

**WESTFÄLISCHE  
WILHELMS-UNIVERSITÄT  
MÜNSTER**

**Institut für Pharmazeutische  
Biologie und Phytochemie**

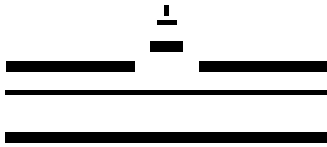
**Institut für Pharmazeutische  
und Medizinische Chemie,  
Abt. Pharmakologie**



**Institut für Pharmazie  
Abt. Pharmakologie für Naturwissenschaftler**

# **Phytotherapeutika in der aktuellen Forschung: Phytochemie, Pharmakologie und klinische Anwendungen**

**5. Young Researcher Meeting  
22. und 23. März 2019, Universität Münster**



WESTFÄLISCHE  
WILHELMS-UNIVERSITÄT  
MÜNSTER



Institut für Pharmazeutische  
Biologie und Phytochemie

Institut für  
Pharmazeutische und  
Medizinische Chemie,  
Abt. Pharmakologie

Institut für Pharmazie  
Abt. Pharmakologie für Naturwissenschaftler

# Phytotherapeutika in der aktuellen Forschung: Phytochemie, Pharmakologie und klinische Anwendungen

## 5. Young Researcher Meeting

22. und 23. März 2019, Universität Münster

### Wissenschaftliche Organisation:

**Prof. Dr. M. Düfer**, Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, WWU Münster

**Prof. Dr. A. Hensel**, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, WWU Münster

**Prof. Dr. K. Nieber**, Institut für Pharmazie, Universität Leipzig

**Prof. Dr. T. J. Schmidt**, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, WWU Münster

### Technische Organisation und Tagungssekretariat:

**Frau M. Plesse, Frau E. Thiele**, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, WWU Münster

Die Veranstaltung wird unterstützt durch



Gesellschaft für Phytotherapie e.V.

**SIDROGA**

Dr. Loges   
Mit Natur und Verstand



  
**ANKLAM**EXTRAKT®

 **Bionorica**®



**Dr. Willmar Schwabe**  
From Nature. For Health.

Science for a Better Life



the nature network®

**PhytoLab**

# Phytotherapeutika in der aktuellen Forschung: Phytochemie, Pharmakologie und klinische Anwendungen

## 5. Young Researcher Meeting

22. und 23. März 2019, Universität Münster

### Programm

#### Freitag, 22. März 2019

- 11.00 – 12.45 Uhr PharmaCampus, Foyer  
**Registrierung**
- 12.45 – 13.00 Uhr **Fototermin vor dem Institut**
- 13.00 Uhr **Begrüßung der Teilnehmerinnen und Teilnehmer**  
Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Hörsaal
- 13.10 – 13.40 Uhr **Cannabis and cannabinoids: from hype to hope**  
(Prof. Dr. Giovanni Appendino, University of Eastern Piedmont, Alessandria, Italien)
- 13.45 – 15.05 Uhr **Kurzvorträge: *Pharmakologie bioaktiver Extrakte und Naturstoffe***  
(Vorsitz Dr. M. Düfer, Münster)
- 13.45 Uhr A. Hake, F. Begrow, F. Petereit, M. Lechtenberg, A. Hensel, M. Düfer  
Inst. für Pharm. Und Med. Chemie, Abt. Pharmakologie, Universität Münster  
**Pharmakologische Untersuchung der antispasmodischen Aktivität des Extrakts aus *Drosera rotundifolia L.* an der Maus- und Rattentrachea.**
- 14.05 Uhr K. Kuck, B. Lipowicz, G. Jürgenliemk, J. Heilmann  
Institut für Pharmazeutische Biologie, Universität Regensburg  
***In vitro* Untersuchungen zur Hemmung der ICAM-1 Expression durch Myrrhe.**
- 14.25 Uhr L. Weber, K. H. Goos, J. Arnhold, C. Vissienon  
Institut für Medizinische Physik und Biophysik, Universität Leipzig  
**Kaffeebohle und Myrrhe zeigen anti-entzündliche und barriere-stabilisierende Effekte in einem komplexen Mehrkomponentenzellmodell der intestinalen Mukosa.**
- 14.45 Uhr S. Lehmann, E. Liebau, A. Hensel  
Institut für Zoophysiology, Universität Münster  
**Anthelmintische Wirkstoffe: Extrakt aus *Ailanthus altissima* Rinde inhibiert**

die Reproduktion von *Caenorhabditis elegans*.

- 15.05 bis 15.35      **Pause**
- 15.35 – 16.55 Uhr      **Kurzvorträge: *Infektionen und Antiinfektiva***  
(Vorsitz Dr. Fabian Herrmann, Münster)
- 15.55 Uhr      M. Gottesmann, V. Paraskevopoulou, A. S. Mohammed, T. Mengoni, Tim Steinbacher, F. H. Falcone, F. M. Goycoolea, A. Hensel  
Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Universität Münster  
**Mit veresterten Rhamnogalacturonanen gezielt gegen *Helicobacter pylori*-Liposomale Zubereitungen als alternative Darreichungsform.**
- 16.15 Uhr      N.M. Kimani, J.C. Matasyoh, M. Kaiser, K. Langer, M.S. Nogueira, G.H.G. Trossini, T.J. Schmidt  
Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Universität Münster  
**Sesquiterpene lactones: quantitative structure-antitrypanosomal activity relationships (QSAR).**
- 16.35 Uhr      D. Dornbusch, F.C.Herrmann  
Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Universität Münster  
**Das parasitäre Zytoskelett als Target innovativer antileishmanialer Therapien – Ultrastrukturelle Untersuchungen an subpellicularen Mikrotubuli von *Leishmania tarentolae*.**
- 16.55 – 17.15 Uhr      PharmaCampus, Foyer  
**Kaffee-Pause**
- 17.15 - 17.45 Uhr      **Vorstellung der Poster in Kurzform (max. 2 Min.)**
- 17.45 – 18.40 Uhr      PharmaCampus, Foyer  
**Posterbegehung**  
**Poster und Wein**
- 18.40 Uhr      Aufbruch zum Abendessen  
***Restaurant Peters Esszimmer, Dieckmannstrasse 6-10, 48161 Münster***

## Posterpräsentationen

- Addotey Nii, John** Leaves of *Phyllanthus muellerianus* Kuntze Excell contain Human Hyal-1 Inhibitors
- Deipenbrock et al.** Antiadhäsive Effekte von *Ononis spinosa* gegenüber uropathogenen *E. coli* zur Therapie von unkomplizierten Harnwegsinfekten.
- Deipenbrock et al.** Polymethoxylierte Flavone aus *Orthosiphon stamineus* als antiadhäsive Wirkstoffe gegen uropathogene *E. coli*.
- Gruber et al.** *Salix* Screening: Vergleichende Untersuchung der Procyanidinmuster in 16 Individuen im Jahresverlauf.
- Jagels et al.** *Stachybotrys* sp. – Exploring secondary metabolite profiles by LC-MS/MS and biotransformation of phenylspirodrimanes.
- Jimenez-Negro et al.** Phytochemische und funktionelle Studien an Extrakten von Wurzeln der *Armoracia rusticana*.
- Jürgens et al.** Identifizierung von Acetoxystachybotrydialacetat als potenter Inhibitor der humanen CK2 mit antiproliferativer Wirkung auf Zellen der Brustkrebszelllinie MCF-7.
- Kimani et al.** Encapsulation of sesquiterpene lactones with antitrypanosomal activity into PLA nanoparticles.
- Marquardt et al.** *In-vitro* anti-inflammatory activity of *Combretum collinum* leaves extract and its main phenolic compound myricetin-3-*O*-rhamnoside.
- Nguyen Thanh et al.** Captisol® surface-adsorbed naringenin-loaded nanocapsules enhance quorum quenching against an AHL-regulated biosensor .
- Scharf et al.** Aktivität von Cranberry-Extrakt auf Bakterien im menschlichen Urin: eine *ex vivo* Studie.
- Sibul et al.** Isolierung von bicyclischen Acylphloroglucinolen aus *Hypericum tetrapterum* FRIES.
- Symma et al.** Analytik oligomerer und polymerer Proanthocyanidine aus *Rumicis acetosae herba* und *Tiliae flos*.
- Tremmel et al.** Metabolisierung von Orientin, Isoorientin, Schaftosid und Isoschaftosid durch humane Lebermikrosomen (HLM).
- Welslau et al.** Comparable regulations of acid ion channel 4, 5-hydroxytryptamine receptors and SERT in the esophageal mucosa under STW5 treatment suggest a corporate role in pain sensing

**Samstag, 23. März 2019**

- 9.00 – 9.30 Uhr            Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Kurzvorstellung und Gang durch die Labors
- 9.30 – 10.50 Uhr        **Kurzvorträge: *Phytochemie, neue Naturstoffe***  
(Vorsitz Prof. Dr. T Schmidt, Münster)
- 9.30 Uhr                    S. Malenke, J. Heilmann, S. Amslinger  
Institut für Organische Chemie, Universität Regensburg  
**Synthese und biologische Testung linearer und cyclischer Diarylheptanoide**
- 9.50 Uhr                    S.A. Kalinina, D.V. Kalinin, Y. Hövelmann, C.G. Daniliuc, C. Mück-Lichtenfeld, H.U. Humpf  
Institut für Lebensmittelchemie, Universität Münster  
**Überarbeitete Struktur und absolute Konfiguration von Auranthin aus *Penicillium aurantiogriseum*.**
- 10.10 Uhr                 O. Shulha, S.S. Çiçek, A. Mangoni, C. Zidorn  
Institut für Pharmazeutische Biologie, Universität Kiel  
**Lignans and sesquiterpene lactones from the roots of *Hypochaeris radicata* subsp. *heterocarpa* (Asteraceae, Cichorieae)**
- 10.30 Uhr                 C. Bernemann, H. Löcken, K. Müller  
Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität Münster  
**Neue Derivate des Isonapabucasins**
- 10.50 – 11.30 Uhr        ***Kaffeepause***
- 11.30 – 13.00 Uhr        **Kurzvorträge: *Post-Docs***  
(Vorsitz: Prof. Dr. Karen Nieber, Leipzig)
- 11.30 Uhr                 Serhat Sezai Cicek  
Institut für Pharmazeutische Biologie, Universität Kiel  
**Phytochemische, pharmakologische und analytische Untersuchung des Balsams von *Copaifera reticulata***
- 12.00 Uhr                 Charles Awortwe, Henrike Bruckmueller and Ingolf Cascorbi  
Institut für experimentelle und klinische Pharmakologie, Universitätsklinik Schleswig-Holstein, Kiel, Germany  
**Herb-drug interactions: Evidence so far.**
- 12.30 Uhr                 V. Spiegler, E. Liebau, A. Hensel  
Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Universität Münster  
**Anthelmintische Aktivität procyanidinreicher Arzneipflanzen aus Westafrika – Phytochemie und molekularbiologische Untersuchungen**
- 13.00 – 13.20 Uhr        **Abschlussdiskussion und Snacks**

13.20 -13.50

**Dereplikation von Naturstoffen mittels MS – eine Einführung**  
Dr. J. Sendker, Universität Münster

14.00-14:30

**Not bitten, but inspired by snakes. What can we learn from them?**  
Pof. Dr. Johannes A. Eble, Institut für Physiologische Chemie und Pathobiochemie, Universität Münster

15:00

**Ende der Veranstaltung und Verabschiedung**



## Teilnehmerliste Young Researcher Meeting 2019

1	Addotey, John	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
2	Appendino, Giovanni	University of Eastern Piedmont	Faculty of Pharmacy
3	AbuSalah, Mirjam	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
4	Awortwe, Charles	Universitätsklinik Schleswig-Holstein	Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie
5	Bernemann, Clemens	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie
6	Brandt, Simone, Dr.	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
7	Bürkel, Peter	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
8	Cicek, Serhat Sezai	Universität Kiel	Institut für Pharmazeutische Biologie
9	Deipenbrock, Melanie	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
10	Dornbusch, Daniel	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
11	Düfer, Martina, Prof. Dr.	Universität Münster	Inst. Pharm. und Med. Chemie, Abt. Pharmakologie
12	Prof. Dr. Johannes A. Eble	Universität Münster	Institut für Physiologische Chemie und Pathobiochemie
13	Gottesmann, Maren	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
14	Gruber, Thomas	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
15	Hake, Alexander	Universität Münster	Inst. Pharm. und Med. Chemie, Abt. Pharmakologie
16	Hensel, Andreas, Prof. Dr.	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
17	Herrmann C. Fabian	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
18	Jagels, Annika	Universität Münster	Institut für Lebensmittelchemie
19	Jimenez Negro, Elena	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
20	Jürgenliemk, Guido, Dr.	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
21	Jürgens, Franziska	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie
22	Kalinia, Swetlana, Dr.	Universität Münster	Institut für Lebensmittelchemie
23	Kimani, Mark	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
24	Kuck, Katrin	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
25	Lechtenberg, Matthias, Dr.	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
26	Lehmann, Susanne	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
27	Ludwig, Marcus	Hofmann&Sanner GmbH Co.KG	Institut für Mikrobiologie und Infektionsimmunologie
28	Malenke, Sina	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
29	Marquardt, Peter	Universität Leipzig	Institut für Pharmazeutische Biologie
30	Nguyen, Thanh Hao	Universität Münster	Institut für Biologie und Biotechnologie der Pflanzen

31	Nieber, Karen, Prof. Dr.	Universität Leipzig	Institut für Pharmazie, Abt. Pharmakologie
32	Petereit; Frank, Dr.	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
33	Scharf, Birte	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
34	Schlittenlacher, Theresa	FiBL Deutschland	Lehrstuhl für Innere Medizin, FiBL, Frankfurt a. M.
35	Schmidt, Thomas, Prof. Dr.	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
36	Schreiber, Sebastian	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
37	Sendker, Jandirk, Dr.	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
38	Shulha, Oleksandr	Universität Kiel	Institut für Pharmazeutische Biologie
39	Sibul, Filip	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
40	Spiegler, Verena, Dr.	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
41	Symma, Nico	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
41	Szabo, Lara	Universität Münster	Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie
42	Tremmel, Martina	Universität Regensburg	Institut für Pharmazeutische Biologie
43	Vissienon, Cica, Dr.	Universität Leipzig	Medizinische Fakultät
44	Weber, Laura	Universität Leipzig	Institut für Medizinische Physik und Biophysik
45	Welslau, Lisa	Universität Bonn	Medizinische Klinik III

**Notizen:**

## **Abstracts Vorträge**

## Cannabis and cannabinoids: from hype to hope

**Giovanni Appendino**

Dipartimento di Scienze del Farmaco, Largo Donegani 2, 28100 Novara, Italy  
giovanni.appendino@uniupo.it

The past decade has seen a renewed interest in the medicinal use of Cannabis and cannabinoids, their hallmark constituents, with growing evidence that certain of these compounds can provide beneficial effects in some conditions clinically difficult to treat, or even not yet amenable to pharmacological management.<sup>1</sup> On the other hand, evidence has also been accumulating that Cannabis and its extracts have a biological profile that cannot be uniquely traced to any single major constituent, and that the clinical pharmacology of this plant and its constituents is extremely complex.<sup>1</sup> Furthermore, despite the media coverage of everything related to Cannabis and the hype surrounding this mediatic “smoke”, our knowledge of Cannabis is still incomplete not only in terms of clinical studies, but even at the basic phytochemical level.

