

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Einflüsse von Naturstoffen aus verschiedenen Substanzen auf das Wachstum von
Krebszellen in vitro

verfasst von | submitted by

Monika Kopera BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Magistra pharmaciae (Mag. pharm.)

Wien | Vienna, 2026

Studienkennzahl lt. Studienblatt |
Degree programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 605

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Pharmazie

Betreut von | Supervisor:

Ass.-Prof. Dipl.-Ing. Karin Ortmayr PhD

Inhalt

1	Danksagung.....	3
2	Zusammenfassung.....	4
3	Summary	5
4	Einleitung	6
4.1	Naturstoffe und ihr Hintergrund.....	7
4.2	Krankheitsmodell Tumor	11
4.3	Naturstoffe in der Tumorthherapie.....	13
4.3.1	Polyphenole (Curcumin)	14
4.3.2	Pflanzenalkaloide (Vincristin, Paclitaxel).....	14
4.3.3	Epipodophyllotoxine (Etoposid)	15
4.3.4	Anthracycline (Daunorubicin)	16
4.3.5	Ambivalente Rolle der Entzündungsprozesse	17
4.3.6	Aktuelle und zukünftige Forschungsansätze zu antitumoralen Naturstoffen	18
4.4	Ziel der Arbeit.....	19
5	Ergebnisse und Diskussion.....	21
5.1	Auswahl der Substanzen und Lösungsmittel.....	21
5.2	5-Fluorouracil	24
5.3	Anthranoide (Emodin)	25
5.4	Chinone (Shikonin)	27
5.5	Fettsäure (Agaricinsäure).....	29
5.6	Alkaloid (Harmin)	30
5.7	Flavonoide (Sanggenon C, Sanggenon D)	32
5.8	Flavonolignan (Silibinin)	36
5.9	Silymarin	38
5.10	Phenylpropanoide (Rosmarinsäure)	40
5.11	Vergleich von Naturstoffen aus unterschiedlichen Substanzklassen	42
6	Diskussion.....	45

6.1	Einfluss des Lösungsmittels	45
6.2	Einfluss der chemischen Substanzklasse	45
6.3	Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung.....	46
6.4	Einfluss von Isomeren auf die Wirkung.....	47
6.5	Substanzgemische im Vergleich mit Einzelsubstanzen.....	47
7	Schlussfolgerung	49
8	Material und Methoden.....	51
8.1	Kultivierung von Zellen	51
8.2	Auftauen der Zellen.....	51
8.3	Den Passagieren der Zellen auf mehrere Kulturgefäße	52
8.4	Bestimmung der Viabilität und der Zellkonzentration.....	52
8.5	Aussaat von Zellsuspensionen auf 96-Well-Platte	53
8.6	Experiment mit Naturstoffen am Beispiel von Emodin.....	54
8.7	Untersuchungen mit Naturstoffen	55
9	Literaturverzeichnis	57
10	Abbildungsverzeichnis.....	65
11	Tabellenverzeichnis	67

1 Danksagung

Ich möchte mich von Herzen bei Ass.-Prof. Karin Ortmayr bedanken. Danke für die Möglichkeit, an diesem spannenden Thema zu arbeiten, für dein Vertrauen in mich und für die Geduld, die du mir in jeder Phase entgegengebracht hast. Besonders dankbar bin ich dir dafür, dass du mir die Tür zur Welt der Wissenschaft geöffnet hast. Deine Unterstützung hat mir gezeigt, wie erfüllend und inspirierend Forschung sein kann. Die gemeinsamen Momente haben mir das Gefühl gegeben, zwar nur ein kleines Sandkorn zu sein, und doch Teil von etwas Größerem und Bedeutendem.

Darüber hinaus danke ich dir für deine Haltung als Professorin, deine beeindruckende Charakterstärke und deinen unermüdlichen Ehrgeiz, die für mich zu einem wahren Vorbild geworden sind. Ebenso bin ich dir dankbar für die inspirierenden Fotos, die in mir etwas neu entfacht haben, das ich lange Zeit verloren geglaubt hatte. Deine Unterstützung hat mir nicht nur in wissenschaftlicher Hinsicht geholfen, sondern mir auch neue Perspektiven eröffnet, für die ich zutiefst dankbar bin.

Ich danke Gott für die vielen wunderbaren Professoren, die mir auf meinem Weg begegnet sind und mein Leben auf nachhaltige Weise geprägt haben. Ebenso gilt mein Dank dem Land Österreich für die Möglichkeit, mein Wissen an einer der besten Universitäten Europas vertiefen zu dürfen. Dankbar bin ich auch für das Studium selbst, das nicht nur meinen Horizont erweitert, sondern auch meinen Charakter entscheidend geformt hat.

2 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss ausgewählter Naturstoffe auf das Zellwachstum der humanen Lungenkarzinom-Zelllinie A549 zu untersuchen und Zusammenhänge zwischen ihrer strukturellen Komplexität und der Zugehörigkeit zu bestimmten chemischen Gruppen und ihrer Wirkung auf die Zellproliferation zu identifizieren. Für die Analyse wurden A549-Zellen mit abgestuften Konzentrationen der Naturstoffe behandelt, und ihre Proliferation anhand von Wachstumskurven bewertet.

Die Analyse zeigte, dass die Mehrheit der untersuchten Naturstoffe die Zellproliferation hemmte, während einige Substanzen bei niedrigen Konzentrationen leicht stimulierende Effekte aufwiesen. So führten Shikonin und Harmin in geringen Konzentrationen zu einer moderaten Steigerung der Zellkonfluenz, während höhere Konzentrationen eine deutliche Hemmung bewirken. Unterschiede in der Wirkung zwischen den Naturstoffklassen konnten aufgrund der geringen Anzahl untersuchter Vertreter nur eingeschränkt festgestellt werden. Innerhalb einzelner Klassen ließen sich Effekte teilweise auf die strukturelle Komplexität und Zusammensetzung der Substanz, etwa in Bezug auf funktionelle Gruppen und Stereoisomerie zurückführen. Besonders auffällig war die Wirkung von Sanggenon C und Silymarin, deren Isoformen bzw. das Vorkommen als komplexes Gemisch die biologische Aktivität beeinflusste.

Zusammenfassend zeigten die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen, dass Naturstoffe in Krebszellen vielfältige Wirkungen entfalten können. Diese sind nicht ausschließlich auf die für die jeweilige Substanzklasse typischen strukturellen Merkmale zurückzuführen. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass eine allgemeine Zuordnung von Naturstoff-Klassen zu spezifischen Wirkungen bzw. Wirkmechanismen nicht möglich ist, was es in Folgestudien mit einer größeren Anzahl von Vertretern pro Substanzklasse zu bestätigen gilt.

3 Summary

The aim of this study was to investigate the effects of selected natural products on the growth of the human lung carcinoma cell line A549 and to identify correlations between the structural complexity and natural product classes, their affiliation to specific chemical groups, and their impact on cell proliferation. For this analysis, A549 cells were treated with graded concentrations of the natural products, and proliferation was assessed using growth curves.

The analysis showed that the majority of the investigated natural products inhibited cell proliferation, while some substances exhibited slight stimulatory effects at low concentrations. For example, shikonin and harmine led to a moderate increase in cell confluence at minimal concentrations, whereas higher concentrations resulted in pronounced inhibition. Differences in activity between natural product classes could only be observed to a limited extent due to the small number of representatives studied. Within individual classes, effects could partly be attributed to the structural complexity and composition of the substances, for example with respect to functional groups and stereoisomerism. Particularly notable were the effects of sanggenon C and silymarin, for which the presence of isomeric forms or their occurrence as complex mixtures influenced their biological activity.

In summary, the investigations conducted within the scope of this thesis demonstrated that natural products can exert diverse effects in cancer cells. These effects are not exclusively attributable to the structural features typical of the respective substance classes. This leads to the hypothesis that a general assignment of natural product classes to specific effects or mechanisms of action is not possible, a notion that should be verified in future studies including a larger number of representatives per substance class.

4 Einleitung

Besser, gesünder, länger, am besten sogar für immer leben. Wir alle streben nach Unsterblichkeit, schreibt Cicero 106 v. Chr. geboren¹. Der Wunsch nach ewiger Jugend und Schönheit prägt die heutige Forschung enorm. Weltweit wird daran gearbeitet, Krankheiten therapierbar zu machen bzw. deren Progredienz zu verlangsamen oder zumindest dem fortschreitenden Altern entgegenzuwirken.

Der menschliche Körper besteht aus etwa 35 Billionen Zellen, von denen täglich mehrere hunderte Millionen absterben. Dieser kontinuierliche Verlust wird durch Zellproliferation ausgeglichen, die somit eine essenzielle Grundlage für Wachstum, Regeneration und Gewebemöostase darstellt. Könnte man daraus schließen, dass eine endlose Zellproliferation Unsterblichkeit bedeutet? Im Gegenteil: Gerade diese Entgleisung des Zellwachstum ist charakteristisch für schwerwiegende Erkrankung wie Krebs oder Arteriosklerose².

In zahlreichen Experimenten konnte gezeigt werden, dass Naturstoffe das Wachstum von Zellen maßgeblich beeinflussen können. Während bestimmte Vitamine und Aminosäuren die Zellproliferation fördern und damit das Zellwachstum unterstützen, existiert auch eine Vielzahl an Substanzen mit wachstumshemmender Wirkung. Letztere stehen besonders im Fokus der Forschung, da sie als vielversprechende Kandidaten für den Einsatz in der Krebstherapie gelten.

Die chemische Vielfalt von Naturstoffen ist außerordentlich groß, und ihre Wirkung auf Zellen oder Organismen ist oft nur unzureichend verstanden. In den 1990er Jahren ermöglichte die kombinatorische Chemie die Synthese einer enormen Zahl neuer Verbindungen die systematisch auf ihre pharmakologische Wirkung getestet wurden. Auf diese Weise entstanden Substanzbibliotheken mit hunderttausenden von Molekülen. Allerdings zeigte sich, dass lediglich etwa eine von 100.000 Verbindungen eine relevante biologische Aktivität besitzt. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden hingegen eine Vielzahl von Naturstoffen analysiert und deren Wirksamkeit nachgewiesen. Daraus ergab sich die Strategie, diese Naturstoffe gezielt weiter zu analysieren und die gewonnenen Erkenntnisse für die Entwicklung neuer Substanzen zu nutzen.

Die Suche nach neuen Wirkstoffen aus der Natur stellt eines der zentralen Themen der Pharmakognosie dar. Weltweit befassen sich zahlreiche Forschungsgruppen mit der Untersuchung bioaktiver Substanzen aus Pflanzen, Pilzen, Mikroorganismen sowie Organismen aus extremen ökologischen Nischen³. Dabei kommen unterschiedliche Strategien zum Einsatz, darunter die klassische Bioprospektion (also systematische Suche und Untersuchung von biologischem Material), wirkungsgeleitete Isolationsverfahren, Hochdurchsatz-Screenings von Naturstoffbibliotheken sowie Methoden durch die gezielte strukturelle Weiterentwicklung natürlicher Leitstrukturen zu pharmakologisch optimierten Wirkstoffen³.

Vor diesem Hintergrund untersucht eine aktuelle Übersichtsarbeit die derzeitige Rolle natürlicher Produkte (NPs) in der Arzneimittelentwicklung. Dabei wurden sowohl zugelassene Medikamente aus dem Zeitraum von 2014 bis Mitte 2025 als auch Wirkstoffe, die bis Ende 2024 in klinischen Studien befanden, berücksichtigt. Insgesamt wurden zwischen 2014 und 2024 weltweit 579 Medikamente zugelassen, von denen 56 (9,7%) als natürliche Produkte (NP) oder NP-abgeleitet klassifiziert werden konnten. Hierbei handelte es sich um 44 kleine Moleküle (7,6% aller zugelassenen Medikamente) und 12 Antikörper-Medikamentenkonjugate (2,1% zugelassenen Medikamente). Darüber hinaus befanden sich Ende 2024 insgesamt 124 NP- oder NP-abgeleitete Verbindungen in klinischer Erprobung. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass natürliche Produkte eine bedeutende Rolle in der Wirkstoffentwicklung spielen und weiterhin ein erhebliches Potential für die Identifizierung neuer pharmakologischer Wirkstoffe besitzen⁴.

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluss ausgewählter Naturstoffe auf das Wachstum der humanen Lungenkarzinom-Zelllinie A549 untersucht. Im Mittelpunkt steht dabei die Frage, inwiefern sich eine Korrelation zwischen der strukturellen Komplexität verschiedener Naturstoffklassen und deren Wirkung auf die Zellproliferation erkennen lässt. Kann von der Zugehörigkeit einer Verbindung zu einer bestimmten Substanzklassen auf ihre Wirkung auf das Zellwachstum geschlossen werden? Wie vielfältig sind die Wirkungen von Einzelverbindungen innerhalb einer Substanzklasse? Antworten auf diese Frage können zur Erstellung einer Bibliothek von Naturstoffklassen mit ihrer jeweiligen Bioaktivität beitragen, um die Entwicklung z.B. synthetischer Analoga - sogenannter Pseudonaturstoffe - zu erleichtern und zugleich eine Grundlage für zukünftige Ansätze in der Wirkstoffforschung schaffen.

4.1 Naturstoffe und ihr Hintergrund

Im allgemeinen Sprachgebrauch versteht man unter Naturstoffen sekundäre Metaboliten, die im Rahmen des Sekundärstoffwechsels von sehr vielen Organismengruppen biosynthetisiert werden (z.B. Pflanzen, Pilze, Mikroben). Im Gegensatz zu Primärmetaboliten sind sie nicht unmittelbar essenziell für Wachstum, Entwicklung oder Fortpflanzung eines Organismus. Naturstoffe entstehen meist als Ergebnis der Anpassung an Umweltbedingungen oder dienen als Abwehr- und Schutzmechanismen, beispielsweise gegenüber Fressfeinden oder konkurrierenden Organismen⁵. Sie repräsentieren eine breite Palette an Stoffklassen, charakterisiert durch enorme strukturelle Komplexität und oft hohe Molekülmasse. Die Verbindungen bestehen hauptsächlich aus sp³-hybridisierten Kohlenstoffatomen, Sauerstoff, einigen Stickstoff- sowie Halogenatomen. Im Vergleich zu synthetischen Molekülen besitzen sie eine höhere Zahl an Wasserstoffbrückenakzeptoren und -donoren, eine erhöhte Hydrophilie sowie eine größere molekulare Steifigkeit und zeigen gleichzeitig eine gesteigerte biologische Aktivität. Das macht Naturstoffe zu einer wertvollen Ausgangsbasis für orale Arzneimittel, vor allem auch, weil sie schon

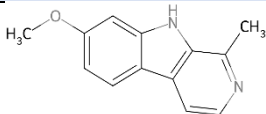
durch die Evolution strukturell „optimiert“ wurden⁶. Beispielweise wurden Moleküle wie Nicotin oder andere Alkaloide im Laufe der Evolution selektioniert, um Fressfeinde zu schädigen (durch Bindung an bestimmte Proteine des Feindes)⁷. Obwohl eine hohe strukturelle Komplexität von Verbindungen vorteilhaft sein kann, erschwert sie gleichzeitig die Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Bereits die Isolierung aus biologischen Material, so wie die anschließende Quantifizierung und Charakterisierung stellen häufig erhebliche Herausforderungen dar⁶.

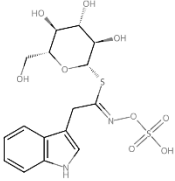
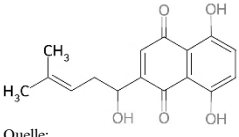
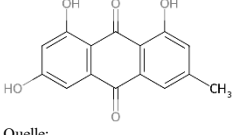
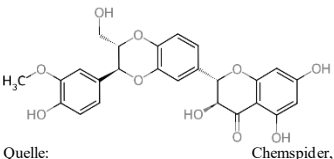
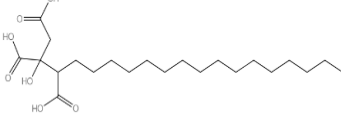
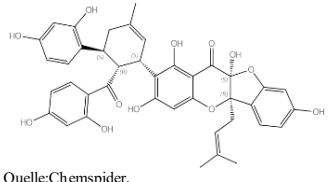
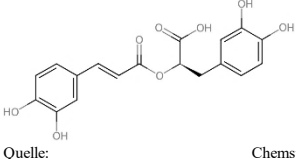
Naturstoffe werden aufgrund ihrer chemischen Struktur in unterschiedliche chemische Gruppen eingeordnet, wie z.B. Kohlenhydrate, Flavonoide, Alkaloide, Amine, Terpene⁸. Innerhalb der Substanzklassen unterscheiden sich Verbindungen oft nur durch eine einzige Hydroxylgruppe, was aber die biologische Wirkung deutlich verändern kann. Die Mehrheit der Naturstoffe weist in ihrer Molekülstruktur einen oder mehrere Phenolringe auf. Einige Naturstoffe besitzen Strukturgerüste, die ausschließlich aus Kohlenstoff- und Sauerstoffatomen bestehen, wie etwa Terpene oder Flavonoide, während andere auch Stickstoff enthalten, wie etwa Alkaloide.

Aufgrund ihrer strukturellen Vielfalt weisen Naturstoffe häufig unterschiedliche biologische Wirkungen auf. Flavonoide sind O-Heterozyklen und zeichnen sich durch zwei unterschiedlich substituierte aromatische Ringe aus. In *in vitro*-Analysen zeigen sie typischerweise antibiotische und antioxidative Eigenschaften sowie ein breites Spektrum an Enzyminhibitionen⁹. Alkaloide gehören zu den stickstoffhaltigen Verbindungen. Laut Hänsel¹⁰ wirken Alkaloide bei Menschen und Wirbeltieren in der Regel toxisch. Glucosinolate, die sich aus Aminosäuren ableiten lassen, sind Thioglucoside mit zwei Schwefelatomen und einem Stickstoffatom im Molekül. Obwohl es bei Tieren nach Verzehr von großen Mengen zu einer Kropfbildung kommen kann, ist die Gefahr für den Menschen gering¹¹.

Tabelle 1 gibt einen Überblick über ausgewählte Substanzklassen, ihre charakteristischen chemischen Strukturen sowie ihren bekannten pharmakologischen Wirkungen.

Tabelle 1 Übersicht der ausgewählten Substanzen, die die chemische Vielfalt verschiedener Stoffklassen veranschaulichen

Substanzklasse	Beispiel	Struktur	Wirkung
N-haltig			
Alkaloid	Harmin	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3268.html, abgerufen am 11.01.26¹²	MAO-Hemmer

N- und S-haltig			
Glucosinolate	Glucobrassicin	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3268.html, abgerufen am 11.01.26¹³	Speicher für Auxine
ohne N			
Alkannin	Shikonin	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3268.html, abgerufen am 11.01.26¹⁴	Induziert Zellzyklus-Stillstand in menschlichen Darmkrebs-Zelllinien SW480
Anthrachinon	Emodin	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3107.html, abgerufen am 11.01.26¹⁵	Verringert das intrazelluläre Cholesterin.
Flavonoid	Silibinin	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3107.html, abgerufen am 11.01.26¹⁶	Hemmt einen Organo-Aniontransporter
Fettsäure	Agaricinsäure	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3107.html, abgerufen am 11.01.26¹⁷	Induziert den mitochondrialen Durchlässigkeitswandel
Flavonoid	Sanggenon C	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.23267362.html, abgerufen am 11.01.26¹⁸	Inhibiert TNF- α , NF- κ B
Phenylpropanoid	Rosmarinsäure	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3107.html, abgerufen am 11.01.26¹⁹	Hemmt Lipooxygenase, HIV-1 Integrase

Prinzipiell sind Naturstoffe in der Lage, alle zellulären Funktionen des Organismus zu modulieren⁸. Immer wieder werden neue Belege gefunden, die beweisen, dass sie eine Vielzahl intrazellulärer Prozesse sowohl direkt als auch indirekt steuern können. Dennoch ist die biologische Funktion vieler Sekundärmetaboliten bislang nicht eindeutig erforscht, insbesondere im Hinblick auf die Wirkung bestimmter Stoffklassen auf das Zellwachstum. Nun stellt sich daher die Frage, ob eine eindeutige Zuordnung zwischen einzelnen Stoffklassen und ihren spezifischen Effekten auf das Wachstum einer Zelle überhaupt möglich ist, da die Verbindungen innerhalb einer Klasse strukturell sehr divers sein können. Gleichzeitig weisen die vielfältigen Funktionen dieser Verbindungen im Stoffwechsel der produzierenden Organismen auf ein potenziell hohes Maß an pharmazeutisch relevanter Bioaktivität hin. Tabelle 2 gibt eine zusammenfassende Übersicht über makromolekulare Stoffe und zeigt exemplarisch mögliche Wirkungen einzelner Vertreter verschiedener Stoffklassen auf pflanzliche Zellen. Sie dient dabei der Veranschaulichung und erhebt keinen Anspruch auf eine allgemeingültige Zuordnung von Stoffklassen zu spezifischen Effekten.

