenti del luppolo, tra cui lo XU, hanno dimostrato la capacità di inibire la produzione di ossido nitrico (NO) tramite la soppressione della ossido-nitrico sintasi neuronale (nNOS) (Stevens et al., 2002). Dal momento che l'eccessiva produzione di NO sembra coinvolta nella carcinogenesi epiteliale, nella iperpermeabilità vascolare e nella angiogenesi, una minor produzione di questo composto, mediata dalla ossido-nitrico sintasi inducibile (iNOS), potrebbe giocare un ruolo nell'attività antiproliferativa dei calconi (Zhao et al., 2003). Anche gli acidi amari hanno un'azione antiproliferativa: in particolare hanno mostrato un potente effetto inibitorio sulla crescita di cellule leucemiche umane (HL-60) (Chen e Lin, 2004).

Attività antibatterica ed antifungina

L'attività antibatterica del luppolo, attribuita agli acidi amari, si esplica in particolare verso i batteri Gram-positivi (es. Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus), mentre i Gram-negativi mostrerebbero resistenza in virtù della struttura della loro

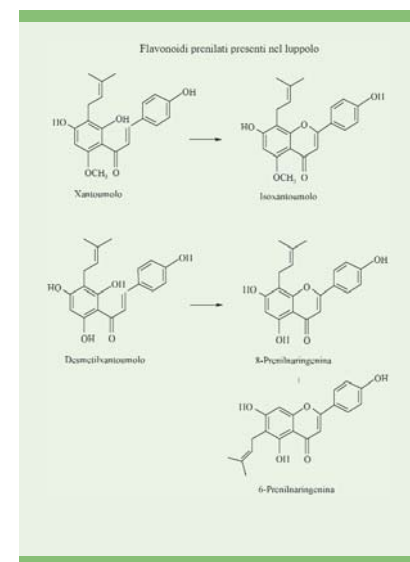
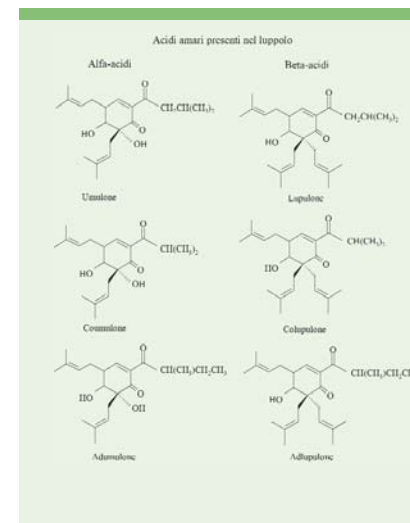




Foto: F. Mesarelli

Humulus lupulus L.

membrana esterna (Teuber e Schmalreck, 1973). L'attività antifungina degli acidi amari, anche se piuttosto scarsa, è stata comunque dimostrata nei confronti di *Trichophyton*, *Candida*, *Fusarium* e *Mucor* (Mizobuchi e Sato, 1985).

STUDI CLINICI

Non sono reperibili in letteratura studi clinici condotti utilizzando preparati monocomponente a base di luppolo: i pochi studi eseguiti riferiscono i risultati relativi a prodotti di associazione luppolo-valeriana, per il trattamento dell'insonnia.

Uno studio pilota ha valutato l'efficacia di un preparato di associazione contenente 500 mg di estratto di valeriana e 120 mg di estratto di luppolo, somministrato alla sera a pazienti affetti da insonnia lieve/moderata. Dopo due settimane di trattamento il risultato consisteva in una riduzione del tempo di addormentamento e del tempo di veglia (Fussel, 2000). Un preparato simile, combinato valeriana-luppolo, ha dimostrato, in uno studio randomizzato in doppio cieco su pazienti con disturbi del sonno, una efficacia e tollerabilità simile a quelle delle benzo-

diazepine (Schmitz e Jackel, 1998). In un recente studio clinico randomizzato, multicentrico, a gruppi paralleli, condotto su pazienti con insonnia lieve, è stato valutato l'effetto di un trattamento per 28 giorni di un'associazione di valeriana (187 mg) e luppolo (141,9 mg) in confronto a placebo e ad un farmaco di riferimento (difendramina). Sulla base di una riduzione nel tempo di latenza all'addormentamento, peraltro significativa anche dopo trattamento con difendramina, gli Autori hanno concluso che la combinazione valeriana-luppolo

esercita un modesto effetto ipnotico (Morin et al., 2005). In questo studio non sono stati segnalati eventi avversi di rilievo, né insonnia da sospensione. L'unico studio clinico condotto finora relativo all'utilizzo del luppolo per alleviare i disturbi della menopausa è stato recentemente pubblicato da Heyerick et al. (2006) ed è stato già citato nel paragrafo riguardante l'attività estrogenica.