Cannabis (*C. sativa* L.) is a prolific producer of structurally unique secondary metabolites belonging to various biogenetic classes. The inventory of secondary metabolites isolated from Cannabis encompasses now well over 600 different compounds,<sup>2</sup> but only few of them are accumulated in significant amounts. Historically, pharmacological interest on Cannabis has focused on  $\Delta^9$ -THC (tetrahydrocannabinol) and CBD (cannabidiol), that is, on the narcotic principle of marijuana and on the major phytocannabinoid from fiber hemp.<sup>3</sup> These, along with cannabigerol (CBG), are also the first natural phytocannabinoid that were structurally elucidated.<sup>3</sup> Surprisingly, insufficient attention has been paid to the native forms of the two major phytocannabinoids (THCA and CBDA and their isoprenyl esters), to their lower homologues (THCV and CBDV, respectively), to their metabolites, and to the very large number (almost 150) of “minor” phytocannabinoids that occur in Cannabis.<sup>4</sup> As a result, large areas of the cannabinome remain totally unexplored in terms of bioactivity<sup>4</sup> or even waiting to be explored and still uncharted, as cogently shown by the constant flow of novel phytocannabinoids regularly appearing in the literature.<sup>4</sup>

I will present a series of studies on minor cannabinoids, that eventually led to the development of a semi-synthetic version of a metabolite of CBD (VCE 004.8) that showed remarkable activity in various animal model of auto-immune disease, and that was recently grant orphan grant status in EU and USA by, respectively, EMA and FDA for the management of scleroderma.

1. MacCallum, C. A.; Russo, E. B. *Eur. J. Int. Med.* **2018**, *49*, 12-19.
2. Turner, C. E.; Elsohly, M.A.; Boeren, E. G. *J. Nat. Prod.* **1980**, *43*, 169-234.
3. Mechoulam, R.; Gaoni, Y. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **1967**, *25*, 175-213.
4. Hanuš, L. O.; Mayer, S. M.; Muñoz, E.; Tagliabatella-Scafati, O.; Appendino, G. *Nat. Prod. Rep.* **2016**, *33*, 1357-1392.

# Pharmakologische Untersuchung der antispasmodischen Aktivität des Extrakts aus *Drosera rotundifolia* L. an der Maus- und Rattentrachea

A. Hake<sup>1</sup>, F. Begrow<sup>1</sup>, F. Petereit<sup>2</sup>, M. Lechtenberg<sup>2</sup>, A. Hensel<sup>2</sup>, M. Düfer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universität Münster, Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Münster, Germany

<sup>2</sup>Universität Münster, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Münster, Germany

## Ziel:

Der pflanzliche Extrakt aus *Drosera rotundifolia* L. wird traditionell bei Reizhusten angewendet.

Ziel der Forschungsarbeit ist es, den antispasmodischen Effekt, der bereits am Meerschweinchenileum gezeigt wurde (Krenn *et al.* 2004), auf die unteren Atemwege zu übertragen und zu untersuchen, welche Inhaltsstoffe sowie Wirkmechanismen verantwortlich sind.

## Methoden:

Die nach dem Homöopathischen Arzneibuch hergestellten Extrakte wurden chromatographisch charakterisiert und fraktioniert. Ihre antispasmodische Aktivität wurde an aus C57Bl/6-Mäusen oder Wistar-Ratten isolierten, mit Acetylcholin und Kaliumchlorid (KCl, 80 mmol/L) vorkontrahierten, Tracheen im Organbad untersucht.

## Ergebnisse:

Ein fünfminütiges Einwirken des Trockenextrakts in einer Konzentration von 0,24 mg/mL reduzierte die durch Acetylcholin (ACh) vermittelte Kontraktion der glatten Muskulatur der Mastrachea signifikant ( $C_{ACh}=40, 100, 240$  und  $300 \mu\text{mol/L}$ ,  $p \leq 0,001$  vs. Kontrolle,  $n=3$ ). Es zeigten sich keine Unterschiede im Ausmaß der antispasmodischen Aktivität. Folglich handelt es sich nicht um einen kompetitiven Antagonismus.

Des Weiteren wurde eine Dosisabhängigkeit nachgewiesen. Bei einer Extrakt-Konzentration von 0,1 mg/mL sank die durch  $100 \mu\text{mol/L}$  ACh induzierte Kontraktionskraft um  $16 \pm 9 \%$  ( $p \leq 0,05$  vs. Kontrolle,  $n=5$ ). Höhere Konzentrationen verstärkten diesen Effekt (1 mg/mL Extrakt:  $45 \pm 10 \%$ ; 2,5 mg/mL Extrakt:  $67 \pm 5 \%$ ,  $p \leq 0,001$  vs. Kontrolle,  $n=5$ ).

An der Rattentrachea traten vergleichbare Effekte auf (Maus:  $IC_{50}=0,85$  mg/mL; Ratte:  $IC_{50}=1,23$  mg/mL).

Erste Versuche mit KCl zeigten zudem einen hemmenden Effekt auf die elektromechanische Kopplung der Muskelkontraktion.

## Schlussfolgerung:

Die antispasmodische Aktivität des aus *Drosera rotundifolia* L. gewonnenen Extrakts konnte an zwei verschiedenen Säugetiermodellen erstmals an den unteren Atemwegen gezeigt werden. Eine durch bronchiale Inflammation bedingte Hyperreagibilität der glatten Muskulatur könnte mithilfe dieses antispasmodischen Effekts gesenkt werden.

## Danksagung:

Wir danken Herrn Dr. C. Nauert und der Klosterfrau Healthcare Group für die Unterstützung dieses Projekts.

[1] Krenn, Liselotte *et al.* (2004): *In vitro antispasmodic and anti-inflammatory effects of Drosera rotundifolia*; Arzneimittel-Forschung 54; No. 7: S. 402–405

# ***In vitro* Untersuchungen zur Hemmung der ICAM-1 Expression durch Myrrhe**

**K. Kuck<sup>1</sup>, B. Lipowicz<sup>2</sup>, G. Jürgenliemk<sup>1</sup>, J. Heilmann<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Universität Regensburg, Deutschland

<sup>2</sup> Repha GmbH, Langenhagen, Deutschland

Als Adhäsionsmolekül an Endothelzellen regelt ICAM-1 die Leukozytenmigration in umliegendes Gewebe. Die Expression wird von verschiedenen Entzündungsmediatoren stimuliert und macht ICAM-1 damit zu einem interessanten Target in der Therapie von chronisch entzündlichen Erkrankungen. Besonders in der Pathogenese der Colitis ulcerosa spielt das Molekül eine wichtige Rolle [1,2]. Eine Alternative zur konventionellen Therapie dieser Erkrankung stellt das pflanzliche Arzneimittel Myrrhinil Intest<sup>®</sup> (Myrrhepulver, Kamillenextrakt und Kaffeekohle) dar, welches sich in einer klinischen Studie als wirksam erwies [3].

Es wurde untersucht, welchen Einfluss Extrakte aus *Commiphora molmol* ENGL., der echten Myrrhe, auf die Expression von ICAM-1 haben und ob dessen Hemmung einen potentiellen Mechanismus bei der entzündungshemmenden Aktivität des Extrakts darstellt.

In einem *in vitro* Testmodell wurde der Einfluss verschiedener Myrrhe-Fractionen auf die ICAM-1 Expression untersucht. Als Modell für einen Endothel-Verbund diente ein Monolayer aus HMEC-1 (humane mikrovaskuläre Endothelzellen) Zellen, welche zuerst mit den Testsubstanzen inkubiert und anschließend mit TNF $\alpha$  zur Bildung des Adhäsionsmoleküls stimuliert wurden. Die ICAM-1 Konzentration konnte mithilfe eines fluoreszenzmarkierten Antikörpers durchflusszytometrisch bestimmt werden. Mit diesem Modell war es möglich eine konzentrationsabhängige Senkung der ICAM-1 Expression durch einen ethanolschen Myrrhe-Extrakt und einiger Unterfraktionen zu zeigen (bis zu 35,6%  $\pm$  7,8 gegenüber der Kontrolle).

Aus den pharmakologisch aktiven Fraktionen konnten anschließend nach verschiedenen chromatographischen Trennschritten (Flüssig-Flüssig-Verteilung, Flash-Chromatographie, CPC, präparative HPLC) Sesquiterpenlactone vom Germacran- und Eudesmantyp sowie Triterpene mit Cycloartan-Gerüst isoliert werden. Einige dieser Verbindungen wurden außerdem zum ersten Mal in der Gattung *Commiphora* gefunden.

[1] Vainer B., Nielsen O. H., Clin Exp Immunol 2000; 121:242-247

[2] Vegter S. et al., Aliment Pharmacol Ther 2013; 38:284-293

[3] Langhorst J. et al., Aliment Pharmacol Ther 2013; 38:490-500

# Kaffee Kohle und Myrrhe zeigen anti-entzündliche und barriere-stabilisierende Effekte in einem komplexen Mehrkomponentenzellmodell der intestinalen Mukosa

Weber L<sup>1,2</sup>, Goos KH<sup>2</sup>, Arnhold J<sup>1</sup>, Vissiennon C<sup>1,2</sup>

1 Universität Leipzig, Institut für Medizinische Physik und Biophysik, Leipzig, Deutschland

2 Repha GmbH Biologische Arzneimittel, Langenhagen, Deutschland

Myrrhinil-intest® ist ein pflanzliches Kombinationspräparat aus Myrrhe (*Commiphora molmol E.*), Kaffee Kohle (*Coffea Arabica L.*) und Kamillenblütentrockenextrakt (*Matricaria chamomilla L.*). Es wird traditionell zur Behandlung gastrointestinaler Beschwerden eingesetzt. Eine klinische Studie empfiehlt den Einsatz des Arzneimittels in der Remissionserhaltung bei Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen (CED)<sup>[1]</sup>. Die zu Grunde liegenden Wirkmechanismen sind jedoch nicht vollständig geklärt.

Ziel der vorliegenden Studie war es, mit Hilfe eines komplexen Co-Kultur-Zellmodells Erkenntnisse zum Einfluss von Myrrhe und Kaffee Kohle auf die pathophysiologisch relevante Ausschüttung von Entzündungsmediatoren im Darm sowie die intestinale Barrierestörung zu gewinnen.

Zur Modellierung der Darmmukosa dienten vollständig differenzierte Monolagen aus Caco-2 und HT29-MTX Zellen auf Transwell-Einsätzen. Über eine Co-Kultivierung mit LPS-aktivierten THP-1 Makrophagen für 48 h wurden die intestinalen Epithelzellen entzündlich stimuliert. Zeitgleich erfolgte die Behandlung mit verschiedenen Konzentrationen von Kaffee Kohle- und Myrrheextrakt sowie Budesonid als Positivkontrolle. Die Barrierefunktion wurde durch Messung des transepithelialen elektrischen Widerstands evaluiert und die Sekretion von Entzündungsmediatoren mittels ELISA quantifiziert.

Myrrhe zeigte hemmende Effekte auf die pro-inflammatorische IL6 und TNF Sekretion aus Makrophagen sowie die IL8 und MCP-1 Sekretion aus intestinalen Epithelzellen. Kaffee Kohle hemmte die Freisetzung der Cytokine IL6 und TNF sowie des Chemokins IL8. Des Weiteren zeigten sowohl Myrrhe als auch Kaffee Kohle durch Erhöhung des transepithelialen Widerstands eine barriestabilisierende Wirkung in dem verwendeten Modell.

Beide Substanzen wirken somit dem CED-assoziierten entzündungsfördernden Crosstalk zwischen Immun- und Epithelzellen und der intestinalen Barrierestörung entgegen, was den Einsatz von Myrrhinil-intest® bei diesem Krankheitsbild untermauert.

[1] Langhorst J et al. Alimentar Pharmacol Ther. 2013; 38(5):490–500.



# Anthelmintische Wirkstoffe: Extrakt aus *Ailanthus altissima* Rinde inhibiert die Reproduktion von *Caenorhabditis elegans*

S. Lehmann<sup>1</sup>, E. Liebau<sup>2</sup>, A. Hensel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Deutschland

<sup>2</sup>Institut für Zoophysiologie, Abteilung Molekulare Physiologie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Deutschland

*Ailanthus altissima* Mill. Swingle (Simaroubaceae), auch als Götterbaum bekannt, ist eine aus Asien stammende Pflanze. Die Rinde und Blätter werden sowohl in der Traditionellen Chinesischen Medizin, als auch in der Europäischen Volksmedizin zur Behandlung von Gastroenteritis und bei Wurmerkrankungen verwendet. Vertreter der Familie Simaroubaceae sind für ihre Fähigkeit bekannt, sogenannte Quassinoide (modifizierte Triterpene) zu bilden, für die herbizide, antiplasmoidale und anticancerogene Wirkungen beschrieben sind [1]. Aufgrund der beschriebenen anthelmintischen Wirkung gegenüber pflanzenpathogenen Nematoden [2], wurde in der vorliegenden Studie die Wirkung eines Methanol-Wasser Extraktes (7:3 v/v; 7:1 DEV) der primären Rinde auf den Modellorganismus *Caenorhabditis elegans* untersucht. Interessanterweise zeigte der Extrakt keinen nematiziden Effekt auf *C. elegans*, sondern einen inhibierenden Effekt auf die Reproduktion (IC<sub>50</sub> 0,15 mg/mL). Für den Test wurden L4 Larven mit unterschiedlichen Konzentrationen (0,01 bis 5,0 mg/mL) des Extraktes aus der primären Rinde von *A. altissima* behandelt. Die Inkubation erfolgte für 48 Std. bei 20 °C. Nach 48 Std. wurden jeweils die geschlüpften Larven gezählt. Zur Identifizierung der bioaktiven Substanzen, wurde eine Bioassay-geleitete Fraktionierung an MCI-Gel® als stationäre Phase und Acetonitril-Wasser (5:95 bis 100:0 v/v) als mobile Phase durchgeführt. Von den elf erhaltenen Fraktionen zeigten drei Bioaktivität, nämlich Fraktionen VIII-X (IC<sub>50</sub>: VIII 0,006 mg/mL; IX 0,708 mg/mL; X 0,043 mg/mL). Die aktiven Fraktionen wurden mittels FCPC weiter fraktioniert, die erhaltenen Unterfraktionen auf ihre Bioaktivität getestet. Die aktive(n) Substanz(en) wurde(n) mittels präparativer HPLC isoliert und die Struktur durch NMR aufgeklärt.