Tabelle 2 Übersicht ausgewählter Klassen von Sekundärmetaboliten und beispielhafte Wirkung auf Krebszellen⁸.

Substanzklasse	Wirkung
Sterole (Cholesterin)	Beeinflussung der Fluidität bzw. Integrität von Membranen ²⁰ Aktiviert membranständige Rezeptoren – potentiell tumorfördernd ²¹
Sterole (Ergosterol, Ergosterolperoxid)	Induktion von Apoptose Beeinflusst mitochondriale Signalwege – antitumorales Potenzial ^{22,23}
Terpene (Limonen)	Induktion von Apoptose Hemmt Angiogenese - Tumorprogression Hemmung von Proliferations- und Überlebenssignalwegen ²⁴
Anthrachinone (Emodin)	Induktion von Apoptose Modulation von Signalwegen, die Proliferation und Entzündung steuern ²⁵
Cyanogene Glycoside (Amygdalin)	Wirken über das abgespaltete Cyanid auf die mitochondriale Atmungskette ²⁶ Induktion von Apoptose Hemmung der Zellproliferation ²⁷
Isocyanate (Sulforaphan)	Antioxidative Wirkung Aktivierung von Gene für Entgiftungsenzymen Modulierung zentraler Signalwege und krebsrelevanter Gene ²⁸
Phytoalexine (Resveratrol)	Hemmung von Proliferation, Metastasierung und Angiogenese Modulation von Signalwegen und epigenetische Regulation – antitumorales Potenzial ²⁹
Chinone (Ubichinon)	Beteiligung an der mitochondrialen Atmungskette ³⁰ Antioxidative Wirkung Moduliert mitochondrial vermittelte Apoptose

4.2 Krankheitsmodell Tumor

Entscheidend für die Entwicklung wirksamer chemotherapeutischer Strategien ist das Verständnis der Tumorentstehung sowie von Ausbreitung und Invasion. Das geregelte Gleichgewicht aus Wachstum (Proliferation), zellulärer Spezialisierung (Differenzierung) und Zelltod (Apoptose) ist für das Überleben jeder Zelle und des Gesamtorganismus essenziell³¹. Der genaue Ablauf des Zellzyklus wird durch genetisch definierte Programme gesteuert. Sowohl endogene als auch exogene Faktoren können diese Steuerung deregulieren.

„Der Unterschied zwischen Tumorzellen und Normalgewebe, liegt an der gestörten Regulation des Wachstums, dem Verlust der Differenzierungsfähigkeit und der Fähigkeit zur Metastasierung“ (zitiert nach W. Dempke 2006).

Mutation in normalen zellulären Genen (z.B. Proto-Onkogenen) können zu Onkogenen führen. Ebenso können Fehler beim Ablesen der Erbinformation die Zellfunktion verändern und zum Verlust ihrer eigentlichen Aufgaben beitragen. Solche Veränderungen verursachen entweder bleibende Mutation oder führen letztlich zum Zelltod³¹. Eine Aktivierung von Onkogenen resultiert häufig in unkontrollierter, persistierender Proliferation und klonale Expansion der betroffenen Zellen³¹.

Die in allen malignen Tumoren nachgewiesene Veränderungen lassen sich in folgende Gruppen einteilen:

- Punktmutationen: Sie entstehen typischerweise durch mutagene Substanzen. Betroffen sind vor allem das p53- Tumorsuppressor- Gen und die Gene der ras-Familie (Rat sarcoma). 80% aller Karzinome enthalten Mutation des p53- Gens³¹,
- Deletionen: Sind regulatorische Sequenz eines Gens betroffen, können sie zur Entstehung von Proteinen mit transformierenden Eigenschaften führen³¹,
- Translokationen: Ein klassisches Beispiel ist das Philadelphia-Chromosom, das bei 95% der Patienten mit einer chronischen myeloischen Leukämie nachweisbar ist. Das dabei entstehende Fusionsprotein Bcr- Abl (Breakpoint Cluster Region und Abelson-Proto-Onkogen) führt zu einer fehlerhaften Funktion der Abl- Kinase, einer unkontrollierten Aktivierung abhängiger Signalwege und in der Folge zu gesteigerter Zellproliferation³²,
- Amplifikation: In Tumoren deutlich häufiger als bei normalen Säugerzellen. Sie führen zu einer verstärkten Genexpression. Besonders HER-2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2)³³ und Myc (Myelozyten) sind häufig bei Mammakarzinom amplifiziert³¹,
- Retrovirale Genaktivierung: Mindestens vier humanpathogene Retroviren gelten als onkogen, darunter HIV (Menschliches Immundefizienz- Virus), HTLV-1 (Humanes T-lymphotropes Virus-1), HTLV-2. Sie können durch verschiedene Mechanismen maligne Transformation bewirken^{31,34},

- Genetische Instabilität: Sie begünstigt die Akkumulation genetischer Veränderungen und ist insbesondere bei kolorektalen Karzinomen ausgeprägt³¹

Die zelluläre Proliferation wird durch extrazelluläre Signale gesteuert, die sowohl Phasen des Zellzyklus als auch Mechanismen der Zellelimination regulieren. Fast alle Onkogen-Produkte stören diese Signalübertragung oder deren Genaktivität. Die Signaltransduktion beginnt mit der Bindung eines Liganden an membranständige oder intrazellulär lokalisierte Rezeptoren. Eine entscheidende Rolle spielen dabei die Rezeptor-Tyrosin/Threonin- Kinasen (RTKs). Durch die Bindung eines Liganden kommt es zu einer Konformationsänderung, Dimerisierung und schließlich Auto- oder Transphosphorylierung. Damit wird die Signalweiterleitung eingeleitet. Mutierte RTKs können jedoch auch ohne Ligandenbindung dimerisieren und so eine kontinuierliche Aktivierung sowie pathologische Signalübertragung verursachen (z.B. HER-2)³¹.

Die Weiterleitung des Signals erfolgt über intrazelluläre Proteine, die an die zytoplasmatische Domäne des Rezeptors binden. Besonders wichtig sind hier die SH2- und SH3- Domänen (Src-Homology 2). Die daran gebundenen Proteine sind meist enzymatisch aktiv, darunter:

- Phosphatidylinositol-3-Kinase- reguliert die Aktivität der Caspase-3, die eine Schlüsselrolle in der Apoptose spielt,
- Src-Kinasen- spielen eine große Rolle bei der PDGF (Platelet Derived Growth Factor) - vermittelten Signalübertragung,
- Adapterproteine- z.B. PDGF, VEGF (Vaskulärer Endothelialer Wachstumsfaktor), EGF (Epidermal Growth Factor), ret, bcr-abl³¹.

Eukaryontische Zellen verfügen außerdem über komplexe Enzymsysteme, die DNA-Schäden erkennen, reparieren oder – falls eine Reparatur nicht möglich ist – den programmierten Zelltod (Apoptose) einleiten. Verschiedene Signalwege regulieren die Apoptose, wobei auch Tumorzellen diesen Mechanismus nutzen, um Abwehrzellen wie tumorinfiltrierende Lymphozyten (TILs) auszuschalten³⁵. Inhibition der Apoptose bewirkt die Erhaltung von genomisch geschädigten Zellen, was wieder zur Aktivierung von Onkogenen führen kann. Inzwischen wurden mehrere therapeutische Antikörper gegen diese Signalwege entwickelt (z.B. Pembrolizumab)³⁶.

Sowohl Onkogene als auch Tumorsuppressoren fördern die klonale Expansion von Tumorzellen. Diese verdrängen Wildtyp-Wirtszellen und breiten sich auf Kosten des gesunden Gewebes aus. Diese Zellkonkurrenz spielt in der Tumorentstehung eine wesentliche Rolle. Auch innerhalb von Tumoren konkurrieren Krebszellen untereinander um Nährstoffe, Wachstumsfaktoren und Raum. Aktuelle Forschungsarbeiten beschäftigen sich mit der Identifizierung der zugrunde liegenden Mechanismen von Konkurrenz und frühzeitigen Krebsveränderungen im Gewebe ³⁷. So konnte gezeigt werden, dass z.B. der Verlust des Hippo-Signalwegs, der die Gewebevergrößerung kontrolliert, wesentliche Auswirkung auf die Wirkung von RAS-RAF-Mutationen hat. Umgekehrt spielt die RAS-Signalgebung eine Rolle bei Inaktivierung des Hippo-Signalwegs^{37,38}.

Alle zellulären Prozesse sind auf eine präzise regulierte Nährstoffaufnahme angewiesen. Proliferierende Zellen steigern ihre Nährstoffaufnahme, um ihre Masse zu verdoppeln und biosynthetisch aktiv zu bleiben. Krebszellen gewinnen autonome Kontrolle über ihren Nährstoffhaushalt. Zudem begünstigt eine veränderte Stoffwechselaktivität die Produktion von Makromolekülen, die das Überleben unter hypoxischen und nährstoffarmen Bedingungen sichern³⁹.

Die Regulation des Zellstoffwechsels über Signalwege (z.B. mTOR-Signalweg) ist das Thema von vielen Forschungsgruppen und eröffnet neue therapeutische Möglichkeiten⁴⁰. Das Verständnis, wie Onkogenen-Mutationen entstehen und Signaltransduktionswege deregulieren, ist entscheidend für die Entwicklung innovativer Krebstherapien. Aktuell werden metabolische Schwachstellen, deregulierende Signalwege, biosynthetische Prozesse, die die Tumorentwicklung fördern, sowie Mechanismen, die Transkriptionsfaktoren regulieren, oder die Interaktion zwischen Krebs- und Immunzellen beeinflussen, intensiv untersucht. Gezielte Therapien, die molekulare Interaktion oder Signalwege stören, gelten als vielversprechende Ansätze zur Bekämpfung des Tumorwachstums⁴¹.

Ein tiefgreifendes Verständnis krebsassoziierter Komplikationen und biologischer Besonderheiten ist von zentraler Bedeutung. Dazu zählen unter anderem Arzneimittelresistenz, intratumorale Heterogenität und Metastasierung. Ebenso entscheidend ist die umfassende Analyse der molekularen und metabolischen Charakteristika von Tumoren, einschließlich Genotyp, Phänotyp, Stoffwechselprofil und Tumormikroumfeld. Nur durch eine systemische Aufklärung dieser Mechanismen können die zugrunde liegenden Prozesse verstanden und darauf aufbauend effektive Strategien für Prävention, Diagnostik und Therapie von Krebs entwickelt werden⁴².

4.3 Naturstoffe in der Tumorthherapie

Pflanzen wie *Camptotheca acuminata*, *Catharanthus roseus*, *Taxus brevifolia*, *Podophyllum peltatum*, *Combretum caffrum* sowie *Berberis vulgaris* lieferten bedeutende Naturstoffe wie Camptothecin⁴³, Vincristin⁴⁴ sowie Paclitaxel^{45,46}, Podophyllotoxin, Combretastatine und Berberin⁴⁷. Insgesamt wurde eine Vielzahl von Naturstoffen mit unterschiedlichen chemischen Grundstrukturen als potenziell antineoplastisch wirksam identifiziert und isoliert. Zahlreiche dieser natürlichen Verbindungen wurden gezielt chemisch modifiziert, um strukturelle Analoga mit verbesserter pharmakologischer Wirksamkeit, erhöhter Löslichkeit oder reduzierter Toxizität zu entwickeln. In der Folge sind mehrere klinisch etablierte Zytostatika entstanden, darunter Topotecan, Irinotecan, Docetaxel, Etoposid. Mehr als die Hälfte der derzeit klinisch eingesetzten Krebsmedikamente basiert auf natürlichen Wirkstoffen oder ist von diesen abgeleitet^{48–50}.

Im Folgenden werden einige Beispiele für Naturstoffe vorgestellt, die in der Krebstherapie Anwendung finden.

4.3.1 Polyphenole (Curcumin)

Curcumin ist ein natürlich vorkommendes Polyphenol (Abbildung 1⁵¹), das aus der Kurkuma- Wurzel *Curcuma longa*, Familie Zingiberaceae gewonnen wird. Es wurde erstmals im Jahr 1815 isoliert. Es zählt zur Stoffklasse der Curcuminoide⁵². Die Struktur von Curcumin besteht aus zwei

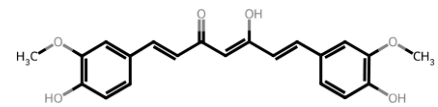


Abbildung 1 Chemische Struktur von Curcumin

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4445080.html>, abgerufen am 21.12.25

Benzolringen, die über ein konjugiertes Doppelbindungssystem miteinander verbunden sind. An diese Doppelbindung ist eine enolische Gruppe gebunden, die maßgeblich zur biologischen Aktivität von Curcumin beiträgt. Die krebshemmende Wirkung lässt sich auf die β -Diketon Struktur zurückführen, die als funktionelles Zentrum der Substanz gilt. Curcumin beeinflusst verschiedene Signaltransduktionswege, indem es sowohl direkt als auch indirekt Prozesse wie die Zellteilung, die Aktivität des Tumorsuppressorgens p53, sowie die Transkriptionsfaktoren Nrf2 und NF- κ B moduliert. Das Polyphenol inhibiert den JAK-STAT Signalweg über die Faktoren STAT-1 und STAT-3. Darüber hinaus spielt die β -Diketon Gruppe eine wichtige Rolle bei der Entwicklung neuer selektiver COX-2- Inhibitoren, da sie als Pharmakophor dient⁵²⁻⁵⁴. Studien zeigen, dass die Signalwege von COX-2 bei Entzündungen und Tumorerkrankungen häufig aktiviert sind. Besonders COX-2 trägt wesentlich zur Förderung des Tumorwachstums bei. Curcumin wird in der Behandlung von Bauchspeicheldrüsenkrebs im Rahmen eines Multitarget-Ansatzes eingesetzt⁵⁵. Als Theranostikum (also Substanz die Therapie und Diagnostik in einem vereint) findet das Curcumin eine Anwendung in der Fluoreszenzbildgebung, photodynamischen und sonodynamischen Therapie⁴². Sonodynamische Therapie ist ein experimentelles Therapieverfahren, bei dem Ultraschall zusammen mit einem sonosensibilisierenden Wirkstoff eingesetzt wird, um gezielt Zellen zu schädigen.

4.3.2 Pflanzenalkaloide (Vincristin, Paclitaxel)

Vincristin, ein Vertreter der Vinca-Alkaloide, gehört zu den frühesten natürlichen Substanzen mit klinisch relevanter antineoplastischer Aktivität⁴⁸ (Abbildung 2⁵⁶). Sie ist aus der madagassischen Immergrün-Pflanze *Catharanthus roseus* isoliert. Im Jahr 1952 wurde zunächst myelotoxische Wirkung von Vinca-Alkaloiden beschrieben. Kurze Zeit später konnte in präklinischen Studien an Mäusen eine signifikante antileukämische Aktivität nachgewiesen werden⁵⁷. Vincristin erhielt 1963

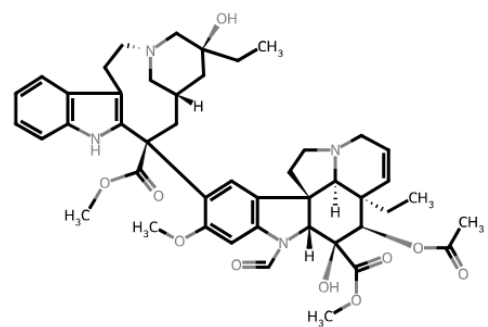


Abbildung 2 Chemische Struktur von Vincristin

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5758.html>, abgerufen am 21.12.25

die Zulassung durch die U.S. Food and Drug Administration (FDA) zur Anwendung in der Krebsbehandlung. Durch ihre Bindung an Tubulin inhibiert Vincristin die Ausbildung des Spindelapparates, was einen Metaphase- Arrest während der Mitose induziert und anschließend

Apoptose sowie Zelltod maligner Zellen auslöst⁵⁸. Die Substanz wird im Rahmen kombinierter Chemotherapie gemeinsam mit weiteren antineoplastischen Wirkstoffen zur Behandlung hämatologischer Neoplasien wie Leukämie und Lymphomen sowie solider Tumoren eingesetzt⁵⁹. Heutzutage erfolgt die Herstellung von Vinca-Alkaloiden überwiegend durch semisynthetische Verfahren auf Basis pflanzlicher Vorstufen.

Paclitaxel (Taxol) wurde Anfang der 1960er erstmals aus der Rinde der Pazifischen Eibe *Taxus brevifolia* isoliert⁶⁰. Es ist eine trizyklische Diterpenoidverbindung (siehe Abbildung 3⁴⁹). Erst im Jahr 1979 konnte Susan Horwitz den besonderen Wirkmechanismus von Paclitaxel aufklären⁴⁶. Anders als Vinca-Alkaloide, die die Depolymerisation von Mikrotubuli fördern, wirkt Paclitaxel als Mikrotubuli-stabilisierender Wirkstoff. Als solcher fördert Paclitaxel die Polymerisation von α/β -Tubulin-Dimeren zu stabilen Mikrotubuli und bindet spezifisch an das Mikrotubuli-Polymer. Durch diese Interaktion stabilisiert es die Mikrotubuli gegenüber depolymerisierenden Einflüssen wie Kälte und erhöhten Kalziumkonzentrationen. Die Existenz einer spezifischen Bindungsstelle am Polymer macht Paclitaxel im Vergleich zu anderen antimittotisch wirkenden Zytostatika einzigartig. Es weist ein breites antineoplastisches Wirkspektrum auf und findet klinische Anwendung bei einer Vielzahl solider Tumore, darunter Mammakarzinom, Ovarialkarzinom, nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom^{45,61}. Aktuell wird Paclitaxel vor allem durch chemische Semisynthese aus Baccatin III⁶² aus der Europäischen Eibe (*Taxus baccata*) sowie den gezielten Anbau von Eiben gewonnen.

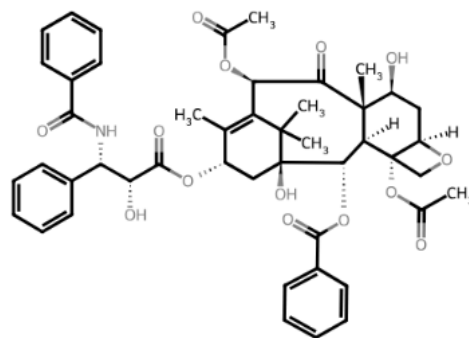


Abbildung 3 Chemische Struktur von Paclitaxel

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10368587.html>, abgerufen am 21.12.25

4.3.3 Epipodophyllotoxine (Etoposid)

Epipodophyllotoxine leiten sich strukturell von Podophyllotoxin ab. Podophyllotoxin wurde im Stammharz und den Wurzelstöcken von *Podophyllum peltatum* und *Podophyllum emodi* der Familie Berberidaceae (Berberitzengewächse) entdeckt⁶³. In der traditionellen Medizin fand Podophyllin-Harz bereits frühzeitig Anwendung, die gezielte chemische Untersuchung und Synthese von Podophyllotoxin setzten jedoch erst in den 1940er-Jahren ein. Ende der 1940er-Jahre wurde die zytotoxische Wirkung von Podophyllotoxin entdeckt, nachdem zuvor antivirale Effekte gegen verschiedene Viren- darunter Masern-, Herpes-simplex-, Cytomegalie- und humane Papillomaviren- nachgewiesen worden waren⁶⁴. Diese Befunde legten den Grundstein für seinen Einsatz in der onkologischen Forschung und Therapie.

Besondere Bedeutung hat Etoposid (Abbildung 4⁶⁵), ein halbsynthetisches Derivat des Desoxypodophyllotoxin, einem Aryltetralin-Lignan, erlangt. Der Wirkstoff hemmt die DNA-Topoisomerase II, ein zelluläres Schlüsselenzym, für die korrekte Entwindung und Replikation der DNA. Etoposid stabilisiert die DNA-Stränge, was zu Doppelstrangbrüchen, Zellzyklusarrest und letztlich zum programmierten Zelltod führt. Im Vergleich zu anderen Topoisomerase II-Inhibitoren wie Anthracyclinen wirkt Etoposid effizienter, bringt jedoch auch das Risiko chromosomaler Translokationen und wird mit therapieassoziiert sekundärer Leukämie in Verbindung gebracht⁶⁶. Nach seiner Zulassung im Jahr 1983 zur Behandlung des Hodenkarzinoms wurde Etoposid zunehmend auch bei weiteren malignen Erkrankungen eingesetzt. Dazu zählen insbesondere solide Tumore wie das kleinzellige Lungenkarzinom sowie hämatologische Neoplasien, insbesondere die akute lymphatische Leukämie⁶⁶. In der Kombinationstherapie wird Etoposid bei Tumoren in Magen, Gehirn, Brust und Bauchspeicheldrüse eingesetzt⁶⁷.

