

ACCION FARMACODINAMICA DEL LUPULO (*Humulus lupulus L.*)

Resumen de la tesis Doctoral realizada por L. BRAVO DIAZ y dirigida por el Prof. Dr. J. CABO TORRES.

Ars Pharm. XI, 331 (1970).

OBJETO Y JUSTIFICACION

El objeto de esta tesis Doctoral, no es otro que el de aportar un grano de arena a las rutas de investigación trazadas en el grupo del Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia de la Facultad de Farmacia de Granada.

Siguiendo tales directrices y pese a las dificultades que ello presenta, nos han interesado vivamente las nuevas corrientes de investigación que se dirigen hoy, cada vez más a los remedios naturales. Muy especialmente el reino vegetal que es el que se presenta como una fuente inagotable. Tuvo su época de esplendor cuando los medicamentos eran preparados sencillos de plantas. Decayó al surgir pujante la Química de síntesis. Hoy, precisamente gracias a la inestimable ayuda que ésta presta en el estudio de la Química de productos naturales, vuelven sus ojos los investigadores que operan en el campo de la Farmacología, de nuevo a los remedios de medicina popular, precisamente para investigar el misterio de su empirismo.

La gran esperanza —la mayor— que en el momento actual se ha abierto en la lucha contra el cáncer y que parece estar depositada en las plantas. El "Cancer Chemotherapy National Service Center" de EE. UU. ha dedicado tal atención a la investigación de posibles nuevos anticancerígenos de origen vegetal que en 4 años ha estudiado en plan de "screening" más de 14.000 extractos de plantas. Entre otras seleccionaron la *Vinca rosea*, cuyos alcaloides de nueva estructura son objetos de ensayos muy esperanzadores.

PARTE TEORICA

Hemos realizado un estudio casi exhaustivo sobre todos los aspectos que se refieren al lúpulo y deben sacarse algunas consecuencias muy dignas de tener en cuenta.

1.^a—Que está discutido si la acción sedante atribuida al lúpulo reside exclusivamente en su aceite esencial.

- 2.^a—El estudio farmacohistórico del lúpulo, nos lleva a concluir que, ignorado en la medicina greco-romana, Plinio lo menciona sólo como planta espontánea comestible, pero, a partir de Mesne, médico árabe del siglo XII, el lúpulo ha sido profusamente recomendado como medicinal por numerosos autores, entre ellos Paracelso y Mattioli, siendo sus supuestas aplicaciones muy numerosas y heterogéneas.
- 3.^a—De las numerosas aplicaciones terapéuticas de siglos pasados, quedaron últimamente la sedante y, más recientemente, la estrógena y antibiótica. Estas dos últimas, han sido comprobadas e incluso determinadas cuantitativamente por numerosos autores: para la antibiótica Schimwell y Rosenthal, Walker y col., Levaditi y col., Chin y col. Erdmann, etc. Para la estrógena Koch y Heim, Chery, Zeniseck y Bednar, etc.
- 4.^a—Desde el punto de vista económico, y consecuencia de la recopilación de datos realizados, es interesan resaltar la importancia que ha adquirido en España la exploración racional de los cultivos del lúpulo, especialmente desde 1959 a nuestros días. De tal forma que se ha pasado de la nada a bastarse así mismo, pese al enorme incremento de consumo.
- 5.^a—Corroboración y extensión de la conclusión anterior es la relación siguiente:
- 1915.—Primeros ensayos
 7941.—Cosecha de 5.500 kg. "secos".
 1945.—Creación de la S.A.E. de Fomento del lúpulo.
 1951.—Cosecha de 49.000 kg "secos".
 1959.—364.000 kg.
 1966.—1.250.000 kg.
 1968.—1.340.000 kg y 120.000 áreas cultivadas.

PARTE EXPERIMENTAL

Diversas técnicas han sido realizadas para estudiar la acción farmacodinámica del lúpulo.

Acción estrógena.

El método biológico más clásico es el del frotis vaginal de la rata, originalmente propuesto por Allen y Doisy y modificado, en sus detalles por diferentes autores. La técnica es la siguiente:

Para llevar a cabo la valoración son necesarias 40 ratas, hembras, ovariectomizadas un mes antes del ensayo y en las que se ha comprobado la eficacia de los estrógenos para producir estro.