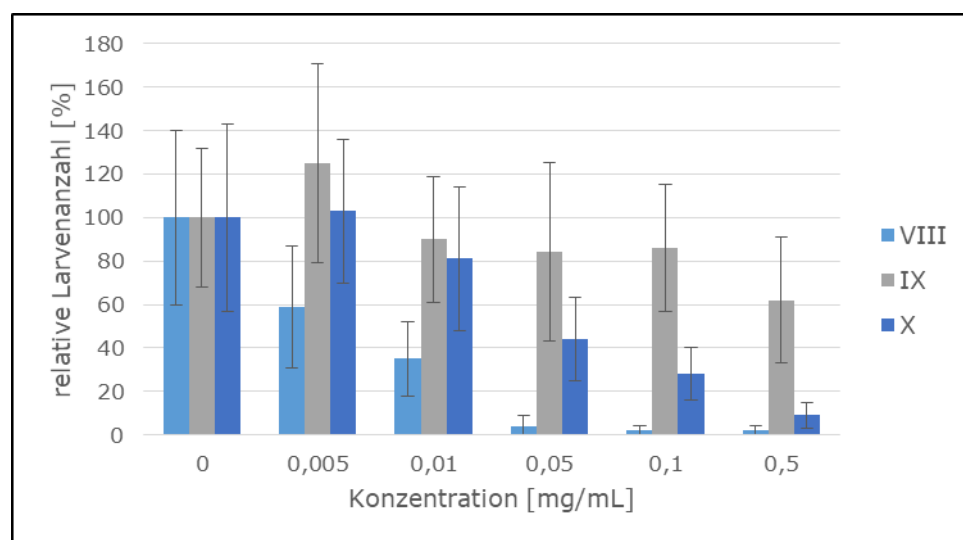


Abbildung 1: Effekt der aktiven Fraktionen VIII bis X eines Methanol-Wasser Extraktes (7:3 v/v) von *A. altissima* primärer Rinde auf die Reproduktion von *C. elegans*. Balken repräsentieren [%] ±SD von 4 unabhängigen Experimenten (n=16).

[1] Alves et al. Rev Bras Farmacogn 2014; 24(4): 481-501.

[2] Caboni et al. J Agr Food Chem 2012; 60(4): 1146-1151.

# Mit veresterten Rhamnogalacturonanen gezielt gegen *Helicobacter pylori* - Liposomale Zubereitungen als alternative Darreichungsform

M. Gottesmann<sup>1</sup>, V. Paraskevopoulou<sup>2</sup>, A. S. Mohammed<sup>2</sup>, T. Mengoni<sup>3</sup>, Tim Steinbacher<sup>4</sup>, F. H. Falcone<sup>2</sup>, F. M. Goycoolea<sup>3,5</sup>, A. Hensel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universität Münster, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Münster, Deutschland

<sup>2</sup> University of Nottingham, School of Pharmacy, Nottingham, United Kingdom

<sup>3</sup> Universität Münster, Institut für Biologie und Biotechnologie, Münster, Deutschland

<sup>4</sup> Universität Münster, Zentrum für Molekularbiologie der Entzündung, Münster, Deutschland

<sup>5</sup> University of Leeds, School of Food Science and Nutrition, Leeds, United Kingdom

Das Gram-negative Bakterium *Helicobacter pylori* (*Hp*) sorgt weltweit für schwerwiegende Infektionen, die zurzeit mit einer Kombination aus mind. drei Antibiotika behandelt werden [1]. Häufig treten auch nach Behandlung immer wieder Infektionssymptome (*Recurrence*) auf [2]. Das Repertoire an Behandlungsoptionen ist begrenzt. Zudem zeigt sich häufig eine mangelnde Adhärenz aufgrund starker Nebenwirkungen. Alternative Darreichungsformen, die ihre antibakterielle Wirkung über einen in der Therapie bisher nicht genutzten Mechanismus ausüben, sind essentiell.

Pektine und andere hochveresterte Rhamnogalacturonane zeigen in einem *in vitro* Durchflusszytometrie-basierten Adhäsionsassay einen antiadhäsiven Effekt gegen *Hp* J99. Ein Apfelpektin (RG-I-38; 1 mg/mL, antiadhäsiver Effekt ~20 %) und ein hochverestertes Rhamnogalacturonan I (ORG-I-Ac; 1 mg/mL, antiadhäsiver Effekt ~60 %), gewonnen aus unreifen Okrafrüchten, erwiesen sich als besonders effektiv. In einem zuvor etablierten Sandwich ELISA mit rekombinant exprimiertem BabA<sub>547-6K</sub> [3], dem am besten untersuchten äußeren Membranprotein *Hps*, welches eine essentielle Rolle in dessen Adhäsion spielt, konnte die Bindung von BabA an seinen Liganden Lewis<sup>b</sup> sowohl durch ORG-I-Ac (1 mg/mL, IC<sub>50</sub>: 17,57 µg/mL) als auch durch RG-I-38 (1 mg/mL) vollständig inhibiert werden. Des Weiteren konnte mittels *solid-phase binding assay* [4] ein konzentrationsabhängiger Effekt beider Naturstoffe auf den Anheftungsmechanismus via LPS gezeigt werden.

Die Ausnutzung dieser spezifischen BabA-/LPS-Inhibitoren in einer smarten liposomalen Zubereitung, basierend auf Lecithin, Cholesterol und DDAB (40:20:80), beladen mit Antibiotikum, ermöglicht ein gezieltes Targeting von *Hp*. Mittels artifiziellem Mucin und Mucus produzierenden HT29-MTX Zellen konnte eine Interaktion zwischen Liposomen und Mucus gezeigt werden. Erste konfokal-mikroskopische Aufnahmen zeigen eine Kollokalisierung von Pektin-gecoateten Liposomen und *Hp*.

Wir danken dem Boehringer Ingelheim Fonds und der Apothekerstiftung Westfalen-Lippe für die finanzielle Unterstützung des Forschungsaufenthaltes an der Universität Nottingham.

[1] Fischbach et al. Z Gastroenterol. 2016; 54(04): 327-363

[2] Hu et al. Aliment Pharmacol Ther. 2017; 46: 773-779

[3] Hage et al. Protein Expr Purif. 2015; 106: 25-30

[4] Fowler et al. Cellular Microbiol. 2006; 8(1): 44-54

# Sesquiterpene lactones: quantitative structure-antitrypanosomal activity relationships (QSAR)

N. M. Kimani<sup>1</sup>, J. C. Matasyoh<sup>2</sup>, M. Kaiser<sup>3,4</sup>, K. Langer<sup>2</sup>, M. S. Nogueira<sup>1</sup>, G. H. G. Trossini<sup>5</sup> and T. J. Schmidt<sup>1</sup>

1 Institute of Pharmaceutical Biology and Phytochemistry, University of Münster, Münster, Germany

2 Department of Chemistry, Egerton University, Njoro, Kenya

3 Swiss Tropical and Public Health Institute (Swiss TPH), Basel, Switzerland

4 University of Basel, Basel, Switzerland

5 Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

**Abstract**-In continuation of a previous quantitative structure-activity relationship (QSAR) study on the antitrypanosomal activity of 69 sesquiterpene lactones (STLs) towards *Trypanosoma brucei rhodesiense* (*Tbr*) [1], the causative agent of East African form of human African trypanosomiasis, a QSAR model for a much larger and more diverse set of almost twice as many (130) of such natural products was established in this study. The extended data set has been obtained through a variety of STLs isolated and tested for antitrypanosomal activity within our group and further enhanced by 12 compounds obtained from literature which have been tested in the same laboratory under identical conditions. Detailed QSAR analyses using various complementary approaches: (1) "Classical" descriptor-based QSAR using a genetic algorithm to select the most relevant variables, i.e. the same approach as in our previous study [1], (2) indicator variables deduced from pharmacophore features obtained from a 3D alignment of the most active molecules as applied in [2] and (3) hologram QSAR (HQSAR) based on molecular fingerprints of fragments extracted from the 2D molecular structure as used, e.g., in [3], have yielded models with good internal and external predictive ability. For a set of compounds as chemically diverse as the one under study, the models exhibited good coefficients of determination ( $R^2$ ) ranging from 0.71 to 0.85, as well as internal (leave-one-out  $Q^2$  values ranging from 0.62 to 0.72) and external validation coefficients ( $P^2$  values ranging from 0.54 to 0.73). The contributions of the various tested descriptors to the generated models are in good agreement with the results of previous QSAR studies and corroborate the fact that the antitrypanosomal activity of STLs is very much dependent on the presence and relative position of conjugated carbonyl groups within the molecular structure, but influenced by their hydrophilic/hydrophobic property and molecular shape

**Acknowledgement:** The authors are grateful to DAAD/NRF for a doctoral fellowship to Njogu M. Kimani at the University of Münster.

[1] Schmidt, T. J. et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58: 325–332.

[2] Schomburg, C. et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2013; 63: 313–320.

[3] Trossini, G. H. G. et al. *Molecules* 2014; 19: 10546–10562

# Das parasitäre Zytoskelett als Target innovativer antileishmanialer Therapien – Ultrastrukturelle Untersuchungen an subpellicularen Mikrotubuli von *Leishmania tarentolae*

Daniel Dornbusch und Fabian C. Herrmann

Bei Erregern der Gattung *Leishmania* handelt es sich um intrazelluläre Blutparasiten, die jährlich für etwa 2 Millionen neue Humaninfektionen verantwortlich sind<sup>1</sup>. Die diversen Formen der Leishmaniose werden aufgrund unzureichender Therapie- und Hospitalisierungsoptionen der betroffenen Patienten zu den vernachlässigten Tropenkrankheiten gezählt<sup>2</sup>. Vorangegangene Untersuchungen konnten das parasitäre Zytoskelett als Angriffsort innovativer, antileishmanialer Therapieansätze identifizieren<sup>3</sup>. Um Auswirkungen potentieller Inhibitoren auf diese Zielstrukturen zu untersuchen, sollte ein rasterkraftmikroskopisches Verfahren zur ultrastrukturellen Analyse des parasitären Zytoskeletts etabliert werden. Neben der Entwicklung geeigneter Techniken zur Präparation und Bildgebung, gelang außerdem die Darstellungen des subpellicularen Mikrotubulusnetzwerks von *Leishmania tarentolae* mittels Rasterkraftmikroskopie. Anhand dieser Untersuchungen könnte es zukünftig möglich sein, den Einfluss von z.B. Tubulininhibitoren auf Leishmanien zu quantifizieren und diese Informationen für die rationale Arzneistoffentwicklung nutzen zu können.

- 1 World Health Organization: *Control of the leishmaniases*. WHO technical report series No. 949, WHO, Genf
- 2 WHO, Fact Sheet Number 375
- 3 Werbovetz KA, Brendle JJ, Sackett DL. (1999) Purification, characterization, and drug susceptibility of tubulin from *Leishmania*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 98, 53–65.

# Synthese und biologische Testung linearer und cyclischer Diarylheptanoide

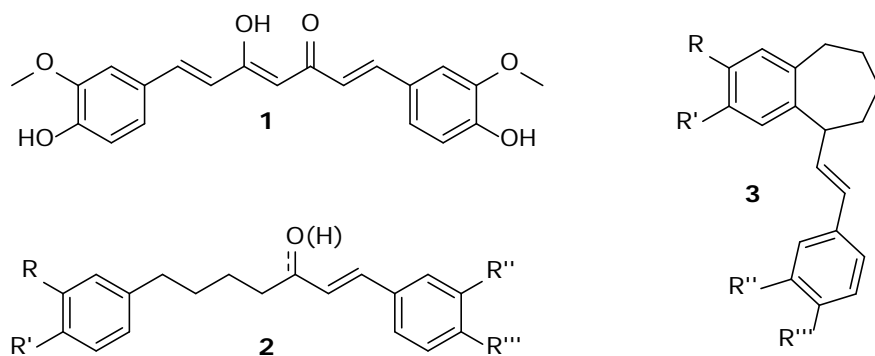
Sina Malenke<sup>1,2</sup>, Jörg Heilmann<sup>2</sup>, Sabine Amslinger<sup>1</sup>

1 Institut für Organische Chemie, Fakultät für Chemie und Pharmazie, Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, Regensburg, Deutschland

2 Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Fakultät für Chemie und Pharmazie, Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, Regensburg, Deutschland

Diarylheptanoide zählen zur Klasse sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe. Aufgebaut aus zwei Aromaten und verknüpft über eine aliphatische C-7 Einheit, können diese in lineare und cyclische Diarylheptanoide unterschieden werden. Letztere liegen entweder als *meta-meta*-verbrücktes Biphenyl oder als *meta-para*-verbrückte Diphenylether vor. Auch sind Diarylheptanoide mit cyclisierter C-7 Einheit bekannt. Als Beispiel kann hier das Cyclocurcumin genannt werden.<sup>[1]</sup>

Bei Curcumin (**1**) handelt es sich wohl um den bekanntesten Vertreter der Klasse der Diarylheptanoide. Antiinflammatorische, antioxidative, antikarzinogene sowie neuroprotektive Eigenschaften sind nur ein Ausschnitt aus einer Vielzahl positiver Eigenschaften, die dem Inhaltsstoff aus *Curcuma longa* zugesprochen werden. Trotz der vielfältigen und zum Teil potenten biologischen Aktivität ist Curcumin aufgrund seiner schlechten Bioverfügbarkeit und geringen Stabilität kein optimaler Kandidat als Arzneistoff.<sup>[2][3]</sup>



R/R'/R''/R''' = H, OH, OMe

Abb. 1: Curcumin (**1**) und Grundstruktur der synthetisierten Verbindungen (**2** + **3**)

In diesem Projekt wurden lineare Diarylheptanoide der Struktur **2** mit verschiedenen Substitutionsmustern in 3/3'-/4/4'-Position der aromatischen Ringe synthetisiert und pharmakologisch charakterisiert. Die mehrstufige Synthese startet bei substituierten Zimtsäure-Derivaten. Neben den linearen (**2**) wurden zusätzlich, von **2** abgeleitete cyclische Strukturen der Klasse der (*E*)-5-Styryl-6,7,8,9-tetrahydro-5*H*-benzo[7]annulene (**3**) synthetisiert.