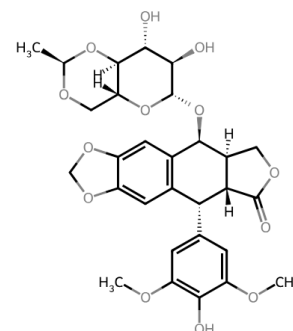


Abbildung 4 Chemische Struktur von Etoposid

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.33510.html>, abgerufen am 21.12.25

4.3.4 Anthracycline (Daunorubicin)

Bei Anthracyclinen handelt es sich um aromatische Polyketide, die durch ein tetracyclisches 7,8,9,10-Tetrahydro-5,12-naphthacenoquinon-Gerüst charakterisiert sind. Anthracycline wurden ursprünglich auf ihr Potenzial als Antibiotika untersucht und zeigten dabei eine deutliche Wirksamkeit gegenüber *Staphylococcus aureus*⁶⁸. Sie gelangen hauptsächlich durch passive Diffusion in die Zellen. Nach dem Eintritt können sie an die 20S-Untereinheiten des Proteasoms binden, einem zentralen Proteinkomplex für den Proteinabbau.

Daunorubicin (siehe Abbildung 5⁶⁹) wurde in den 1960er Jahren von Di Marco aus *Streptomyces peucetius* isoliert⁶⁸. Es besteht aus einer Aglykon- und einer Zuckerkomponente. Das Aglykon bildet ein tetracyclisches Anthracyclin-Grundgerüst mit Chinon- und Hydrochinon-Funktionalitäten in den B- und C-Ringen sowie einer Methoxygruppe am D-Ring. Der Aminosucker Daunosamin ist über eine glykosidische Bindung an der C-7-Position des A-Rings verknüpft und trägt eine Aminogruppe an C-3⁶⁹. Daunorubicin erwies sich in klinischen Studien als

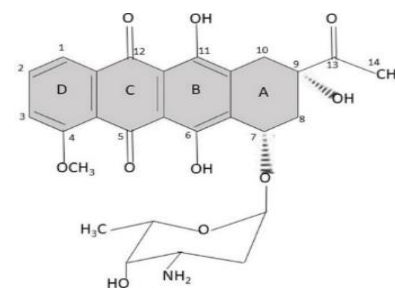


Abbildung 5 Chemische Struktur von Daunorubicin

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.28163.html>, abgerufen am 21.12.25

besonders wirksam in der Therapie akuter Leukämie und bildete damit die Grundlage für seinen therapeutischen Einsatz. Die zytotoxische Wirkung beruht auf der Fähigkeit, sich mit der Polyhydroxyanthrachinon-Struktur in die DNA einzulagern. Dabei schiebt sie sich zwischen benachbarte Basenpaare und führt zu einer Destabilisierung der DNA-Doppelhelix, was den

Topoisomerase-II-DNA-Komplex stabilisiert. Diese Stabilisierung fördert die Entstehung von Doppelstrangbrüchen und aktiviert letztlich programmierte Zelltodmechanismen. Darüber hinaus verursachen Anthracycline strukturelle Veränderungen des Chromatins. Beim Einbau in die DNA ragt der Zuckerrest in die kleine Furche der DNA hinein und konkurriert dort mit Histonen um Bindungsstellen. Das führt zur Destabilisierung von Nukleosomen und zur Verdrängung von Histonen aus dem Chromatin. Die Histonverdrängung führt zu epigenetischen und transkriptionellen Veränderungen sowie zu einer beeinträchtigten DNA-Doppelstrangreparatur und wird als Chromatinschädigung bezeichnet^{70,71}.

Daunorubicin wurde in den 1970er Jahren von der Food and Drug Administration zur klinischen Anwendung zugelassen. Heute findet es Einsatz bei einer Vielzahl von Krebserkrankungen, darunter akute lymphatische und myeloische Leukämie, Lymphome, Blasen-, Magen- und Brustkrebs.

4.3.5 Ambivalente Rolle der Entzündungsprozesse

Entzündungsprozesse übernehmen in der Krebsbiologie eine ambivalente Rolle. Einerseits können sie durch die Bereitstellung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren das Überleben und die Proliferation von Tumorzellen unterstützen. Andererseits sind sie in der Lage, antitumorale Immunantworten zu aktivieren – ein Prinzip, das gezielt in der Krebsimmuntherapie genutzt wird. Während akute Entzündungsreaktionen die Wirksamkeit therapeutischer Interventionen fördern können, trägt eine chronische Entzündung häufig zur Tumorprogression, zum Wiederauftreten der Erkrankung und zur Therapieresistenz bei.

Entzündungsprozesse fördern die Tumorentwicklung, indem sie die Angiogenese verstärken, lokale Immunantwort unterdrücken und eine tumorfördernde Mikroumgebung schaffen, die das Überleben und die Weiterentwicklung prämaligener (tumorstufiger) Zellen begünstigt. Hypoxische Bedingungen (Zustand des Sauerstoffmangels) im Tumormikromilieu aktivieren den Hypoxie-induzierten Faktor HIF-1 α , der die Bildung neuer, häufig abnormaler Blutgefäße stimuliert. Sie fungieren als zentrale Regulatoren der Angiogenese (Wachstum von Blutgefäßen), indem sie die Produktion verschiedener Faktoren wie vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF), Plazentawachstumsfaktor (PGF), Thrombozyten-abgeleitetem Wachstumsfaktor-B (PDGF-B) steigern. Tumorzellen und krebsassoziierte Fibroblasten, fördern durch die Freisetzung von Wachstumsfaktoren sowie durch Umbau der extrazellulären Matrix die Proliferation und Invasivität von Krebszellen. Gleichzeitig ermöglicht eine metabolische Umprogrammierung, insbesondere die verstärkte Nutzung der aeroben Glykolyse (Warburg-Effekt), das rasche Tumorwachstum. Darüber hinaus trägt Hypoxie zur Ausbildung eines immunsuppressiven Milieus bei, unter anderen durch die Rekrutierung regulatorischer Immunzellen.^{72,73}

Das Immunsystem spielt eine doppelte Rolle bei der Metastasierung: Einerseits kann Entzündung das Wachstum und die Ausbreitung von Krebszellen, z.B. durch CD8⁺ T-Zellen, zerstören. Tumore können jedoch Mechanismen entwickeln, um dieser Immunüberwachung zu entkommen, etwa durch regulatorische T-Zellen (Tregs) oder immunsuppressive Zytokine wie TGF- β . Ob das Immunsystem einen Tumor bekämpft oder dessen Wachstum fördert, hängt davon ab, welche Immunstoffe vorhanden sind und wie viele und wie aktive Immunzellen in der Tumorumgebung sind⁷⁴.

Chronische Entzündungen gelten als wesentlicher Risikofaktor für die Entwicklung verschiedener Tumorarten, was die gezielte Modulation inflammatorischer Signalwege zu einer vielversprechenden Strategie sowohl in der Krebsprävention als auch in der Krebstherapie macht. Viele immunmodulatorische Naturstoffe wirken auf die zelluläre Abwehr stärkend – zum Beispiel durch entgiftende und antioxidative Enzyme- und Entzündungen sowie Tumorstadium hemmend.

Zahlreiche onkologische Wirkstoffe finden zugleich Anwendung in der Therapie chronisch-entzündlicher Erkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis. Künftige Forschungsansätze sollen daher verstärkt auf die Identifizierung und Entwicklung von Wirkstoffen ausgerichtet sein, die sowohl entzündungshemmende als auch antitumorale Eigenschaften vereinen⁷⁵.

Vor diesem Hintergrund besteht ein wachsendes Interesse an der Identifizierung neuer Wirkstoffe, die entzündungshemmende und antitumorale Effekte vereinen, insbesondere aus natürlichen Quellen. Obwohl zahlreiche Naturstoffe bereits isoliert und strukturell charakterisiert wurden, ist ihr biologisches Wirkprofil häufig noch nicht ausreichend erforscht.

4.3.6 Aktuelle und zukünftige Forschungsansätze zu antitumoralen Naturstoffen

Es gibt noch eine Menge isolierter und in der Struktur bekannter Naturstoffe, die hinsichtlich ihrer Wirkungen noch nicht ausreichend erforscht wurden. Während die chemische Charakterisierung mit leistungsstarken Technologien wie z.B. Massenspektrometrie (in Kopplung mit Flüssigchromatographie, LC-MS) und Kernresonanz-Spektroskopie (NMR) durchgeführt werden, wird die Untersuchung von Aktivität und Wirkung vor allem durch *in vitro*-Experimente in zellbasierten Testsystemen durchgeführt. Diese Herangehensweise kann wichtige Hinweise hinsichtlich einer potenziellen Wirkung, des Wirkmechanismus und auch einer spezifischen oder unspezifischen Toxizität gegenüber Tumorzellen aber auch gesunden Zellen liefern und auch zur Auffindung neuer biologischer Zielstrukturen dienen. Hierbei sind jedoch keine endgültigen Aussagen möglich, d.h. eine Substanz, die *in vitro* isolierte Tumorzellen im Wachstum hindert, darf noch nicht als anti-tumorales Therapeutikum bezeichnet werden. Nach den ersten *in vitro*-Untersuchungen sollten weitere *in vivo*-Experimente folgen. *In vitro* Modelle mit menschlichen oder tierischen Zellkulturen erlauben eine kontrollierte Untersuchung von Zell- oder Gewebefunktionen

und sind gut reproduzierbar. *In vivo* Modelle hingegen berücksichtigen alle komplexen Wechselwirkungen im lebenden Organismus, einschließlich Stoffwechsel, Gewebe-Kommunikation und Langzeiteffekte und liefern dadurch klinisch relevantere Ergebnisse zur Wirksamkeit und Sicherheit von Medikamenten.

Von großer Bedeutung ist nicht nur die Identifikation neuer Substanzen und deren Wirkmechanismen, sondern auch die Entwicklung neuartiger Therapieansätze. Zu diesem Zweck wird intensiv geforscht, um pathophysiologische Prozesse zu verstehen, die am Fortschreiten von Krankheiten beteiligt sind. Dabei sollen insbesondere mögliche Zielproteine für Therapien identifiziert werden, die eine essenzielle Rolle im Krankheitsgeschehen spielen indem z.B. bei Fehlregulationen Krankheiten entstehen. Folglich ist das Verständnis über zelluläre Voraussetzungen und molekulare Grundlagen von großer Bedeutung. Im Falle von z.B. Tumorzellen ist dieses Wissen eine wichtige Quelle für neue mögliche Angriffspunkte oder ermöglicht die weitere Entwicklung bereits bestehender Substanzen z.B. durch höhere Selektivität⁷⁶.

Neben der Analyse von Makromolekülen wie Proteinen hat sich auch die Analyse kleiner Moleküle in der Zelle, insbesondere Zwischenprodukte des Zellstoffwechsels (Metabolite), als aufschlussreich erwiesen. Viele biochemische Prozesse sind eng mit der Aktivität von Stoffwechselwegen verknüpft, indem sie beispielweise Energie oder Bausteine für Makromoleküle liefern. In der Vergangenheit wurden metabolische Analysen vor allem in der Biomedizin und Agrarwissenschaft eingesetzt. Heute wird die metabolische Analyse nicht nur angewendet, um die Pathomechanismen komplexer Krankheiten zu verstehen, sondern auch häufig zur Klärung der molekularen Wirkmechanismen von potenziellen Wirkstoffen. Analysen der Stoffwechselprodukte (Metabolomics) liefern biologische Information über Veränderungen in der Metaboliten-Zusammensetzung in dem untersuchten Organismus⁷⁷, und dem Einfluss von Wirkstoffen darauf.

4.4 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss von Naturstoffen aus unterschiedlichen chemischen Klassen auf das Wachstum von Zellen zu untersuchen. Dabei soll analysiert werden, welche der Naturstoffe eine Wirkung gegen schnell proliferierende Krebszellen *in vitro* zeigen, und ob ein Zusammenhang zwischen der Wirkung der Substanzen und ihrer Zugehörigkeit zu bestimmten Stoffklassen besteht. Die getesteten Substanzen wurden gezielt als Vertreter verschiedener chemischer Substanzklassen unter den Naturstoffen sowie basierend auf Literaturrecherche ausgewählt.

Die Wirkung der ausgesuchten Substanzen auf das Wachstum wurde an der humanen Lungenkarzinom-Zelllinie A549 untersucht. Zu Beginn eines Experiments wurden A549-Zellen in RPMI-1640 Zellkulturmedium in 96-Well-Platten ausgesät und über Nacht inkubiert, bis die Zellen am Plattenboden angehaftet haben. Am Folgetag wurden unterschiedliche Konzentrationen der

einzelnen Substanzen in das Medium einzelner Zellkulturen auf der Platte hinzugefügt. Die Well-Platte wurde danach 96 Stunden lang bei 37°C und in 5 % CO₂-Atmosphäre in einem Mikroskopie-Plattenleser inkubiert. Alle 2 Stunden wurden automatisiert mit Hilfe des Hellfeldmikroskops Bilder der Zelle am Boden der 96-Well-Platte aufgenommen und mithilfe der Gerätesoftware die Zellkonfluenz bestimmt (Flächenanteil des Kulturbodens, der von Zellen bedeckt ist). Das Experiment hat jeweils geendet, wenn die unbehandelte Kontrollprobe ca. 80 % Konfluenz erreicht hat. Die gewonnenen Konfluenzdaten wurden graphisch als Wachstumskurven dargestellt und mit unbehandelten Kontrollzellen verglichen. Die Auswertung der Daten erfolgte über das Programm Excel. Abweichungen in den Wachstumskurven, insbesondere ein verminderter Anstieg der Konfluenz wurden als Hinweis auf eine wachstumshemmende Wirkung der eingesetzten Naturstoffe interpretiert. Die *in vitro*-Methoden, mithilfe derer die Effekte von ausgewählten Naturstoffen untersucht wurden, sind vereinfachte- Modellsysteme, mit denen unter kontrollierten Bedingungen erste Hinweise auf das Potential einzelner Wirkstoffe und ihrer grundlegenden Aktivitäten gesammelt werden können. Weitere Studien sind in der Regel nötig, um die in dieser Arbeit aufgestellten Hypothesen zu einzelnen Verbindungen zu bestätigen. In dieser Arbeit lag der Fokus auf der Frage, ob sich ein Zusammenhang zwischen der chemischen Substanzklassen und den beobachteten Effekten im *in vitro* Modell herstellen lässt.

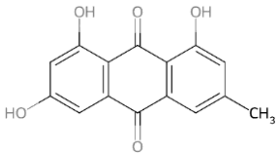
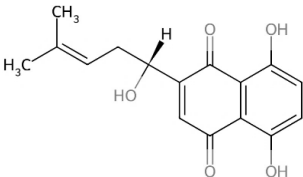
Im Verlauf der durchgeführten Untersuchungen zeigte sich, dass nicht ausschließlich die Zugehörigkeit zu einer chemischen Gruppe bestimmt, ob ein Naturstoff die Zellproliferation beeinflusst, sondern auch weitere Faktoren sind relevant, wie beispielsweise das Vorliegen unterschiedlicher isomerer Formen einer Substanz oder der Vergleich der Wirkung einzelner Substanzen gegenüber Mischungen verschiedener Verbindungen, wie es typisch für Naturstoffe bzw. Extrakte aus Arzneipflanzen ist. Aufgrund der begrenzten Anzahl an Substanzen, die die jeweiligen chemischen Gruppen repräsentieren, konnten jedoch keine klaren Schlussfolgerungen hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen der chemischen Gruppenzugehörigkeit und dem Einfluss auf die Zellproliferation gezogen werden. Erweiterte Untersuchungen mit einer größeren Anzahl an Substanzen pro Substanzklasse könnten künftig dazu beitragen, derartige Zusammenhänge zu identifizieren und die Grundlage für den Aufbau von Datenbanken zu schaffen, die perspektivisch bei der Entwicklung neuer Arzneistoffe Anwendung finden können.

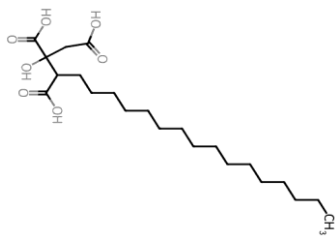
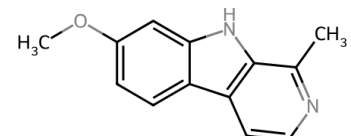
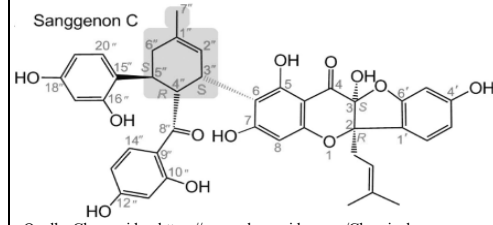
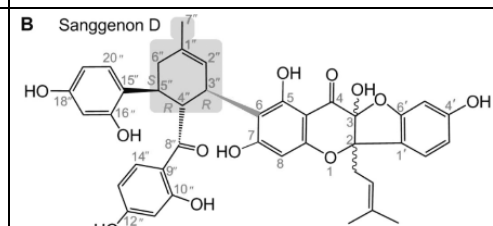
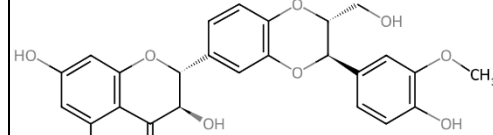
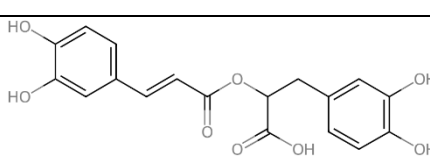
5 Ergebnisse und Diskussion

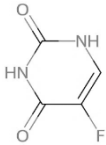
5.1 Auswahl der Substanzen und Lösungsmittel

Das Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Naturstoffen aus verschiedenen chemischen Klassen, die potenziell das Zellwachstum modulieren können. Die Auswahl basierte auf einer umfassenden Literaturrecherche. Der Fokus lag auf Substanzen, für die bereits eine Hemmung des Krebszellwachstums berichtet wurde. Dabei wurde darauf geachtet, dass sie unterschiedlichen chemischen Verbindungsklassen angehören und somit eine breite strukturelle Vielfalt repräsentieren. Zusätzlich wurden Verbindungen priorisiert, die bereits im Labor vorhanden waren (Sammlung von Naturstoffen und Isolaten in der Gruppe von Prof. Judith Rollinger, Division für Pharmakognosie). Aufgrund zeitlicher Einschränkung war es leider nicht möglich, eine umfassende und repräsentative Probe aller chemischen Gruppen unter den Naturstoffen zu untersuchen. Für diese Studie wurden neun naturstoffbasierte Testverbindungen aus den folgenden Substanzklassen ausgewählt: Pyrimidin-Analoga, Anthranoide, Chinone, Fettsäuren, Flavonoide, Alkaloide, Flavonolignane, Phenylpropanoide. Eine detaillierte Übersicht der untersuchten Substanzen sowie eine grafische Darstellung ihrer chemischen Strukturen sind in Tabelle 3 dargestellt. Zusätzlich wurde der synthetische Wirkstoff 5-Fluorouracil als Positivkontrolle verwendet, da es zu diesem Wirkstoff bereits eine Vielzahl an Daten zur Hemmung des Krebszellwachstums gibt. Die Substanz bereits im Labor getestet wurde und die wirksamen Konzentrationen bekannt waren.

Tabelle 3 Übersicht der ausgewählten Testsubstanzen

Name	Substanzklasse	Chemische Struktur
Emodin	Anthranoid	 Quelle: Chemspider, www.chemspider.com/Chemical-Structure.3107.html, abgerufen am 21.12.25¹⁵
Shikonin	Chinone	 Quelle: Chemspider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.420739.html, abgerufen am 21.12.25¹⁴

Agaricinsäure	Fettsäure	 Quelle: Chempider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.12108.html, abgerufen am 21.12.25¹⁷
Harmin	Alkaloid	 Quelle: Chempider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444445.html, abgerufen am 21.12.25¹²
Sanggenon C	Flavonoid	 Quelle: Chempider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.23267362.html, abgerufen am 21.12.25¹⁸
Sanggenon D	Flavonoid	 Quelle: Chempider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.24534163.html, abgerufen am 21.12.25⁷⁸
Silibinin	Flavonolignan	 Quelle: Chempider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.29263.html, abgerufen am 21.12.25¹⁶
Silymarin	Flavonolignane	Silymarin ist eine Mischung aus verschiedenen Flavonolignanen wie Silybin, Isosilybin, Silychristin und Silydianin, die zusammen die aktive Substanz in Mariendistel-Extrakten bilden⁷⁹
Rosmarinsäure	Phenylpropanoid (Zimtsäure-Derivat)	 Quelle: Chempider, https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.29263.html, abgerufen am 11.01.26

5-Fluorouracil	Pyrimidin-Analogon	 Quelle: Chemspider, www.chemspider.com/Chemical-Structure.3268.html, abgerufen am 21.12.25⁸⁰
----------------	--------------------	---

Als Lösungsmittel für die analysierten Substanzen wurde Dimethylsulfoxid (DMSO) verwendet. DMSO ist sowohl mit Wasser als auch mit organischem Lösungsmittel mischbar, fördert das Eindringen der gelösten Substanzen in die Zellmembran und dadurch die Aufnahme in die Zelle. Die toxischen Effekte der Lösungsmittel selbst können Artefakte erzeugen, die die Interpretationen von Versuchsergebnissen erschweren. DMSO kann beispielsweise konzentrationsabhängig toxisch auf die kultivierten Zellen wirken und hat die Fähigkeit, an verschiedene Proteine im Zytoplasma oder Zellkern zu binden und deren Funktionen direkt durch chemische und physikalische Wechselwirkung zu modulieren⁸¹. Um fehlerhafte Ergebnisinterpretationen zu vermeiden, wurde eine Kontroll-Zellkultur (Negativ-kontrolle) mit der maximalen im Experiment auftretenden DMSO-Konzentration mitgetestet, um den Einfluss auf die Zellkonfluenz zu erfassen und bei der Interpretation zu berücksichtigen. Die nachstehende Abbildung 6 veranschaulicht den unterschiedlichen Einfluss auf die zelluläre Konfluenz bzw. das Zellwachstum in Abhängigkeit der DMSO-Konzentration.

