











Young Researcher Meeting
11.14. März 2018
Nathan Jones
University of Bristol

Young Researcher Meeting
11.14. März 2018
Claudia Frosch
University of Bristol













Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Young Researcher Meeting
Phytopharmaka in der aktuellen Forschung
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
13. und 14. März 2009

KLOSTERFRAU
HEALTHCARE GROUP

SEKZERNAL
PROPHTO

gsk
Generics

DeLignis

Bio-Pharm



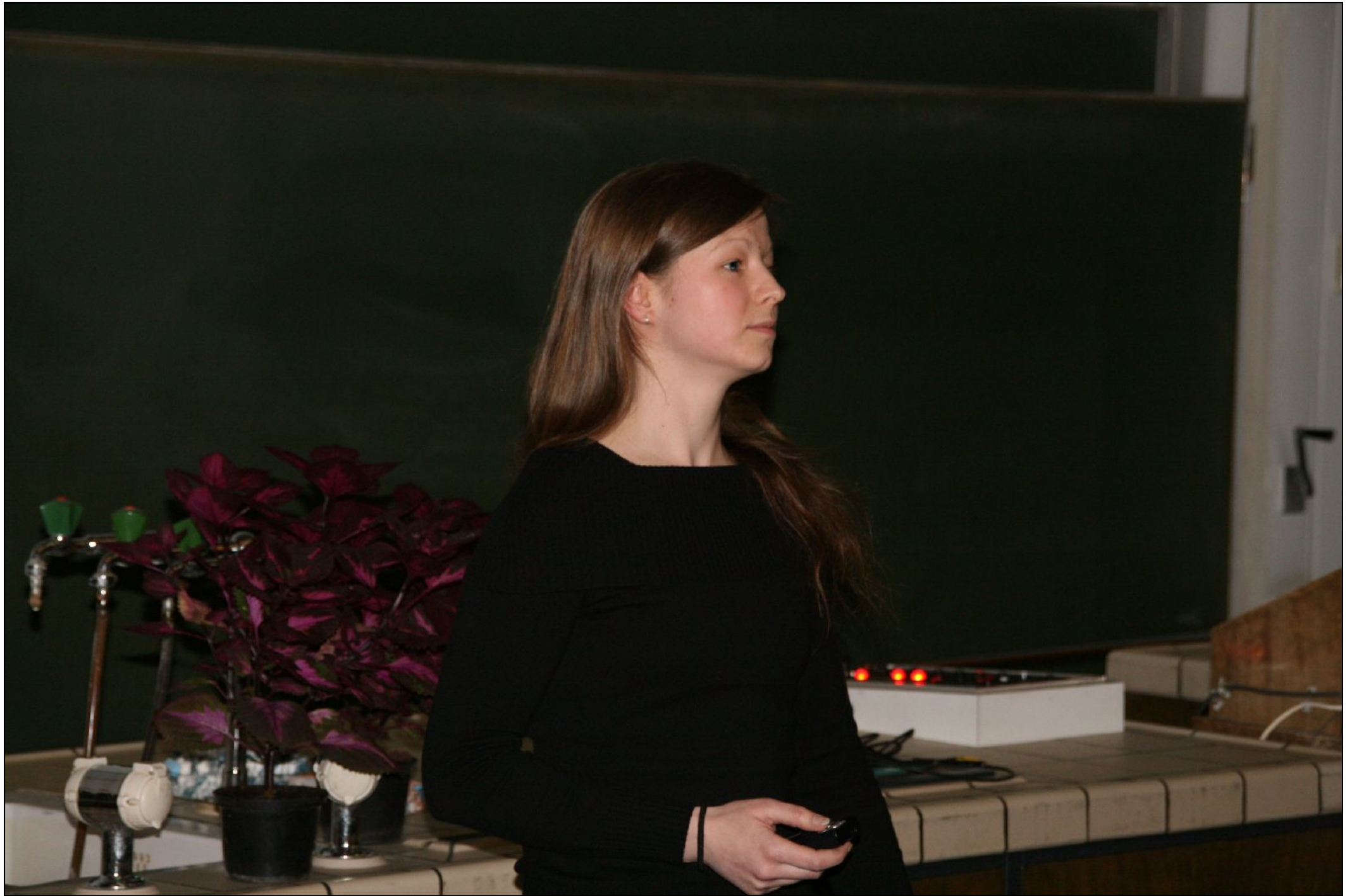




































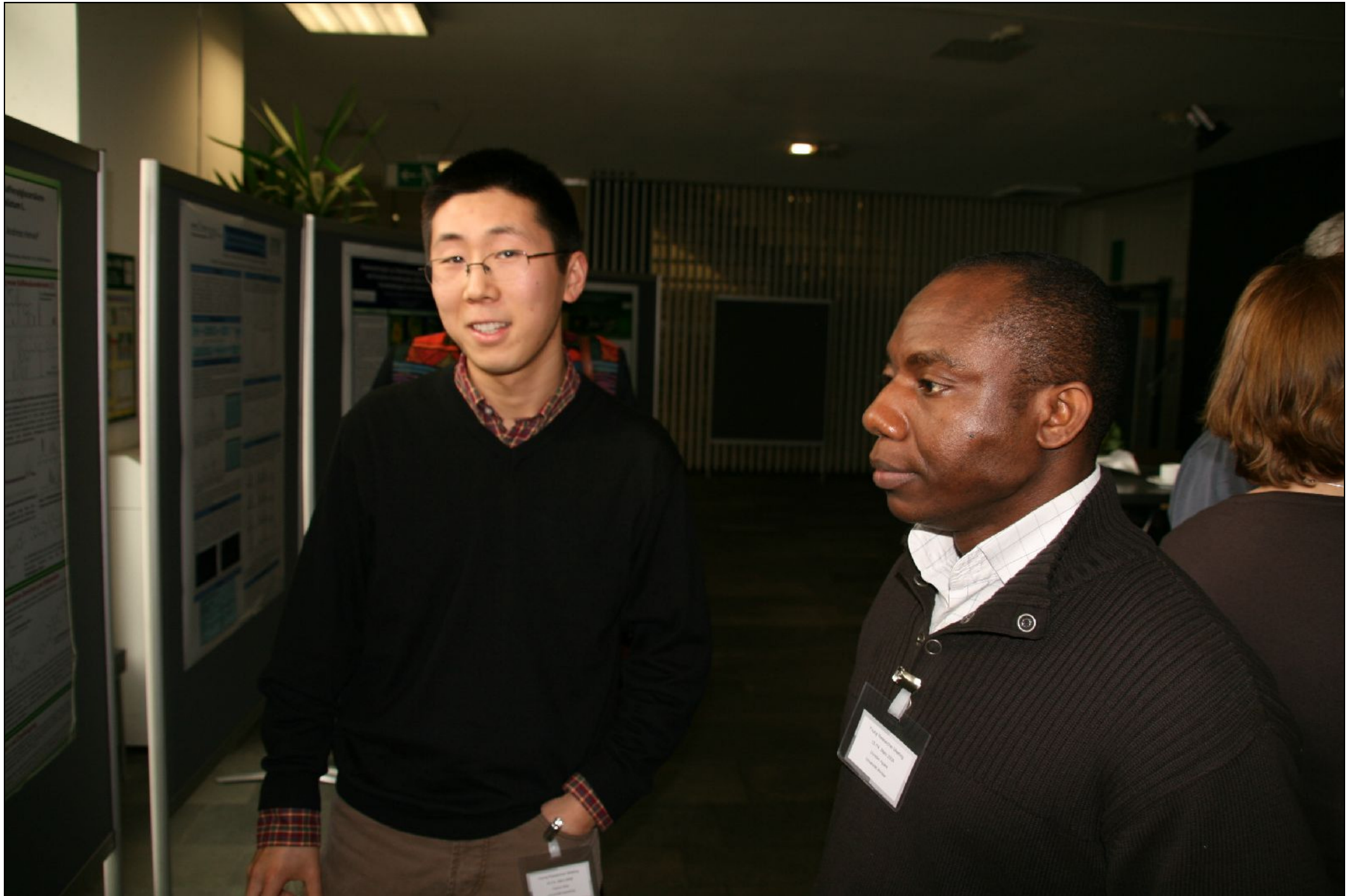


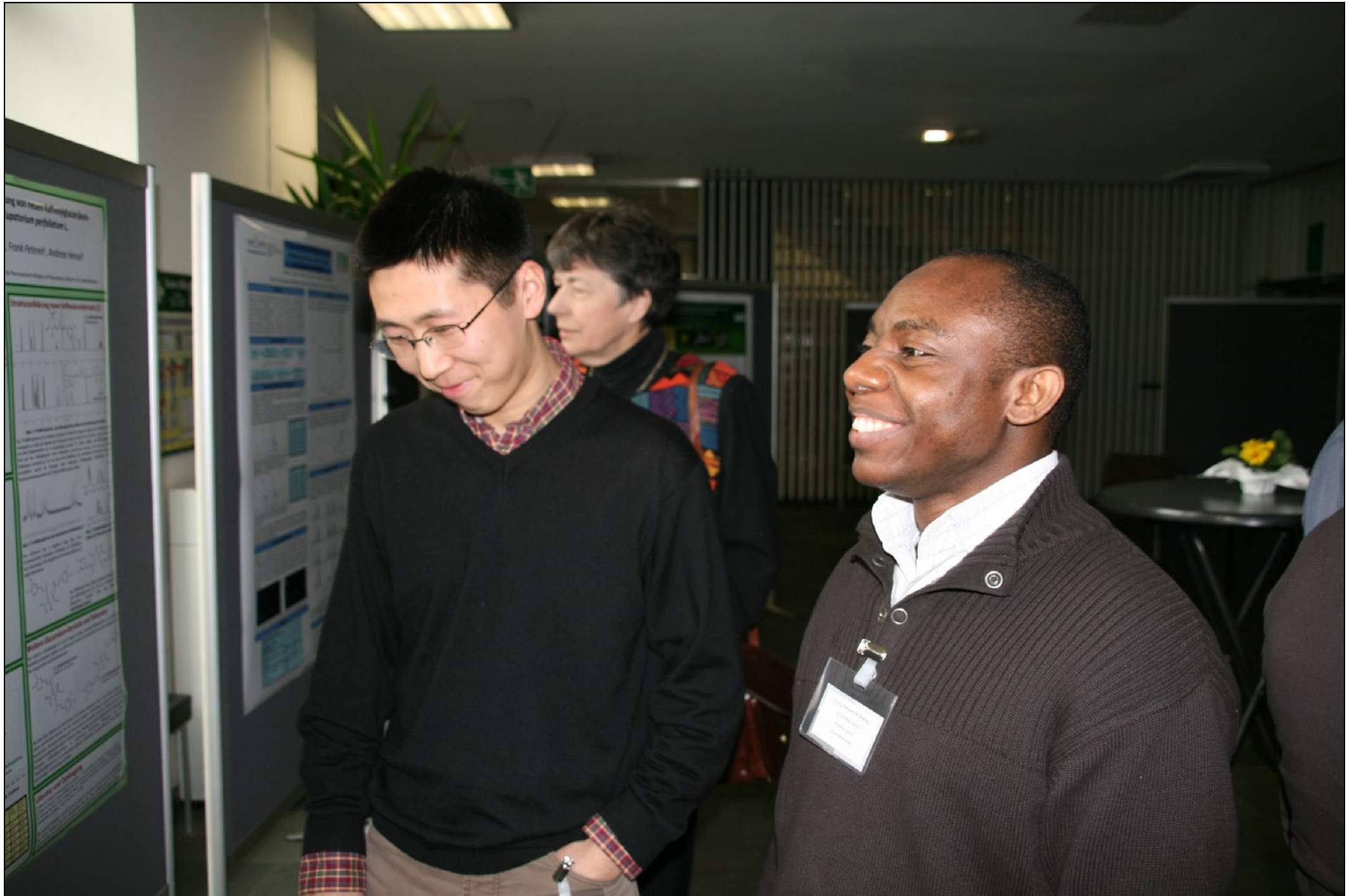














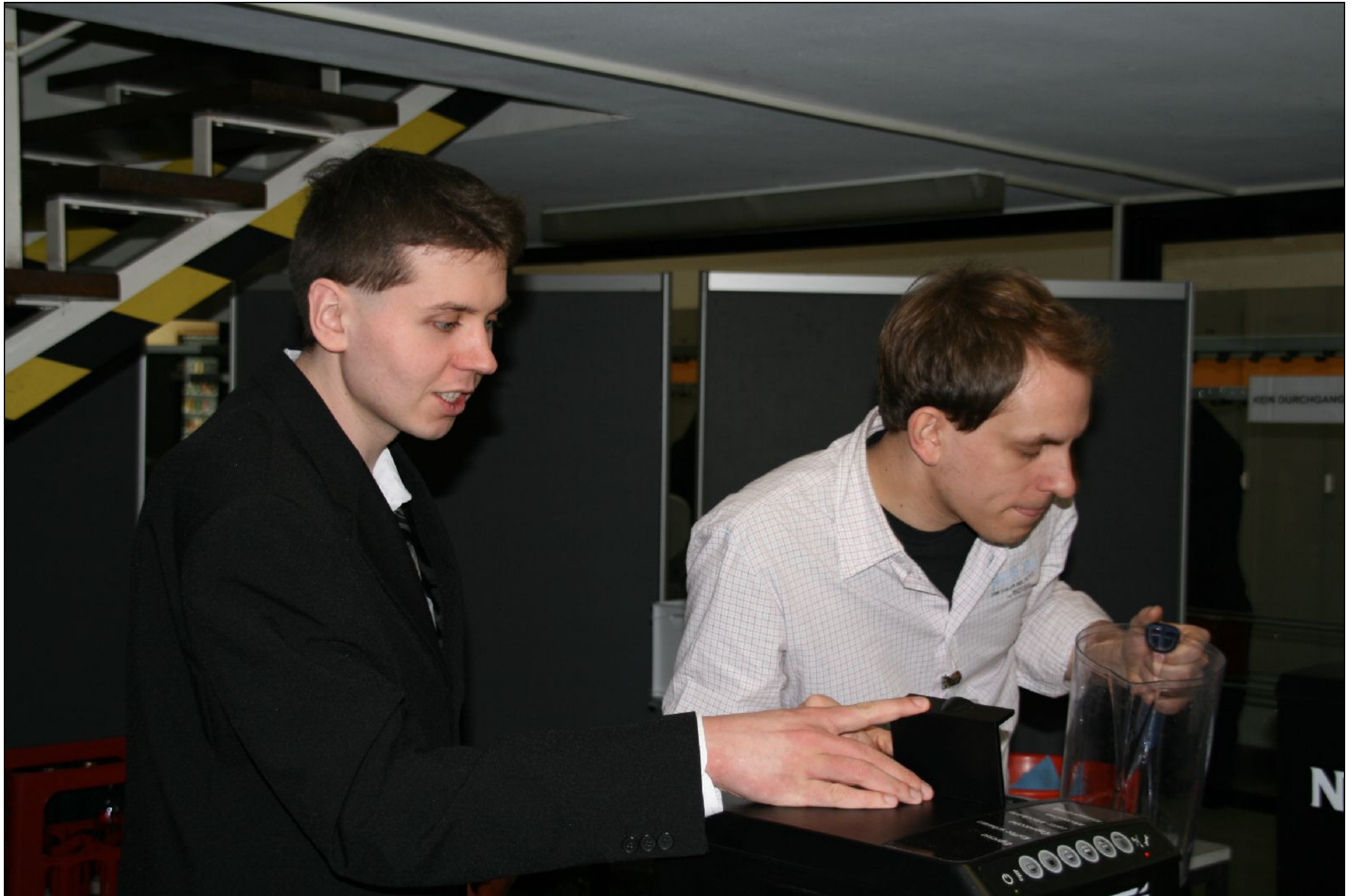
























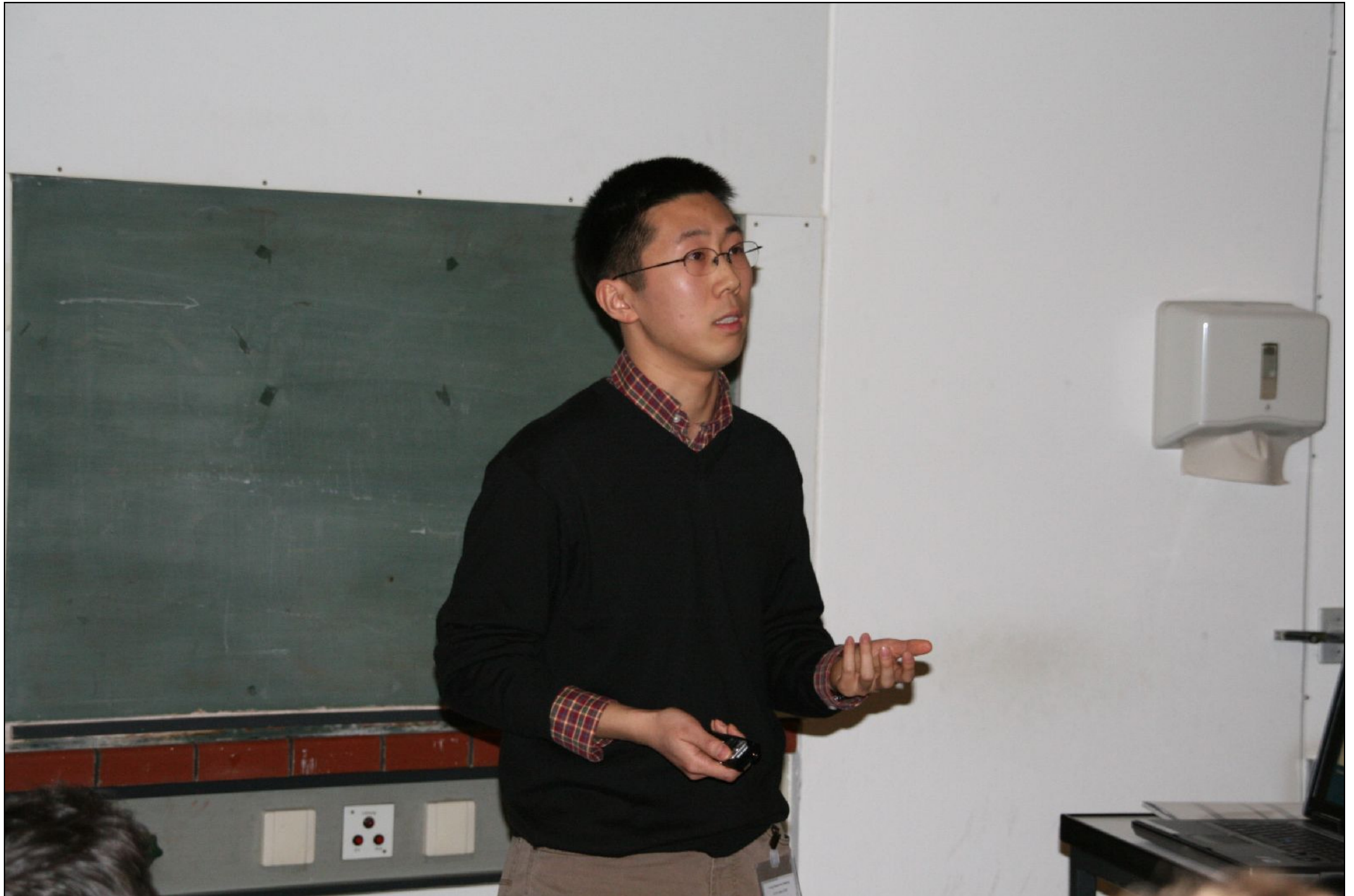










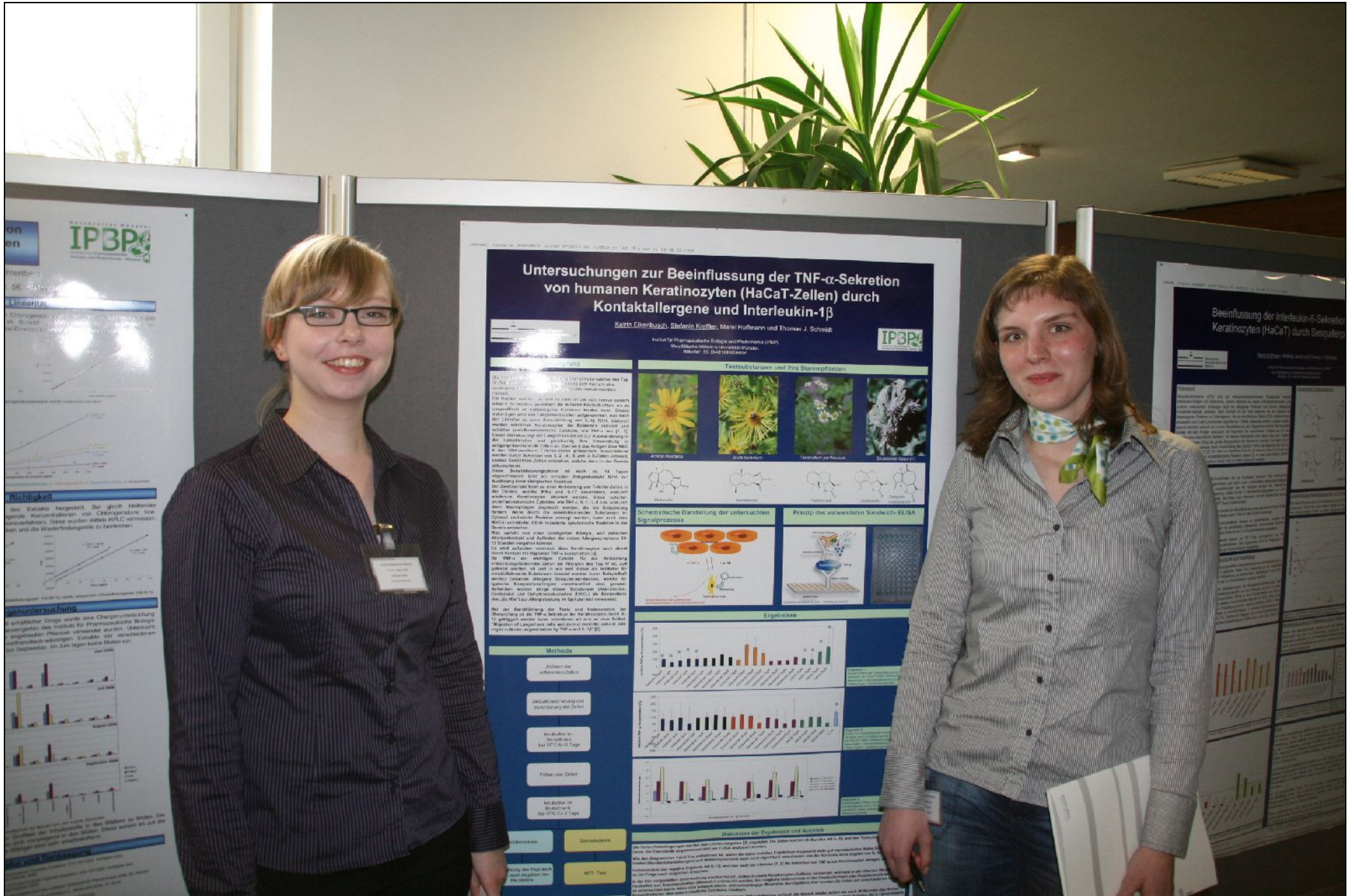












Untersuchungen zur Beeinflussung der TNF- α -Sekretion von humanen Keratinozyten (HaCaT-Zellen) durch Kontaktallergene und Interleukin-1 β