Im Rahmen der pharmakologischen Charakterisierung werden zunächst neuroprotektive Effekte *in vitro* an der murinen Hippocampus-Zelllinie HT22 untersucht. Hierbei werden protektive Eigenschaften der Strukturen gegen Glutamat-induzierten Zelltod geprüft. In einem weiteren *in vitro* Assay an RAW 264.7-Zellen, einer Mausemakrophagen-ähnlichen Zelllinie, werden die Substanzen auf ihre antiinflammatorische Aktivität getestet.

[1] Jirásek, P. et al, *J. Nat. Prod.* **2014**, 77, 2206-2217

[2] Wange, L. et al, *Mol. Nutr. Food Res.* **2013**, 57, 1557-1568

[3] Fiala, M. et al, *J. Prod. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **2007**, 104, 12849-12854

# Überarbeitete Struktur und absolute Konfiguration von Auranthin aus *Penicillium aurantiogriseum*.

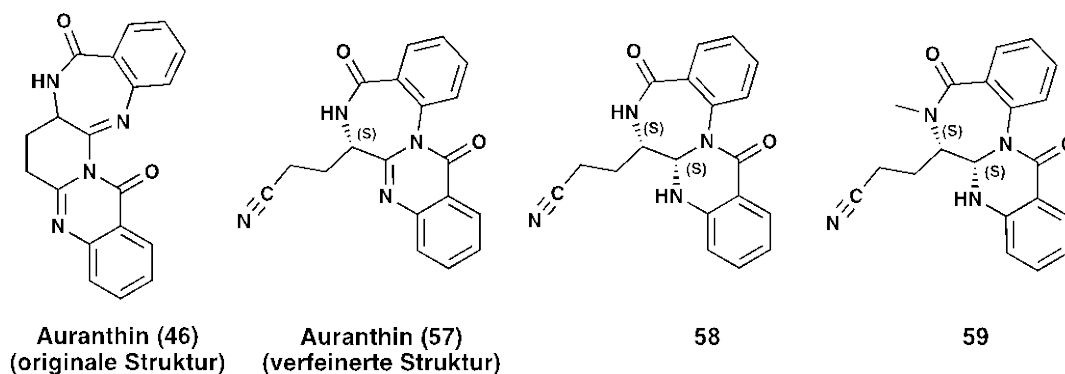
S. A. Kalinina<sup>1</sup>, D. V. Kalinin<sup>2</sup>, Y. Hövelmann<sup>1</sup>, C. G. Daniliuc<sup>3</sup>, C. Mück-Lichtenfeld<sup>3</sup>, H.-U. Humpf<sup>1</sup>

1 Institut für Lebensmittelchemie, WWU, Münster, Deutschland

2 Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, WWU, Münster, Deutschland

3 Organisch-Chemisches Institut, WWU, Münster, Deutschland

Der Mangel an Wissen über die vollständige Konfiguration des von *P. aurantiogriseum* abgeleiteten Sekundärmetaboliten Auranthin sowie die Inkonsistenz in seinen analytischen Eigenschaften ermutigten uns, seine Struktur detailliert zu untersuchen. Die chemische Zu diesem Zweck wurde zunächst natürliches Auranthin in ausreichender Menge aus *P. aurantiogriseum* isoliert. Dann wurden zwei halbsynthetische Analoga von Auranthin durch stereoselektive Auranthin-Reduktion hergestellt. Im ersten Schritt wurde Derivat **58** erhalten, das im nächsten Schritt durch regioselektive Methylierung zu Verbindung **59** umgesetzt wurde. Durch die veränderten physikalisch-chemischen Eigenschaften von **58** gelang es dieses zu kristallisieren und durch Röntgendiffraktometrie strukturell präzise zu charakterisieren. Basierend auf der Kristallstruktur von **58**, kombiniert mit einer detaillierten Analyse von Kernspinnmagnetresonanz (NMR)-, Infrarot (IR)- und Massenspektren, wurde gezeigt, dass es sich bei Auranthin um ein kondensiertes Chinazolinobenzodiazepindion (**57**) handelt, das eine azyklische aliphatische Nitrileinheit trägt und sich dadurch signifikant von der ursprünglich aus dem Jahr 1986 vorgeschlagenen Struktur (**46**) unterscheidet [1]. Seine absolute Konfiguration wurde durch Circular dichroismus (CD)- Spektroskopie und Dichtefunktionaltheorie (DFT)- Berechnungen bestätigt. Um die Zytotoxizität von Aurantiamin, Auranthin und seinen halbsynthetischen Analoga **58** und **59** zu testen, wurden HepG2-Zellen und humane Nierenepithelzellen (IHKE) eingesetzt. Im Allgemeinen zeigten sowohl Auranthin als auch seine halbsynthetischen Analoga **58** und **59** geringe zytotoxische Effekte gegen beide getesteten Zelllinien. IHKE-Zellen waren jedoch gegenüber dem methylierten Derivat **59** etwas empfindlicher und zeigten eine dosisabhängige Abnahme der Zellviabilität in Konzentrationen über 10 µM. Aurantiamin zeigte jedoch deutlichere zytotoxische Effekte, wobei der IC<sub>50</sub> der IHKE-Zellen bei 25 µM lag [2].



[1] Yeulet, S. E. *et al.* J Chem Soc Perk T1 1986; 1891-1894

[2] Kalinina S., Kalinin D *et al.* J Nat Prod 2018; 81 (10): 2177-2186

# Lignans and sesquiterpene lactones from the roots of *Hypochaeris radicata* subsp. *heterocarpa* (Asteraceae, Cichorieae)

Oleksandr Shulha<sup>1</sup>, Serhat Sezai Çiçek<sup>1</sup>, Alfonso Mangoni<sup>2</sup>, Christian Zidorn<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pharmazeutisches Institut, Abteilung Pharmazeutische Biologie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Gutenbergstraße 76, 24118 Kiel, Germany

<sup>2</sup> Dipartimento di Farmacia, Università di Napoli Federico II, Via Domenico Montesano 49, 80131 Napoli, Italy

*Hypochaeris radicata* L. (vernacular name: catsear; German: Ferkelkraut) is an edible herb, native to most parts of Europe. The leaves are traditionally used in Italy as a salad, whereas the roots are used to prepare coffee substitutes. In German folk medicine, *H. radicata* was used e.g. against lung diseases. In this study, four previously undescribed lignans (Figure 1, compounds **1-4**) and two novel sesquiterpene lactones together with three known compounds were isolated from an acetone extract of the roots of *Hypochaeris radicata* subsp. *heterocarpa* (Moris) Arcang. Elucidation of their structures was accomplished using MS and NMR spectroscopic data and absolute stereochemical configurations were obtained using circular dichroism (CD) spectroscopy. Compound **1** was additionally evaluated for its cytotoxic potential against myeloma cell lines MM1S, U266, and NCI-H929.

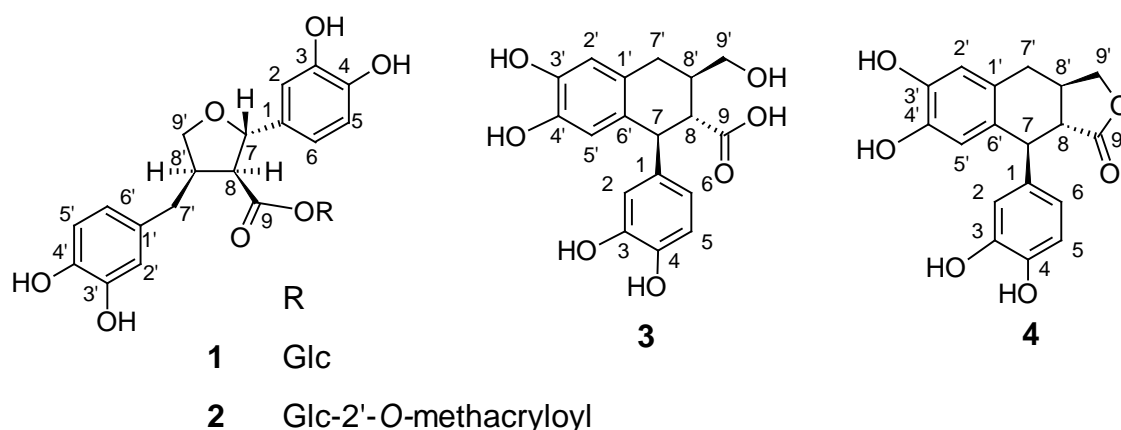


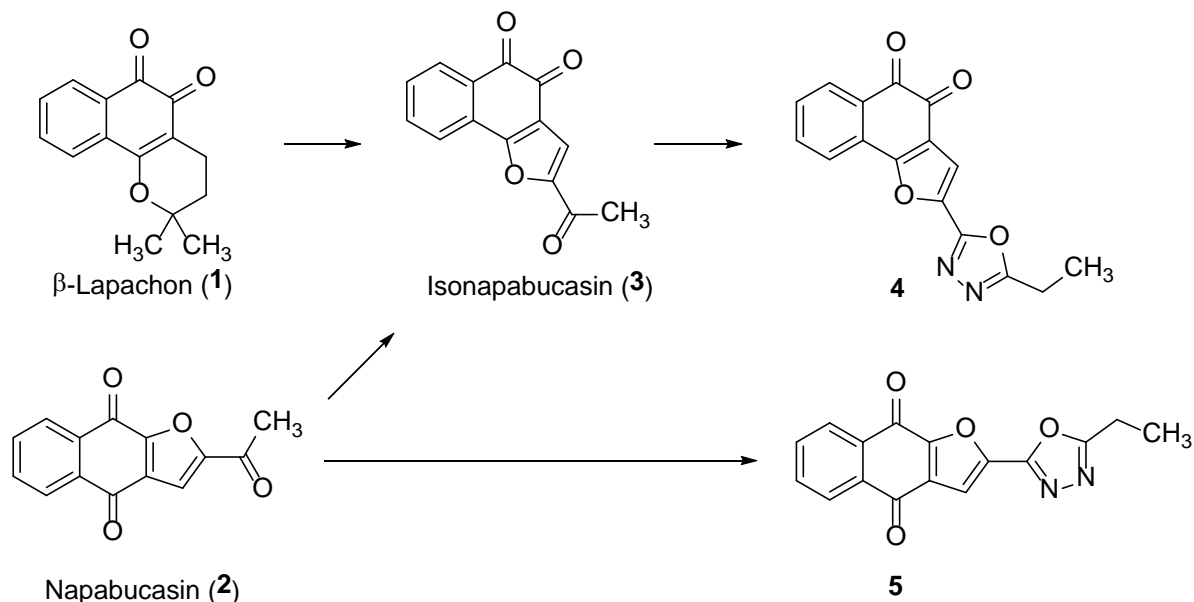
Fig.1 Lignans, isolated from *Hypochaeris radicata* subsp. *heterocarpa*

# Neue Derivate des Isonapabucasins

C Bernemann<sup>1</sup>, H Löcken<sup>1</sup>, K Müller<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Münster, Deutschland

Isonapabucasin (**3**) ist ein Hybridderivat der zur Krebstherapie verwendeten Naturstoffe  $\beta$ -Lapachon (**1**) und Napabucasin (**2**, Abbildung 1) [1]. Letztere können aus *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos, syn. *Tabebuia impetiginosa* (Bignoniaceae) isoliert werden.



**Abbildung 2:** Übertragung des angularen Strukturelementes von  $\beta$ -Lapachon auf Napabucasin zum Isonapabucasin sowie daraus resultierende Strukturen.

Während sich Napabucasin in aktuellen Studien als vielversprechendes Therapeutikum von Tumoren mit erhöhtem pSTAT3-Level erwies, der aktiven Form des onkogenen Transkriptionsfaktors STAT3 [2], wird für  $\beta$ -Lapachon eine Modulation des Redoxstatus nach Reduktion durch die NAD(P)H-abhängige Chinonoxidoreduktase 1 (NQO1) als möglicher Wirkmechanismus angenommen [3]. Auch Napabucasin zeigte in unseren Untersuchungen, dass es in gleicher Weise mit NQO1 interagiert.

Wir stellten fest, dass die Inhibierung der STAT3-Phosphorylierung durch Isonapabucasin bereits bei einer geringeren Konzentration erfolgt als bei Napabucasin [1]. Umgekehrt zeigt Napabucasin aber eine deutlich erhöhte NQO1-Aktivität im Vergleich zu Isonapabucasin. Ziel war es, Strukturen zu entwickeln, die sowohl eine hohe Potenz bezüglich pSTAT3 als auch eine hohe Aktivität gegenüber NQO1 aufweisen.

Der Grundkörper des Isonapabucasins, das angulare Naphtho[1,2-*b*]furan-4,5-dion, ein Naturstoff aus *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh., wurde hierzu an C-2-Position substituiert. Identisch substituierte lineare Naphthofuran-4,9-dione dienten zum Vergleich. Neben verschiedenen aliphatischen und aromatischen Acylderivaten wurden Carbonsäurederivate sowie 1,3,4-Oxadiazolderivate synthetisiert.

Die an den Zielsystemen STAT3 und NQO1 wirksamsten Strukturen stellen die 5-Ethyl-1,3,4-Oxazolderivate dar. Während bei dem angularen Isonapabucasin-Analogen **4** bei gleicher Wirkstärke an STAT3 die NQO1-Aktivität fast das Niveau von Napabucasin erreichen konnte, war der lineare Vertreter **5** im Vergleich zu Napabucasin gegenüber STAT3 deutlich potenter. Der duale Wirkmechanismus soll ein breiteres Anwendungsspektrum sowie ein verringertes Resistenzrisiko ermöglichen.

[1] Löcken H et al. J. Nat. Prod. 2018; 81: 1636–1644

[2] Hubbard J et al. Drugs 2017; 77: 1091–1103.

[3] Silvers M A et al. J. Biol. Chem. 2017; 292: 18203–18216.



