

Inhaltsstoffe der Gartenraute (*Rutae herba*)

[Stefanie A. Amend] [1998]

In dieser Doktorarbeit sollte zur Vorbereitung einer klinischen Studie über die Wirksamkeit des Ruta Tees auf die Symptome der Multiplen Sklerose, die Inhaltsstoffe der Raute sowie die Stabilität der Wirkstoffe untersucht werden.

Fragestellung/Methodik

Neben der Charakterisierung der Pflanze selber sollte auch der Tee aus *Rutae herba* unter Berücksichtigung der Zubereitungsbedingungen analysiert werden.

Die Voruntersuchungen von Bautz (1994) ließen die Vermutung zu, dass für die postulierte Wirkung die in *Ruta graveolens* vorhandenen Furocumarine, insbesondere Bergapten, und Furochinoline, wie z.B. Kokusaginin, verantwortlich sein könnten. Aus diesem Grunde war die Entwicklung und Validierung einer entsprechenden Analytik notwendig.

Um darüber hinaus im allgemeinen die Lagerstabilität des Krautes bewerten zu können, sollte auch der Gehalt von Rutin als Vertreter der Flavonoide, von Graveolin als weiterem Vertreter der Alkaloide und der Gesamtgehalt an Acridonalkaloiden über den Zeitraum der Studie beobachtet werden.

Verbindungen aus der Gruppe der Furocumarine sind durch ihre Anwendung im Rahmen der Photochemotherapie der Psoriasis im klinischen Alltag bekannt und schon häufig Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* bis hin zu klinischen Studien sind viele Daten über diese Stoffe bekannt. Dabei wurde jedoch meist die Wirkung der Furocumarine in Kombination mit langwelligem UV-Licht als Hauptaspekt betrachtet.

Zur Abschätzung der Auswirkungen dieser biologisch hochaktiven Verbindungen auf den Patienten musste jedoch auch an Dunkelwirkungen gedacht werden. Aus diesem Grunde sollte an etablierten *In-vitro*-Systemen mit eukaryontischen Zellen zunächst eine eventuelle cytostatische oder gar cytotoxische Wirkung dieser Substanzen unter Ausschluss von Licht näher untersucht werden.

Für die Stoffgruppe der Furochinoline war dies umso wichtiger, da über diese Substanzklasse noch keine derartigen Informationen vorliegen.

Ergebnisse

Für die als Wirkstoffe postulierten Furocumarine und Furochinolinalkaloide wurden zu diesem Zweck Extraktions- und Aufarbeitungsverfahren inklusive quantitativer Analytik mittels HPLC entwickelt und validiert.

Verschiedene Handelsmuster von *Rutae herba* unterschieden sich deutlich im Gehalt der Furocumarine Bergapten (5-MOP), Psoralen und Xanthotoxin (8-MOP). Die als Vergleich analysierte *Ruta chalepensis* zeigte ein deutlich anderes Muster als die Proben von *Ruta graveolens*, einerseits durch einen sehr niedrigen Gehalt an Xanthotoxin und andererseits durch eine große Menge des Furochinolinderivates Kokusaginin.

Für die komplette Studie musste die Stabilität der Wirkstoffe gewährleistet sein. Deshalb wurde die Ware über drei Jahre, die Dauer der klinischen Prüfung, laufenden Kontrollen unterzogen.

In diesem Zeitraum veränderte sich weder der Gehalt an Furocumarinen noch der an den ebenfalls als Wirkstoffe diskutierten Furochinolinalkaloid-Derivaten (Kokusaginin, γ -Fagarin, Skimmianin). Aufgrund der Komplexität pflanzlicher Arzneimittel musste mit wechselseitigen Beeinflussungen der Inhaltsstoffe gerechnet werden. Deshalb wurden weitere, nicht direkt für die Wirkung verantwortlich gemachte Komponenten, auf ihre Lagerstabilität untersucht. Weder für das Flavonolglykosid Rutin, noch für das Alkaloid Graveolin oder die Acridonalkaloid-Derivate Rutacridonepoxid und

Hydroxyrutacridonepoxid konnten während der Lagerung Veränderungen im Gehalt festgestellt werden.

Da als Darreichungsform ein Tee aus *Rutae herba* verabreicht werden sollte, musste der Wirkstoffgehalt des Tees abhängig von den Extraktionsbedingungen ermittelt werden. Es wurden drei verschiedene Zubereitungsformen getestet: Dekokt, Infus bei 80 °C und haushaltsübliches Infus mit Abkühlen.

Dabei zeigten die Furocumarin- und die Furochinolin-Derivate aufgrund ähnlicher Lösungseigenschaften gleiches Freisetzungsverhalten. Es war nach ca. 20 Minuten Extraktionsdauer ein maximaler Wirkstoffgehalt erzielt, weiteres Extrahieren führte eher zu einem leichten Rückgang im Gehalt. Zwei Abhängigkeiten wurden gefunden:

Die Freisetzung war temperaturabhängig: Je heißer extrahiert wurde, desto vollständiger wurden die Stoffe in den Tee extrahiert.

Aufgrund schlechter Wasserlöslichkeit trat mit steigender Dosierung ein Sättigungseffekt ein. Durch Mitextraktion von Begleitstoffen konnte jedoch die erreichbare Sättigungskonzentration dosisabhängig gesteigert werden.

Eine optimale Freisetzung wurde durch wenig Droge in einer großen Menge an Menstruum (Wasser) als Dekokt erreicht. Trotzdem wählte man aus geschmacklichen Gründen ein haushaltsübliches Infus als Darreichungsform für die Studie.

Aufgrund bisher fehlender Toxizitätsuntersuchungen zu Furochinolin-Derivaten und mangelhafter Datenlage zur Wirkung von Furocumarinen unter Ausschluß von UVA-Strahlung wurden Cytotoxizitätsuntersuchungen an Zellkulturen *in vitro* vorgenommen.

Dabei zeigten sowohl die Furochinolin-Derivate Dictamnin, Kokusaginin und Skimmianin, als auch das Furocumarin-Derivat Xanthotoxin eine dosisabhängige Wachstumshemmung an Zelllinien verschiedener Spezies (Mensch, Ratte, Maus).

Für Dictamnin und Xanthotoxin wurden an einer Zelllinie humaner Leukämiezellen (HL 60) halbmaximale Hemmkonzentrationen (IC_{50}) ermittelt. Beide Verbindungen zeigten bei längerer Inkubationsdauer eine stärkere wachstumshemmende Aktivität. Dictamnin war mit einer IC_{50} von ca. 100 μ M die stärker wirksame Substanz.

Bei der Suche nach dem Angriffspunkt für diese Wirkung konnte durch Versuche an primären Hepatocyten weder eine direkte Beeinflussung des Energiestoffwechsels noch eine Umsetzung zu akut toxischen Metaboliten gefunden werden. Auch eine kurzfristige Zerstörung der Cytoplasmamembran konnte dabei nicht gefunden werden. Die Beobachtung der Makromolekülsynthese an HL 60-Zellen zeigte eine sofortige, dosisabhängige Reduktion der DNA-Synthese, welcher ein Rückgang der RNA-Synthese und der Proteinbiosynthese folgten. Ein Wirkmechanismus über Interkalation in die DNA wird postuliert.