Karin Eibenbusch, Stefanie Koffler, Marek Hoffmann und Thomas J. Schmidt

Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie (IPBP)
 Universität Wien, Althanstrasse 11, 1090 Wien
 E-Mail: 00_0414@univie.ac.at



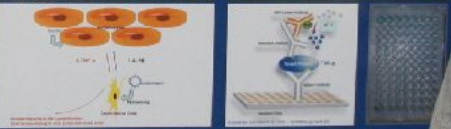
Zusammenfassung

Die TNF- α -Produktion ist ein zentraler Bestandteil der Immunantwort des Tier. TNF- α ist ein Zytokin, das eine Vielzahl von Effekten auslöst, die für die Immunantwort wichtig sind. Die Produktion von TNF- α wird durch eine Vielzahl von Faktoren reguliert, darunter Kontaktallergene und Interleukin-1 β . In dieser Studie wurde untersucht, wie Kontaktallergene die TNF- α -Produktion in HaCaT-Zellen beeinflussen. Die Ergebnisse zeigen, dass Kontaktallergene die TNF- α -Produktion in HaCaT-Zellen signifikant erhöhen. Diese Ergebnisse sind wichtig für das Verständnis der Rolle von TNF- α in der Immunantwort und für die Entwicklung von Therapien zur Behandlung von allergischen Erkrankungen.