Nach einer Inkubationszeit von 66 Stunden erreichen die Zellen der Medium-Kontrolle eine Konfluenz von 90%. Die Behandlung mit den Konzentrationen 0,05%, 0,1% und 1% DMSO führte zu Konfluenzwerten von 81%, 78% bzw. 82% im Vergleich zur Medium-Kontrolle. Damit wurde gezeigt, dass DMSO in den hier verwendeten Konzentrationen keinen nennenswerten Einfluss auf das Zellwachstum ausübt.

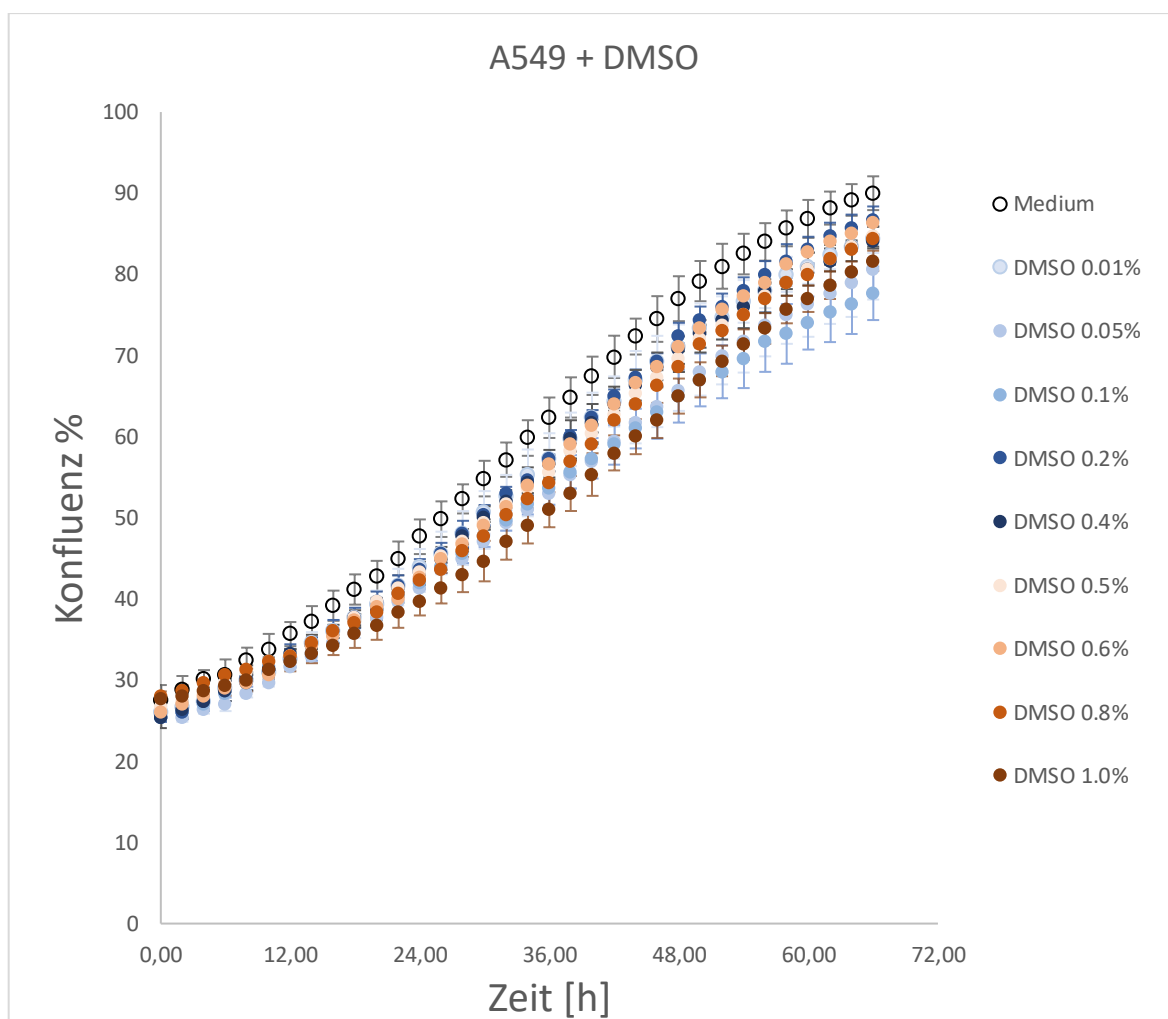


Abbildung 6 Zellwachstumskurve der A549-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von DMSO, aufgenommen mittels automatisierter Hellfeld-Mikroskopie in einem TECAN Spark Cyto Plattenleser

5.2 5-Fluorouracil

5-Fluorouracil (5-FU, Abbildung 7⁸⁰) ist ein synthetisches Analogon des natürlich vorkommenden Pyrimidins-Uracil. Es wird über die gleichen Stoffwechselwege wie Uracil verstoffwechselt⁸². In der Medizin wird es als Chemotherapeutikum mit breitem Wirkspektrum vor allem gegen Magenkrebs angewandt^{83,84}. Inzwischen wurden viele Optimierungsstrategien entwickelt um die Verbindung pharmakologisch noch aktiver zu machen^{84,85}. Im Zuge dieser Arbeit wurde 5-Fluorouracil aufgrund der bewiesenen Inhibition des Krebszellwachstum als Positivkontrolle verwendet, d.h. als Vergleich, wie die Daten im Fall einer tatsächlichen Hemmung des Zellwachstums aussehen.

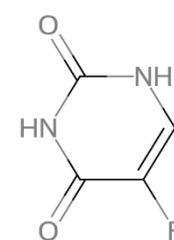


Abbildung 7
Chemische Struktur
von 5-FU

Quelle: Chemspider,
www.chemspider.com/Chemical-Structure.3268.html,
abgerufen am 21.12.25

5-Fluorouracil wurde eingangs in vier verschiedenen Konzentrationen getestet, um deren Einfluss auf das Zellwachstum zu analysieren (Abbildung 8).

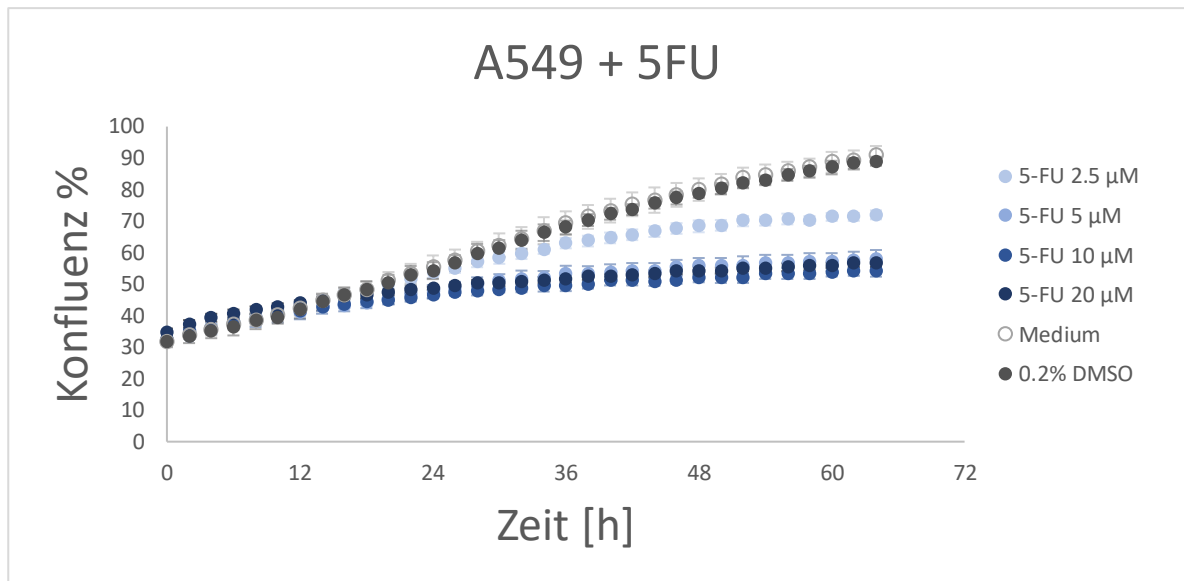


Abbildung 8 Wachstumskurven der A549-Zellen nach Behandlung mit vier unterschiedlichen Konzentrationen von 5-Fluorouracil.

Nach einer 64-stündigen Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen von 5-Fluorouracil (2,5-20 µM) zeigte sich eine dosisabhängige Hemmung des Zellwachstums. Bereits bei einer Konzentration von 2,5 µM führte 5-Fluorouracil zu einer Reduktion der Zellkonfluenz um 19% im Vergleich zur Medium-Kontrolle. Ausgeprägtere Effekte wurden bei höheren Konzentrationen beobachtet: im Bereich von 5 bis 20 µM nahm die Konfluenz um etwa 33% bis 37% ab. Die dargestellte Kurve verläuft nahezu horizontal, was auf eine ausbleibende Zunahme der Zellzahl infolge nahezu totaler Hemmung des Zellwachstums schließen lässt.

5.3 Anthranoide (Emodin)

Zu den pharmazeutisch bedeutungsvollen Anthrachinonen gehört Emodin, das erstmals 1925 isoliert wurde (siehe Abbildung 9)¹⁵. 1,3,8-Trihydroxy-6-Methylantrachinon (Emodin) besteht aus einem Anthracen-Ring (trizyklisch aromatisch) mit zwei Ketogruppen in C9- und C10-Position⁸⁶.

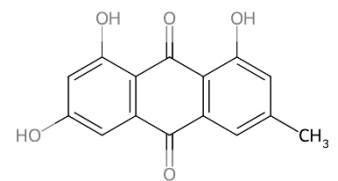


Abbildung 9 Chemische Struktur von Emodin

Die Hauptquellen des Emodins sind Pflanzen der Familie Fabacea, Polygonacea und Rhamnacea. Es wird sowohl in vegetativen Organen als auch in Fortpflanzungsorganen produziert. In Pflanzen spielt es eine Rolle

Quelle: Chempider, www.chemspider.com/Chemical-Structure.3107.html, abgerufen am 21.12.25

beim Schutz vor abiotischen Belastungen, zur Abschreckung von Fressfeinden und als antimikrobielles Mittel gegen Pflanzenerreger. In hohen Konzentrationen findet es Verwendung als Repellent gegen Insekten und Krankheitserreger. In der Medizin wurde Emodin in erster Linie als Abführmittel verwendet⁸⁶. Für seine laxierende Wirkung ist die Hydroxylierung an Position 1 und 8 (1,8-Dihydroxyanthron) verantwortlich, wodurch die Peristaltik angeregt wird⁸⁷. Viele frühere

Studien haben gezeigt, dass Emodin auch eine antioxidative, entzündungshemmende^{88,89}, neuroprotektive⁹⁰, antikanzerogene^{91–94}, antidiabetische⁸⁸ und immunsuppressive⁹⁵ Wirkung hat. Emodin hemmt auch die Zellproliferation, induziert die Apoptose und verstärkt reaktive Sauerstoffspezies²⁵.

Es wurden vier verschiedene Konzentrationen von Emodin hergestellt und für jede Konzentration die jeweiligen Änderungen im Zellwachstum ermittelt (Abbildung 10).

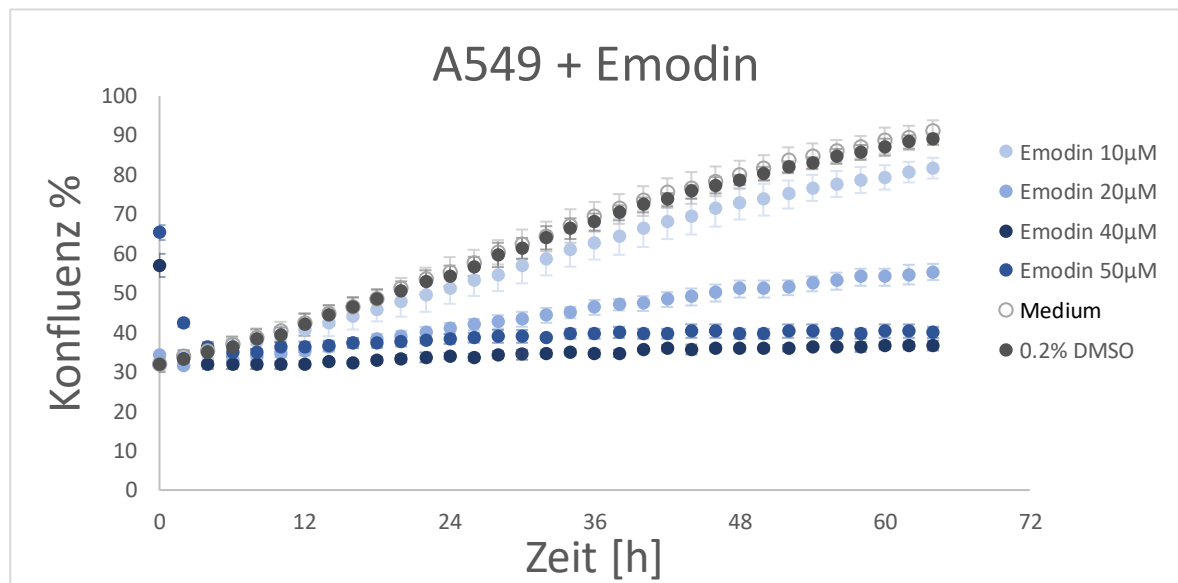


Abbildung 10 Zellwachstumskurve der A549-Zellen unter Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von Emodin.

Nach 64 Stunden Inkubationszeit führte Emodin zu einer dosisabhängigen Hemmung des Zellwachstums. Bereits bei einer Konzentration von 10 µM war im Vergleich zur Medium-Kontrolle eine Verlangsamung des Wachstums zu beobachten. Während unbehandelte Zellen sowie DMSO-behandelte Kulturen Konfluenzwerte von 91% bzw 89% erreichen, sankt die Konfluenz nach Behandlung mit 10 µM Emodin auf 82%. Eine deutliche Wachstumsverlangsamung zeigte sich bei 20 µM Emodin, wobei die Zellkonfluenz nur 60% der Konfluenz der Medium-Kontrolle erreichte. Bei Konzentrationen von 40 µM und 50 µM war kein weiterer Anstieg der Konfluenz zu beobachten, was auf eine vollständige Hemmung des Zellwachstums durch Emodin hindeutet.

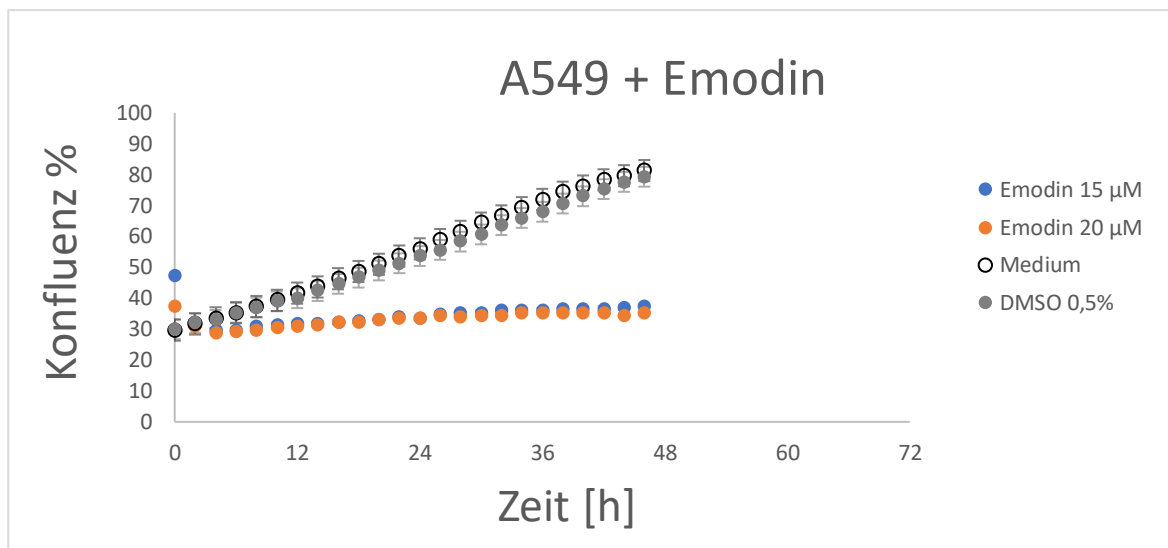


Abbildung 11 Zellwachstumskurve der A549- Zellen bei optimierten Emodin-Konzentrationen.

Zur Bestätigung der Ergebnisse des ersten Experiments, wurde ein weiteres Experiment mit zwei Konzentrationen: 15 µM und 20 µM durchgeführt (siehe Abbildung 11). Nach einer Inkubationsdauer von 46 Stunden zeigte sich bei 15 µM Emodin eine Verringerung der Zellkonfluenz um 44% im Vergleich zu Medium, während bei 20 µM eine Reduktion von 46% festgestellt wurde. Im Gegensatz dazu erreichen unbehandelte Zellen im Medium eine Konfluenz von 81%. In beiden Emodin-behandelten Ansätzen verliefen die Wachstumskurven frühzeitig plateauartig, was auf eine über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg unterdrückte Zellproliferation schließen lässt. Allerdings weichen diese Ergebnisse teilweise von den im ersten Experiment beobachteten Effekten ab.

5.4 Chinone (Shikonin)

Shikonin (5,8-dihydroxy-2-((1S)-1-Hydroxy-4-Methylpent-3-en-1-yl)naphtalene-1,4-Dione) ist eine natürliche Naphthoquinon- Verbindung (siehe Abbildung 12)¹⁴. Die Substanz wird unter anderen aus den Wurzeln von *Lithospermum Erythrorhizon* isoliert⁹⁶. Darüber hinaus kommt sie auch in Wurzeln der Familie Boraginaceae vor. In der traditionellen chinesischen Medizin wurde es aufgrund seiner entzündungshemmenden und wundheilenden Wirkung verwendet⁹⁶. Neue Studien beweisen, dass es das Wachstum von vielen menschlichen Krebszelllinien hemmt⁹⁷.

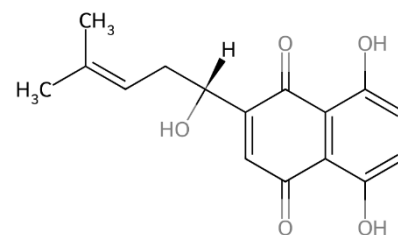


Abbildung 12 Chemische Struktur von Shikonin

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.420739.html>, abgerufen am 21.12.25

Für dieses Experiment wurden acht verschiedene Konzentrationen von Shikonin hergestellt, und deren Einfluss auf Zellwachstum von A549 Zellen untersucht. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 13 dargestellt.