EFFETTI COLLATERALI ED INTERAZIONI

Il luppolo è una droga relativamente sicura: non sono noti

effetti collaterali rilevanti a seguito di trattamento con dosi terapeutiche. Le segnalazioni di effetti avversi si riferiscono alla possibilità che, in individui sensibili, la droga possa provocare per contatto cutaneo dermatiti allergiche oppure per via inalatoria sintomi allergici fino a crisi anafilattiche. Negli addetti alla lavorazione del luppolo (stoccaggio e impacchettamento) sono stati osservati sintomi anche pronunciati di irritazione alle vie aeree e bronchite cronica (Mezner e Kajba, 1990). La presenza di disturbi respiratori insieme con lo sviluppo di reazioni di tipo immunologico (aumentato livello sierico di IgE totali) è stato successivamente confermato nei lavoratori delle industrie di birra (Godnic-Cvar et al., 1999).

In uno studio clinico in cui il luppolo è stato associato a valeriana è stata riportata come reazione avversa la comparsa di dolori allo stomaco (Schmitz e Jackel, 1998).

Studi sperimentali hanno rilevato che la DL50 per l'estratto di luppolo somministrato per via orale nei topi è dell'ordine di 500-3500 mg/kg (Hänsel et al., 1993).

Relativamente a possibili interazioni con altre piante medicinali o con farmaci, solo uno studio sull'animale da esperimento ha suggerito la possibilità di un potenziamento dell'attività sedativa in caso di associazione di luppolo con farmaci depressori del sistema nervoso centrale (Lee et al., 1993). In ogni caso viene consigliata particolare attenzione qualora il luppolo venga associato a farmaci ad azione antidepressiva (es. triciclici), sedativa (es. benzodiazepine) e anticonvulsivante (es. barbiturici, fenitoina, acido valproico). L'associazione potrebb-

IL LUPOLO NELLA PREPARAZIONE DELLA BIRRA

Le materie prime nella produzione della birra sono: acqua, cereali (orzo in particolare), luppolo e lievito.

Fasi della preparazione:

- Macerazione dell'orzo in acqua per consentire la germinazione. La germinazione produce enzimi che scindono l'amido in zuccheri semplici. Dalla macerazione si ottiene il malto d'orzo.
- Tostatura del malto d'orzo (torrefazione) a temperature diverse a seconda del tipo di birra che si vuole ottenere.
- Macinazione del malto, miscelazione con acqua e aggiunta • Fermentazione per aggiunta di lievito. La fermentazione può essere alta (T=12-15°C per ottenere una birra dal gusto forte e deciso) o bassa (T=5°C per una birra più dissetante).
- Stagionatura (maturazione) in appositi serbatoi.
- Filtrazione.
- Stabilizzazione in barile o bottiglia.

Il grado alcolico in genere va dal 2 al 6% in volume; per alcune birre speciali può arrivare all'8% in volume.

be infatti portare ad una eccessiva sedazione, alterazione della coordinazione motoria e della concentrazione.

La mancanza di dati relativi all'uso di luppolo durante la gravidanza e l'allattamento induce comunque ad una certa cautela.

CONCLUSIONI

Il luppolo è una pianta utilizzata sin dal Medioevo per la produzione della birra e ancora oggi per questo scopo è ampiamente coltivata in tutta la regione Nordeuropea. Conferisce infatti a questa bevanda il caratteristico aroma ed il sapore

amaro, ne aumenta la schiuma e ne favorisce la conservazione. La medicina tradizionale utilizza il luppolo principalmente come sedativo o anche come amaro eupeptico. I diversi preparati erboristici attualmente presenti in commercio contengono luppolo, in associazione ad altre piante medicinali, tipo valeriana, sono indicati nel trattamento dei disturbi del sonno. Altre preparazioni contenenti luppolo vengono consigliate per le loro proprietà estrogeniche. Gli studi sperimentali condotti finora indicherebbero che l'attività sedativa sia dovuta alla presenza degli acidi amari di tipo α , mentre dell'attività estrogenica appare responsabile la 8-prenilnaringenina, fitoestrogeno più potente dell'isoflavone genisteina e con alta affinità di legame per i recettori degli estrogeni ER.