Es recomendable seguir la marcha que se expone a continuación: Se seleccionan 50 ratas hembras, de un peso comprendido entre 80 y 100 g. y se les extirpan los ovarios. Entre los diez y los quince días siguientes a la operación se estudian los exudados vaginales de cada uno de estos animales, en frotis que se preparan cada día, y se comprueba que en ninguno de ellos aparece estro; en caso contrario, se eliminan los animales que lo presenten. A cada uno de los restantes se les inyectan subcutáneamente 2 μ g de estrona disueltos en 0.2 ml.

de aceite y se preparan frotis vaginales a las 24, 48, 72 y 96 horas de la inyección. Las ratas que no presenten estro bien definido en alguna de las observaciones realizadas deberán eliminarse. Entre las restantes se seleccionan 40, cuyo peso corporal sea aproximadamente igual, y con ellas se realiza la valoración, no antes de 10-15 días después de efectuada la prueba anterior.

Las ratas se distribuyen en dos lotes de 20 animales cada uno, de tal manera que estén repartidas por igual en ambos grupos atendiendo a sus pesos. Los animales de uno de los lotes reciben, por inyección subcutánea en el dorso, una dosis, igual para todos e independiente de su peso, del patrón internacional. Dicha dosis debe ser tanteada previamente para que cause aproximadamente un 50 por ciento de reacciones positivas en los animales. También se ha de tener en cuenta que la dosis en cuestión deberá estar contenida en 0,2 ml. de aceite (si el producto a valorar es oleoso). Generalmente se obtiene este resultado con 5-10 unidades de estrona, es decir, que la solución del "standard" debiera tener unos 5 μg por mililitro.

Las otras 20 ratas reciben el preparado problema. La dosis por animal también será elegida por tanteo previo para que corresponda aproximadamente, a la actividad del "standard".

Se preparan frotis vaginales de cada uno de los 40 animales a las 24, 48, 60, 72, 84 y 96 horas de la inyección, tomando nota de las ratas que se presentan entre típico en alguna de las observaciones.

A los 15 días de la prueba anterior se repite el ensayo, pero inyectando ahora el problema a los animales que habían recibido antes el "standard" y viceversa (ensayo cruzado).

Acción tranquilizante.

Para medir la posible acción tranquilizante del lúpulo, hemos seguido tres técnicas:

a) Jaula de comportamiento: El aparato consiste en un recipiente de vidrio colocado sobre una platina provista de células fotoeléctricas, y de un aparato para contar el número de pasadas que el animal realiza sobre cada una de ellas.

La prueba se realiza de la siguiente manera: A cada animal, ratones de un peso aproximado de 20 g de un lote de cinco, se le inyecta intraperitonealmente 1 ml. de disolvente en el que va a ir la sustancia a estudiar, por cada 20 g. de peso.

Inmediatamente se introducen los cinco animales en el aparato y anota el número de pasadas cada cinco minutos durante treinta minutos.

A otro lote se le administra la sustancia problema y se hace lo mismo.

La dosis administrada a cada animal del lote problema está en relación con el peso.

Finalizada la experiencia, se hace una curva para el lote problema y otra para el tipo, comprándose ambas.

b) Test de la tracción o de Julon-Couvoisier: El test consiste en colgar a los animales, ratones de unos 20 g. de peso, uno a uno, de un alambre situado a unos 30 cm. del suelo, por las patas anteriores. Los animales no tratados con tranquilizantes colocan rápidamente las patas posteriores en el alambre, pero

los animales a los que previamente se les ha administrado la sustancia tranquilizante no pueden colocar sus patas posteriores en el alambre y al cabo de un tiempo, al perder el equilibrio y no poder sostenerse con las anteriores, caen.

Para realizar el test, a un lote de 5 animales se le inyecta 1 ml., a cada uno, del disolvente en que va a ir la sustancia a estudiar, por cada 20 g. de peso. Se esperan quince minutos y se comienza la prueba.

A otro lote de las mismas características, se le administra la sustancia problema, en relación con su peso, y se hace igual.

c) Test de la curiosidad: Para realizar esta prueba es necesario una plancha de madera de las siguientes dimensiones: 40 cm. de largo, 40 cm. de ancho y 2 cm. de grosor. A dicha plancha se le hacen diez y seis agujeros de 3 cm. de diámetro, siendo la distancia entre cada uno de ellos de 5 cm. de diámetro.