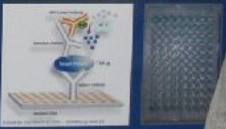
Testsubstanzen und ihre Stammpflanzen



Schematische Darstellung der untersuchten Signalprozesse



Prinzip des verwendeten Sandwich-ELISA



Ergebnisse



Diskussion der Ergebnisse und Ausblick

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass Kontaktallergene die TNF- α -Produktion in HaCaT-Zellen signifikant erhöhen. Diese Ergebnisse sind wichtig für das Verständnis der Rolle von TNF- α in der Immunantwort und für die Entwicklung von Therapien zur Behandlung von allergischen Erkrankungen. In Zukunft werden wir untersuchen, wie diese Ergebnisse in vivo bestätigt werden können und welche Rolle TNF- α in der Pathogenese von allergischen Erkrankungen spielt.

on
en

IPBP

Linearität

Richtigkeit

Validierung

Methoden

Ergebnisse

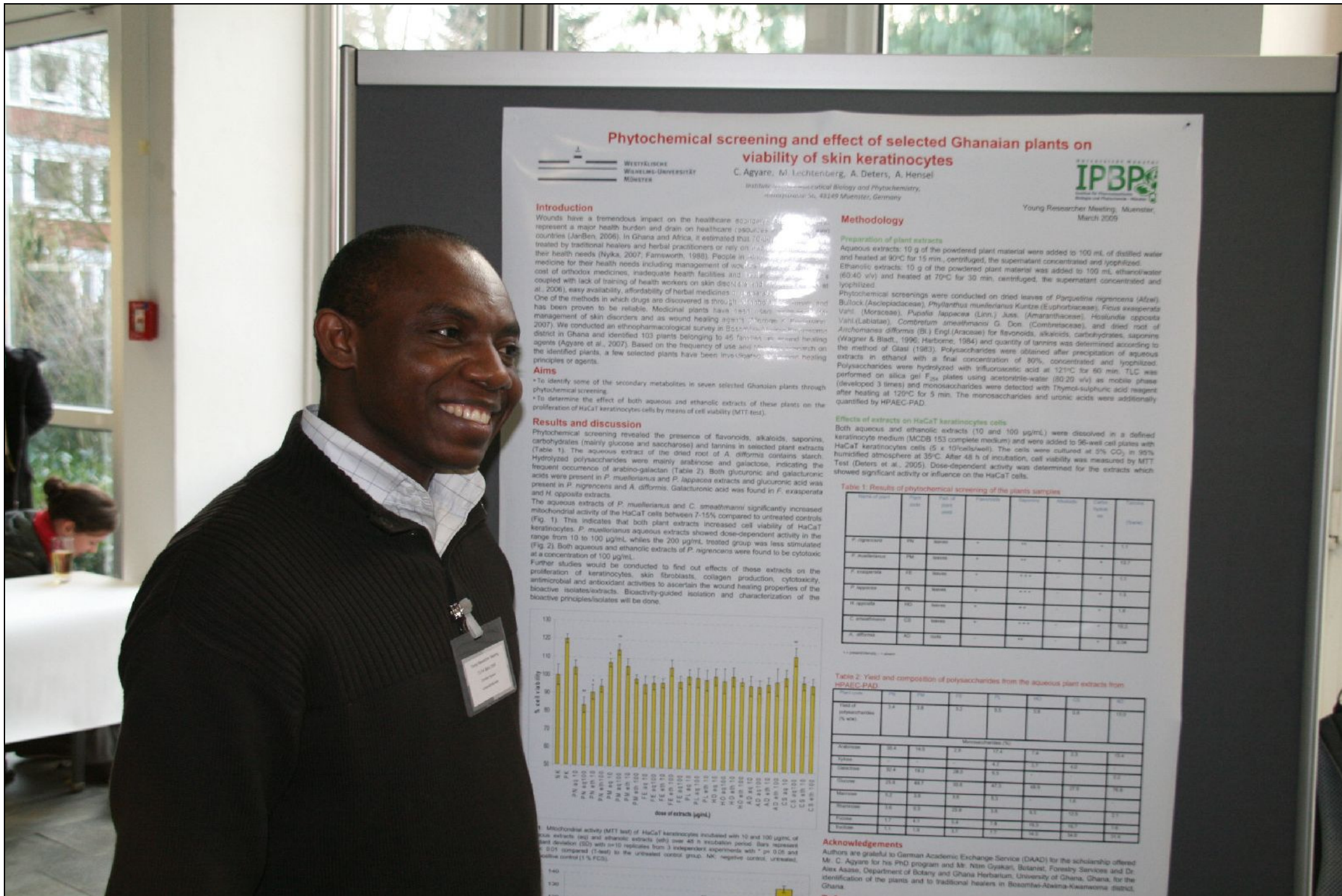
Beeinflussung der Interleukin-6-Sekretion von Keratinozyten (HaCaT) durch Sensitizer