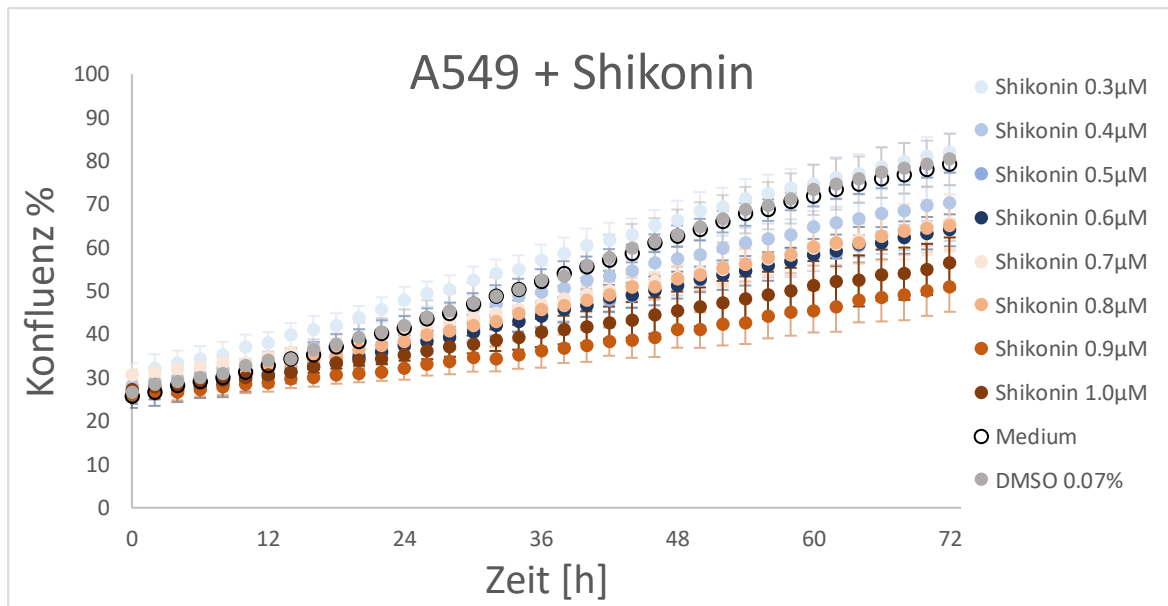


Abbildung 13 Einfluss mehrerer Shikonin-Konzentrationen auf die Proliferation der A549-Zellen.

Im 72-stündigen Experiment mit Shikonin betrug die Zellkonfluenz in der Kontrollgruppe (Medium) am Ende des Experiments 79%. Shikonin-Konzentrationen im Bereich von 0,3 µM bis 0,8 µM führten zu einer Reduktion der Konfluenz auf etwa 65%. Bei höheren Konzentrationen von 0,9 µM bzw. 1 µM wurde eine weitere Abnahme der Zellkonfluenz auf 51% bzw. 56% beobachtet. Die in diesem Experiment als Lösungsmittel für Shikonin verwendeten DMSO-Konzentrationen (0,04-0,1%) beeinflussten das Zellwachstum nicht. Kontrollprobe mit 0,07% DMSO zeigte keine verminderte Zellkonfluenz gegenüber der Medium-Kontrolle.

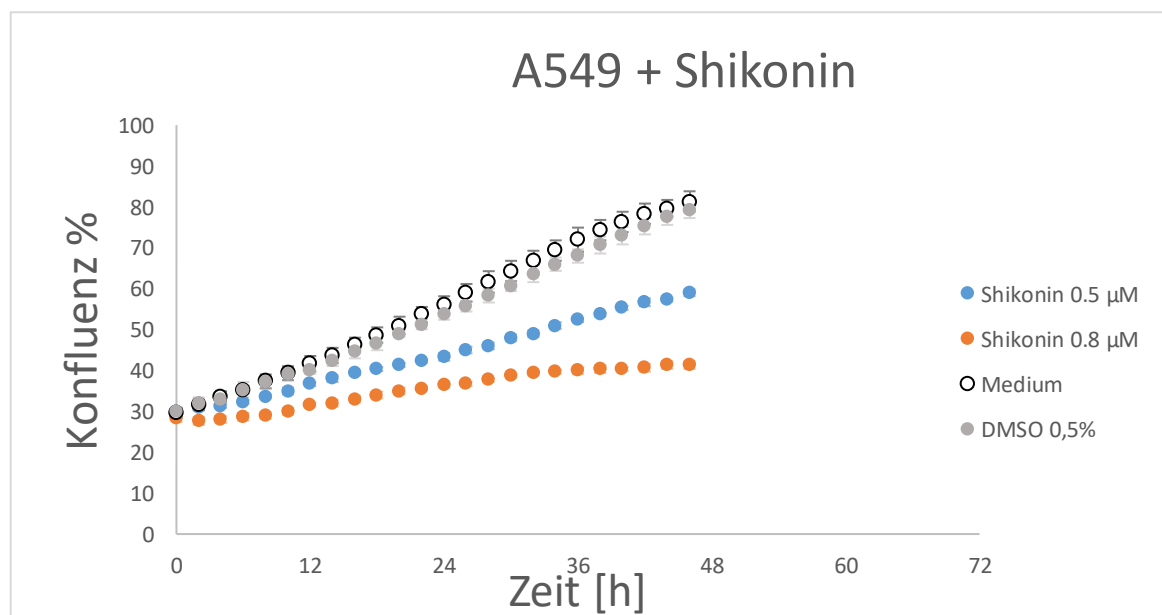


Abbildung 14 Zellwachstumskurve von A549-Zellen bei optimierten Konzentrationen an Shikonin.

Um die im ersten Shikonin-Experiment beobachteten Effekte zu bestätigen, wurde der Versuch mit zwei Shikonin-Konzentrationen (0,5 μM und 0,8 μM) sowie mit 0,5% DMSO wiederholt (siehe Abbildung 14). Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden betrug die Zellkonfluenz bei 0,5 μM und 0,8 μM Shikonin 64 und 41%, verglichen mit 81% in der Medium-Kontrolle. Dieses Experiment bestätigte somit die zuvor beobachteten Effekte. Die in diesem Experiment zur Herstellung der Shikonin-Konzentrationen von 0,5 und 0,8 μM eingesetzte DMSO-Konzentration lag im Bereich von 0,008-0,016%. Als Kontrolle für etwaige Effekte von DMSO wurden Zellen mit 0,5% DMSO behandelt, was lediglich zu einer geringfügigen Hemmung des Zellwachstums von 2% führte. Die Wahl von 0,5% DMSO als Negativkontrolle basiert darauf, dass dies die maximal in den Versuchsansätzen vorkommende DMSO-Konzentration dargestellt (bei 23 μM Harmin in parallelen Experimenten).

5.5 Fettsäure (Agaricinsäure)

Agaricinsäure ist eine Tricarbonsäure, die aus verschiedenen *Polyporus officinalis* und *Polyporus igniarius* gewonnen wird⁹⁸. 2-Hydroxynonadecan-1,2,3-tricarbonsäure, früher auch Laricin, Agaricin oder Blätterpilzsäure genannt, besitzt polare Hydroxylgruppen und unpolare aliphatische Ketten (Abbildung 15¹⁷). Agaricinsäure wurde früher als schweißhemmendes Mittel bei Tuberkulosepatienten verwendet^{99,100}. In Dosen von 5 bis 15 Gramm führt es bei Menschen zum Erbrechen⁹⁸. Es gibt Studien, die zeigen, dass die Substanz die mitochondriale Permeabilität beeinflusst und dadurch den Abfluss von angesammeltem Ca^{2+} fördert⁹⁸. Dies ist mit einem Verlust des mitochondrialen

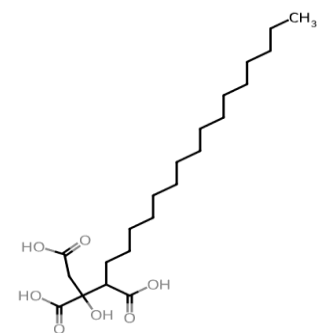


Abbildung 15 Chemische Struktur von Agaricinsäure

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.12108.html>, aufgerufen am 21.12.25

Transmembranpotentials und einem osmotischen Anschwellen der Mitochondrien verbunden, was auf die Öffnung der Permeabilitätspore hinweist. Agaricinsäure fördert auch die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und die Oxidation ungesättigter Fettsäuren und beeinträchtigt dadurch die mitochondriale Funktion.

Die Untersuchung mit sieben unterschiedlichen Konzentrationen von Agaricinsäure zeigte eine konzentrationsabhängige Wirkung auf das Zellwachstum. Die entsprechenden Resultate sind in Abbildung 16 dargestellt.

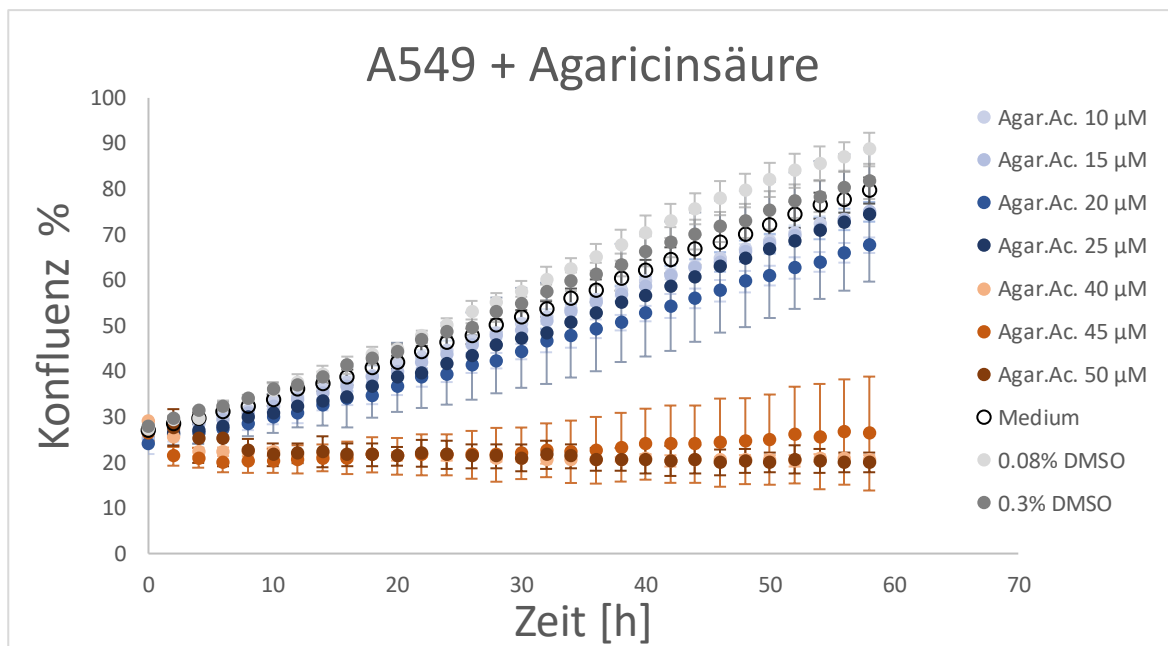


Abbildung 16 Zellwachstum von A549-Zellen bei verschiedenen Konzentrationen von Agaricinsäure

Agaricinsäure zeigte in den Konzentrationen von 10 µM und 25 µM nur eine schwach hemmende Wirkung auf das Zellwachstum, wobei eine Zellkonfluenz von etwa 74% erreicht wurde (Abbildung 16). Im Vergleich dazu ergab die Inkubation der Zellen im Medium nach 58 Stunden eine Konfluenz von 80%. Eine stärkere hemmende Wirkung wurde bei einer Konzentration von 20 µM beobachtet; aufgrund der hohen Variabilität der Messwerte ist die Aussagekraft dieser Ergebnisse jedoch eingeschränkt. Vergleichbares gilt für die Behandlung mit 45 µM Agaricinsäure. Obwohl aus der Darstellung hervorgeht, dass diese Konzentration zu einer nahezu vollständigen Hemmung des Zellwachstums führte (Konfluenz ca. 26%), schränkt die große Streuung der Messwerte die Belastbarkeit der Daten deutlich ein. Eine Behandlung mit 50 µM Agaricinsäure führte zu einer Abnahme der Zellkonfluenz, was auf ein mögliches Absterben der Zellen hindeuten kann.

5.6 Alkaloid (Harmin)

Das Alkaloid Harmin (7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol, Abbildung 17¹²⁾ eines der am besten untersuchten β-Carbolin-Alkaloide¹⁰¹ und verfügt über eine Indolstruktur und einen Pyridinring. Harmin kommt in zahlreichen Pflanzen vor wie z.B. *Peganum harmala* L. Diese Heilpflanzen wurden früher vor allem auf grund ihrer psychoaktiven Wirkung verwendet, wobei Harmalin und verwandte β-Carbolin-Alkaloide dafür verantwortlich sind¹⁰¹. β-Carboline binden leicht an Benzodiazepin-, Imidazolin-Serotonin- und Opiatrezeptoren und sind bekannt als MAO-Hemmer. Harmin zeigt laut verschiedenen Studien ein

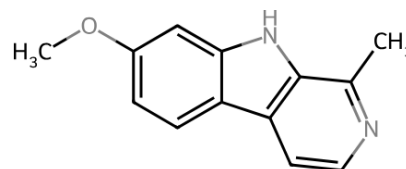


Abbildung 17 Chemische Struktur von Harmin

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure/4444445.html>, aufgerufen am 21.12.25

breites pharmakologisches Wirkungsspektrum mit fungiziden, bakteriziden, antitumoralen und antidepressiven Eigenschaften¹⁰². Insbesondere wirkt Harmin auch dosisabhängig auf die Migration und Invasion von Brustkrebszellen¹⁰³.

Zur Untersuchung der dosisabhängigen Effekte auf das Wachstum von A549-Zellen wurden acht Konzentrationen (3-24 μM) getestet. Die resultierenden Wachstumseffekte sind in Abbildung 18 dargestellt.

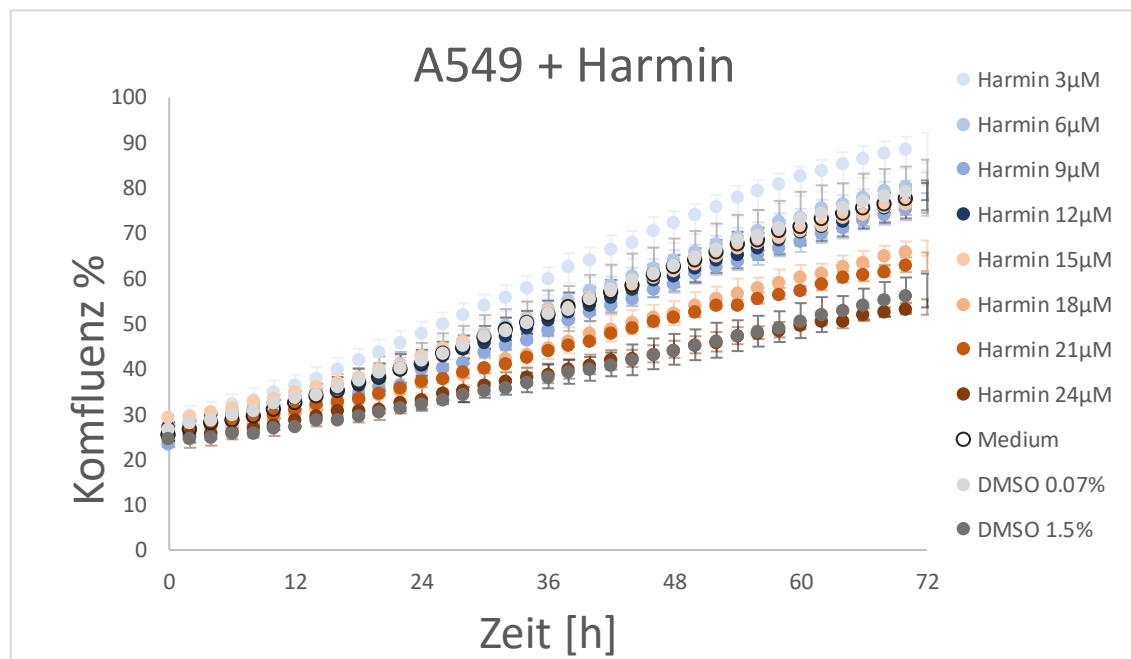


Abbildung 18 Darstellung der Wachstumskurven der A549-Zellen nach Behandlung mit verschiedenen Konzentrationen von Harmin.

Während der 70-stündigen Inkubation erreichten die Zellen in Medium eine Konfluenz von 78%. Die Zugabe von niedrigen Konzentrationen von Harmin von 3 μM und 6 μM führten zu einer leichten Steigerung des Zellwachstums bis um 11% im Vergleich zur Medium-Kontrolle. Konzentrationen zwischen 9 μM und 15 μM führten zu geringer Wachstumshemmung und reduzierten die Konfluenz um bis zu 4%. Konzentrationen zwischen 18 μM und 24 μM reduzierten die Konfluenz um 13-26% im Vergleich zur Medium-Kontrolle. Die Wachstumskurven zeigten kein Plateau, was auf eine kontinuierliche Hemmung der Zellproliferation während des gesamten Beobachtungszeitraums hinweist.

5.7 Flavonoide (Sanggenon C, Sanggenon D)

Sanggenon C und Sanggenon D sind in der Wurzelrinde der weißen Maulbeere *Morus alba* vorkommende prenylierte Flavonoide. Die Maulbeere wurde in der chinesischen Medizin aufgrund ihrer entzündungshemmenden, antioxidativen und antitumoralen Wirkung angewendet^{104,105}. Sie tragen mehrere OH-Gruppen, die höchstwahrscheinlich für deren antioxidative Wirkung verantwortlich sind. Beide Verbindungen gehören zur Gruppe der Diels-Alder-Addukte¹⁰⁶ unterscheiden sich jedoch aus stereochemischer Sicht voneinander. Sanggenon C (Abbildung 20¹⁸) trägt eine (2R,3S,3''S)-Konfiguration, während Sanggenon D (Abbildung 19⁷⁸) durch eine (3''R,-)Konfiguration charakterisiert ist¹⁰⁷. Eine Studie aus dem Jahr 2018 zeigt, dass

sterische Effekte zu unterschiedlichen antioxidativen und zytoprotektiven Wirkungen führen können^{107,108}. Eine aktuelle Untersuchung zu Sanggenon C demonstriert dessen signifikante Wirkung auf Melanomzellen, gekennzeichnet durch reduzierte Proliferation und Induktion der Apoptose¹⁰⁹. Darüber hinaus hemmt die Substanz Proteasen, wodurch die Lebensfähigkeit von Tumorzellen verringert wird¹¹⁰. Zusätzlich unterdrückt Sanggenon C die Produktion bakterieller Nitroreduktasen, was die Bildung mutagenen Metaboliten im Dickdarm reduziert¹¹¹. Für beide Isomere wurden gleiche Konzentrationen hergestellt und die Wirkung auf A549-Zellen überprüft. Abbildungen 23 und 24 veranschaulichen die erzielten Ergebnisse.

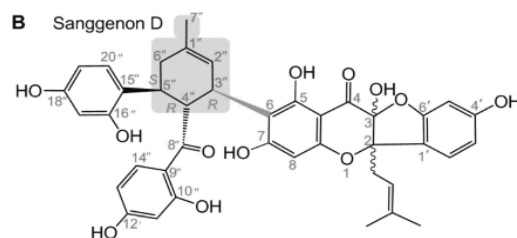


Abbildung 18 Chemische Struktur von Sanggenon D

Quelle: Chempider <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.24534163.html>, aufgerufen am 21.12.25

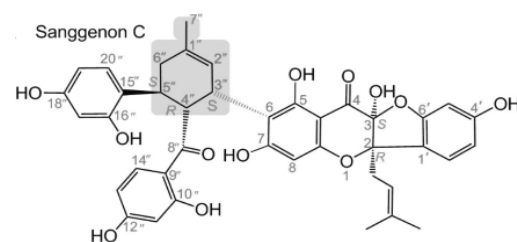


Abbildung 17 Chemische Struktur von Sanggenon C

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.23267362.html>, aufgerufen am 21.12.25

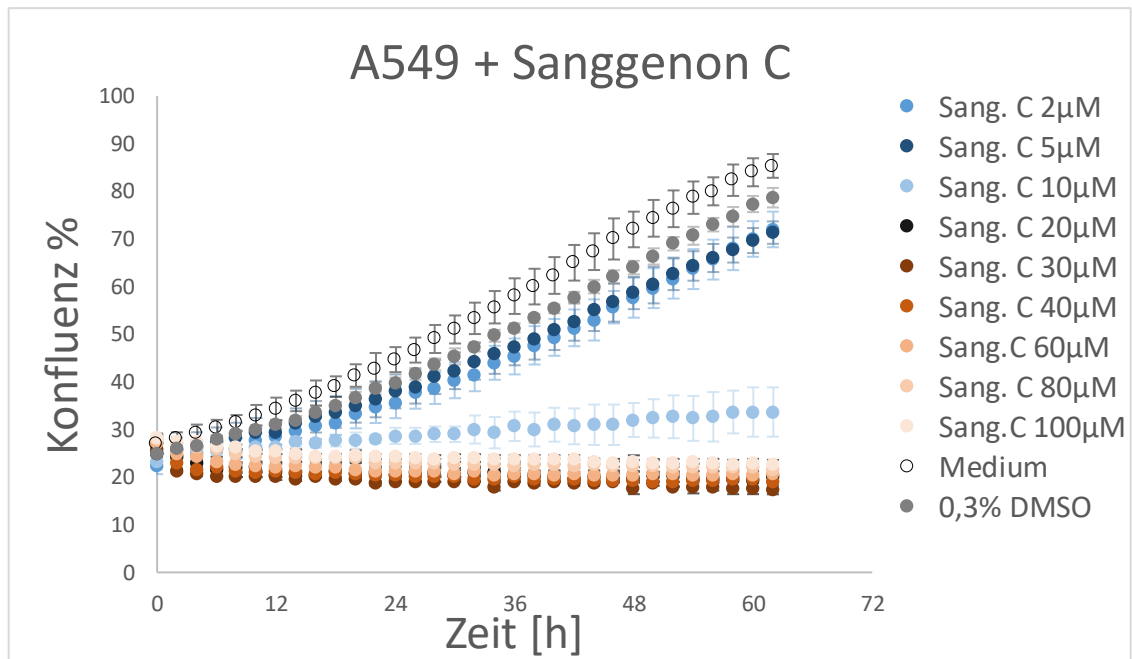


Abbildung 19 Einfluss unterschiedlicher Sanggenon C-Konzentrationen auf die Proliferation der A549-Zelle

Das Experiment erstreckte sich über 62 Stunden. Nach der Inkubation zeigte die Medium-Zellkontrolle eine Konfluenz von 85% (Abbildung 21). Bei Sanggenon C-Konzentrationen von 2 und 5 μM ließ sich eine Reduktion der Konfluenz um etwa 14% im Vergleich zu Medium-Kontrolle feststellen. Eine moderate Erhöhung der Konzentration auf 10 μM führte bereits zu einer deutlich stärkeren Reduktion der Konfluenz von 34%. Im Konzentrationsbereich von 20 bis 100 μM zeigte sich unmittelbar nach der Zugabe von Sanggenon C keine Zunahme der Konfluenz mehr, was auf eine vollständige Unterdrückung der Zellproliferation hinweist. Darüber hinaus kam es zu einem leichten Rückgang der Konfluenz um bis zu 6%, was möglicherweise auf das Absterben einzelner Zellen und deren Ablösung von der Zellkulturplatte zurückzuführen ist.