# Phytochemische, pharmakologische und analytische Untersuchung des Balsams von *Copaifera reticulata*

Serhat Sezai Cicek

Christian-Albrecht-Universität zu Kiel, Pharmazeutisches Institut, Abteilung Pharmazeutische Biologie, Gutenbergstraße 76, 24118 Kiel

Der Balsam ausgewählter Arten der Gattung *Copaifera* ist ein traditionelles brasilianisches Heilmittel zur Wundheilung und zur Behandlung von Harnwegsinfekten, Atemwegserkrankungen, Rheuma und verschiedener Tumoren [1]. Aufgrund seines mannigfaltigen Einsatzes in der Volksmedizin wurde der Balsam bereits zahlreichen Studien unterzogen. Da sich die meisten dieser Studien mit dem Balsam und nicht mit einzelnen daraus gewonnenen Inhaltsstoffen befassten, war das Ziel unserer Arbeit die systematische Untersuchung der zytotoxischen und antimikrobiellen Eigenschaften des Balsams [2].

Während die zytotoxischen Untersuchungen keine nennenswerten Ergebnisse lieferten, zeigte der Balsam antibakterielle Aktivität gegen die grampositiven Bakterien *Enterococcus faecium* und die Methicillin-resistente Form von *Staphylococcus aureus* (MRSA) mit IC<sub>50</sub>-Werten von 4.2 bzw. 5.3 µg/mL. Die Fraktionierung des Balsams führte zur Isolierung von acht Diterpensäuren, von denen drei eine deutliche Hemmung der beiden Keime zeigten (IC<sub>50</sub>-Werte von 1.6 und 2.5 µg/mL für die aktivste Verbindung). Außerdem konnte für Polyalthiasäure, das Haupt-Diterpen im Balsam von *C. reticulata*, ein Effekt gegen zwei Dermatophyten der Gattung *Trichophyton* nachgewiesen werden, mit IC<sub>50</sub>-Werten von 6.8 (*T. rubrum*) und 4.3 µg/mL (*T. mentagrophytes*).

Zusätzlich zu den phytochemisch-pharmakologischen Untersuchungen wurden zwei Methoden zur Quantifizierung der acht isolierten Verbindungen entwickelt und validiert [3].

Während die Substanzen mit der ersten Methode durch UHPLC und Lichtstredetektion bestimmt wurden, erfolgte die Quantifizierung der zweiten Methode mittels zweidimensionaler NMR Spektroskopie. Ein Vergleich der beiden Methoden zeigte gute Übereinstimmung für sieben der acht Verbindungen. Bezüglich der Präzision der beiden Methoden, wies die NMR Methode geringere Schwankungen für die Hauptverbindungen auf, während die UHPLC Methode vor allem für die Nebenverbindungen deutlich präzisere Werte lieferte.

[1] Leandro et al. *Molecules* 2012; 173:866

[2] Pfeifer Barbosa et al. *J. Ethnopharmacol.* 2019; 233:94-100

[3] Çiçek et al. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018; 160:126-134

## Herb-drug interactions: Evidence so far

Charles Awortwe<sup>1,2,3</sup>, Henrike Bruckmueller<sup>1</sup> and Ingolf Cascorbi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Experimental and Clinical Pharmacology, University Hospital Schleswig-Holstein, Kiel, Germany

<sup>2</sup>Division of Clinical Pharmacology, Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Stellenbosch, Tygerberg, South Africa, and

<sup>3</sup>Biomedical Research and Innovation Platform, South African Medical Research Council, Tygerberg, South Africa.

**Introduction:** Several studies on the potential co-usage of prescribed medications with medicinal herbal products in patients especially with chronic diseases have been reported in literature. However, there is a lack of adequate systematic reviews on these studies to underscore the clinical relevance of herb-drug interactions (HDI). Therefore, we conducted causality assessment on HDI related case reports and meta-analysis on pharmacokinetic studies in healthy volunteer recorded from 2000 to 2017.

**Method:** Extensive literature search was conducted to identify HDI case reports and pharmacokinetic studies in healthy volunteers taking herbs and prescribed medications. Causality assessment was conducted to determine the severity of adverse reactions reported for the various cases identified by using the Horn's drug interaction probability score. For pharmacokinetic studies in healthy volunteers, the Cochrane Collaboration's seven criteria were used to determine the quality of studies: random sequence generation, allocation concealment, blinding of participants and personnel, blinding of outcome assessment, incomplete outcome data, selective reporting and other bias. Meta-analysis was performed on the studies meeting the eligibility criteria.

**Results:** Forty-nine case reports of adverse drug reactions (ADRs) were recorded. Most patients were diagnosed with either cardiovascular diseases (30.60%), cancer (22.45%) or on renal transplants (16.32%) receiving mostly warfarin, alkylating agents and cyclosporine, respectively. Concomitant intake of St. John's wort (SJW), green tea and *Panax ginseng* were associated with significant interaction in patients on warfarin, cyclosporine or kinase inhibitors (gefitinib and imatinib). The meta-analysis was performed on eleven pharmacokinetic studies in healthy volunteers. SJW significantly decreased the AUC ( $p < 0.0001$ ) and clearance ( $p = 0.007$ ) of midazolam. Further subgroup analysis identified age to affect C<sub>max</sub> of midazolam ( $p < 0.01$ ) in the presence of SJW. *Echinacea purpurea* (EP) significantly increased the clearance of midazolam ( $p = 0.01$ ). Evidence of publication bias ( $p > 0.001$ ) was shown on the effect of the herbal products on half-life of midazolam.

**Conclusion:** This study has shown that St. John's wort, *Echinacea purpurea*, green tea and *Panax ginseng* cause clinically significant interaction with prescribed medications culminating into partly the observed severe adverse reactions. However, additional controlled studies are needed to strengthen the relevance of documented HDI for other case reports identified to have severe ADRs in this study.

# Anthelminthische Aktivität procyanidinreicher Arzneipflanzen aus Westafrika – Phytochemie und molekularbiologische Untersuchungen

V Spiegler<sup>1</sup>, E Liebau<sup>2</sup>, A Hensel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universität Münster, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Corrensstraße 48, 48149 Münster, Deutschland

<sup>2</sup> Universität Münster, Institut für Zoophysilogie - Molekulare Physiologie, Schlossplatz 8, 48143 Münster, Deutschland

Oligomere Procyanidine (OPC) wurden als wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe wässrig-ethanolischer Extrakte der westafrikanischen Arzneipflanzen *Combretum mucronatum* [1] und *Paullinia pinnata* [1,2] identifiziert, die traditionell gegen Wurmerkrankungen eingesetzt werden [3].

Im Rahmen von Untersuchungen zur Wirkung der OPCs wurden mittels Transkriptomanalyse in *C. elegans* nach Behandlung mit oligomeren Procyanidinen verschiedene Gene identifiziert, die für prolinreiche Proteine codieren und als mögliche spezifische Bindungspartner für Gerbstoffe fungieren könnten. Stark hochreguliert war das Gen T22D1.2, ein Ortholog eines humanen prolinreichen Speichelproteins, das analog zur Funktion von Speichelproteinen an Bindung und Abwehr von OPCs beteiligt sein könnte. Mittels Promotor-GFP-Konstrukt konnte für T22D1.2 gezeigt werden, dass das Gen massiv vor allem im Darm, und als Reaktion auf die Behandlung mit Gerbstoffen exprimiert wird. Es ist daher davon auszugehen, dass T22D1.2 eine Abwehrstrategie von *C. elegans* gegenüber nematotoxischen Procyanidinen darstellt. Mittels CRISPR/Cas9 wurde eine T22D1.2 Knockout-Mutante generiert, es konnte jedoch kein Unterschied in der Sensibilität dieser Mutante gegenüber OPCs im Vergleich zum Wildtyp festgestellt werden. Zusätzlich wurden Gene identifiziert, die nach Kontakt mit OPCs signifikant herunterreguliert wurden, insbesondere solche, die mit dem Lysosom, der Glykosylierung und der Immunantwort des Wurms assoziiert sind.

Die aktuellen molekularbiologischen Ergebnisse liefern Einblicke in die Reaktion des Nematoden auf OPCs und unterstreichen bisherige Vermutungen, dass OPCs vorwiegend mit Proteinen auf der Darmoberfläche interagieren. Damit ist eine Basis für die Identifikation potentieller Angriffspunkte für neue Anthelminthika geschaffen.

[1] Spiegler V et al. *Molecules* 2015; 20: 14810-14832.

[2] Spiegler V et al. *Planta Med* 2016; 82: 1173-1179.

[3] Agyare C et al. *J Ethnopharmacol* 2014; 158PA: 255-263.

## **Abstracts Poster-Präsentationen**

# Leaves of *Phyllanthus muellerianus* Kuntze Excell contain inhibitors of Human Hyal-1

John Nii Addotey <sup>1</sup>, Isabelle Lengers <sup>2</sup>, Joachim Jose <sup>2</sup>, Andreas Hensel <sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup> University of Münster, Institute of Pharmaceutical Biology and Phytochemistry, Corrensstrasse 48, D-48149 Münster, Germany.

<sup>2</sup> University of Münster, Institute of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Corrensstrasse 48, D-48149 Münster, Germany.

Hyaluronic acid (HA) is an integral part of the extracellular matrix and is involved in many pathological and physiological processes such as inflammation and wound healing [1]. The concentration of HA depends on the dynamic equilibrium between the synthesis by hyaluronate synthase and the degradation by hyaluronidases. Hyaluronidase-1 (Hyal-1) is known to be predominantly responsible for the breakdown of HA in somatic cells [2]. Thus, Hyal-1 inhibitors could find use as anti-inflammatory and wound healing agents.

Leaves and twigs from *Phyllanthus muellerianus* Kuntze Excell are known to exert anti-inflammatory, antipyretic as well as wound healing properties. Leaf extracts from *P. muellerianus* showed basic anti-Hyal-1 activity in a screening for human Hyal-1 activity from natural sources. A detailed investigation of this effect should rationalize the potential anti-inflammatory activity of the extract as well as improved wound healing. Hydroalcoholic extract (PWE) exerts a concentration dependent inhibition of Hyal-1 with an IC<sub>50</sub> of 80 µg/mL. Bioassay-guided fractionation revealed 13 compounds from the two most active fractions, composed mainly of ellagitannins and flavonoid glycosides. The most active Hyal-1 inhibitor was found to be the ellagitannin, chebulanin (IC<sub>50</sub> 132 µM). This represents the first description of chebulanin in *P. muellerianus*. The main anti-Hyal-1 activity of this extract can therefore be correlated to chebulanin. The synergistic effects observed, indicated that the traditional use of aqueous extracts of *P. muellerianus* is justified, rather than the use of the isolated tannins. The traditional use of the plant as an anti-inflammatory agent for improved wound healing can be rationalized by the anti-Hyal-1 activities of its constituents.

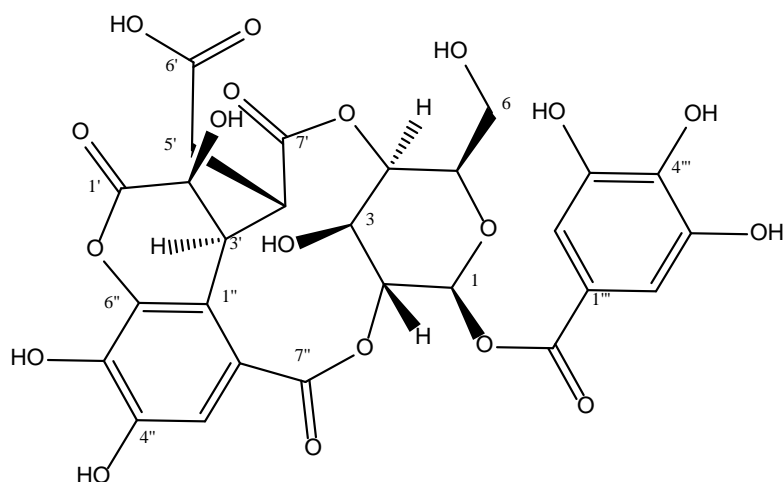


Fig. 1: Structural feature of Chebulanin.

[1] Girish, K.S., K. Kemparaju, *The magic glue hyaluronan and its eraser hyaluronidase: A biological overview*. Life Sciences, 2007, 80, 1921-1943.

[2] Formby, B.m R. Stern, *Lactate-sensitive response elements in genes involved in hyaluronan catabolism*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 305, 203-208.

# Antiadhäsive Effekte von *Ononis spinosa* gegenüber uropathogenen *E. coli* zur Therapie von unkomplizierten Harnwegsinfekten

M. Deipenbrock<sup>1</sup>, A. Hensel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Universität Münster, Münster, Deutschland

Wässrige Extrakte aus Hauhechelwurzel (*Ononis spinosa*) werden traditionell als unterstützendes Therapeutikum bei Harnwegsinfekten eingesetzt. Dieser traditionellen Anwendung liegt ein leichter diuretischer Effekt zugrunde [1], der wiederum auf einer Hemmung der humanen Hyaluronidase-1 in der Niere beruht [2]. Hierfür scheinen verschiedene Isoflavonoide von Bedeutung zu sein [2].

Zur weiteren Untersuchung der Arzneipflanze wurden phytochemische und funktionale Untersuchungen eines wässrigen Auszugs der Wurzel Droge durchgeführt. Im Rahmen dessen wurde der Extrakt mittels LC-qTOF-MS charakterisiert und der Einfluss auf uropathogene *E. coli* (UPEC), eine Erregergruppe, die über 80 % aller unkomplizierten Harnwegsinfekte auslöst, geprüft.

Dabei konnten in einem Proliferationsassay über 24 Stunden keine cytotoxischen Effekte gegenüber UPEC (UTI89) im Konzentrationsbereich von 125 bis 1000 µg/mL festgestellt werden.

Untersucht wurde zudem der Einfluss des Extraktes auf bakterielle Virulenzfaktoren, die zur Anheftung von UPEC an Blasen Zellen führen. In einem spezifischen flowcytometrischen Assay wurde die relative Adhäsion der mit FITC markierten Bakterien an T24 Blasen Zellen nach einstündiger Coinkubation mit dem Extrakt (125 – 1000 µg/mL) konzentrationsabhängig und signifikant um bis zu 70% reduziert. Ein toxischer Effekt gegenüber den verwendeten T24 Blasen Zellen konnte mittels MTT-Assay ausgeschlossen werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass dem Einsatz von wässrigen Hauhechelextrakten bei unkomplizierten Harnwegsinfekten durch die Hemmung des ersten Schrittes der Infektionskaskade, die Anheftung der Bakterien an Blasen Zellen, zusätzliche Bedeutung zukommt.