Zusammenfassung

Methoden

Ergebnisse

Diskussion



Phytochemical screening and effect of selected Ghanaian plants on viability of skin keratinocytes

C. Agyare, M. Lechtenberg, A. Deters, A. Hensel

Institute for Pharmaceutical Botany and Phytochemistry, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Germany



Young Researcher Meeting, Münster, March 2009

Introduction

Wounds have a tremendous impact on the healthcare system and represent a major health burden and drain on healthcare resources in developing countries (Janßen, 2006). In Ghana and Africa, it is estimated that 70% of the population is treated by traditional healers and herbal practitioners or rely on traditional medicine for their health needs (Nyka, 2007; Farnsworth, 1988). People in developing countries often seek medicines for their health needs including management of wounds. However, the high cost of orthodox medicines, inadequate health facilities and traditional healers coupled with lack of training of health workers on skin diseases and wound management (Nyka et al., 2006), easy availability, affordability of herbal medicines and their safety and efficacy. One of the methods in which drugs are discovered is through ethnopharmacology. Ethnopharmacology has been proven to be reliable. Medicinal plants have been used for the management of skin disorders and as wound healing agents (Nyka & Farnsworth, 2007). We conducted an ethnopharmacological survey in Bosomtwe traditional district in Ghana and identified 103 plants belonging to 45 families as wound healing agents (Agyare et al., 2007). Based on the frequency of use and traditional knowledge on the identified plants, a few selected plants have been investigated for their wound healing principles or agents.

Aims

- To identify some of the secondary metabolites in seven selected Ghanaian plants through phytochemical screening.
- To determine the effect of both aqueous and ethanolic extracts of these plants on the proliferation of HaCaT keratinocytes cells by means of cell viability (MTT test).

Results and discussion

Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, alkaloids, saponins, carbohydrates (mainly glucose and saccharose) and tannins in selected plant extracts (Table 1). The aqueous extract of the dried root of *A. difformis* contains starch. Hydrolyzed polysaccharides were mainly arabinose and galactose, indicating the frequent occurrence of arabinogalactan (Table 2). Both glucuronic and galacturonic acids were present in *P. muellerianus* and *P. appropos* extracts and gluconic acid was present in *P. nigrescens* and *A. difformis*. Galacturonic acid was found in *F. exasperata* and *H. opposita* extracts. The aqueous extracts of *P. muellerianus* and *C. smeehamani* significantly increased mitochondrial activity of the HaCaT cells between 7-15% compared to untreated controls (Fig. 1). This indicates that both plant extracts increased cell viability of HaCaT keratinocytes. *P. muellerianus* aqueous extracts showed dose-dependent activity in the range from 10 to 100 µg/mL, while the 200 µg/mL treated group was less stimulated (Fig. 2). Both aqueous and ethanolic extracts of *P. nigrescens* were found to be cytotoxic at a concentration of 100 µg/mL. Further studies would be conducted to find out effects of these extracts on the proliferation of keratinocytes, skin fibroblasts, collagen production, cytotoxicity, antimicrobial and antioxidant activities to ascertain the wound healing properties of the bioactive isolates/extracts. Bioactivity-guided isolation and characterization of the bioactive principles/isolates will be done.



Fig. 1. Mitochondrial activity (MTT test) of HaCaT keratinocytes incubated with 10 and 100 µg/mL of aqueous extracts (aq) and ethanolic extracts (et) over 48 h incubation period. Bars represent standard deviation (SD) with n=10 replicates from 3 independent experiments with * p < 0.05 and ** p < 0.01 compared to the untreated control group. NK: negative control, untreated.

Methodology

Preparation of plant extracts

Aqueous extracts: 10 g of the powdered plant material were added to 100 mL of distilled water and heated at 90°C for 15 min., centrifuged, the supernatant concentrated and lyophilized.

Ethanolic extracts: 10 g of the powdered plant material was added to 100 mL ethanolic water (60:40 v/v) and heated at 70°C for 30 min., centrifuged, the supernatant concentrated and lyophilized.

Phytochemical screenings were conducted on dried leaves of *Parquetinis nigrescens* (Alizel), *Bullock* (Asclepiadaceae), *Phyllanthus muellerianus* Kuntze (Euphorbiaceae), *Ficus exasperata* Vahl (Moraceae), *Pupalia lappacea* (Linn.) Juss. (Amaranthaceae), *Hostundia opposita* Vahl (Labiatae), *Combretum smeehamani* G. Don (Combretaceae), and dried root of *Anichomanes difformis* (Bl.) Engl. (Araceae) for flavonoids, alkaloids, carbohydrates, saponins (Wagner & Bladt, 1996; Harborne, 1984) and quantity of tannins was determined according to the method of Giusti (1983). Polysaccharides were obtained after precipitation of aqueous extracts in ethanol with a final concentration of 90%, concentrated and lyophilized. Polysaccharides were hydrolyzed with trifluoroacetic acid at 121°C for 60 min. TLC was performed on silica gel F₂₅₄ plates using acetonitrile-water (80:20 v/v) as mobile phase (developed 3 times) and monosaccharides were detected with Thymol-sulphuric acid reagent after heating at 120°C for 5 min. The monosaccharides and uronic acids were additionally quantified by HPAEC-PAD.

Effects of extracts on HaCaT keratinocytes cells

Both aqueous and ethanolic extracts (10 and 100 µg/mL) were dissolved in a defined keratinocyte medium (MCDB 153 complete medium) and were added to 96-well cell plates with HaCaT keratinocytes cells (5 × 10⁴ cells/well). The cells were cultured at 37°C in 95% humidified atmosphere at 35°C. After 48 h of incubation, cell viability was measured by MTT Test (Deters et al., 2005). Dose-dependent activity was determined for the extracts which showed significant activity or influence on the HaCaT cells.

Table 1: Results of phytochemical screening of the plants samples

Species of plant	Plant part	Preparation	Flavonoids	Alkaloids	Carbohydrates	Saponins	Tannins
<i>P. nigrescens</i>	Fl	Aqueous	++	++	+	+	++
<i>P. muellerianus</i>	Fl	Aqueous	+	++	+	+	++
<i>P. appropos</i>	Fl	Ethanol	+	+++	+	+	++
<i>P. appropos</i>	Fl	Ethanol	+	+++	+	+	++
<i>H. opposita</i>	RD	Ethanol	+	++	+	+	++
<i>F. exasperata</i>	RD	Ethanol	+	+++	+	+	++
<i>A. difformis</i>	RD	Water	+	++	+	+	++

Table 2: Yield and composition of polysaccharides from the aqueous plant extracts from HPAEC-PAD

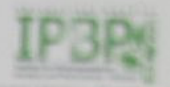
Plant species	Yield (%)	Yield (%)	Yield (%)	Yield (%)	Yield (%)	Yield (%)
Yield of polysaccharides (% wet)	3.4	3.8	5.2	5.2	5.8	13.0
Monosaccharides (%)						
Arabinose	33.4	14.5	2.7	17.4	7.4	2.3
Galactose	10.4	19.2	28.0	5.5	1.2	2.2
Glucose	33.4	48.7	33.4	47.5	38.5	37.5
Mannose	3.2	3.9	3.6	3.3	3.8	1.4
Saccharose	1.4	0.3	23.8	3.8	0.3	0.5
Uronic	1.7	4.1	0.8	7.8	10.2	10.7
Residue	1.1	1.0	1.7	1.7	14.2	31.4

Acknowledgements

Authors are grateful to German Academic Exchange Service (DAAD) for the scholarship offered Mr. C. Agyare for his PhD program and Mr. Ntim Gyasiar, Botanist, Forestry Services and Dr. Alex Aboagye, Department of Botany and Ghana Herbarium, University of Ghana, Ghana, for the identification of the plants and to traditional healers in Bosomtwe-Akwama-Kwanama district, Ghana.

Phytochemical screening and effect of selected Ghanaian plants on viability of skin keratinocytes

C. Agbete, G. ...



Introduction

Skincare has a long history and is one of the most popular forms of personal care. It is essential to keep your skin healthy and free of blemishes. The skin is the largest organ of the body and is constantly exposed to environmental stressors such as pollution, UV radiation, and aging. This can lead to skin damage, including dryness, wrinkles, and discoloration. Phytochemicals are natural compounds found in plants that have been shown to have beneficial effects on the skin. They can help to protect the skin from damage, reduce inflammation, and promote healing. This study aims to investigate the effect of selected Ghanaian plants on the viability of skin keratinocytes.

Aims

- To identify plants with potential skin benefits.
- To determine the effect of these plants on skin keratinocytes.

Methods and Materials

Phytochemical screening was carried out on selected Ghanaian plants. The plants were identified and their parts were collected. The plants were then screened for various phytochemicals using standard methods. The results of the screening are presented in Table 1. The effect of the plants on skin keratinocytes was determined using a cell viability assay. The cells were treated with different concentrations of the plant extracts and the effect on cell viability was measured. The results are presented in Table 2. The plants were found to have a significant effect on skin keratinocytes. The results of the study are discussed in the following section.



Methodology

The study was conducted in a laboratory setting. The plants were identified and their parts were collected. The plants were then screened for various phytochemicals using standard methods. The results of the screening are presented in Table 1. The effect of the plants on skin keratinocytes was determined using a cell viability assay. The cells were treated with different concentrations of the plant extracts and the effect on cell viability was measured. The results are presented in Table 2. The plants were found to have a significant effect on skin keratinocytes. The results of the study are discussed in the following section.