Da bereits eine moderate Erhöhung der Konzentration von Sanggenon C einen deutlichen Einfluss auf das Zellwachstum zeigte (Konfluenz 71% bei 5 μM gegenüber 34% bei 10 μM), wurde beschlossen, das Experiment mit zusätzlichen Konzentrationen zu wiederholen. Ziel dieses Folgeexperiments war die Bestätigung der zuvor erhaltenen Ergebnisse sowie die genauere Eingrenzung einer Sanggenon C-Konzentration, die das Zellwachstum um etwa 50% hemmt. Zu diesem Zweck wurden zwei Konzentrationen von 5 μM und 7 μM untersucht (siehe Abbildung 22).

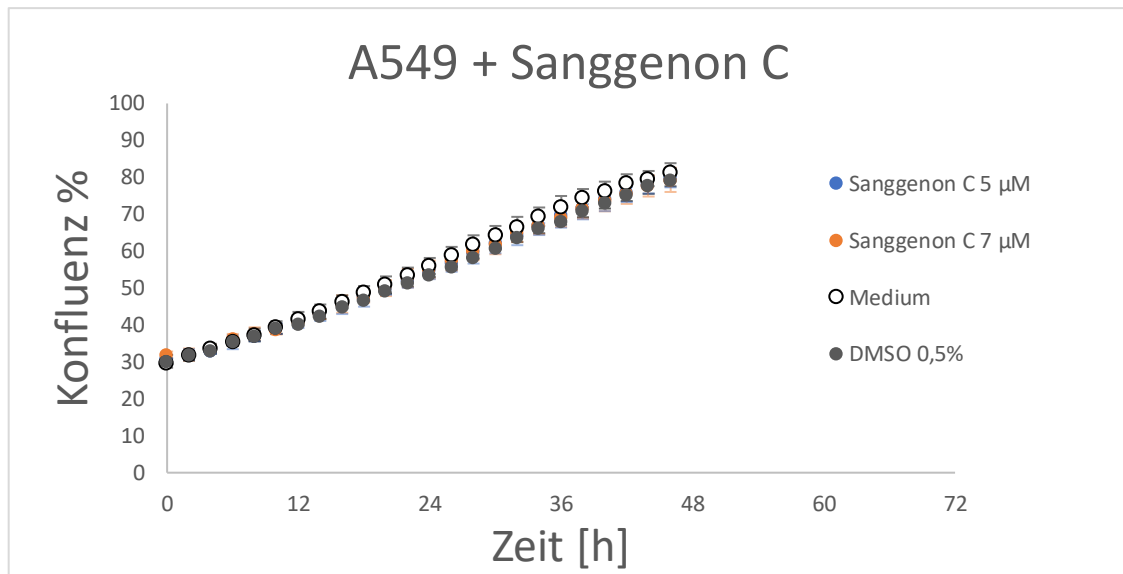


Abbildung 20 Zellkonfluenz von zwei Konzentrationen von Sanggenon C

Nach einer Inkubationsdauer von 46 Stunden erreichte die Zellkultur im Kontrollmedium eine Konfluenz von 81%. In Anwesenheit von 5 und 7 µM Sanggenon C konnte keine Veränderung der Zellkonfluenz im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden (Abbildung 22), die Ergebnisse des ersten Experiments konnten also nicht reproduziert werden. Eine mögliche Ursache hierfür ist eine Ungenauigkeit bei Herstellung der niedrigen Sanggenon C-Konzentrationen. Die Herstellung dieser Konzentrationen erforderte das Pipettieren sehr kleiner Volumina, was die Genauigkeit der Verdünnungen potenziell beeinträchtigt haben könnte.

Wie bereits zuvor beschrieben, unterscheiden sich Sanggenon C und Sanggenon D ausschließlich in ihrer Konfiguration an einer Position (siehe Abbildung 19 und 20). Um zu untersuchen, ob und in welches Ausmaß dieser strukturelle Unterschied einen Einfluss auf die Zellkonfluenz hat, wurde parallel ein Experiment mit Sanggenon D durchgeführt. Dieses Experiment erfolgte unter identischen Bedingungen wie für Sanggenon C, einschließlich gleicher Konzentrationen und Inkubationszeit.

Die Zellkonfluenz von Zellen, die mit Sanggenon D-Konzentrationen von 2-10 µM kultiviert wurden, erreichte etwa 77%, während die Zell Konfluenz der Zellen im Medium bei 85% lag (Abbildung 23). Bei einer Konzentration von 20 µM zeigte sich eine Abnahme der Zellkonfluenz um 18,9% im Vergleich zur Medium-Kontrolle. Aufgrund der hohen Streuung der Messwerte ist die Aussagekraft dieser beobachteten Unterschiede jedoch eingeschränkt. Bei Sanggenon D-Konzentrationen von 40-80 µM wurde unmittelbar nach der Zugabe keine weitere Zunahme der Zellkonfluenz mehr beobachtet, was auf eine vollständige Unterdrückung der Zellproliferation hindeutet. Insgesamt deuten die mit Sanggenon D erhaltenen Ergebnisse auf eine schwächere hemmende Wirkung im Vergleich zu Sanggenon C hin. So führte eine Konzentration von 10 µM Sanggenon C zu einer Reduktion der Zellkonfluenz um 34% im Vergleich zur Medium-Kontrolle, während dieselbe Konzentration von Sanggenon D lediglich eine Abnahme von 8% bewirkte.

Etwaige Effekte des verwendeten Lösungsmittel DMSO wurden durch eine Kontrollprobe mit 0,3% DMSO getestet. Obwohl die zur Herstellung der unterschiedlichen Sanggenon C- und Sanggenon D-Konzentrationen erforderlichen DMSO-Konzentrationen wesentlich geringer waren (Endkonzentration im Zellkultur-Medium 0,02% und 0,07%), deutet die sehr geringe Wirkung der viel höheren DMSO-Konzentration darauf hin, dass der Einfluss des Lösungsmittels bei der Interpretation der Ergebnisse vernachlässigt werden kann.

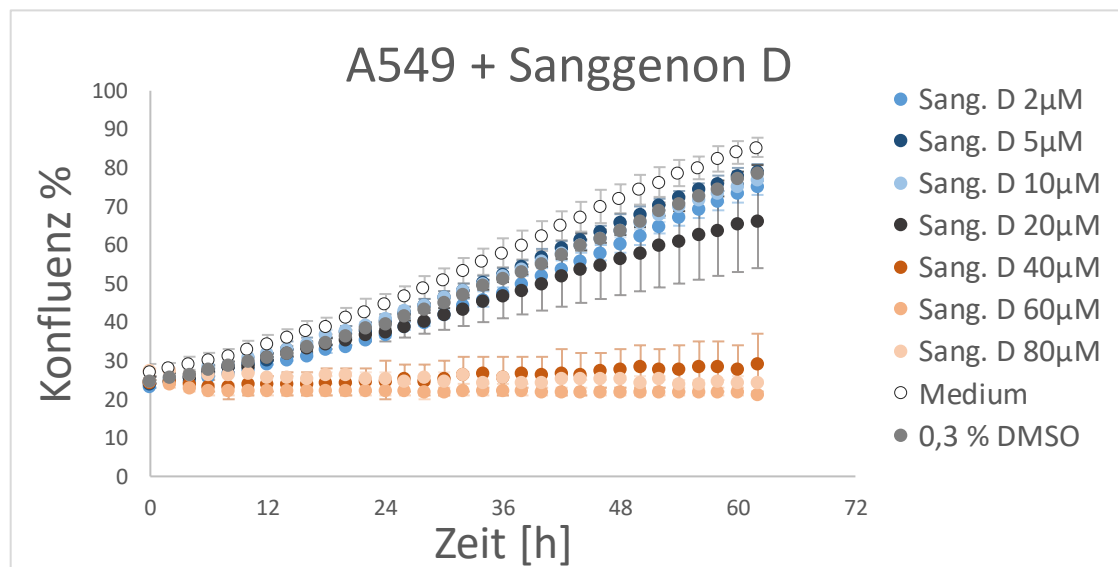


Abbildung 21 Zellwachstumskurven der A549-Zellen nach Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von Sanggenon D

Aufgrund der hohen Streuung der Messwerte bei einer Sanggenon D-Konzentration von 20 µM wurde beschlossen, das Experiment zu wiederholen. Zusätzlich wurde eine Konzentration von 30 µM untersucht, um die Sanggenon D-Konzentration, die das Zellwachstum um etwa 50% hemmt, genauer einzugrenzen. Die Zugabe von der Substanz in den untersuchten Konzentrationen (20 µM und 30 µM) führte dabei nicht zu einer Abnahme der Zellkonfluenz um 50% (Abbildung 24). Es wurde eine Abnahme der Konfluenz beobachtet, was auf ein mögliches Absterben der Zellen hindeuten kann. Dieses Folgeexperiment bestätigte die zuvor beobachteten Effekte nicht. Eine mögliche Ursache hierfür könnte z.B. eine Ungenauigkeit bei der Herstellung der Sanggenon D-Konzentrationen oder hohe biologische Variabilität (Passage, Zellzustand, Mikroumgebung sein)

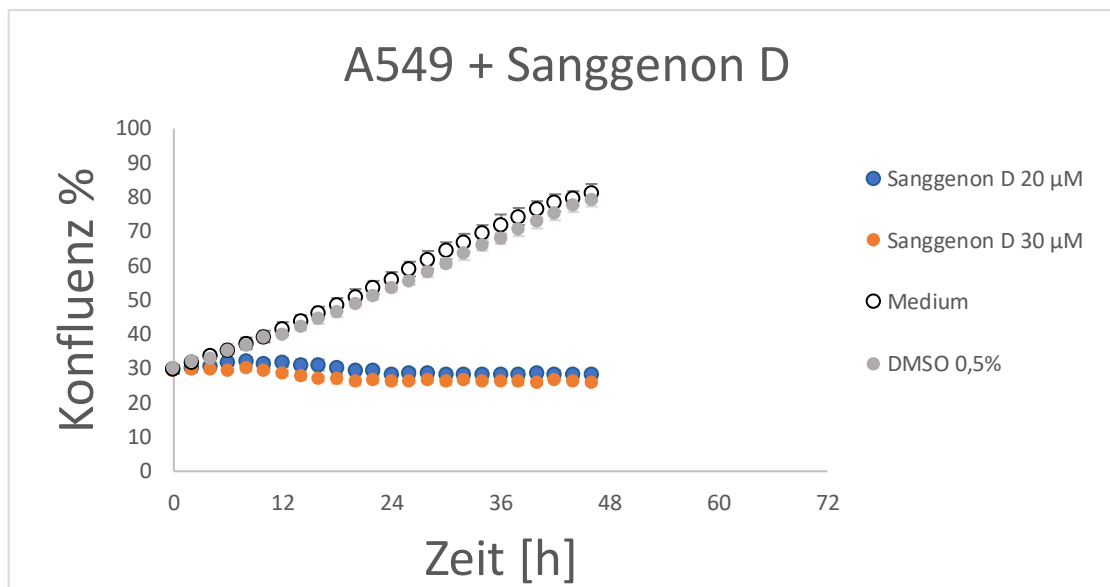


Abbildung 22 Zellwachstumskurve von A549-Zellen nach Behandlung mit zwei Konzentrationen von Sanggenon D

5.8 Flavonolignan (Silibinin)

Silibinin, auch Silybin genannt, kommt natürlich in den Samenfrüchten von *Silybum marianum* vor. Silybin (Abbildung 25¹⁶) ist die am stärksten pharmakologisch aktive Substanz des Silymarin-Komplexes (siehe auch Abschnitt 5.9) und liegt als zwei Diastereomere vor: Silybin A und Silybin B. Sie unterscheiden sich

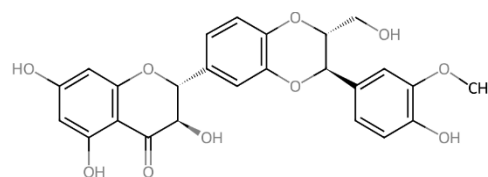


Abbildung 25 Chemische Struktur von Silibinin

Quelle: Chemspider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.29263.html>, aufgerufen am 21.12.25

voneinander durch die Konfiguration am C2- und C3-Atom. Über den medizinischen Nutzen der Mariendistel wurde schon im 4. Jahrhundert v. Chr. berichtet. Silibinin-Extrakte werden zur Behandlung von Leberzirrhose, Hepatitis und Lebervergiftung angewendet¹¹². Ebenso wurde der Stoff im Bereich der Krebstherapie getestet. Eine Studie zeigt, dass das Wachstum von fortgeschrittenen Prostatatumoren gehemmt wird¹¹³. Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit ist die Bioverfügbarkeit und somit die klinische Anwendung jedoch eingeschränkt.

Für das Experiment mit dieser Substanz wurden acht verschiedene Konzentrationen hergestellt, um deren Wirkung auf die Proliferation von Humanzellen zu untersuchen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 26 als Zellwachstumskurve dargestellt.

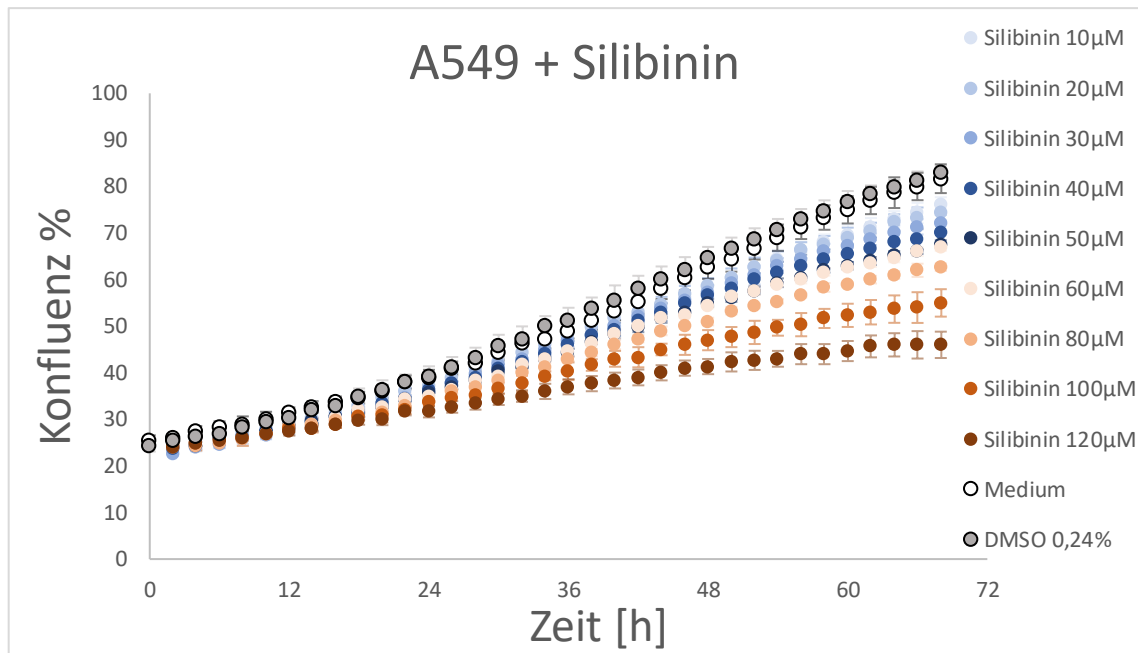


Abbildung 23 Einfluss unterschiedlicher Silibinin-Konzentrationen auf die Proliferation der A549-Zellen

Während der 68-stündigen Inkubation erreichen die Zellen in der Medium-Kontrolle eine Konfluenz von 82%. Silibinin-Konzentrationen im Bereich von 10-40 μM reduzierten das Zellwachstum auf etwa 85% der Konfluenz der Medium-Kontrolle. Im Konzentrationsbereich von 50-80 μM wurde eine Konfluenz von 67-63% beobachtet, was etwa 82-77% der Konfluenz der Kontrollzellen entspricht. Bei höheren Konzentrationen führte Silibinin zu einer weiteren Abnahme der Zellkonfluenz: bei 100 μM wurden 55% Konfluenz erreicht, während bei 120 μM lediglich 46% gemessen wurden, entsprechend 67% bzw. 56% der Medium-Kontrolle. Die Wachstumskurven im Konzentrationsbereich von 10-120 μM zeigten kein Plateau, was auf eine kontinuierliche Hemmung der Zellproliferation über den gesamten Beobachtungszeitraum hindeutet. Die Zugabe von 0,24 % DMSO führte, ähnlich wie in früheren Experimenten, zu einer leichten Erhöhung der Zellbedeckung um 2 %.

Aufgrund der großen Variabilität der Messwerte bei der Silibinin-Konzentration von 100 μM , wurde ein Wiederholungsexperiment durchgeführt, mit dem Ziel zu überprüfen, ob unter identischen Bedingungen vergleichbare Ergebnisse erzielt werden können. Das zweite Experiment wurde mit Silibinin-Konzentrationen von 80 μM und 100 μM durchgeführt.

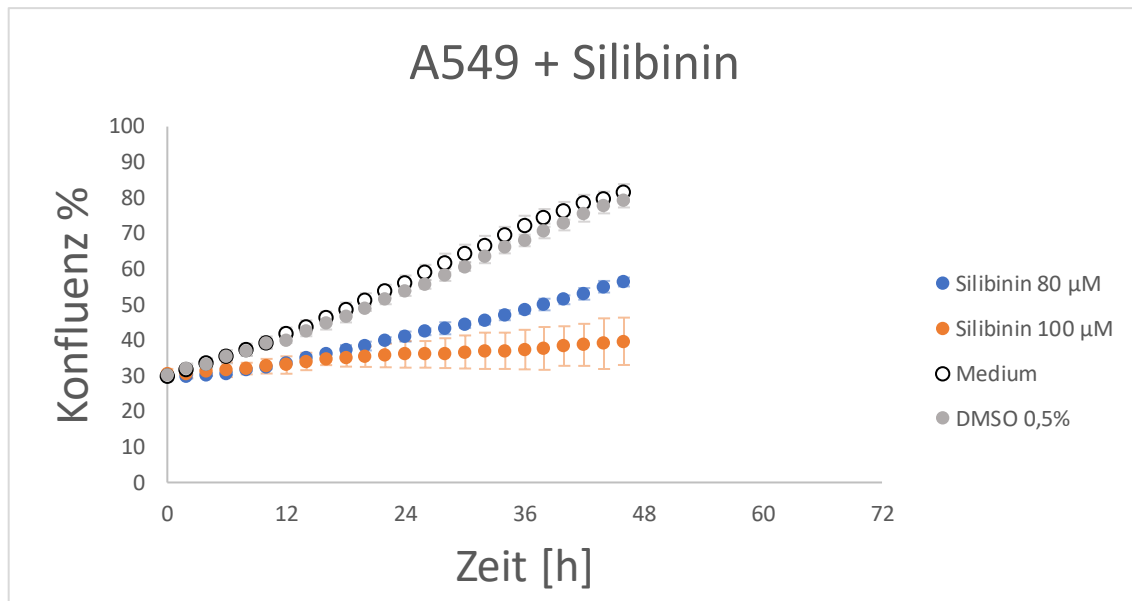


Abbildung 24 Zellwachstumskurven von A549-Zellen mit zwei Konzentrationen von Silibinin

Die Inkubation hat 46 Stunden gedauert. Beide Konzentrationen zeigten eine hemmende Wirkung auf das Zellwachstum (Abbildung 27). Bei Konzentration von 80 µM und 100 µM Silibinin wurde eine Zellkonfluenz von 56% und 40% gemessen, verglichen mit einer Konfluenz von 81% in der Medium-Kontrolle. Im ersten Experiment führte eine Konzentration von 80 µM zu einer Reduktion der Zellkonfluenz um 19%, während im Wiederholungsexperiment eine Hemmung von 25% beobachtet wurde. Für 100 µM Silibinin wurde im ersten Experiment eine Hemmung von 27% festgestellt, während im Wiederholungsexperiment eine Reduktion der Zellkonfluenz um 41% gemessen wurde. Aufgrund der weiterhin großen Variabilität der Messwerte ist die Aussagekraft der Ergebnisse für 100 µM Silibinin jedoch eingeschränkt.