[1] Rebuelta et al. *Plantes Méd Phytothérapie* 1981; 15; 99-108

[2] Addotey et al. *Fitoterapia* 2018; 130; 169-174

# Polymethoxylierte Flavone aus *Orthosiphon stamineus* als antiadhäsive Wirkstoffe gegen uropathogene *E. coli*

M. Deipenbrock<sup>1</sup>, A. Hensel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Universität Münster, Münster, Deutschland

80% aller unkomplizierten Harnwegsinfekte werden durch uropathogene *E. coli* (UPEC) ausgelöst. Die Hemmung des ersten Infektionsschritts, die spezifische Erkennung und Anheftung von UPEC an Blasen­zellen ist ein vielversprechender Ansatz zur Therapie.

Im Mausinfektionsmodell konnte für wässrige Extrakte aus *Orthosiphon stamineus* antiadhäsive *in vivo* Aktivität nachgewiesen werden [1]. Zur Ermittlung der verantwortlichen Sekundärstoffe wurden phytochemische und funktionale Untersuchungen eines wässrigen (OWE) und eines acetonischen Extraktes (OAE) durchgeführt. Per UHPLC-MS wurde gezeigt, dass die Flavonoidverteilung der beiden Extrakte qualitativ vergleichbar ist, OAE jedoch einen wesentlich höheren Gehalt an Flavonen aufweist.

Die relative Adhäsion von mit FITC markierten UPEC (UTI89) an T24 Blasen­zellen wird im flowcytometrischen Assay durch beide Extrakte nach einstündiger Coinkubation signifikant gesenkt. OAE reduziert die Adhäsion um bis zu 70% (75 µg/mL) und ist damit deutlich stärker wirksam als OWE, der diese um max. 40% (2000 µg/mL) senkt. Um wirksame Inhaltsstoffe zu identifizieren wurde daher OAE per FCPC fraktioniert und polymethoxylierte Flavone mittels anschließender präparativer HPLC isoliert. Über Ermittlung der exakten Masse per LC-qTOF-MS sowie <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-Spektren erfolgte die Strukturaufklärung. Das pentamethoxylierte Sinensetin, welches das am höchsten konzentrierte Flavonoid des Extraktes ist, zeigt eine signifikante Reduktion der Adhäsion (IC<sub>50</sub> ≈ 135 µM). Signifikante Effekte konnten ebenfalls für Ladanein, Salvigenin und 5-Hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavon gezeigt werden, wohingegen Eupatorin, das über eine zusätzliche Hydroxylgruppe am B-Ring verfügt, keinen Einfluss auf die bakterielle Adhäsion hat.

Zusammenfassend stellen polymethoxylierte Flavone antiadhäsive Inhaltsstoffe in *O. stamineus* dar, was die Bedeutung der Arzneipflanze für ihren Einsatz bei unkomplizierten Harnwegsinfekten stützt.

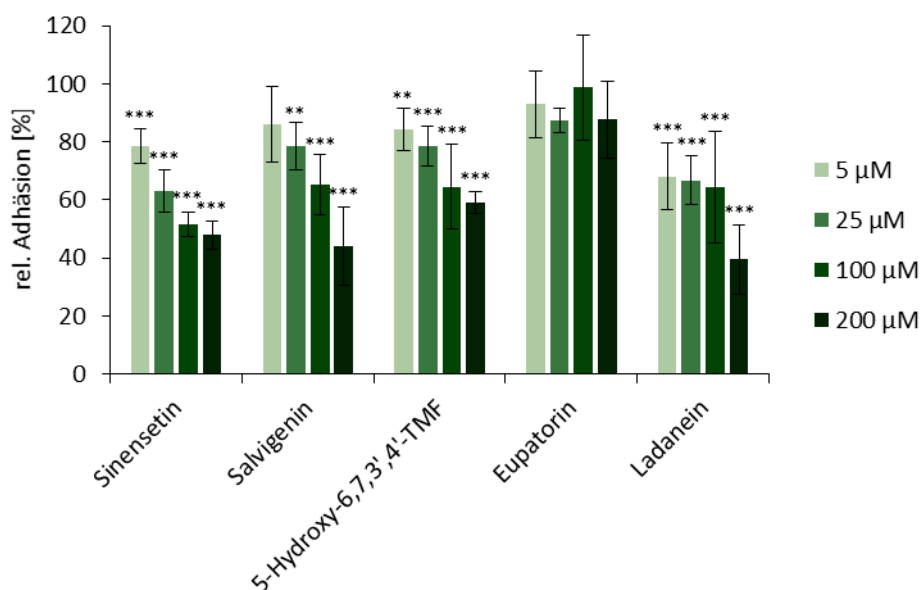


Abb. 1: Einfluss der isolierten Flavone auf die Adhäsion von UPEC (UTI89) an T24 Blasen­zellen nach 1 h Coinkubation  
3 unabhängige Experimente mit n = 3 Replikaten

[1] Beydokthi et al. Phytomedicine 2017; 28;1-9

# **Salix Screening: Vergleichende Untersuchung der Procyanidinmuster in 16 Individuen im Jahresverlauf**

T. Gruber<sup>1</sup>, S. Wiesneth<sup>1</sup>, J. Heilmann<sup>1</sup>, G. Aas<sup>2</sup>, G. Jürgenliemk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Universität Regensburg, Regensburg, Deutschland

<sup>2</sup> Ökologisch-Botanischer Garten, Universität Bayreuth, Bayreuth, Deutschland

Weidenrinde (*Salicis cortex*; *Salix* spec.; Salicaceae) ist eine im Europäischen Arzneibuch (PH. Eur.) monographierte Droge<sup>1</sup>. Zur Gewinnung werden die getrocknete Rinde junger Zweige oder ganze geschnittene Zweige der aktuellen Wachstumsperiode bis zu einem Durchmesser von 10 mm verwendet. Das Arzneibuch lässt verschiedene Stammpflanzen zu, fordert jedoch einen Mindestgehalt an Salicylalkoholderivaten. Weitere bedeutende und für die Wirksamkeit vermutlich relevante Inhaltsstoffgruppen wie Procyanidine und Flavonoide<sup>2</sup>, spielen bei der Qualitätsbestimmung nach dem Arzneibuch keine Rolle.

Im Rahmen dieses Projekts wurden die Procyanidinmuster 16 verschiedener *Salix*-Individuen untersucht und charakterisiert. Dazu wurden im Ökologisch-Botanischen Garten der Universität Bayreuth zu vier Zeitpunkten in der Wachstumsperiode 2017 Proben von Blättern und Trieben genommen. Die beprobten Arten umfassen unter anderem die drei im Arzneibuch genannten, *S. purpurea* (1x ♂, 2x ♀), *S. fragilis* (2x ♂, 1x ♀) und *S. daphnoides* (2x ♂, 1x ♀).

Ziel dieser Arbeit ist es, durch mehrere Erntezeitpunkte den Konzentrationsverlauf der Procyanidine während der Wachstumsperiode nachzuvollziehen und Unterschiede sowie Gemeinsamkeiten zwischen den verschiedenen Arten, aber auch innerhalb einzelner Arten aufzuzeigen.

Die Konzentrationen von oligomeren und polymeren Procyanidinen wurden mithilfe einer modernen UPLC-Methode und Fluoreszenzdetektor als Catechin bestimmt<sup>3</sup>.

Die Untersuchungen zeigten zum Teil deutliche artspezifische Unterschiede in den Gesamtkonzentrationen sowie in den Verhältnissen von oligomeren zu polymeren Procyanidinen, während geschlechterspezifische Unterschiede nur gering ausgeprägt erscheinen. Des Weiteren können unterschiedliche Präferenzen zur Speicherung dieser Inhaltsstoffgruppe verschiedenen Pflanzenorganen beobachtet werden.

[1] Willow bark *Salicis cortex*, European Pharmacopoeia – 9<sup>th</sup> Edition (2016). European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM).

[2] Nahrstedt, A. et al. (2007). Willow bark extract: The contribution of polyphenols to the overall effect. *Wien Med Wochenschrift*; 157/13–14: 348–351.

[3] Hellenbrand, N. et al. (2015). Isolation and quantification of oligomeric and polymeric procyanidins in leaves and flowers of Hawthorn (*Crataegus* spp.). *Fitoterapia*; 104: 14–22.



## ***Stachybotrys* sp. – Exploring secondary metabolite profiles by LC-MS/MS and biotransformation of phenylspirodrimanes**

**Annika Jagels<sup>1</sup>, Viktoria Lindemann<sup>1</sup>, Sebastian Ulrich<sup>2</sup>, Christoph Gottschalk<sup>2</sup>, Benedikt Cramer<sup>1</sup>, Florian Hübner<sup>1</sup>, Manfred Gareis<sup>2</sup>, Hans-Ulrich Humpf<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Food Chemistry, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Germany

<sup>2</sup> Chair of Food Safety, Ludwig-Maximilians-Universität München, Schönleutnerstraße 8, 85764 Oberschleißheim, Germany

The genus *Stachybotrys* produces a broad diversity of secondary metabolites, including macrocyclic trichothecenes, atranones, and phenylspirodrimanes (PSDs) [1]. Although the class of the PSDs is the major one and consists of a multitude of metabolites bearing various structural modifications, little investigations have been carried out. Thus, the presented study deals with the quantitative determination of several secondary metabolites produced by distinct *Stachybotrys* species for comparison of their metabolite profiles. For that purpose, 15 of the primarily produced secondary metabolites were isolated from fungal cultures in order to be used as analytical standards for the development of an LC-MS/MS method. The development was applied to the analysis of micro-scale extracts from 5 different *Stachybotrys* strains, which were cultured on different media. In that process, spontaneous dialdehyde/lactone isomerization was observed for some of the isolated secondary metabolites and novel stachybotrychromenes [2] were quantitatively investigated for the first time. The metabolite profiles of *Stachybotrys* species are considerably influenced by time of growth, substrate availability as well as the individual biosynthetic potential of the respective species. Moreover, first phase-I and -II metabolism studies of selected PSDs were conducted to estimate the biotransformation after exposure to these compounds. Regarding the reported adverse effects associated with *Stachybotrys* growth in building environments, combinatory effects of the investigated secondary metabolites should be addressed and the role of PSDs re-evaluated in future research.

[1] Wang et al. *Phytochem Rev* 2015; 14: 623–655.

[2] Jagels et al. *Mycotoxin Res* 2018; 34: 179-185.

# Phytochemische und funktionelle Studien an Extrakten von Wurzeln der *Armoracia rusticana*

E. Jimenez-Negro<sup>1</sup>, J. Sendker<sup>1</sup>, B. Scharf<sup>1</sup>, M. Kleinwächter<sup>2</sup>, B. Lipowicz<sup>2</sup>, A. Hensel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universität Münster, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Corrensstraße 48, 48149 Münster, Deutschland

<sup>2</sup> Repha GmbH, Alt-Godshorn 87, 30855 Langenhagen, Deutschland

Die Wurzeldroge des Meerrettiches (*Armoracia rusticana* G.Gaertn., B.Mey. & Scherb.) wird aufgrund ihres Gehaltes an Glucosinolaten, die durch Fermentation zu den antibakteriell wirkenden Isothiocyanaten (Senfölen) umgesetzt werden, in der rationalen Phytotherapie gegen Infektionen der Atemwege und der ableitenden Harnwege eingesetzt. Um zu untersuchen, ob weitere Verbindungen nebst der Senföle zur Wirkung beitragen, wurde ein methanolischer Extrakt (7:3 V/V, MeOH/H<sub>2</sub>O) aus Meerrettichwurzeln hergestellt und säulenchromatographisch an Sephadex LH20<sup>®</sup>, Kieselgel und RP18 Phase fraktioniert. Um Senföle freizusetzen und die potentielle fermentative Umwandlung anderer Verbindungen zu ermöglichen, wurde der Extrakt vor der Testung in verschiedenen in vitro-Assays, mit einem Proteinextrakt aus Meerrettichwurzeln umgesetzt. Wie erwartet zeigte der fermentierte Extrakt eine antibakterielle Aktivität gegen uropathogene *Escherichia coli* (UPEC NU14 und UT189; LC<sub>50</sub>: 8 mg/mL) und *Pseudomonas aeruginosa* (9027 und 27853; LC<sub>50</sub>: 17 bzw. 20 mg/mL), während der nicht fermentierte (Isothiocyanat-freie) Extrakt inaktiv war. 4 mg/mL nicht fermentierter Extrakt zeigte jedoch eine signifikante antiadhäsive Wirkung gegen UPEC NU14 und *E. coli* 2980 ohne die Lebensfähigkeit humaner T24-Blasenzellen zu beeinflussen. Durch Testung von rekombinierten Fraktionen und Berechnungen mittels der *partial least squares regression* Methode (*pls*) konnten u.a. Flavonoide als maßgeblich antiadhäsive Substanzen identifiziert werden. Der unfermentierte Extrakt zeigte auch eine antiinflammatorische Wirkung durch die verringerte Freisetzung von Stickstoffmonoxid aus LPS-stimulierten RAW 264.7-Makrophagen (LC<sub>50</sub>: 560 µg/mL). Hierfür sind laut *pls* vor allem Glucosinolate verantwortlich. LCMS-Analysen und NMR-Experimente zeigten das Vorkommen von Flavonoiden und Phospholipiden, die bisher nicht für die Gattung *Armoracia* beschrieben wurden.

Ich bedanke mich für die Unterstützung durch Repha GmbH, Langenhagen, Deutschland.

