

#### 4 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zentralamerikanische und westafrikanische Heilpflanzen untersucht, deren Anwendung in der traditionellen Malariatherapie aufgrund von Literaturdaten bzw. ethnobotanischen Informationen bekannt war. Von acht traditionell genutzten Pflanzenarten El Salvadors wurden aus verschiedenen Pflanzenteilen 26 Rohextrakte unterschiedlicher Lipophilie hergestellt. Weiterhin wurden von elf pflanzlichen Drogen, die in der traditionellen Phytotherapie Ghanas angewendet werden, aus verschiedenen Pflanzenteilen 43 Rohextrakte unterschiedlicher Polarität hergestellt. Diese Extrakte wurden einem *in-vitro*-Testsystem zugeführt um deren Hemmwirkung gegenüber dem Chloroquin-sensiblen Stamm PoW und dem Chloroquin-resistenten Klon Dd2 von *Plasmodium falciparum* zu bestimmen. Aufgrund der gezeigten antiplasmodialen Aktivität wurden die Rindendroge von *Exostema mexicanum* GRAY (Rubiaceae), die Blattdroge von *Calea tenuifolia* KUNTH (Asteraceae) und die oberirdischen Pflanzenteile von *Microglossa pyrifolia* (LAM.) KUNTZE (Asteraceae) im Sinne einer aktivitätsgeleiteten Fraktionierung untersucht.

Im Laufe der phytochemischen Aufarbeitung wurden aus aktiven Fraktionen des lipophilen und methanolischen Rohextraktes von *E. mexicanum* folgende sieben 4-Phenylcumarine erhalten:

3',4'-Dihydroxy-5,7-dimethoxy-4-phenylcumarin,  
4'-Hydroxy-5,7-dimethoxy-4-phenylcumarin,  
4',5,7,8-Tetramethoxy-4-phenylcumarin,  
4',8-Dihydroxy-5,7-dimethoxy-4-phenylcumarin,  
3',4'-Dihydroxy-5,7,8-trimethoxy-4-phenylcumarin,  
3',4',8-Trihydroxy-5,7-dimethoxy-4-phenylcumarin und  
3'-Hydroxy-4',5,7-trimethoxy-4-phenylcumarin.

Diese Naturstoffe wurden erstmalig aus dieser Rubiaceen-Art isoliert. Bei den drei Verbindungen 4',5,7,8-Tetramethoxy-4-phenylcumarin [O-Methyl-exostemin], 4',8-Dihydroxy-5,7-dimethoxy-4-phenylcumarin [Exomexin A] und 3',4'-Dihydroxy-5,7,8-trimethoxy-4-phenylcumarin [Exomexin B] handelt es sich um neue Naturstoffe. Von den sieben isolierten Inhaltsstoffen wiesen fünf Verbindungen eine *in-vitro*-Aktivität gegenüber *P. falciparum* auf. Die höchste Hemmwirkung besaß 4',5,7,8-Tetramethoxy-4-phenylcumarin [O-Methyl-exostemin] mit IC<sub>50</sub>-Werten von 10,5 µM gegenüber PoW und

4,7  $\mu\text{M}$  gegenüber Dd2. Eine moderate antiparasitäre Wirkung mit  $\text{IC}_{50}$ -Werten zwischen 40,7  $\mu\text{M}$  und 54,5  $\mu\text{M}$  (jeweils Dd2) wurde bei den anderen vier Verbindungen festgestellt. Weiterhin konnten potentiell antiplasmodial wirkende Inhaltsstoffe isoliert und in ihrer Molekülstruktur charakterisiert werden. Zusätzlich wurde von allen erhaltenen aktiven Verbindungen der zytotoxische Effekt an der humanen Endothelzelllinie ECV 304 untersucht. Hierbei zeigten die getesteten 4-Phenylcumarine eine signifikante zytotoxische Aktivität mit  $\text{IC}_{50}$ -Werten zwischen 1,2  $\mu\text{M}$  und 10,0  $\mu\text{M}$ . Die *in-vitro*-Wirkung dieser Verbindungen scheint somit nicht auf eine spezifische Inhibition von *P. falciparum*, sondern auf eine allgemeine Membrantoxizität zurückzuführen zu sein. Aus der Gesamtheit der im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen *in-vitro*-Daten wurde geschlussfolgert, dass von einer uneingeschränkten phytotherapeutischen Anwendung von *E. mexicanum* Abstand genommen werden sollte.