5.9 Silymarin

Silymarin ist der Hauptbestandteil pharmazeutisch genutzter Mariendistel-Präparate. Der Wirkstoffkomplex wurde das erste Mal 1930 extrahiert. Er besteht zum einen aus mindestens sieben Flavolignanen wie z.B. Silybin, Isosilybin, Silydianin, Silychristin, zum anderen aus Flavonoiden wie z.B. Taxifolin. Ähnlich wie Silybin wird Silymarin hauptsächlich als Leberschutzmittel verwendet. Diese Wirkung beruht auf der Fähigkeit, freie Radikale zu neutralisieren¹¹⁴. Silymarinverbindungen weisen ausgeprägte antikanzerogene Eigenschaften auf. Dazu zählen unter anderem die Hemmung der Zellmigration durch die Beeinflussung mehrerer Ziele, die Reduktion der Expression von Hypoxie-induzierbarem Faktor 1α, die Induktion der Apoptose in bestimmten malignen Zelle sowie die Unterdrückung der promotischen Signalwege¹¹⁵.

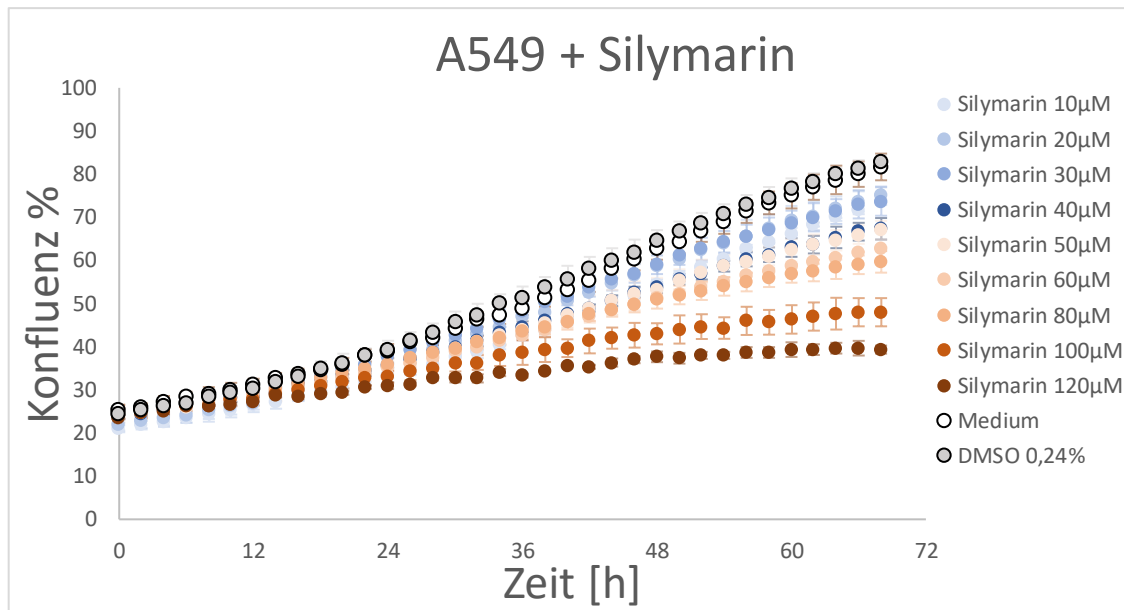


Abbildung 25 Zellwachstumskurven von A549-Zellen bei verschiedenen Konzentrationen von Silymarin

Nach 68-stündiger Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen von Silymarin zwischen 10 und 120 μM war eine dosis-abhängige Hemmung des Zellwachstums zu beobachten (Abbildung 28). Silymarin in Konzentrationen zwischen 10 μM bis 80 μM reduzierte die Konfluenz im Bereich von 6-22%. Deutlich stärkere Effekte traten bei höheren Konzentrationen auf: 100 μM und 120 μM führten zu einer Reduktion der Zellkonfluenz auf 49% bzw. 39%, während die Negativkontrollen mit Medium und 0,24% DMSO-Konfluenzen von 81% bzw. 83% erreichten.

In einem zweiten Experiment (Abbildung 29) wurden zwei Konzentrationen im oberen Bereich erneut getestet, 70 μM 90 μM . Nach 46-stündiger Inkubationszeit führte die Behandlung mit 70 μM Silymarin zu einer Reduktion der Konfluenz um 17%, während bei 90 μM eine Abnahme um 24% beobachtet wurde. Im Vergleich dazu erreichten die Zellen im Medium eine Konfluenz von 81%. Bei beiden Konzentrationen von Silymarin erreichen die Wachstumskurven kein Plateau, was darauf hinweist, dass die Zellproliferation während des gesamten Beobachtungszeitraums nicht zum Erliegen kam, sondern kontinuierlich weiter abnahm.

Bei den identischen Konzentrationen zeigen Silymarin und Silibinin leicht unterschiedliche Effekte auf die Proliferation der A549-Zellen (vgl. Abbildungen 26 und 28). Während sich die Differenzen in der Wirkung im Bereich von 10-80 μM mit etwa 3% noch gering darstellten, werden sie bei höheren Konzentrationen deutlicher. So beträgt der Unterschied bei 100 μM und 120 μM bereits 7-8%. Insgesamt lässt sich daraus ableiten, dass Silymarin im Vergleich zu Silibinin eine etwas stärkere hemmende Wirkung auf die Zellproliferation entfaltet, was möglicherweise auf die Zusammensetzung des Substanzgemisches zurückzuführen ist.

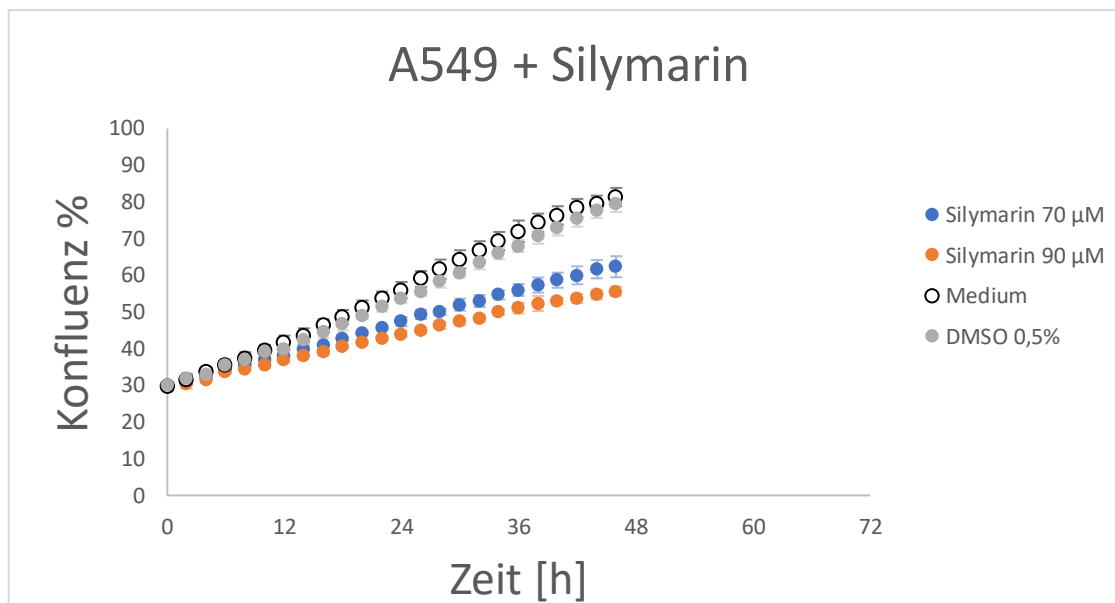


Abbildung 26 Wachstumskurve der A549-Zellen nach Behandlung mit Konzentrationen von Silymarin

5.10 Phenylpropanoide (Rosmarinsäure)

Rosmarinsäure gehört zur Gruppe der Phenylpropanoide und ist ein Ester der Kaffeesäure und 3,4- Dihydroxyphenylmilchsäure (Abbildung 30¹⁹). Diese Verbindung wurde erstmals aus *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) isoliert und erhielt ihren Namen entsprechend der Pflanzenbezeichnung. Sie kommt überwiegend in Pflanzen der Familie Lamiaceae, sowie

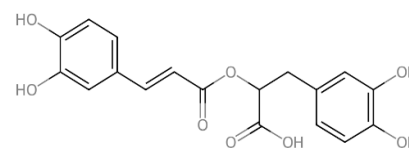


Abbildung 30 Chemische Struktur von Rosmarinsäure

Quelle: Chempider, <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.29263.html>, aufgerufen am 11.01.26

Apiaceae, Boraginaceae vor (z.B. *Symphytum officinale*, *Salvia officinalis*)¹¹⁶. Als sekundärer Pflanzenstoff spielt Rosmarinsäure eine wichtige Rolle in der Abwehr von Fraßfeinden. Zahlreiche Studien dokumentieren die ausgeprägten pharmakologischen Eigenschaften der Rosmarinsäure wie z.B. antioxidative, antimutagene, antibakterielle, antivirale Aktivitäten. Es wurde auch als potenzielles Therapeutikum zur Behandlung von Diabetes intensiv erforscht¹¹⁷. Die entzündungshemmenden Effekte von Rosmarinsäure wurden in *in vitro*- und *in vivo*-Studien bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen wie Arthritis, Colitis und atopischer Dermatitis nachgewiesen. Erwähnenswert ist eine aktuelle Studie, die zeigte, dass Rosmarinsäure die Expression verschiedener Gene, die an der Apoptose beteiligt sind, moduliert¹¹⁸.

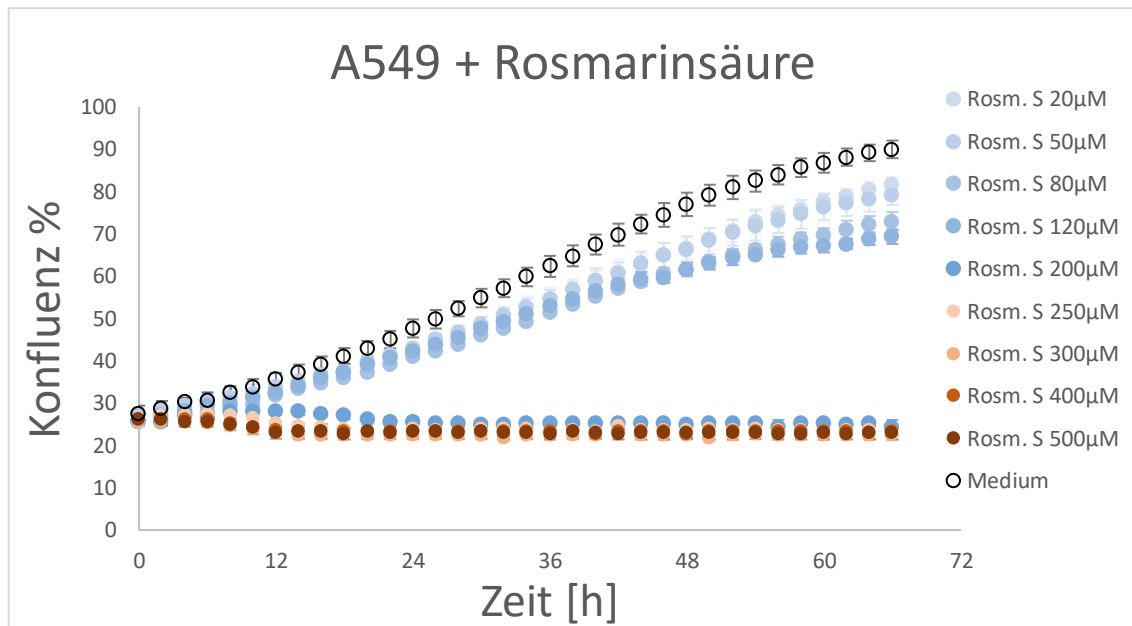


Abbildung 27 Wachstumskurve der A549-Zellen nach Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von Rosmarinsäure

Rosmarinsäure wurde in neun verschiedenen Konzentrationen zwischen 20 und 500 µM getestet. Nach 66 Stunden Inkubation mit Rosmarinsäure zeigt die Zellkultur im Medium (Negativkontrolle) eine Konfluenz von 90%, während Rosmarinsäure in Konzentrationen von 20- 120 µM die Konfluenz um 8-21% reduzierte (siehe Abbildung 31). Bei Konzentrationen von 200 µM und höher war unmittelbar nach Zugabe von Rosmarinsäure keine Zunahme der Konfluenz erkennbar, was auf eine vollständige Hemmung der Zellproliferation hinweist. Die Konfluenz sank sogar leicht um 5% ab, was auf ein Absterben von Zellen und damit verbundene teilweise Ablösung von der Zellkulturplatte hindeuten könnte. In diesem Experiment war die Verwendung von DMSO aufgrund der guten Wasserlöslichkeit von Rosmarinsäure nicht erforderlich, weshalb die Lösungsmittelkontrolle entfallen konnte.

Auffällig ist die große Änderung des Effekts im Konzentrationsbereich zwischen 120 µM und 200 µM. Zur Absicherung der Ergebnisse wurde das Experiment mit zwei Konzentrationen, 120 µM und 150 µM Rosmarinsäure wiederholt (siehe Abbildung 32). In einem weiteren Experiment wurde Rosmarinsäure unter Zusatz von DMSO eingesetzt, da DMSO die Zellmembranpermeabilität erhöhen kann. Ziel war es zu untersuchen, ob sich dieser Effekt auf die beobachtete Wirkung der Rosmarinsäure auswirkt.

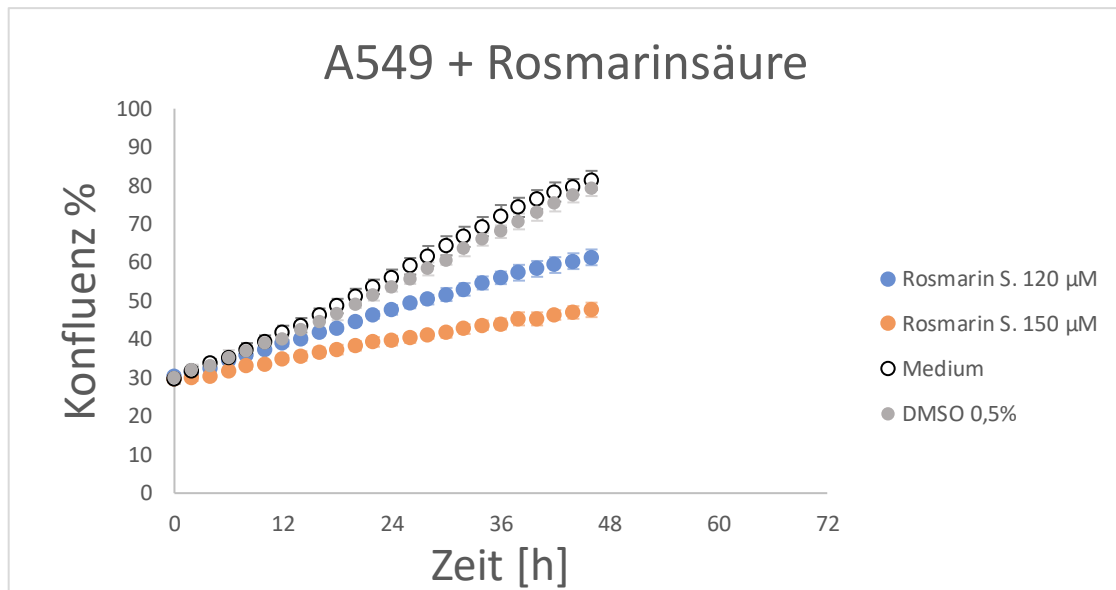


Abbildung 28 Zellwachstumskurve der A549-Zellen mit zwei Konzentrationen von Rosmarinsäure

Dieses Experiment wurde über einen Zeitraum von 46 Stunden durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten einen ähnlichen Effekt wie im ersten Experiment (vgl. Abbildung 31 und Abbildung 32). Die Zellkonfluenz der Medium-Kontrolle betrug 81%. Eine Behandlung mit 120 µM Rosmarinsäure, die in diesem Experiment 0,12% DMSO enthielt, führte zu einer Hemmung des Zellwachstums um 25% im Vergleich zur Medium-Kontrolle (Abbildung 32). Im ersten Experiment wurde unter identischen Bezugsbedingungen, jedoch ohne DMSO, eine Wachstumshemmung von 23% beobachtet. Insgesamt zeigte sich somit kein wesentlicher Unterschied in der antiproliferativen Wirkung durch den Zusatz von DMSO.

5.11 Vergleich von Naturstoffen aus unterschiedlichen Substanzklassen

In einem weiteren Experiment wurden jeweils zwei ausgewählte Konzentrationen pro Vertreter der untersuchten chemischen Gruppen im selben Experiment analysiert. Die Auswahl der eingesetzten Konzentrationen basierte auf den zuvor durchgeführten Konzentrationsreihen, in denen für jede Substanz der Einfluss auf die Zellkonfluenz bestimmt wurde. Ziel war es, Konzentrationen zu verwenden, die eine Hemmung des Zellwachstums im Bereich der IC_{50} erwarten ließen. Dadurch sollte ein direkter Vergleich der antiproliferativen Wirksamkeit der einzelnen Vertreter unter gleichen Bedingungen ermöglicht werden.

Die Resultate dieses Experiments sind in Abbildung 33 zusammenfassend dargestellt.

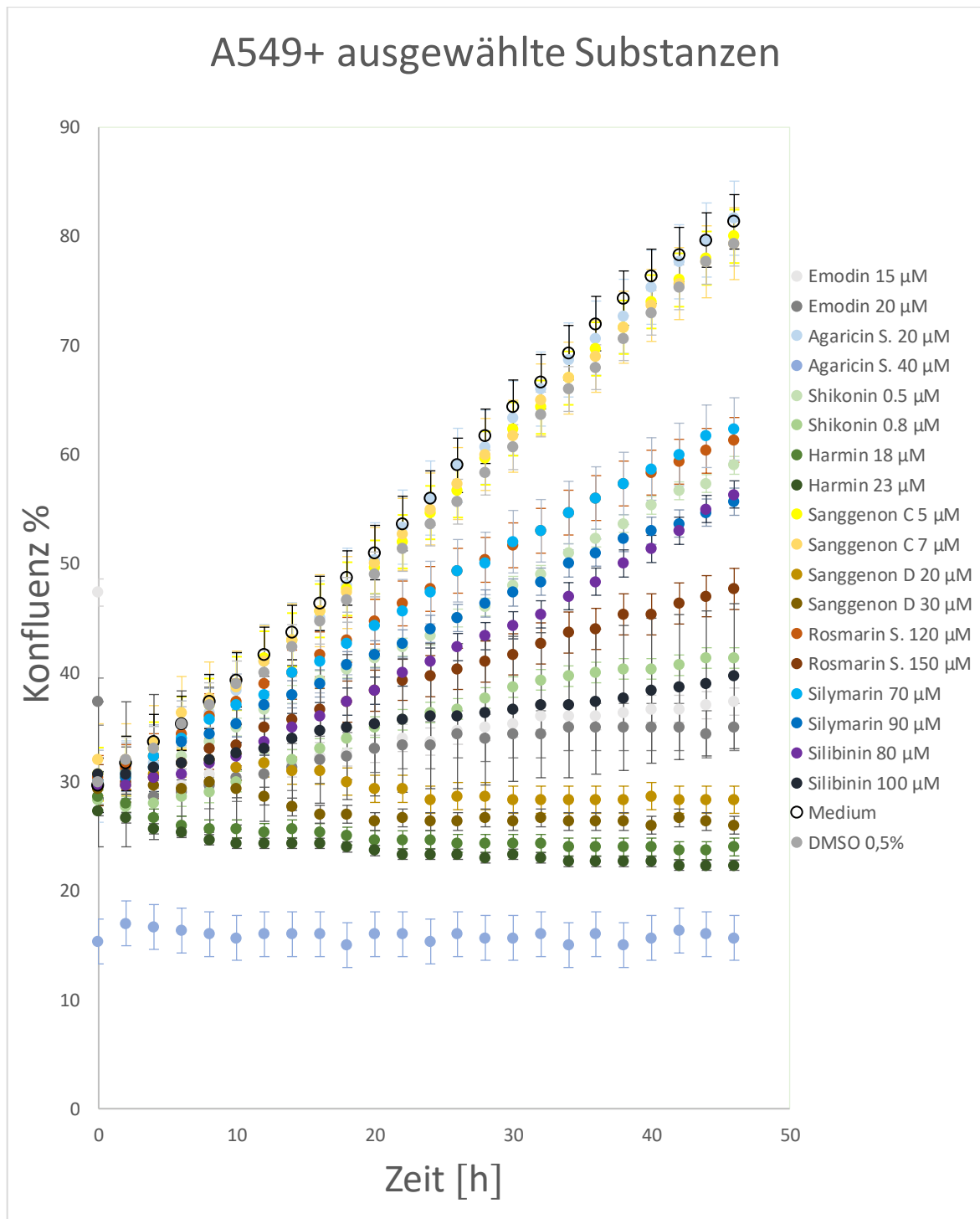


Abbildung 29 Zellwachstumskurven von A549-Zellen mit je zwei Vertretern von allen ausgewählten Substanzklassen

Nach einer Inkubationszeit von 46 Stunden erreichen die Zellen der Medium-Kontrolle eine Konfluenz von 81%. Die Behandlung mit Emodin führte bei 15 μM und 20 μM zu einer deutlichen Reduktion der Zellkonfluenz auf 37% bzw. 35% im Vergleich zur Medium-Kontrolle.