Plant Species	Phytochemicals
Plant 1	Alkaloids, Flavonoids, Terpenoids
Plant 2	Alkaloids, Flavonoids, Terpenoids
Plant 3	Alkaloids, Flavonoids, Terpenoids
Plant 4	Alkaloids, Flavonoids, Terpenoids
Plant 5	Alkaloids, Flavonoids, Terpenoids

Beeinflussung der Interleukin-6-Sekretion humaner Keratinozyten (HaCaT) durch Sesquiterpenlactone

Marek Hoffmann, Mathias Jacob und Thomas J. Schmidt

Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie (FBP)
der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster
Hiltorfstr. 56, D-48149 Münster, Germany



Hintergrund

Sesquiterpenlactone (STL) sind als wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe diverser Asteraceen-Drogen von Bedeutung. Jedoch besitzen sie neben antiinflammatorischen und anderen erwünschten Wirkungen auch ein allergenes Potenzial und können allergische Kontaktdermatiden auslösen. Nach Kontakt mit der Haut reagieren sie als Haptene mit körpereigenen Proteinen zu Vollantigenen, die von dendritischen Zellen (DCs) aufgenommen, prozessiert und in den Lymphknoten spezifischen T-Zellen präsentiert werden. Letztere werden dadurch aktiviert, wodurch es zu einer Sensibilisierung des Organismus kommt. Bei erneutem Kontakt mit dem Antigen verursacht die Population der spezifischen T-Zellen am Ort des Kontakts eine entzündliche Reaktion. An diesem Geschehen sind neben DCs und T-Zellen auch Keratinozyten (KCs) als größte Zellpopulation der Epidermis involviert. Sie regen z.B. in der Sensibilisierungsphase durch Ausschüttung des Zytokins TNF- α die Migration der DCs in die Lymphknoten an [1] [2]. Im Falle von Interleukin-6 (IL-6), ist bekannt, dass IL-6-Knock-out Mäuse eine verminderte kontakallergische Reaktion zeigen [3], so dass auch dieses Zytokin eine Rolle spielt. Diese ist jedoch bisher nicht im Detail untersucht worden.

Methode

HaCaT Zellen wurden in 96-Well-Platten bis zur Konfluenz vermehrt. Das verbrauchte Wachstumsmedium wurde abgenommen und durch zweifach verbleibendes festphasenhaltiges Medium ersetzt. Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden wurden die Überstände abgenommen und bis zur Auswertung mittels ELISA in 96-Well-Mikrotiterplatten bei -20°C eingefroren. Die Stoffwechsellaktivität der Zellen nach Inkubation mit den Substanzen wurde ebenfalls nach 48 Stunden durch MTT-Tests charakterisiert.

Für die Auswertung im ELISA wurden jeweils die Überstände aus zwei gleichbehandelten Wells der Platte vereinigt. Aus diesem Pool wurden dann 100 μ l für den ELISA verwendet.

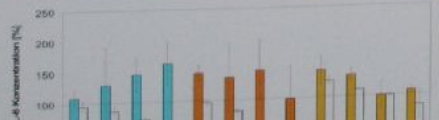
Um die Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Assays zu gewährleisten, wurden die ermittelten Konzentrationen jeweils auf die gleichzeitig untersuchte unbehandelte Kontrolle bezogen. Es sind also im weiteren relative Werte für die IL-6 Konzentration angegeben.

Zum Zeitpunkt der Probenahme wurde jeweils ein MTT-Test durchgeführt, um die Stoffwechsellaktivität der Zellen zu charakterisieren. Die Ergebnisse sind im Folgenden in leeren Säulen neben den korrespondierenden IL-6 Konzentration angegeben.

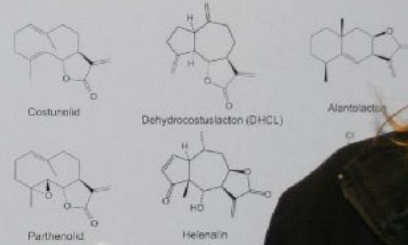
Konzentrationsabhängige Beeinflussung der IL-6 Freisetzung

Die im SL-Mix zur Allergiestellung zusammengestellten Sesquiterpenlactone beeinflussen die IL-6 Freisetzung der HaCaT-Zellen nicht in gleichem Maße. Für Costunolid ist mit steigender Konzentration eine Steigerung der IL-6 Freisetzung zu beobachten. Parthenolacton und DHCL beeinflussen in höheren Konzentrationen die IL-6 Konzentration weniger deutlich.

DNCEB als starkes Kontaktallergen und Modellschubstanz für Kontaktsensibilisierungen tritt bezüglich der Beeinflussung der IL-6 Freisetzung deutlich aus dem Rahmen. Es führt zu einer massiven Erhöhung der relativen IL-6 Konzentration (343%) in einer Konzentration von 25 μ M. Bei dieser DNCEB Konzentration liegt die relative mitochondriale Aktivität um 50%. Unter der STL ist nur Helenalin in der Lage die IL-6 Freisetzung ähnlich stark zu erhöhen (203%) ohne die Stoffwechsellaktivität der Zellen schwer zu beeinträchtigen. In höheren Konzentrationen senkt Helenalin die IL-6 Freisetzung auf 77%. Parthenolacton dagegen ist in einer Konzentration, die einen vergleichbaren Effekt auf die Stoffwechsellaktivität der Zellen hat, in der Lage, die IL-6 Freisetzung vollständig zu hemmen.



Verwendete Testsubstanzen



Zeitabhängige Beeinflussung der IL-6 Freisetzung

Die Beeinflussung der IL-6 Freisetzung durch Parthenolacton unterscheidet sich von den anderen Substanzen. Auch hier sind relative Werte für die Abgabe der unbehandelten Zellen zu jedem Zeitpunkt mitberücksichtigt.

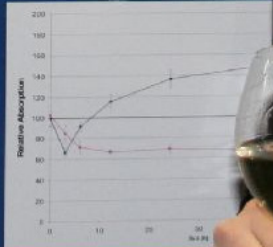


Diagramm 3: Zeitabhängige Beeinflussung der IL-6 Freisetzung durch Parthenolacton (P) und Kostenolacton (C) in HaCaT Zellen.

Beeinflussung der IL-6 Freisetzung durch Asteraceen

Neben den Reinsubstanzen wurden auch Asteraceen auf die IL-6 Freisetzung und Stoffwechsellaktivität der HaCaT Zellen untersucht. Neben dem bekannten Parthenolacton waren die IL-6 Freisetzung zu hemmen die Reinsubstanz Parthenolacton.

Beeinflussung der Interleukin-6-Sekretion humaner Keratinocyten (HaCaT) durch Sesquiterpenlactone

Mareil Hoffmann, Mathias Jacob und Thomas J. Schmidt

Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie (IPB)
der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster,
Hofstraße 16, D-48149 Münster, Germany



Hintergrund

Sesquiterpenlactone (STL) sind als immunstimulierende Inhaltsstoffe diverser Asteraceen-Organen von Bedeutung. Zudem besitzen sie neben antiinflammatorischen und anderen erwünschten Wirkungen auch ein allergenes Potenzial und können allergische Kontaktdermatitiden auslösen. Nach Kontakt mit der Haut reagieren sie als Haptene mit körpereigenen Proteinen zu Vollantigenen, die von dendritischen Zellen (DCs) aufgenommen, prozessiert und in dem Lymphknoten spezifischen T-Zellen präsentiert werden. Letztere werden dadurch aktiviert, wodurch es zu einer Sensibilisierung des Organismus kommt. Bei erneuten Kontakt mit dem Antigen verursacht die Präparation der spezifischen T-Zellen am Ort des Kontakts eine entzündliche Reaktion. An diesem Geschehen sind neben DCs und T-Zellen auch Keratinocyten (KCa) als größte Zellpopulation der Epidermis involviert. Sie reagieren z.B. in der Sensibilisierungsphase durch Ausschüttung des Zytokins TNF- α die Migration der DCs in die Lymphknoten an [1] [2]. Im Falle von Interleukin-6 (IL-6) ist bekannt, dass IL-6-Knock-out Mäuse eine verminderte kontakallergische Reaktion zeigen [3], so dass auch dieses Zytokin eine Rolle spielt. Diese ist jedoch bisher nicht im Detail untersucht worden.

Methode

HaCaT Zellen wurden in 96-Well-Platten bis zur Konfluenz vermehrt. Das verbrauchte Wachstumsmedium wurde abgenommen und durch zuvor vorbereitete testsubstanzhaltiges Medium ersetzt. Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden wurden die Überstände abgenommen und bis zur Auswertung mittels ELISA in 96-Well-Mikrotiterplatten bei -20°C eingefroren. Die Stoffwechsellaktivität der Zellen nach Inkubation mit den Substanzen wurde ebenfalls nach 48 Stunden durch MTT-Tests charakterisiert.

Für die Auswertung im ELISA wurden jeweils die Überstände aus zwei gleichbehandelten Wells der Platte vereinigt. Aus diesem Pool wurden dann 100 μ l für den ELISA verwendet.

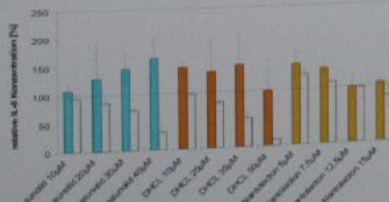
Um die Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Assays zu gewährleisten, wurden die ermittelten Konzentrationen jeweils auf die gleichzeitig untersuchte unbehandelte Kontrolle bezogen. Es sind also im weiteren relative Werte für die IL-6-Konzentration angegeben.

Zum Zeitpunkt der Probenentnahme wurde jeweils ein MTT-Test durchgeführt, um die Stoffwechsellaktivität der Zellen zu charakterisieren. Die Ergebnisse sind im Folgenden in beiden Säulen neben den korrespondierenden IL-6-Konzentration angegeben.