Im Laufe der aktivitätsgeleiteten Fraktionierung von *C. tenuifolia* konnten aus aktiven Fraktionen des lipophilen Blattrohextraktes sieben Inhaltsstoffe isoliert werden. Bei diesen Verbindungen handelte es sich um die folgenden fünf Flavone und zwei ungesättigten Fettsäuren:

5,7- Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavon [Luteolin-3',4'-dimethylether],

4',5,7- Trihydroxyflavon [Apigenin],

4',5-Dihydroxy-7-methoxyflavon [Genkwanin],

5-Hydroxy-3',4',7-trimethoxyflavon [Luteolin-3',4',7-trimethylether],

5-Hydroxy-4',7-dimethoxyflavon [7-Methylacacetin],

Octadeca-9Z,12Z,15Z-triensäure [ $\alpha$ -Linolensäure] und

Octadeca-9Z,12Z-diensäure [Linolsäure].

Mit Ausnahme von 7-Methylacacetin wurde diese Naturstoffe erstmalig aus *C. tenuifolia* isoliert. Bei allen Verbindungen wurde eine antiplasmodiale *in-vitro*-Aktivität festgestellt. Die höchste Hemmwirkung gegenüber dem Parasiten zeigte 7-Methylacacetin mit  $\text{IC}_{50}$ -Werten von 20,1  $\mu\text{M}$  gegenüber PoW und 17,1  $\mu\text{M}$  gegenüber Dd2. Eine gute antiparasitäre Wirkung besaßen die Flavone Luteolin-3',4',7-trimethylether und Genkwanin als auch die zweifach ungesättigte Fettsäure Linolsäure mit  $\text{IC}_{50}$ -Werten zwischen 19,0  $\mu\text{M}$  gegenüber PoW und 31,1  $\mu\text{M}$  gegenüber Dd2. Bei den anderen drei Inhaltsstoffen wurde eine moderate bis geringfügige *in-vitro*-Aktivität beobachtet ( $\text{IC}_{50}$ -Werten zwischen 33,4  $\mu\text{M}$  [Dd2] und 142,1  $\mu\text{M}$  [Dd2]). Im Rahmen einer phytochemischen Aufarbeitung wurden auch aus einem wässrigen Auszug, entsprechend

der traditionellen Zubereitungsform der Droge, aktive Fraktionen erhalten. In diesen Fraktionen konnten Inhaltsstoffe mit antiplasmodialer Wirkung detektiert werden.

Im *in-vitro*-Zytotoxizitätstest an der humanen Endothelzelllinie ECV 304 erwies sich das antiplasmodial aktive Flavon Luteolin-3',4'-dimethylether als nicht zytotoxisch (IC<sub>50</sub>-Wert: 435,9 µM). Die Verbindungen Luteolin-3',4',7-trimethylether und Apigenin zeigten eine geringfügige zytotoxische Wirkung mit IC<sub>50</sub>-Werten von 48,1 µM und 82,1 µM. Ein schwacher zytotoxischer Effekt (IC<sub>50</sub>-Wert: 106,2 µM) wurde für das antiparasitär wirkende Genkwanin festgestellt. Als stark zytotoxisch erwiesen sich in diesem *in-vitro*-Testsystem 7-Methylacacetin und Linolsäure.

Auf der Grundlage aller erhaltenen *in-vitro*-Daten kann die phytotherapeutische Relevanz von *C. tenuifolia* nicht vollständig bewertet werden. Jedoch konnte im Rahmen dieser Arbeit die antiplasmodiale Aktivität der zentralamerikanischen Heilpflanze *in vitro* bestätigt werden.

Aus der traditionell genutzten Droge von *M. pyrifolia* konnten im Laufe der aktivitätsgeleiteten Fraktionierung aus den oberirdischen Pflanzenteilen und den Wurzeln achtzehn Inhaltsstoffe erhalten werden. Neben Umbelliferon, 2*E*-Phytol, Linolsäure, Stigmasterol und Acacetin gelang die Isolierung der Furanoditerpene Strictinsäure, 10α-Nidoresedasäure, 10β-Nidoresedasäure und Hardwickiasäure und der Geranylgeraniol-Derivate 6*E*,10*E*,14*E*-Geranylgeraniol-19-carbonsäure, 1-Acetyl-6*E*,10*E*,14*E*-geranylgeraniol-19-carbonsäure und 19-Oxo-6*E*,10*E*,14*E*-geranylgeraniol. Weiterhin konnten die Verbindungen Sinapyldiangelat, 13-Hydroxy-9*Z*,15*Z*,11*E*-octadecatriensäure, zwei Isomere von 1-Hydroxycalamenen, Benzyl-2,6-dimethoxybenzoat und 8-Methyl-β-naphthol isoliert und deren Molekülstruktur geklärt werden. Mit Ausnahme von 6*E*,10*E*,14*E*-Geranylgeraniol-19-carbonsäure wurden alle Naturstoffe erstmals aus *M. pyrifolia* isoliert. Bei Sinapyldiangelat und den Geranylgeraniol-Derivaten 1-Acetyl-6*E*,10*E*,14*E*-geranylgeraniol-19-carbonsäure und 19-Oxo-6*E*,10*E*,14*E*-geranylgeraniol handelt es sich um neue Naturstoffe.