Il campo di applicazione del luppolo, però, potrebbe essere potenzialmente allargato verso la prevenzione dei tumori, considerando gli interessanti risultati ottenuti in vitro, che indicano per xantoumolo ed altri calconi prenilati proprietà antiossidanti, antiangiogeniche, antinfiammatorie e antiproliferative. Considerando i numerosi costituenti chimici contenuti nella droga e le loro diverse proprietà farmacologiche, attualmente oggetto di studio da parte di vari gruppi di ricercatori, le prospettive future su un maggiore utilizzo di questa pianta appaiono estremamente interessanti.

*** UNIVERSITÀ DI MODENA E REGGIO EMILIA, Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Farmacologia**

Bibliografia

Abourashed, E.A., Koetter, U., Brattström, A., 2004. In vitro binding experiments with a Valerian, Hops and their fixed combination extract (Ze91019) to selected central nervous system receptors. *Phytomedicine* 11, 633-638.

Blumenthal, M., 1998. *The Complete German Commission E Monograph: Therapeutic Guide to Herbal Medicines*. Austin, TX: American Botanical Council, 147.

Bravo, L., Cabo, J., Fraile, A., Jimenez, J., Villar, A., 1974. Estudio farmacodinámico del lupulo (*Humulus lupulus L.*). *Accion tranquilizante*. *Boll Chim Farm* 113, 310-315.

Chen, W.-J., Lin, J.-K., 2004. Mechanisms of cancer chemoprevention by hop bitter acids (beer aroma) through induction of apoptosis mediated by Fas and caspase cascades. *J Agric Food Chem* 52, 55-64.

De Keukeleire, D., Milligan, S.R., Kalita, J.C., Poocek, V., De Cooman, L., Heyerick, A., Rong, H., Roelens, F., 2001. Prenylated flavonoids are key agents in relation to health-beneficial properties of beer. *Proceedings of the 28th International Congress of the European Brewery Convention*, Budapest, Hungary.

Delmulle, L., Bellaheene, A., Dhooge, W., Comhaire, F., Roelens, F., Huvaere, K., Heyerick, A., Castronovo, V., De Keukeleire, D., 2006. Anti-proliferative properties of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus L.*) in human prostate cancer cell lines. *Phytomedicine* in press.

Eri, S., Khoo, B.K., Lech, J., Hartman, T.G., 2000. Direct thermal desorption-gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry profiling of hop (*Humulus lupulus L.*) essential oils in support of varietal characterization. *J Agric Food Chem* 48, 1140-1149.

Fussel, A., Wolf, A., Brattstrom, A., 2000. Effect of a fixed valerian-hop extract combination (Ze 91019) on sleep polygraphy in patients with non-organic insomnia: a pilot study. *Eur J Med Res* 5, 385-390.

Godnic-Cvar, J., Zuskin, E., Mustajbegovic, J., Schachter, E.N., Kanceljak, B., Macean, J., Ilic, Z., Ebling, Z., 1999. Respiratory and immunological findings in brewery workers. *Am J Ind Med* 35 (1), 68-75.

Hänsel, R., Wagener, H.H., 1967. Attempts to identify sedative-hypnotic active substances in hops. *Arzneimittelforschung* 17 (1), 79-81.

Hänsel, R., Schulz, J., 1988. Desmethyloxanthohumol: isolierung aus hopfen und cyclisierung zu flavanonen. *Arch Pharm Weinheim* 321, 37-40.

Hänsel, R., Keller, K., Rimpler, H., Schneider, G., 1993. *Hägers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Drogen E-0.5. Auflage*. Springer Verlag Berlin Heidelberg: 455.

Heyerick, A., Vervaecke, S., Depypere, H., Bracke, M., De Keukeleire, D.D., 2006. A first prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study on the use of a standardized hop extract to alleviate menopausal discomforts. *Maturitas* 54, 164-175.

Koch, W., Heim, G., 1953. Estrogens in hops and beer: preliminary report. *Munch Med Wochenschr* 95 (31-32), 845.

Lee, K.M., Jung, J.S., Song, D.K., Kräuter, M., Kim, Y.H., 1993. Effects of *Humulus lupulus* extract on the central nervous system in mice. *Planta Med* 59, A691.

Liu, J., Burdette, J.E., Xu, H., Gu, C., van Breemen, R.B., Bhat, K.P., Booth, N., Constantinou, A.I., Pezzuto, J.M., Fong, H.H., Farnsworth, N.R., Bolton, J.L., 2001. Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *J Agric Food Chem* 49 (5), 2472-2479.

Mangini, E., 1994. *Manuale di botanica*. Ed. Piccin.

Meznar, B., Kajba S., 1990. Bronchial responsiveness in hops processing workers. *Pluene Bolesti* 42 (1-2), 27-29.