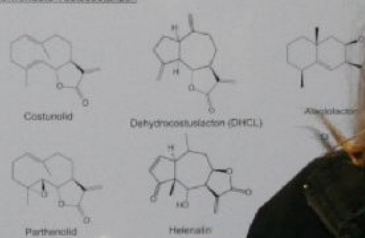
Konzentrationsabhängige Beeinflussung der IL-6-Freisetzung

Die im SL-Mix zur Allergietestung zusammengestellten Sesquiterpenlactone beeinflussen die IL-6-Freisetzung der HaCaT-Zellen nicht in gleichem Maße. Für Costunolid ist mit steigender Konzentration eine Steigerung der IL-6-Freisetzung zu beobachten. Alantolacton und DHCL beeinflussen in höheren Konzentrationen die IL-6-Konzentration weniger deutlich.

DNCB als starkes Kontaktallergen und Modellschubstanz für Kontaktsensibilisierungen führt bezüglich der Beeinflussung der IL-6-Freisetzung deutlich aus dem Rahmen. Es führt zu einer massiven Erhöhung der relativen IL-6-Konzentration (343%) in einer Konzentration von 25 μ M. Neben dieser DNCB-Konzentration liegt die relative mitochondriale Aktivität um 50%. Unter den STL ist nur Helenalin in der Lage die IL-6-Freisetzung ähnlich stark zu erhöhen (203%) ohne STL ist nur Helenalin in der Lage die IL-6-Freisetzung ähnlich stark zu erhöhen (203%) ohne STL. In höheren Konzentrationen sinkt Helenalin die IL-6-Freisetzung auf 77%. Parthenolid dagegen ist in einer Konzentration die einen vergleichbaren Effekt auf die Stoffwechsellaktivität der Zellen hat, in der Lage, die IL-6-Freisetzung vollständig zu hemmen.



Verwendete Testsubstanzen



Zeitabhängige Beeinflussung der IL-6-Freisetzung

Die Beeinflussung der IL-6-Freisetzung durch Parthenolid untersucht. Auch hier sind relative Werte für die Absorption der unbehandelten Zellen zu jedem Zeitpunkt mitberücksichtigt.

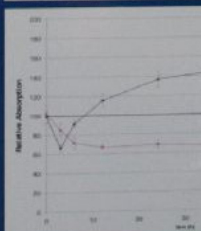


Diagramm 3: Konzentrationsabhängige Beeinflussung der IL-6-Freisetzung durch Parthenolid. Die y-Achse zeigt die relative IL-6-Konzentration (%) und die x-Achse die Konzentrationen von Parthenolid (0, 10, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200, 6400, 12800, 25600, 51200, 102400, 204800, 409600, 819200, 1638400, 3276800, 6553600, 13107200, 26214400, 52428800, 104857600, 209715200, 419430400, 838860800, 1677721600, 3355443200, 6710886400, 13421772800, 26843545600, 53687091200, 107374182400, 214748364800, 429496729600, 858993459200, 1717986918400, 3435973836800, 6871947673600, 13743895347200, 27487790694400, 54975581388800, 109951162777600, 219902325555200, 439804651110400, 879609302220800, 1759218604441600, 3518437208883200, 7036874417766400, 14073748835532800, 28147497671065600, 56294995342131200, 112589990684262400, 225179981368524800, 450359962737049600, 900719925474099200, 1801439850948198400, 3602879701896396800, 7205759403792793600, 14411518807585587200, 28823037615171174400, 57646075230342348800, 115292150460684697600, 230584300921369395200, 461168601842738790400, 922337203685477580800, 1844674407370955161600, 3689348814741910323200, 7378697629483820646400, 14757395258967641292800, 29514790517935282585600, 59029581035870565171200, 118059162071741130342400, 236118324143482260684800, 472236648286964521369600, 944473296573929042739200, 1888946593147858085478400, 3777893186295716170956800, 7555786372591432341913600, 15111572745182864683827200, 30223145490365729367654400, 60446290980731458735308800, 120892581961462917470617600, 241785163922925834941235200, 483570327845851669882470400, 967140655691703339764940800, 1934281311383406679529881600, 3868562622766813359059763200, 7737125245533626718119526400, 15474250491067253436239052800, 30948500982134506872478105600, 61897001964269013744956211200, 123794003928538027489912422400, 247588007857076054979824844800, 495176015714152109959649689600, 990352031428304219919299379200, 1980704062856608439838598758400, 3961408125713216879677197516800, 7922816251426433759354395033600, 15845632502852867518708790067200, 31691265005705735037417580134400, 63382530011411470074835160268800, 126765060022822940149670320537600, 253530120045645880299340641075200, 507060240091291760598681282150400, 1014120480182583521197362564300800, 2028240960365167042394725128601600, 4056481920730334084789450257203200, 8112963841460668169578900514406400, 16225927682921336339157801028812800, 32451855365842672678315602057625600, 64903710731685345356631204115251200, 129807421463370690713262408230502400, 259614842926741381426524816461004800, 519229685853482762853049632922009600, 1038459371706965525706099265844019200, 2076918743413931051412198531688038400, 4153837486827862102824397063376076800, 8307674973655724205648794126752153600, 16615349947311448411297588253504307200, 33230699894622896822595176507008614400, 66461399789245793645190353014017228800, 1329227995784915872903807060280345600, 2658455991569831745807614120560691200, 5316911983139663491615228241121382400, 10633823966279326983230456482242764800, 21267647932558653966460912964485529600, 42535295865117307932921825928971059200, 85070591730234615865843651857942118400, 170141183460469231731687303715884236800, 340282366920938463463374607431768473600, 680564733841876926926749214863536947200, 1361129467683753853853498429727073894400, 2722258935367507707706996859454147788800, 5444517870735015415413993718908295577600, 10889035741470030830827987437816591155200, 21778071482940061661655974875633182310400, 43556142965880123323311949751266364620800, 87112285931760246646623899502532729241600, 174224571863520493293247799005065484800, 348449143727040986586495598010130969600, 696898287454081973172991196020261939200, 1393796574908163946345982392040523878400, 2787593149816327892691964784081047756800, 5575186299632655785383929568162095513600, 11150372599265311570767859136324191027200, 22300745198530623141535718272648382054400, 44601490397061246283071436545296764108800, 89202980794122492566142873090593528217600, 178405961588244985132285746181187056435200, 356811923176489970264571492362374112870400, 713623846352979940529142984724748225740800, 1427247692705959881058285969449496511481600, 2854495385411919762116571938898993023723200, 5708990770823839524233143877797986047446400, 11417981541647679048466287755595972094892800, 22835963083295358096932575511191944188985600, 45671926166590716193865151022383888377971200, 91343852333181432387730302044767776755542400, 182687704666362864775460604089535553511084800, 365375409332725729550921208179071107022169600, 730750818665451459101842416358142214044339200, 146150163733090291820368483271628428088678400, 292300327466180583640736966543256856177356800, 584600654932361167281473933086513712354713600, 1169201309864722334562947866173027424709427200, 2338402619729444669125895732346054849418844800, 4676805239458889338251791464692109698837689600, 9353610478917778676503582929384219397675379200, 18707220957835557353007165858768438795350758400, 37414441915671114706014331717536877590701516800, 74828883831342229412028663435073755181403033600, 149657767662684458824057326870147510362806067200, 299315535325368917648114653740295020725612134400, 598631070650737835296229307480590041451224268800, 1197262141301475670592458614961180822902444537600, 2394524282602951341184917229922361647804889075200, 4789048565205902682369834459844723295609778150400, 9578097130411805364739668919689446591219556300800, 1915619426082361072947933783937889318243911121600, 3831238852164722145895867567875778636487822243200, 7662477704329444291791735135751557272975644486400, 15324955408658888583583470271503114555951288972800, 30649910817317777167166940543006229111912577945600, 61299821634635554334333881086012458223825155911200, 122599643269271108668667762172024916447651191822400, 245199286538542217337335524344049832895302386444800, 490398573077084434674671048688099665790604772889600, 980797146154168869349342097376199331581209545779200, 1961594292308337738698684194752398663162419091558400, 3923188584616675477397368389504797326324821823116800, 7846377169233350954794736779009594652649643646233600, 1569275433846670190958947355801918

IPBP

... isolierten und identifizierten ...

rsuchungen

... isolierten einen Wundextrakt ...

... isolierten einen Wundextrakt ...


... isolierten einen Wundextrakt ...

**Isolierung eines Dihydroflavonoids
(Dihydromyricetin-3-O-β-L-arabinopyranosid) aus
Rhododendron ferrugineum L.**

A. Lohr, S. Lehmann, K. Lohse, F. Pöhlert, A. Bensch
Lehrstuhl für Phytochemie, Universität zu Köln, 50676 Köln

Einführung

Rhododendron ferrugineum L. (Ericaceae) ...



Zielsetzung

Ziel der Arbeit war die Isolierung eines Dihydroflavonoids ...

Vorgehensweise

Extraktion der Rohmaterialien ...

Extraktion

Erste Extraktion: Ethanol, 100%ig
Zweite Extraktion: Ethanol, 50%ig


Isolierung

Fraktionierung ...


Literatur

Ergebnisse

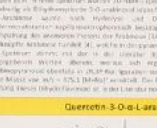
Epigallocatechin/Catechin



Dihydromyricetin-3-O-β-L-arabinopyranosid



Quercetin-3-O-β-L-arabinopyranosid



Dankagung

**Präpa
Procyanidin**

Universität Münster, Institut für ...

Einführung

Phenolische Zuckerverbindungen aus Wein ...

Extraktionsschritte

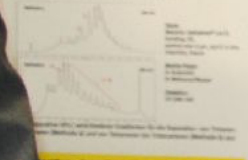
1. Extraktion
2. Filtration
3. ...

Analytische HPLC

... HPLC ...




von oligomeren
om (*Crataegus* spp.) IP3P

Die Entwicklung von...