Die höchste Hemmwirkung gegenüber *P. falciparum* wiesen 2*E*-Phytol und 6*E*,10*E*,14*E*-Geranylgeraniol-19-carbonsäure mit IC<sub>50</sub>-Werten zwischen 8,4 µM [PoW] und 16,3 µM [Dd2] auf. Eine gute Hemmwirkung wurde für Linolsäure, Benzyl-2,6-dimethoxybenzoat und die ungesättigte oxidierte Fettsäure 13-Hydroxy-9*Z*,15*Z*,11*E*-octadecatriensäure festgestellt (IC<sub>50</sub>-Werten zwischen 21,8 µM [PoW] und 46,6 µM [Dd2]). Weiterhin

konnten im Laufe der phytochemischen Aufarbeitung eines wässrigen Auszuges der Droge in aktiven Fraktionen antiplasmodial wirkende Inhaltsstoffe detektiert werden.

Im Rahmen weiterführender Untersuchungen wurde aus 6*E*,10*E*,14*E*-Geranylgeraniol-19-carbonsäure durch Reduktion das Partialsynthetikum 19-Hydroxy-6*E*,10*E*,14*E*-geranylgeraniol erhalten. Diese Verbindung zeigte eine antiplasmodiale Aktivität mit IC<sub>50</sub>-Werten von 18,6 µM gegenüber PoW und 52,9 µM gegenüber Dd2.

Im *in-vitro*-Test an der humanen Endothelzelllinie ECV 304 erwies sich die antiplasmodial aktive Fettsäure 13-Hydroxy-9*Z*,15*Z*,11*E*-octadecatriensäure als nicht zytotoxisch (IC<sub>50</sub>-Wert > 680 µM). Für die antiparasitär wirkenden Verbindungen Benzyl-2,6-dimethoxybenzoat und 19-Hydroxy-6*E*,10*E*,14*E*-geranylgeraniol wurde ein geringer zytotoxischer Effekt festgestellt mit IC<sub>50</sub>-Werten von 200,2 µM und 143,7 µM. Der Inhaltsstoff 6*E*,10*E*,14*E*-Geranylgeraniol-19-carbonsäure besaß eine moderate zytotoxische Aktivität (IC<sub>50</sub>-Wert: 95,6 µM).

Im Laufe der Untersuchungen an *M. pyrifolia* konnte die antiplasmodiale *in-vitro*-Aktivität der Droge nachgewiesen werden. Die isolierten Inhaltsstoffe mit einer Hemmwirkung gegenüber *P. falciparum* erwiesen sich gleichzeitig als moderat bis geringfügig zytotoxisch.

In einer weiteren Studie wurde die antiparasitäre *in-vitro*-Wirkung von monomeren Ergolinen und semi-synthetischen *N,N'*-verknüpften Oligomeren, mit Festuclavin, Tergurid und Pergolid als Monomer, bestimmt. Die Ergebnisse zeigten, dass eine *N*-1,*N*-1'- bzw. eine *N*-6,*N*-6'-Dimerisierung zu einer Erhöhung der antiplasmodialen Aktivität führte. Für das *N*-6,*N*-6'-verknüpfte Dimer **3i** mit Depropylpergolid als Monomer wurde die stärkste Hemmwirkung mit IC<sub>50</sub>-Werten von 0,14 µM [PoW] und 0,13 µM [Dd2] festgestellt. Weiterhin wiesen die *N*-1,*N*-1'-verknüpften Terguriddimere **1b**, **1c** und Festuclavinderivate **2b** und **2c** sowie das Festuclavintrimer **2f** mit IC<sub>50</sub>-Werten zwischen 0,43 µM [PoW] und 0,67 µM [PoW] eine moderate Aktivität gegenüber *P. falciparum* auf. Zusätzlich wurde von allen Verbindungen der zytotoxische Effekt an der murinen Fibroblastenzelllinie NIH 3T3 bestimmt. Hierbei zeigte sich, dass für weitergehende Untersuchungen das *N*-1,*N*-1'-verknüpfte Tergurid-Tetramer **1g** und das *N*-1,*N*-1'-substituierte Festuclavin-Trimer **2f** von Interesse wären. Beide Verbindungen erwiesen sich als nicht zytotoxisch bei einer gleichzeitig guten antiplasmodialen Wirkung mit IC<sub>50</sub>-Werten zwischen 0,54 µM [Dd2] und 1,53 µM [Dd2].