Milligan, S.R., Kalita, J.C., Heyerick, A., Rong, H., De Cooman, L., De Keukeleire, D., 1999. Identification of a potent phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus L.*) and beer. *J Clin Endocrinol Met* 83, 2249-2252.

Miranda, C.L., Stevens, J.F., Helmrich, A., Henderson, M.C., Rodriguez, R.J., Yang, Y-H., Deinzer, M.L., Barnes, D.W., Buhler, D.R., 1999. Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines. *Food Chem Toxicol* 37, 271-285.

Miranda, C.L., Aponso, G.L., Stevens, J.F., Deinzer, M.L., Buhler, D.R., 2000. Prenylated chalcones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7 cells. *Cancer Lett* 149, 21-29.

Mizubuchi, S., Sato, Y., 1985. Antifungal activities of hop bitter resins and related compounds. *Agric Biol Chem* 49, 399-403.

Morin, C.M., Koetter, U., Bastien, C., Ware, J.C., Wooten, V., 2005. Valerian-hops combination and diphenhydramine for treating insomnia: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Sleep* 28, 1465-1471.

Müller, C.E., Schumacher, B., Brattström, A., Abourashed, E.A., Koetter, U., 2002. Interactions of valerian extracts and a fixed valerian-hop extract combination with adenosine receptors. *Life Sci* 71, 1939-1949.

Neve, R.A., 1991. *Hops*. Chapman and Hall, New York.

Schaefer, O., Hümpel, M., Fritzmeier, K-H., Bohlmann, R., Schleuning, W.-D., 2003. 8-prenyl naringenin is a potent ER α selective phytoestrogen present in hops and beer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 84, 359-360.

Schmitz, M., Jackel, M., 1998. Comparative study for assessing quality of life of patients with exogenous sleep disorders (temporary sleep onset and sleep disorders) treated with a hops-valerian preparation and a benzodiazepine drug. *Wien Med Wochenschr* 148, 291-298.

Stevens, J.F., Taylor, A.W., Deinzer, M.L., 1999. Quantitative analysis of xanthohumol and related prenylflavonoids in hops and beer by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 832, 97-107.

Stevens, J.F., Miranda, C.L., Wolthers, K.R., Schimerlik, M., Deinzer, M.L., Buhler, D.R., 2002. Identification and in vitro biological activities of hop proanthocyanidins: inhibition of nNOS activity and scavenging of reactive nitrogen species. *J Agric Food Chem* 50, 3435-3443.

Stevens, J.F., Page, J.E., 2004. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!. *Phytochemistry* 65, 1317-1330.

Stocker, H.R., 1967. Sedative und hypnogene Wirkung des Hopfen. *Schweizer Brauerei Rundschau* 78, 80-89.

Teuber, M., Schmalreck, A.F., 1973. Membrane leakage in *Bacillus subtilis* 168 induced by the hop constituents lupulone, humulone, isohumulone and humulinic acid. *Arch Mikrobiol*



Humulus lupulus L. Da: Prof. Dr. Otto Wilhelm Thomé, Flora von Deutschland Österreich und der Schweiz, 1885, Gera, Germany

94, 159-171.

Verzele, M., De Keukeleire, D., 1991. *Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids*. Elsevier, Amsterdam.

Wohlfart, R., Wurm, G., Hänsel, R., Schmidt, H., 1983a. Detection of sedative hypnotic constituents. Part 5. Degradation of humulones and lupulones to 2-methyl-3-butene-2-ol, a hop constituent possessing sedative hypnotic activity. *Archiv der Pharmazie* 316, 132-137.

Wohlfart, R., Hänsel, R., Schmidt, H., 1983b. The sedativ-hypnotic principle of hops. 4. Communication: pharmacology of 2-methyl-3-buten-2-ol. *Planta Med* 48, 120-123.

Zaho, F., Nozawa, H., Daikonnya, A., Kondo, K., Kitanaka, S., 2003. Inhibitors of nitric oxide production from hops (*Humulus lupulus L.*). *Biol Pharm Bull* 26, 61-65.

Zanolli, P., Rivasi, M., Zavatti, M., Brusiani, F., Baraldi, M., 2005. New insight in the neuropharmacological activity of *Humulus lupulus L.* *J Ethnopharmacol* 102, 102-106.

Zanolli, P., Zavatti, M., Rivasi, M., Brusiani, F., Losi, G., Puia, G., Avallone, R., Baraldi, M., 2006. Evidence that the α -acids fraction of hops reduces central GABAergic neurotransmission. *J Ethnopharmacol*, doi: 10.1016/j.jep.2006.07.008.