Prüfung der präparativen HPLC

Zusammenfassung

Literatur

Phytochemische Untersuchungen zu
***Myrothamnus flabellifolia* Welw.**

Einleitung

Weitere Strukturen und Ergebnisse

Struktur	Ergebnisse
	...
	...
	...
	...
	...

Zusammenfassung

Literatur



Growth inhibiting activities of *Dipsacus sylvestris* HUDS. against *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (Bbss) in vitro

Liebold T¹, Straubinger RK², Rauwald HW¹

¹Department for Pharmacy, Chair of Pharmaceutical Biology, Leipzig University, Johannisallee 21-23, 04103 Leipzig, Germany;
²Institute for Immunology, College for Veterinary Medicine, Leipzig University, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig, Germany



Abstract: Lyme borreliosis is a widespread disease of the northern hemisphere. Affected individuals are treated with a controversially discussed antibiotic-based pharmacotherapy [1]. Novel ethnobotanical approaches are based on herbal medicines, such as treatment with hydroethanolic extracts of teasel obtained from the roots of *Dipsacus sylvestris* HUDS., Dipsacaceae, although antibacterial effects of the European teasel have not been described so far [2]. In this context, solely grapefruit seed extract was tested against *Borrelia burgdorferi* in vitro without any relation to therapeutical use [3]. Fresh first year roots from *Dipsacus sylvestris* HUDS. were extracted with 70 % ethanol, ethyl acetate as well as dichloromethane. Extracts were solubilized in water (lipophilic extracts with addition of polysorbate 80) and tested for their activity against Bbss in vitro during an 8-day period. The hydroethanolic extract showed no growth inhibition whereas the two less polar fractions showed significant growth inhibiting activity. Strongest inhibition was found in the ethyl acetate extract (99.7 ± 1.0 % on day 4). The effect of polysorbate 80 on the bacterial growth was examined and found to be negligible (5.6 ± 7.6 % on day 4).

In vitro testing for growth inhibiting activities:



Figure 1: diagram of the time-dependent growth of Bbss (concentrations in counts/ml)

Legend:

- (1) Bbss growth-control
- (2) antibiotic-treated culture [amoxicillin 0.5 µg/ml]
- (3) Tween-80 [polysorbate] 80-control [2.5 mg/ml]
- (4) dichloromethane extract-treated culture [2 mg/ml, drug-extract-ratio 35:1]
- (5) ethyl acetate extract-treated culture [2 mg/ml, drug-extract-ratio 19:1]
- (6) hydroethanolic extract-treated cultures [2 mg/ml, drug-extract-ratio 2:1]



Figure 2: semi-logarithmic diagram of the time-dependent growth of Bbss (concentrations in counts/ml)



HPLC - fingerprint analysis and quantification of phenolic compounds in *Leonurus cardiaca* L. (Ph. Eur.) and in an antiarrhythmic refined extract

Strahler S¹, Çaliş İ², Dhein S³, Rauwald HW¹

¹ Department of Pharmacy, Chair of Pharmaceutical Biology, Leipzig University, Johannaallee 21-23, 04103 Leipzig, Germany

² Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Hacettepe University, 06100 Ankara, Turkey

³ Clinic for Cardiac Surgery, Leipzig University, 04289 Leipzig, Germany

Abstract

A HPLC method for the fingerprint analysis and quantification of extracts from *Leonurus cardiaca* herba (Ph. Eur.), Lamiaceae - in particular of a refined extract with defined antiarrhythmic activity - has been developed. Using a water-methanol gradient (pH 2.1 achieved by formic acid, 1.2 ml/min, 40°C) phenylethanoid glycosides like lavandulifolioside and verbasoside, flavonoids like rutin, hyperoside, quercetin and phenolic acids such as caffeic, chlorogenic, ferulic and rosmarinic acid were separated on a RP-18 column at 330 nm. Quantification of the phenylethanoid glycosides and further phenolics was carried out using herniarin as internal standard. In contrast to the minor groups in the extract, such as iridoids, diterpenoids and N-compounds, these major constituents are pharmacologically relevant regarding defined antiarrhythmic effects in accordance with single effects described for these compounds.



Figure 1: *Leonurus cardiaca* L., Lamiaceae

Method

For characterization of different extracts of the herb from *Leonurus cardiaca* (fig. 1) TLC (KG 60 F₂₅₄ plates, Merck, Darmstadt) and HPLC (EC 250/4 NUCLEOSIL 100-5 C18 with KS 114 NUCLEOSIL 120-5 C18, Macherey-Nagel, Düren) analyses with the phenylethanoids lavandulifolioside and verbasoside as leading substances were performed. Beside an antiarrhythmic refined extract from our labs the H₂O- and the ethyl acetate (EA)-phases of a with CH₂Cl₂ and EA separated methanol (MeOH)-extract and the H₂O-phase of a tea after separation against CHCl₃ were investigated. From all examined substances chlorogenic, caffeic and ferulic acid, lavandulifolioside, verbasoside and rutin were detected in the samples and quantified by HPLC (conditions in tab. 1, 40 °C, 330 nm, relative retention times calculated by at least 40 runs in tab. 2) with herniarin as internal standard.

Table 1: HPLC gradient elution
eluent A: MeOH 10 %, pH 2.1 (adjusted by formic acid)
eluent B: MeOH 90 %, pH 2.1 (adjusted by formic acid)

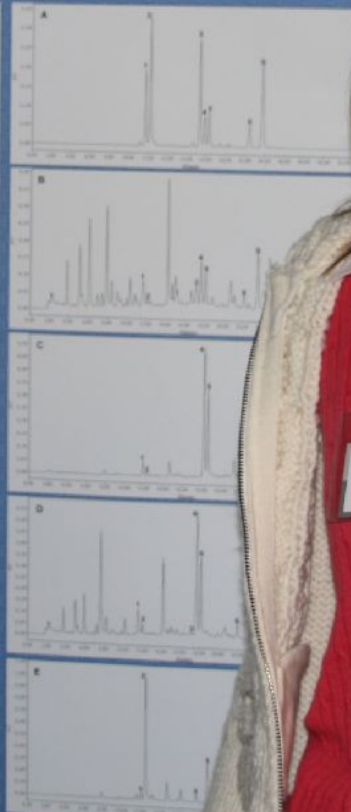
Retention time (min)	A (%)	B (%)	Flow rate (ml/min)
0-10	100	0	1.2
11.0-15	40	60	1.2
15.0-20	20	80	1.2
20.0-25	0	100	1.2
25.0-30	0	100	1.2
30.0-35	0	100	1.2
35.0-40	0	100	1.2
40.0-45	0	100	1.2

Table 2: Concentrations (%) and relative retention times (in comparison to herniarin) of phenolic substances in different extracts of *Leonurus cardiaca* herba (Ph. Eur.) (standard deviation)

Substance	antiarhythmic refined extract	H ₂ O phase of MeOH-extract	EA phase of MeOH-extract	H ₂ O phase of tea	Leonurus cardiaca herba	relative retention time
chlorogenic acid	0.002	0.107	0.180	0.128	0.002	0.4450 (SD 0.1876)
caffeic acid	0.002	0.040	0.490	0.003	0.002	0.4650 (SD 1.4176)
ferulic acid	0.002	0.008	0.102	0.003	0.002	0.7080 (SD 0.1776)
lavandulifolioside	0.007	4.413	0.002	1.185	0.008	0.7241 (SD 0.2876)
verbasoside	0.100	2.544	0.127	0.008	0.123	0.7546 (SD 0.2076)
rutin	0.114	0.402	0.002	0.180	0.002	0.8390 (SD 0.2876)

Discussion

Phenolic substances in *Leonurus cardiaca* herba and its extracts were analysed and quantified for the first time by HPLC. The concentrations of substances in the



Growth

Liebold T¹, Str

¹ Department for Pharm

² Institute for Immunol



In vitro testing for gro



Figure 1: diagram of the time-dr

Legend:

- (1) Bbs growth-control
- (2) antibiotic-treated culture (am)
- (3) Tween 80 (polyorbate) 80
- (4) dichloromethane extract (d)
- (5) ethyl acetate extract (e)
- (6) hydroethanolic extract (h)