Esta plancha se coloca a unos 50 cm. del suelo, apoyado en los bordes y sin que ningún agujero esté tapado.

Se toma un lote de treinta animales, ratones de un peso medio de 20 g. A diez de ellos se les administra intraperitonealmente 1 ml. del disolvente, por cada 20 g. de peso, en el que va a ir la sustancia problema. La administración a cada animal se hace con un intervalo de cinco minutos, con el fin de que, como la experiencia en cada animal dura ese tiempo, todos ellos se encuentren en las mismas condiciones. Una vez inyectados, se esperan treinta minutos, al cabo de los cuales se coloca al primer animal en el centro de la plancha, contándose el número de veces que introduce la cabeza en los distintos agujeros en el primer, segundo, tercero, cuarto y quinto minutos. Hay que hacer constar que si el animal introduce la cabeza varias veces en el mismo agujero, sólo se cuenta una vez y es necesario que introduzca completamente la cabeza.

Es necesario, igualmente, que durante la prueba reine el silencio más absoluto, pues en caso contrario el animal se distrae. A continuación se colocan los restantes animales.

Una vez terminados los animales del lote tipo, se hace la media de los datos obtenidos, y se comienza con los animales que han sido inyectados con la sustancia problema. Para ello, se toman los veinte restantes y se les administra 1 ml. del extracto problema por cada 20 g. de peso y se hace exactamente igual que con el tipo.

Finalizada la experiencia, se hace una curva para el lote problema y otra para el tipo, comparándose ambas.

Acción occitócica.

Hemos utilizado el método clásico de útero aislado de rata, que describimos a continuación:

Se dispone un baño de órganos aislados, regulado a 37°C., que contienen solución Tyrode en los frascos destinados al líquido nutricio. El vaso está provisto de un sistema de desagüe, otro de entrada de Tyrode y otro de aireación.

En el vaso va sujeto de trozo de útero, que se prepara de la siguiente manera: Se sacrifica una rata y se le sangra por succión de los vasos del cuello. Se le abre el abdomen y se estirpan los dos cuernos uterinos, de los que se cortan un trozo de unos 2 cm. de longitud. Se coloca en el baño, atado por ambos

extremos y se espera unos minutos hasta que las tiras del músculo se relajen completamente. Se comienza el ensayo poniendo en marcha el quimógrafo y añadiendo al vaso una dosis de occitocina, con la que se obtengan contracciones del útero apropiadas. Dichas dosis suelen ser de 0,25 ml. de la solución de occitocina. Una vez obtenidas las contracciones se renueva el Tyrode y se espera unos minutos. Ahora añadimos la solución problema y vemos qué ocurre. Se renueva el Tyrode y vuelve a añadirse la misma dosis de occitocina que la vez anterior.

Acción espasmolítica.

Utilizamos el método de duodeno aislado de rata y cobaya y yeyuno de conejo, muy similares a la anterior.

Acción frente a la histamina.

Utilizamos el duodeno de cobaya.

CONCLUSION GENERAL

a) Que las muestras de lúpulo estudiadas, frente a lo establecido para lúpulos de otro origen, por numerosos autores, no poseen acción estrógena sobre rata ovariectomizada. Esta sorprendente negativa, que sin embargo demostramos claramente, frente a las afirmaciones de numerosos autores, nos sugiere una hipótesis, pendiente de comprobación, que conciliaría la controversia respecto a la acción estrógena del lúpulo, en el sentido de que esta residiese en un componente menor isoflavónico demostrado en la droga (isoquercitrósido), cuya presencia podía variar de unas suertes a otras, o con el origen geográfico o con su proceso de desecación, como se ha demostrado en otras especies vegetales.

b) El lúpulo posee una acción depresora central de tipo sedante-tranquilizante, probada en diversos "test" de comportamiento en ratones. Ello explicaría el empleo que algunos autores han preconizado de esta droga como antiespasmódica.

c) Tampoco deja lugar a dudas la acción antagónica de los extractos de lúpulo frente a la occitocina.

d) La acción espasmolítica del lúpulo se muestra potente y su mecanismo es preferentemente musculotropo.

e) Por último, se ha descubierto en el lúpulo una leve acción antagonista de la histamina.