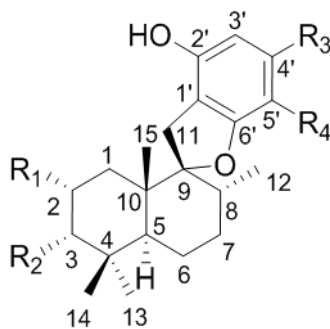
# Identifizierung von Acetoxystachybotrydialacetat als potenter Inhibitor der humanen CK2 mit antiproliferativer Wirkung auf Zellen der Brustkrebszelllinie MCF-7

FM Jürgens<sup>1</sup>, D Aichele<sup>1</sup>, S Haidar<sup>1</sup>, A Jagels<sup>2</sup>, HU Humpf<sup>2</sup>, J Jose<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, PharmaCampus, und

<sup>2</sup> Institut für Lebensmittelchemie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Deutschland

Die humane Proteinkinase CK2 ist ein aktuelles Target zur Identifizierung von Antitumorwirkstoffen. In einer Vielzahl von Zellen unterschiedlicher Tumoren ist die CK2 überexprimiert, was diese vor Apoptose schützt [1]. Die Hemmung der CK2 in Tumorzellen auf ein niedrigeres Niveau führt zur Einleitung der Apoptose, während die Überlebensfähigkeit von nicht neoplastischen Zellen nur geringfügig beeinflusst wird [2]. Derzeit befindet sich mit CX-4945 (Silmitasertib) ein synthetischer ATP-kompetitiver Inhibitor der CK2 in klinischen Studien der Phase II [3]. In dieser Arbeit wurden 12 Naturstoffe aus der Gruppe der Phenylspirodrimane (Abbildung 1) und drei Naturstoffe aus der Gruppe der Triprenylphenole auf *in vitro* Hemmung der CK2 mit einem CE-basierten Verfahren getestet [4]. Die Substanzen mit unterschiedlichem Substitutionsmuster wurden aus dem Pilz *Stachybotrys chartarum* isoliert. Dabei erwiesen sich das Triprenylphenol Stachybotrychromen C mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,3 µM und die Phenylspirodrimane Stachybotrydialacetat (0,7 µM) und Acetoxystachybotrydialacetat (1,9 µM) als potente Inhibitoren der CK2. Der Effekt dieser drei Naturstoffe auf die Proliferation von Zellen der Brustkrebszelllinie MCF-7 wurde mittels EdU-Verfahren bestimmt. Im Vergleich dazu wurde die Zytotoxizität der Zelllinie MCF-7 sowie der Lungenkrebszelllinie A427 und der Hautkrebszelllinie A431 mittels MTT-Test untersucht. Hier zeigte sich Acetoxystachybotrydialacetat als aktivste Substanz. Bei einer Konzentration von 1 µM wurde die Zellproliferation bei MCF-7 zu 99 % gehemmt, die Viabilität aber lediglich zu 63 %. Hiermit beschreiben wir Phenylspirodrimane als neue Klasse von Inhibitoren der humanen Protein Kinase CK2 mit Acetoxystachybotrydialacetat als bisher potentestem Vertreter.



**Abbildung 3: Grundstruktur der Phenylspirodrimane. Für Acetoxystachybotrydialacetat R<sub>1</sub>,R<sub>2</sub>=AcO; R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>=CHO; für Stachybotrydialacetat R<sub>1</sub>=H; R<sub>2</sub>=AcO; R<sub>3</sub>,R<sub>4</sub>=CHO.**

[1] Faust M, Montenarh M. Cell Tissue Res 2000; 301: 329-340

[2] Ruzzene M, Pinna LA. Biochim Biophys Acta 2010; 1804: 499-504

[3] Gowda C et al. Curr Pharm Des 2017; 23: 95-107.

[4] Gratz A et al. Electrophoresis 2010; 31: 634-640

# Encapsulation of sesquiterpene lactones with antitrypanosomal activity into PLA nanoparticles

N. M. Kimani<sup>1</sup>, S. Backhaus<sup>2</sup>, J. C. Matasyoh<sup>3</sup>, M. Kaiser<sup>4,5</sup>, F. C. Herrmann<sup>1</sup>, K. Langer<sup>2</sup> and T. J. Schmidt<sup>1</sup>

1 Institute of Pharmaceutical Biology and Phytochemistry, University of Münster, Münster, Germany

2 Institute of Pharmaceutical Technology and Biopharmacy, University of Münster, Münster, Germany

3 Department of Chemistry, Egerton University, Njoro, Kenya

4 Swiss Tropical and Public Health Institute (Swiss TPH), Basel, Switzerland

5 University of Basel, Basel, Switzerland

Abstract-Human African trypanosomiasis (HAT) is a fatal vector-borne parasitic neglected tropical disease threatening millions of people in poorly developed regions of sub-Saharan Africa. It is caused by two subspecies of protozoan parasites: *Trypanosoma brucei rhodesiense* (*Tbr*) and *T. b. gambiense* [1]. There are few available chemotherapeutic options for this infection which are aggravated by high toxicity, high cost, difficulty in administration and unavailability to resource-deprived rural communities [2]. Therefore, the search for new efficacious and safe treatments is of high importance. Sesquiterpene lactones (STLs), constituents of plants of the family Asteraceae, have shown high potency against *T. brucei* parasites in in vitro studies [3]. In the present study, we investigate the potential use of a nano drug delivery system for the STLs  $\alpha$ -santonin, arglabin, schkuhrin II, vernolepin, and eucannabinolide as antitrypanosomal agents.

STL-loaded poly lactic acid (PLA) nanoparticles (NPs) were prepared by an emulsion diffusion method. The NPs were homogenous, stable and spherical in shape with a rounded knotty depression like a navel orange (Fig. 1). The particle sizes were 202.3, 220.3, 219.5, 216.9, and 226.4 nm for  $\alpha$ -santonin, arglabin, schkuhrin II, vernolepin, and eucannabinolide with encapsulation efficiencies of 94.6, 78.1, 76.8, 60.7, and 78.9%, respectively. The NPs loaded with  $\alpha$ -santonin, arglabin, schkuhrin II, vernolepin, and eucannabinolide were determined to have IC<sub>50</sub> values of >50, 12.2, >100, 61.3, and 55.8  $\mu$ g/mL, respectively. These NPs, in turn, registered low toxicity toward mammalian cells, specifically L6 rat skeletal myoblast cells. These results suggest that PLA-NPs could be considered as carriers of STLs. Thus, more studies are merited towards further optimization of such STL-NPs with the aim of their application in the treatment of trypanosomiasis.

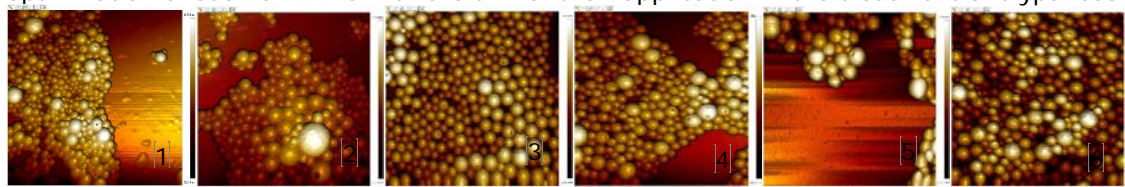


Fig. 1 Atomic force microscopy images of formulated nanoparticles. (1) Empty PLA NPs, (2)  $\alpha$ -santonin-PLA NPs, (3) arglabin-PLA NPs, (4) schkuhrin II-PLA NPs, (5) vernolepin-PLA NPs, and (6) eucannabinolide-PLA NPs

Acknowledgement: The authors are grateful to DAAD/NRF for a doctoral fellowship to Njogu M. Kimani at the University of Münster.

[1] Büscher P. et al. Lancet. 2017; 390: 2397

[2] Field M. et al. Nat. Rev. Microbiol. 2017; 15: 217

[3] Kimani N. et al. J. Nat. Prod. 2018; 81: 124 - 130

# ***In-vitro* anti-inflammatory activity of *Combretum collinum* leaves extract and its main phenolic compound myricetin-3-*O*-rhamnoside**

Peter Marquardt<sup>1</sup>, Cica Vissiennon<sup>3,4</sup>, Virgile Ahyi<sup>5</sup>, Karin Fester<sup>1,2</sup>

1 University of Leipzig, Medical Faculty, Institute of Pharmacy, Pharmaceutical Biology, Leipzig Germany

2 Zittau/Görlitz University of Applied Sciences, Faculty of Natural and Environmental Sciences, Zittau, Germany

3 University of Leipzig, Medical Faculty, Institute of Medical Physics and Biophysics, Leipzig, Germany

4 REPHA GmbH Biologische Arzneimittel, Langenhagen, Germany

5 IRGIB-Africa University, Cotonou, Benin

*Combretum collinum* is a deciduous shrub, which is commonly used in the northern region of Benin to treat inflammatory disorders and to promote wound healing processes [1]. Phytochemical screenings could confirm myricetin-3-*O*-rhamnoside as the main phenolic compound for water and ethanolic extracts of the leaves [2]. However, knowledge about the underlying pharmacological mechanisms of actions is still scarce. Therefore, the present study aims to assess the *in-vitro* anti-inflammatory effect of *Combretum collinum* aqueous leaf extract and its main phenolic compounds myricetin-3-*O*-rhamnoside and myricetin in immortalized human keratinocytes (HaCaT). To simulate an inflammatory process on skin, the cells were stimulated with tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) 20 ng/ml for 24 hours to overproduce interleukins 8 and 6. Thereafter, cytokine levels in supernatants were assayed by ELISA and the cell viability was determined using the MTT assay. *Combretum collinum* leaf extract and myricetin-3-*O*-rhamnoside as well as its aglycone myricetin inhibited the release of interleukin 8 after coincubation for 24 hours with 20 ng/ml TNF $\alpha$ , resulting in IC<sub>50</sub> – values of 142,5  $\mu$ g/ml for *Combretum collinum* leaf extract, 121.9  $\mu$ M for myricetin-3-*O*-rhamnoside and IC<sub>50</sub> = 90,69  $\mu$ M for myricetin. Furthermore, *Combretum collinum* aqueous leaf extract dose-dependently reduced levels of interleukin 6 in TNF- $\alpha$ -treated HaCaT cells, resulting in a decrease of IL-6 release by 29,3 % for the highest extract concentration of 200  $\mu$ g/ml. The decrease of inflammatory mediators by *Combretum collinum* aqueous leaf extract in TNF $\alpha$ -stimulated HaCaT-cells provides evidence for its ethnomedicinal usage for anti-inflammatory purposes.

[1] C. B Rogers & P. H Coombes, (1999). Acidic triterpene glycosides in trichome secretions differentiate subspecies of *Combretum collinum* in South Africa. *Bioch. System. a .ecol.* 27(3), 321-323.

[2] Marquardt, P., Seide, R., & Fester, K. (2017). Antioxidant capacity and phenolic profiling of *Combretum collinum* from Benin. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 38(S 01), P17.

# Captisol® surface-adsorbed naringenin-loaded nanocapsules enhance quorum quenching against an AHL-regulated biosensor

Hao, Nguyen Thanh<sup>1,2</sup>, Andreas Hensel<sup>2</sup>, Francisco M. Goycoolea<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Institute for Biology and Biotechnology of Plants, University of Münster, Germany

<sup>2</sup> Institute for Pharmaceutical Biology and Phytochemistry, University of Münster, Germany

<sup>3</sup> School of Food Science and Nutrition, University of Leeds, United Kingdom

\* Correspondence: F.M.Goycoolea@leeds.ac.uk; Tel.: +44(0)-113-343-1412

Pathogenic bacteria use quorum sensing (QS), a cell-to-cell communication process that uses small signaling molecules, to regulate several essential virulence factors such as bioluminescence, biofilm formation, and bacterial motility. Naringenin, a bitter and colourless flavanone ubiquitous in herbs and fruits, has been shown to inhibit QS activity in *P. aeruginosa* by decreasing the production of pyocyanin and elastase. In this study, to evaluate the anti-QS activity of naringenin against an *E. coli* Top 10 biosensor, we developed a novel system using Captisol® surface-adsorbed nanoformulations loaded with naringenin. The results showed that in both the nanocapsule (NC) and nanoemulsion (NE) formulations, this system has an appropriate size distribution and high association efficiency of the loaded naringenin, namely ~92.88% for the NC and ~67.98% for the NE system. These nanoformulations, stable for 24 h in bacterial M9 medium, showed a biphasic controlled release profile with slow and steady release in the first 6 h followed by an exponential release after 12 h; release reached nearly 30% and 40% for the NC and NE systems, respectively. Captisol® was effectively immobilized on the NC's surface, resulting in a surface charge conversion from positive to negative. The biosensor assay revealed that NC outperformed NE in quenching the QS in our biosensor and incorporating a QS inhibitor within the nanocapsules' multifunctional surface enhanced these activities. Cytotoxicity assays showed that when it was encapsulated in NCs, naringenin at a concentration of 188µM was not cytotoxic to Caco2 cells, highlighting the cytoprotective effect of our concept. Biofilm formation, a QS-mediated virulence factor, was inhibited up to ~60% in naringenin-loaded NC (0.1875mM), indicating the synergistic effect of positively charged chitosan with the bioactivity of naringenin and the NCs' advantageous high surface area-to-volume ratio.

# Aktivität von Cranberry-Extrakt auf Bakterien im menschlichen Urin: eine *ex vivo* Studie

B Scharf<sup>1</sup>, J Sendker<sup>1</sup>, S Rabbani<sup>2</sup>, U Dobrindt<sup>3</sup>, B Ernst<sup>2</sup>, A Hensel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>WWU Münster, Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Corrensstraße 48, 48149 Münster, Deutschland

<sup>2</sup>Universität Basel, Institut für Molekulare Pharmazie, Klingelbergstrasse 50, 4056 Basel, Schweiz

<sup>3</sup>UKM Münster, Institut für Hygiene, Robert-Koch-Str. 41, 48149 Münster, Deutschland

Unkomplizierte Harnwegsinfektionen (urinary tract infections, UTIs) sind sehr häufige bakterielle Infektionen und werden in über 80 % durch uropathogene *Escherichia coli* (UPEC) verursacht. Der UPEC-Infektionszyklus wird durch eine spezifische Erkennung der eukaryotischen Wirtszelle über UPEC-Adhäsionsproteine initiiert. Auszüge aus Cranberry-Früchten (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) werden seit langem für die Prävention von UTIs verwendet.

In *ex vivo*-Experimenten wurde ein standardisierter, lebensmitteltechnisch zugelassener Cranberry-Extrakt (CDE-Q) verwandt [1]. In zwei Studien wurde eine zeitabhängige signifikante Hemmung der bakteriellen Adhäsion von UPEC NU14 und UTI89 an menschliche T24 Blasenellen mit Urin von insgesamt 20 Freiwilligen nach dem Konsum von CDE-Q gezeigt, die unabhängig vom pH-Wert des Urins war. Hierbei zeigte sich eine geschlechtsspezifische Wirksamkeit von Urinen nach Cranberry-Einnahme auf die bakterielle Adhäsion, mit einer signifikanten Überlegenheit der Urine männlicher Probanden.

Um den Grund für die antiadhäsive Wirkung zu untersuchen, wurde eine Transkriptom-Analyse in UPEC UTI89 durchgeführt. Der Vergleich der Transkriptome von UPEC aus Urinkulturen der gleichen Freiwilligen vor und nach 7 Tagen CDE-Q-Konsum zeigte keine relevanten Unterschiede.