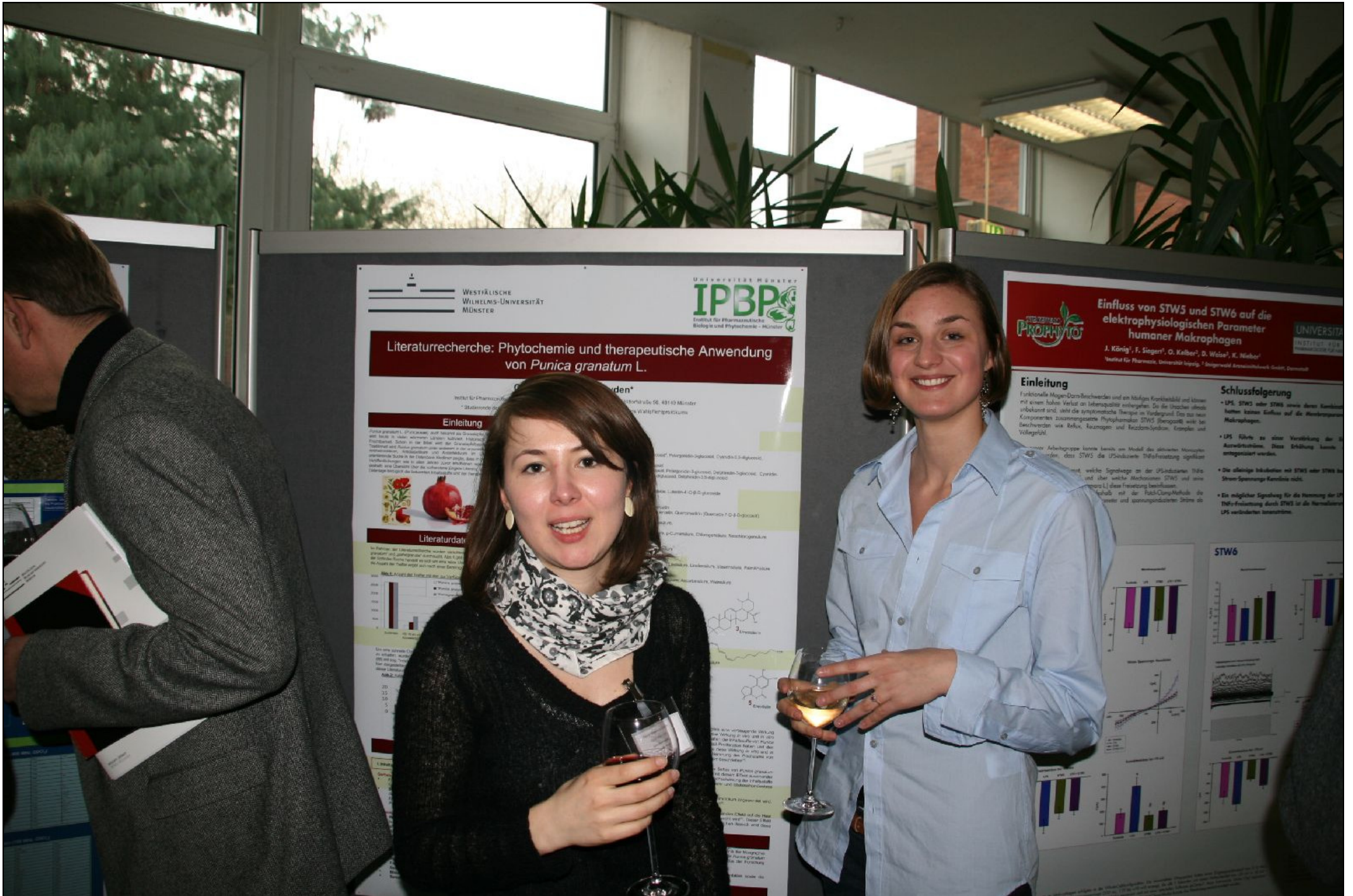
Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Day 1	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Day 2	100.0	93.0	100.0	93.0	100.0	93.0	100.0	93.0	100.0	93.0
Day 3	100.0	83.0	100.0	83.0	100.0	83.0	100.0	83.0	100.0	83.0
Day 4	100.0	61.0	100.0	61.0	100.0	61.0	100.0	61.0	100.0	61.0
Day 5	100.0	41.0	100.0	41.0	100.0	41.0	100.0	41.0	100.0	41.0

Table 1: relative growth of Bbs (percentage of non-logarithmic vs)









WESTFÄLISCHE WILHELMS-UNIVERSITÄT MÜNSTER

UNIVERSITÄTSMÜNSTER
IPBP
Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie - Münster

Literaturrecherche: Phytochemie und therapeutische Anwendung von *Punica granatum* L.

Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Fakultät für Pharmazie, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Albert-Ludwigs-Str. 58, 48149 Münster

Einleitung

Die Pflanze *Punica granatum* L. (Granatapfel) ist eine der ältesten Kulturpflanzen der Welt. Sie ist in den Tropen und Subtropen beheimatet und wird weltweit angebaut. Die Pflanze ist reich an sekundären Pflanzenstoffen, die für ihre therapeutischen Eigenschaften verantwortlich sind. In dieser Arbeit wird die Phytochemie und die therapeutische Anwendung von *Punica granatum* L. untersucht.

Literaturdaten

Die folgenden Tabellen zeigen die Ergebnisse der Literaturrecherche. Die Tabellen sind nach den Jahren der Veröffentlichung sortiert.

Jahr	Anzahl der Publikationen
2010	10
2011	15
2012	20
2013	25
2014	30
2015	35
2016	40
2017	45
2018	50
2019	55
2020	60

Die chemische Struktur von Punicalagin ist wie folgt dargestellt:

O=C1OC2C(=O)C(=O)C3C2C(=O)C1C3

Die chemische Struktur von Punicalin ist wie folgt dargestellt:

O=C1OC2C(=O)C(=O)C3C2C(=O)C1C3O

Die chemische Struktur von Punicalon ist wie folgt dargestellt:

O=C1OC2C(=O)C(=O)C3C2C(=O)C1C3O

UNIVERSITÄTSMÜNSTER
PROPHYTO

Einfluss von STW5 und STW6 auf die elektrophysiologischen Parameter humaner Makrophagen

J. Krüger¹, F. Singer¹, O. Kellner¹, D. Wölke¹, K. Müller¹
¹ Institut für Pharmazie, Universität Leipzig, 7 Drogenwald Arzneimittelwerk GmbH, Dessau

Einleitung

Funktionale Magen-Darm-Beschwerden und ein häufiges Krankheitsbild und können mit einem hohen Verlust an Lebensqualität einhergehen. Da die Ursache unbekannt ist, wird die symptomatische Therapie im Vordergrund. Eine neue Konzepten zusammengefasst Phytotherapeutikum STW5 (Bacopa monnina) wird bei Beschwerden wie Reflux, Sodbrennen und Reizdarmsyndrom, Krämpfe und Völlegefühl.

Schlussfolgerung

- LPS, STW5 oder STW6 sowie deren Kombination hatten keinen Einfluss auf die Membranpotential Makrophagen.
- LPS führte zu einer Verstärkung der Ca²⁺-Auswirkungen, dass Erhöhung konnte unterdrückt werden.
- Die übliche Induktion mit STW5 oder STW6 zu Strom-Spannungskennlinie nicht.
- Ein möglicher Signalweg für die Hemmung der IP₃-Freisetzung durch STW5 ist die Normalisierung LPS veränderten Immuntrieb.

STW6

Die Abbildung zeigt die Wirkung von STW6 auf die elektrophysiologischen Parameter humaner Makrophagen. Die Abbildung enthält ein Bar-Diagramm, das die Wirkung von STW6 auf die Membranpotential zeigt, ein Linien-Diagramm, das die Wirkung von STW6 auf die Ca²⁺-Auswirkungen zeigt, und ein weiteres Bar-Diagramm, das die Wirkung von STW6 auf die Strom-Spannungskennlinie zeigt.

Literaturrecherche: Phytochemie und therapeutische Anwendung von *Punica granatum* L.

L. Heyden*

Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
* Studentin der Pharmazie an der Universität Münster, Hiltorfstraße 56, 48149 Münster
Arbeit im Rahmen des Wahlpflichtpraktikums

Einleitung

Punica granatum L. (Punicaceae), auch bekannt als Granatapfel, ist in vielen wärmeren Ländern kultiviert. Schon in der Bibel wird der Granatapfel erwähnt. *Punica granatum* wird unter anderem als Antidotikum, Antihelminthikum und Antiparasitikum in der Arabischen Medizin verwendet. In den letzten Jahren wurden neue Wirkstoffe aus dem Granatapfel isoliert. Diese Übersicht über die vorhandene Literatur bezieht sich auf die bekannten Inhaltsstoffe.



Wichtige Verbindungen

Fruchtschalen: Cyanidin-3-glucosid*, Pelargonidin-3-glucosid, Cyanidin-3,5-diglucosid, Pelargonidin-3,5-diglucosid
Frucht: Pelargonidin-3,5-diglucosid
Blätter: Cyanidin-3-glucosid, Pelargonidin-3-glucosid, Delphinidin-3-glucosid, Cyanidin-3,5-diglucosid, Pelargonidin-3,5-diglucosid, Delphinidin-3,5-diglucosid

Fruchtschalen: Luteolin
Blätter: Apigenin-4'-O-β-D-glucoside, Luteolin-4'-O-β-D-glucoside
Frucht: Luteolin

Frucht: Kaempferol, Quercetin
Frucht: Kaempferol, Myricetin, Quercetin, Quercitrin (Quercetin-7-O-β-D-glucosid)

Fruchtschalen: Ellagsäure, Gallussäure
Frucht: Ellagsäure
Blätter: Protocatechusäure, p-Cumarsäure, Chlorogensäure, Neochlorogensäure, Gallussäure, Gallussäure

Fruchtschalen: Brevifolincarbonsäure
Frucht: Brevifolincarbonsäure

Fruchtschalen: Urolonsäure, Linolensäure, Stearinsäure, Palmitinsäure
Frucht: Urolonsäure, Apfelsäure, Ascorbinsäure, Weinsäure

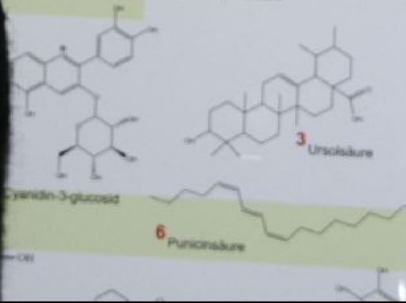
Fruchtschalen: Urolonsäure, Urolonsäure
Frucht: Urolonsäure, Urolonsäure

Fruchtschalen: Urolonsäure, Urolonsäure
Frucht: Urolonsäure, Urolonsäure

Fruchtschalen: Urolonsäure, Urolonsäure
Frucht: Urolonsäure, Urolonsäure

Fruchtschalen: Urolonsäure, Urolonsäure
Frucht: Urolonsäure, Urolonsäure

Fruchtschalen: Urolonsäure, Urolonsäure
Frucht: Urolonsäure, Urolonsäure



Einleit

Funktionelle
mit einem h
unbekannt s
Komponente
Beschwerden
Vollgefühl.

In unserer A
gezeigt wer
luziert.



















Schreibflächen bitte nicht mit
Tesafilm bekleben

Schreibflächen bitte nicht mit
Tesafilem bekleben







Schreibflächen bitte nicht mit
Tesafilm bekleben

