Um aufzuklären, ob die Aktivität des Urins auf einer direkten Interaktion mit bakteriellen Typ1-Adhäsinen (FimH) beruht, wurden *in vitro* spezifische Adhäsionstests mittels rekombinant exprimierter FimH-Lektin-Domäne durchgeführt [2]. Die Versuche zeigten, dass der Urin nach CDE-Q-Konsum eine stärkere Inhibition von FimH zeigt als der Kontrollurin.

Außerdem wurden LC-MS/MS-Untersuchungen des Urins durchgeführt, um Inhaltsstoffe mit der Wirkung über multivariate Datenanalyse in Bezug zu setzen.

[1] Rafsanjany N et al. J Agricult Food Chem 2015; 63: 8804-8818

[2] Rabbani S et al. Anal Biochem 2010; 407(2): 118-95

# Isolierung von bicyclischen Acylphloroglucinolen aus *Hypericum tetrapterum* FRIES

F Sibul<sup>1</sup>, M Löhr<sup>1</sup>, A Smelcerovic<sup>2</sup>, G Jügenliemk<sup>1</sup>, J Heilmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Universität Regensburg, Regensburg, Deutschland

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Faculty of Medicine, University of Nis, Nis, Serbien

Die Gattung *Hypericum* L. ist weltweit mit etwa 480 Arten vertreten, von denen zahlreiche Vertreter auch (ethno)pharmazeutisch genutzt werden. Zu den in *Hypericum* gefundenen typischen Sekundärstoffen gehören auch die Acylphloroglucinole, welche eine große strukturelle Vielfalt und zahlreiche biologische Aktivitäten aufweisen [1]. *Hypericum tetrapterum* FRIES (Geflügeltes Johanniskraut) gehört zur Sektion 9 von *Hypericum* L. und ist bevorzugt an feuchten Orten in West-, Süd-, und Mitteleuropa zu finden, insbesondere im kontinentalen und subkontinentalen Klima der Balkanregion [2]. Das Pflanzenmaterial für diese Studie wurde 2011 in südöstlichem Serbien gesammelt.

Die Suche nach Acylphloroglucinolen wurde mit Hilfe einer <sup>1</sup>H-NMR-geleiteten Fraktionierung im Petrolether-Extrakt von *H. tetrapterum* durchgeführt und führte zur Isolierung von vier bisher nicht bekannten bicyclischen Acylphloroglucinolen (**1**, **2**, **3** und **4**). Die Identifizierung der isolierten Verbindungen und die Aufklärung der Strukturen basierte auf 1D- und 2D-NMR-spektroskopischen und hochaufgelösten massenspektrometrischen Daten.

Die Polyprenylierung des Acylphloroglucinolkerns führt bei diesen Verbindungen wie bei vielen anderen Verbindungen dieser Substanzklasse zu einer erheblichen Instabilität.

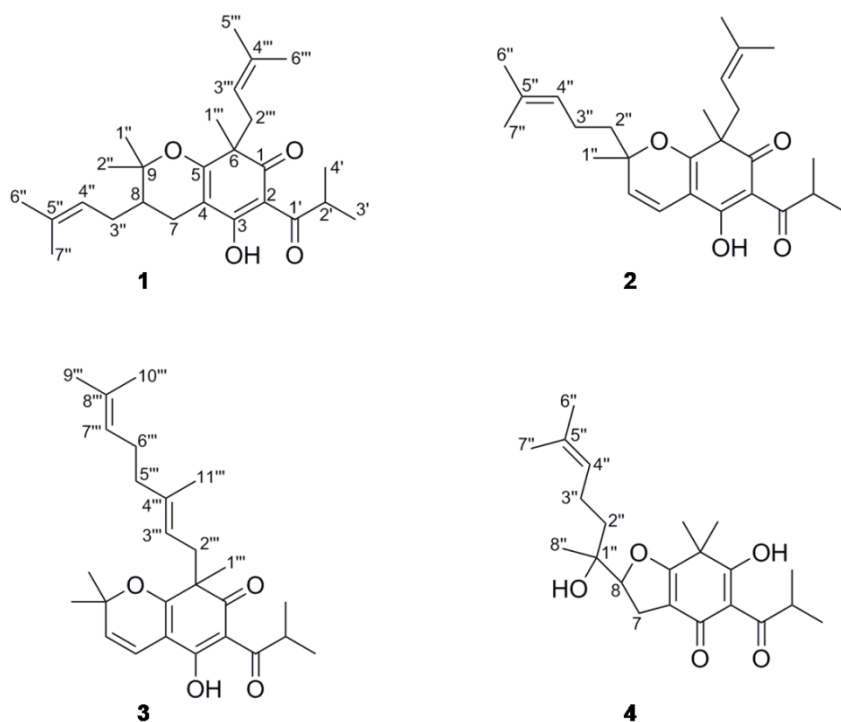


Abbildung 1: Bicyclische Acylphloroglucinole aus *H. tetrapterum* FRIES

Danksagung: Danke an Bojan Zlatkovic (Department of Biology and Ecology, University of Nis, Serbien) für die Sammlung, Bestimmung und Klassifizierung des Pflanzenmaterials.

[1] Zhao J et al. Chem. Biodiv. 2015; 12: 309–349

[2] Robson N.K.B. Bull. Nat. Hist. Mus. Lond. 2002; 32: 61–123



## **Analytik oligomerer und polymerer Proanthocyanidine aus *Rumicis acetosae herba* und *Tiliae flos***

**Nico Symma<sup>1</sup>, Frank Petereit<sup>1</sup>, Jandirk Sendker<sup>1</sup>, Matthias Letzel<sup>2</sup>, Andreas Hensel<sup>1</sup>**

1 Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie, Corrensstr. 48, 48149 Münster, Deutschland

2 Organisch-Chemisches Institut – Abteilung Massenspektrometrie, Corrensstraße 40, 48149 Münster, Deutschland

Proanthocyanidine (PAC), auch kondensierte Gerbstoffe oder condensed tannins, sind Polyphenole mit Flavan-3-ol Grundgerüst, die sowohl als Monomere, als auch als oligomere (OPC) oder polymere Proanthocyanidine (PPC) in vielen Pflanzen zu finden sind. Die Einteilung zwischen OPCs und PPCs bemisst sich am Polymerisationsgrad (degree of polymerization, DP), wobei die Grenze nicht eindeutig festgelegt ist. Obwohl OPCs und PPCs Bestandteil vieler Lebens- und einiger pflanzlicher Arzneimittel sind, ist über ihren Aufbau bisher noch wenig bekannt [1]. Anzunehmen ist, dass sich die Proanthocyanidin-Zusammensetzung in verschiedenen Pflanzen unterscheidet. Lindenblüten und Sauerampferkraut dienen in dieser Arbeit als Modell-Drogen mit vermutlich unterschiedlicher PAC-Zusammensetzung. Die acetonisch-wässrigen Extrakte beider Drogen werden über Sephadex LH-20 mittels sequentieller Elution mit Methanol und Aceton/Wasser 7:3 in verschiedene Proanthocyanidin-haltige Fraktionen aufgetrennt. Mithilfe der präparativen HPLC auf einer Diol-Phase lassen sich danach die einzelnen Cluster nach Polymerisationsgrad geordnet herausarbeiten. Diese Cluster werden wie auch die Sephadex-Fraktionen mithilfe von LCMS-qTOF und MALDI-TOF untersucht. So lässt sich die Cluster-Zuordnung zu den einzelnen Polymerisationsgraden bestätigen. Darüber hinaus erhält man über die Massenspektrometrie neue Einblicke in den Aufbau und die Substitutionsmuster, z.B. Galloylierungen der PACs. Wichtige und vergleichbare Größen zur Charakterisierung von PAC-haltigen Zubereitungen wie z.B. der mittlere Polymerisationsgrad (mDP), das Propelargonidin/Procyanidin/Prodelphinidin-Verhältnis oder der Galloylierungsgrad lassen sich mithilfe der Thiolyse oder der Phloroglucinolyse bestimmen. Bisherige Untersuchungen zeigen einen unterschiedlichen Aufbau der PACs im Sauerampferkraut und in den Lindenblüten. Massenspektrometrische und chromatographische Methoden geben bisher einen Einblick in das Polymer bis zum DP 15.

[1] Neilson A et al. Annu. Rev. Food Sci. Technol. 2016.7:43-64

# Metabolisierung von Orientin, Isoorientin, Schaftosid und Isoschaftosid durch humane Lebermikrosomen (HLM)

M. Tremmel<sup>1</sup>, G. Jürgenliemk<sup>1</sup>, J. Heilmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Universität Regensburg, Deutschland

C-Glykosidierte Flavonoide kommen in pharmazeutisch genutzten Pflanzen wie *Passiflora incarnata* L. oder verschiedenen *Crataegus*-Arten vor und weisen eine signifikante pharmakologische Aktivität auf. Jedoch ist die Resorption und die Metabolisierung dieser Verbindungsklasse bisher wenig erforscht. Deshalb wurde die *in vitro* Umsetzung der vier C-glykosidischen Flavonoide Orientin, Isoorientin, Schaftosid und Isoschaftosid mittels humaner Lebermikrosomen untersucht. Als Positivkontrolle wurde 7-Ethoxycumarin eingesetzt, welches zur Überprüfung des Inkubationssystems und der metabolisierenden Enzyme diente. 7-Ethoxycumarin ist ein häufig eingesetzter Marker bei *in vitro* Metabolisierungsstudien, da sowohl der oxidative Metabolismus, als auch die Konjugation mit Glucuronsäure bereits beschrieben wurde [1]. In den Experimenten mit den C-glykosidierten Flavonoiden wurden sowohl die Phase I Reaktionen durch Enzyme der CYP-Familie, als auch die Phase II Reaktionen durch Glucuronosyltransferasen berücksichtigt. Die erhaltenen Metabolite wurden durch HPLC-DAD und HPLC-MS Analysen bestimmt. Die Ergebnisse zeigten bei Orientin zwei monoglucuronidierte Metabolite. Im Fall von Isoorientin konnten drei Monoglucuronide und ein hydroxylierter Phase I Metabolit identifiziert werden. Schaftosid und Isoschaftosid hingegen scheinen nicht signifikant von humanen Lebermikrosomen umgesetzt zu werden.

Danksagung: Dank gilt der Zentralen Analytik der Fakultät Chemie und Pharmazie (Universität Regensburg), insbesondere Josef Kiermaier, für die Messung der MS-Spektren.

[1] Fisher M. B., Drug Metab and Dispos, 2002; 30: 270–275.

# Comparable regulations of acid ion channel 4, 5-hydroxytryptamine receptors and SERT in the esophageal mucosa under STW5 treatment suggest a corporate role in pain sensing

Lisa Welslau<sup>1</sup>, Anastasiia Shcherbakova<sup>1, 2</sup>, Heba Abdel-Azis<sup>3</sup>, Olaf Kelber<sup>3</sup>, Abdel Mequid Kassem<sup>4</sup>, Thore Thiesler, Christiane Esch<sup>5</sup>, Gudrun Ulrich-Merzenich<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical Clinic III, UKB Bonn University, Sigmund-Freud-Straße 25, 53127 Bonn, Germany

<sup>2</sup>Volga State Technical University, Yoshkar-Ola, Russian Federation

<sup>3</sup> Innovation & Development, Steigerwald Arzneimittelwerk GmbH, Bayer Consumer Health, Havelstraße 5, 63 Darmstadt, Germany

<sup>4</sup>Tropical Medicine Dept. and Gastrointestinal Endoscopy Unit, Faculty of Medicine, Cairo University, Cairo, Egypt.

<sup>5</sup>Institute of Pathology, UKB Bonn University, Sigmund-Freud-Straße 25, 53127 Bonn, Germany

**Objective:** Pain is a prominent symptom of gastro-esophageal reflux disease (GERD) and commonly related to acidic reflux, but pain often persists after treatments with proton pump inhibitors (PPI). Serotonin, a neurotransmitter and ligand for 5-hydroxytryptamin receptors (5-HTR), is a potent activator of acid sensing ion channels (ASICs). We hypothesized that ASICs, 5-HTR and serotonin (5-HT) are jointly involved in esophageal inflammation and nociception.

**Methods:** We analysed the gene-expression of ASICs, 5-HTR, the serotonin transporter (SERT) and TRPVs followed by Western blot analyses and immunohistochemistry of esophageal biopsies under non-inflammatory and inflammatory conditions in a subchronic rat model of GERD. Rats had been treated with either the proton pump-inhibitor (PPI) Omeprazole (O) (30mg/kg) or the herbal multicomponent mixture STW5 (0.5 or 2ml/kg). Human esophageal biopsies, endoscopically normal (n=18) or inflamed (n=16), were analysed by immunohistochemistry for the presence of serotonin and ASIC4.

**Results:** Tissues of animals suffering from GERD showed a small, but significant increase in the gene expression of ASIC-subtype 4 (3.8f), of HTR2A (3fold), HTR2B (6.6f), HTR7 (9.3f) ( $p < 0.001$ ) and a downregulation of SERT (-2.4f,  $p < 0.001$ ) compared to "normal" tissue. In tissues of animals treated with either STW5 (2ml/kg) or with O (30mg/kg), ASIC 4 (-4.8f, -4f;  $p < 0.0001$ ), HTR2A (-5.4f, -3.9f) HTR2B (-7.9f, 3.7f) and HTR7 were downregulated ( $p < 0.0001$ ) respectively. The reduction of HTR7 by OM (-6.8f) was less compared to STW5 (-15.4f) and did not match the upregulation during inflammation. Gene expressions of SERT were normalized by STW5 and O. Western blot analyses of ASIC4, HTR7 and SERT supported gene expression data. In human esophageal biopsies serotonin was detected in proximity to ASIC 4.

**Conclusion/ Implication:**

Serotonin and ASIC4 are present and co-localized in human esophagi. The gene- and protein expressions of ASIC4, 5-HTR-subtypes and SERT in rat esophagi suggest a corporate role of ASIC4 and 5-HTR7 in the esophageal nociception.



Gesellschaft für Phytotherapie e.V.

**SIDROGA**

**Dr. Loges**   
Mit Natur und Verstand



  
**ANKLAM**EXTRAKT®

 **Bionorica**®



**Dr. Willmar Schwabe**  
From Nature. For Health.

Science for a Better Life



the nature network®

**PhytoLab**