Agaricinsäure zeigte bei 20 μM keinen erkennbaren Effekt auf das Zellwachstum, die Konfluenz entsprach der Medium-Kontrolle. Dagegen führte die Konzentration von 40 μM zu einer auffälligen

Reduktion der Konfluenz auf 16 % unmittelbar nach Zugabe des Wirkstoffs. Diese Beobachtung deutet auf eine mögliche toxische Wirkung hin, die zum sofortigen Absterben der Zelle, verbunden mit einer Ablösung von der Kulturfläche führt.

Shikonin erreichte bei 0,5 μM eine Konfluenz von 73% und bei 0,8 μM 51% der Medium-Kontrolle.

Harmin reduzierte die Zellkonfluenz bei 18 μM und 23 μM auf 24% bzw. 22%. Dabei wurde eine zusätzliche Abnahme der Konfluenz um etwa 5% unter den Ausgangswert beobachtet, was auf ein Absterben der Zellen und eine teilweise Ablösung von der Zellkulturplatte hinweisen könnte.

Sanggenon C zeigte bei 5 μM und 7 μM nur eine geringe Hemmung des Zellwachstums, die Konfluenz betrug 80% bzw. 79% im Vergleich zu 81% in der Medium-Kontrolle. Im Gegensatz dazu wies Sanggenon D bei 20 μM und 30 μM eine deutlich stärkere wachstumshemmende Wirkung auf. Die Konfluenz betrug 28% bzw. 26%, was- ähnlich wie bei Harmin- auf zum Tod der Zellen führt.

Rosmarinsäure führte bei 120 μM und 150 μM zu einer Reduktion der Konfluenz auf 75% bzw. 60% der Medium-Kontrolle.

Silymarin verringerte die Zellkonfluenz bei 70 μM um 19% und bei 90 μM um 25% im Vergleich zur Medium-Kontrolle. Silibinin erreichte bei 80 μM eine Konfluenz von 69% und bei 100 μM 49% der Medium-Kontrolle.

Das Experiment lieferte teilweise neue Erkenntnisse im Vergleich zu den vorherigen Untersuchungen. Harmin zeigte in den hier verwendeten Konzentrationen (18-23 μM) eine deutlich stärkere wachstumshemmende bzw. toxische Wirkung als zuvor beobachtet (siehe Abbildung 18), was auf eine konzentrationsabhängige Wirkung hindeutet. Ein ähnlicher Trend wurde für Sanggenon D beobachtet, das bereits bei 20 μM eine ausgeprägte Reduktion der Konfluenz verursachte und damit stärker wirkte als zuvor beschrieben. Im Gegensatz dazu zeigte Agaricinsäure bei 20 μM in diesem Experiment keinen Effekt, während in früherem Versuch eine hemmende Wirkung festgestellt wurde (siehe Abbildung 16); diese früheren Ergebnisse sind jedoch aufgrund der hohen Variabilität nur eingeschränkt aussagekräftig.

6 Diskussion

6.1 Einfluss des Lösungsmittels

In vielen Experimenten mit bioaktiven Substanzen ist die Verwendung eines geeigneten Lösungsmittels erforderlich, um die Wirkstoffe vollständig zu lösen. Einige Substanzen wie Sanggenon C und D oder Silibinin, sind nur begrenzt wasserlöslich, sodass ein organisches Lösungsmittel wie DMSO eingesetzt wird, um präzise und reproduzierbare Konzentrationen zu ermöglichen. Zusätzlich kann das Lösungsmittel selbst die Aufnahme der Substanz in die Zellen beeinflussen, da DMSO bekannt dafür ist, die Permeabilität der Zellmembran zu erhöhen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass Lösungsmittel, insbesondere in höheren Konzentrationen, eigene Effekte auf Zellproliferation, Viabilität oder Differenzierung ausüben können.

Interessanterweise wurde in mehreren Experimenten ein leichter Anstieg der zellulären Konfluenz bei niedrigen DMSO-Konzentrationen beobachtet. So führte beispielsweise 0,07% DMSO in den Experimenten mit Harmin sowie 0,3% DMSO bzw. 0,24% DMSO in den Versuchen mit Agaricinsäure bzw. Silibinin und Silymarin zu geringfügig höheren Konfluenzwerten im Vergleich zur Medium-Kontrolle. Dieser Effekt liegt jedoch im Bereich der Messvariabilität und konnte im separaten DMSO- Kontrollversuch (Abbildung 6) nicht reproduziert werden, sodass kein belastbarer Hinweis auf einen stimulierenden Effekt von DMSO vorliegt.

Es stellt sich die Frage, inwieweit sich die Wirkung der untersuchten Substanzen bei Verwendung alternativer Lösungsmittel verändert. Eine kürzlich untersuchte Alternative zu DMSO ist zwitterionenartige ionische Flüssigkeit- ZIL. Diese weist im Vergleich zu DMSO eine geringere Toxizität und eine höhere Biokompatibilität auf und ist zudem nicht membrangängig⁸¹. Aktuelle Studien belegen ein hohes Anwendungspotenzial von ZIL und unterstützen deren Einsatz als vielversprechendes alternatives Lösungsmittel in zukünftigen experimentellen Ansätzen ⁸¹.

6.2 Einfluss der chemischen Substanzklasse

Unabhängig von der Zugehörigkeit zu einer bestimmten chemischen Gruppe konnte in dieser Arbeit für alle Substanzen zumindest eine Konzentration identifiziert werden, die die zelluläre Proliferation beeinflusst. Die Effekte variieren dabei in Abhängigkeit von der jeweiligen Konzentration. Eine visuell klarere und strukturiertere Darstellung des Experiments, unter Berücksichtigung sämtlicher Vertreter der untersuchten chemischen Gruppen ist in Abbildung 34 dargestellt. Die Anzahl der analysierten Substanzen in jeder chemischen Gruppe war zu gering, um einen potenziellen Zusammenhang zwischen Substanzklasse und Ausmaß der Wirkung auf die Zellproliferation zuverlässig erkennen zu können. Eine erweiterte Studie mit mehreren Vertretern aus jeder in sich

chemisch diversen Substanzklasse ist erforderlich, um zuverlässige Schlussfolgerungen ziehen zu können.

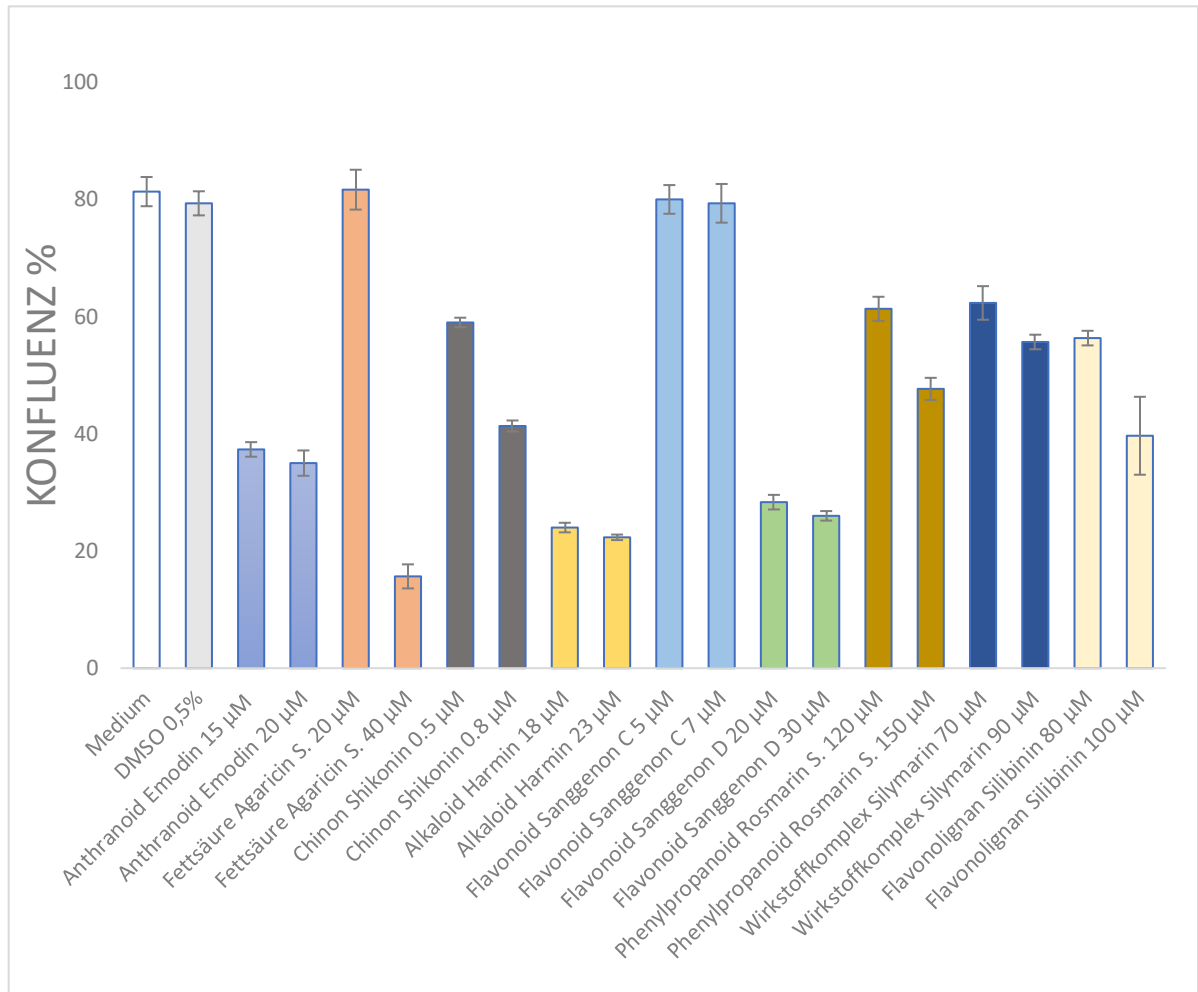


Abbildung 30 Ausmaß der Hemmung zwei ausgewählten Konzentrationen eines Vertreters der einzelnen chemischen Gruppen auf die Proliferation von A549-Zellen

6.3 Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung

Die vorliegenden Analysen zeigen insgesamt eine konzentrationsabhängige Hemmung der Zellproliferation. Mit steigender Wirkstoffkonzentration nimmt die inhibitorische Wirkung deutlich zu, was sich in einer zunehmenden Reduktion der Zellkonfluenz widerspiegelt. Dieser Trend konnte für mehrere der untersuchten Substanzen beobachtet werden und spricht für die dosisabhängige Wirksamkeit. In höheren Konzentrationsbereichen deutet die starke Abnahme der Konfluenz teilweise auf zytotoxische Effekte hin, während bei niedrigeren Konzentrationen eher eine moderate Hemmung des Zellwachstums vorliegt. Dies deutet darauf hin, dass die beobachteten Effekte nicht zufällig sind, sondern auf spezifischen Wirkmechanismen der eingesetzten Substanzen zurückzuführen sein könnten.

6.4 Einfluss von Isomeren auf die Wirkung

Im Hinblick auf die pharmakologische Wirkung sind auch Unterschiede zwischen Isomeren von Bedeutung. Sanggenon C und Sanggenon D teilen dieselbe Summenformel, unterscheiden sich aber in ihrer räumlichen Anordnung. Solche strukturellen Variationen können zu Unterschieden in pharmakokinetischen Parametern sowie in der Ausprägung biologischer Effekte führen.

Bei identischen getesteten Konzentrationen zeigten Sanggenon C und Sanggenon D unterschiedliche Effekte auf die Zellproliferation (siehe Abbildung 21,23). Die vergleichende Analyse der Substanzen zeigt deutliche Unterschiede in ihrer antiproliferativen Wirksamkeit. Bereits bei niedrigen Konzentrationen wird eine unterschiedliche biologische Aktivität sichtbar, die sich insbesondere im Bereich von 10 μM klar manifestiert. Während Sanggenon C in dieser Konzentration eine ausgeprägte Reduktion der Zellkonfluenz bewirkte, zeigte Sanggenon D unter identischen Bedingungen eine geringe Hemmung. Die früh einsetzende und deutlich stärkere Hemmung durch Sanggenon C deutet darauf hin, dass dieses Isomer bereits in vergleichsweise niedrigen Konzentrationen eine relevante antiproliferative Wirkung entfalten kann. Dies spricht für eine höhere Wirkpotenz im Vergleich zu Sanggenon D. Die isolierte Untersuchung einzelner Isomere erlaubt eine präzise Bewertung, ob selbst geringfügige strukturelle Unterschiede wesentlich zur Modulation der Gesamtwirkung beitragen können.

Vergleichbare Befunde wurden auch in früheren Studien zu den stereoisomeren Diels-Alder-Addukten Sanggenon C und Sanggenon D berichtet. In Untersuchungen zeigte Sanggenon C in mehreren mutli-pathway-basierten Tests eine stärkere zytoprotektive und Radikalfänger-Aktivität als Sanggenon D, während in reinen Elektronentransfer-Assays für Sanggenon D niedrigere IC_{50} -Werte bestimmt wurden¹⁰⁷. Die Autoren führten diese Unterschiede im Wesentlichen auf die abweichende stereochemische Konfiguration der Isomere zurück.

6.5 Substanzgemische im Vergleich mit Einzelsubstanzen

Naturstoffbasierte Präparate liegen häufig nicht als Einzelsubstanzen, sondern als komplexe Vielstoffgemische vor, wie sie typischerweise in pflanzlichen Extrakten vorkommen. Solche Gemische enthalten neben pharmakologisch aktiven Hauptkomponenten oftmals weitere Inhaltsstoffe, die die Gesamtwirkung modulieren können, beispielsweise durch synergistische, additive oder antagonistische Effekte. Die Isolierung einzelner Substanzen aus dieser komplexen Grundsubstanz stellt daher nicht nur eine analytische Herausforderung dar, sondern kann auch zu einer veränderten biologischen Wirkung im Vergleich zum ursprünglichen Gemisch führen.

Dieses Prinzip zeigte sich auch in den vorliegenden Untersuchungen am Beispiel der Experimente mit Silymarin und Silibinin. Während beide Substanzen eine konzentrationsabhängige Hemmung des Zellwachstums zeigten, traten die Effekte bei höheren Konzentrationen unterschiedlich stark

ausgeprägt auf. Insbesondere im oberen Konzentrationsbereich (100-120 μM) zeigte sich eine deutlichere Reduktion der Zellkonfluenz unter Silymarin im Vergleich zu Silibinin. Während Silibinin bei 100 μM und 120 μM Konfluenzwerte von 55% bzw. 46% erreichte, sank die Zellkonfluenz unter Silymarin auf 49% bzw. 39%. Dies deutet auf eine stärker wachstumshemmende Wirkung von Silymarin in hohen Konzentrationen hin. Ein möglicher Erklärungsansatz liegt in der Zusammensetzung der Substanzen. Die in Silymarin enthaltenen Begleitkomponenten könnten additive oder synergistische Effekte entfalten und somit die antiproliferative Wirkung verstärken. Darüber hinaus sind Unterschiede in Löslichkeit, Zellaufnahme oder intrazellulärer Verteilung denkbar, die zu den beobachteten Differenzen beitragen könnten. Im niedrigeren Konzentrationsbereich waren die Effekte beider Substanzen vergleichsweise moderat und weniger stark differenziert, was darauf hindeutet, dass mögliche synergistische Effekte erst bei höheren Wirkstoffkonzentrationen deutlicher zum Tragen kommen.

Studien in der Fachliteratur bestätigen, dass Silymarin und sein Hauptbestandteil Silibinin unterschiedliche biologische Effekte aufweisen. In einer experimentellen Studie zur Membranstabilität isolierter Hepatozyten zeigte Silymarin im Gegensatz zu Silibinin stabilisierende Effekte auf die Plasmamembran, während Silibinin unter bestimmten Bedingungen sogar membranschädigende Wirkungen verstärkte bzw. nur eine geringere protektive Wirkung aufweist¹¹⁹. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass sich die biologische Wirkung des Vielstoffgemisches Silymarin von jener des isolierten Silibinins unterscheiden kann.

Insgesamt sprechen sowohl die vorliegenden Daten als auch die Literatur dafür, dass die komplexe Zusammensetzung von Silymarin im Vergleich zum isolierten Silibinin ein modifiziertes und teilweise verstärktes Wirkprofil aufweist. Dies verdeutlicht die Bedeutung, zwischen Gesamt-Extrakt und Einzelsubstanz zu differenzieren, insbesondere bei der Bewertung antiproliferativer oder zellbiologischer Effekte.

7 Schlussfolgerung

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung ausgewählter Naturstoffe aus unterschiedlichen chemischen Klassen hinsichtlich ihres Potenzials zur Modulation der Zellproliferation. Die durchgeführten Analysen zeigen, dass alle getesteten Substanzen konzentrationsabhängig in das Zellwachstum eingreifen. Mit steigender Wirkstoffkonzentration nahm die inhibitorische Wirkung überwiegend zu, wobei der Großteil der untersuchten Verbindungen eine Reduktion der Zellkonfluenz bewirkte. Insgesamt verdeutlichen die Ergebnisse das Potential der untersuchten Substanzen, die Zellproliferation konzentrationsabhängig zu modulieren.

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Zugehörigkeit zu einer bestimmten chemischen Substanzklasse und dem Ausmaß der antiproliferativen Wirkung konnte nicht festgestellt werden. Dies deutet darauf hin, dass neben der formalen Klassenordnung insbesondere strukturelle und molekulare Eigenschaften die biologische Aktivität bestimmen. Aufgrund der begrenzten Anzahl und Diversität der untersuchten Substanzen lassen sich jedoch keine generalisierbaren Aussagen zu klassenabhängigen Effekten ableiten.

Besonders deutlich zeigte sich der Einfluss struktureller Feinunterschiede am Beispiel der stereoisomeren Verbindungen Sanggenon C und Sanggenon D. Trotz identischer Summenformel unterscheiden sich beide Isomere signifikant in ihrer antiproliferativen Wirksamkeit, wobei Sanggenon C bereits in niedrigeren Konzentrationen eine stärkere Hemmung der Zellproliferation bewirkte. Diese Beobachtung bestätigt die pharmakologische Relevanz stereochemischer Konfigurationen und verdeutlicht, dass selbst geringe strukturelle Variation maßgeblich zur Modulation biologischer Effekte beitragen können.

Aus den in dieser Arbeit erhaltenen Daten wurde weiters ersichtlich, dass sich die Wirkung komplexer Naturstoffgemische von jener isolierter Einzelsubstanzen unterscheiden kann. Der Vergleich von Silymarin als Vielstoffgemisch mit seinem Hauptbestandteil Silibinin zeigte Unterschiede in der Stärke der antiproliferativen Effekte. Bei höheren Konzentrationen (100-120 μM) wirkt Silymarin deutlich stärker antiproliferativ als das isolierte Silibinin, was darauf hindeutet, dass die zusätzlichen Begleitstoffe in Silymarin möglicherweise synergistische oder additive Effekte entfalten. Unterschiede in Löslichkeit, Zellaufnahme oder intrazellulärer Verteilung könnten ebenfalls zu den beobachteten Effekten beitragen. Bei niedrigen Konzentrationen sind die Unterschiede weniger ausgeprägt, was darauf hinweist, dass synergistische Effekte vor allem bei höheren Wirkstoffkonzentrationen relevant werden. Aus den in dieser Arbeit erhaltenen Daten wurde weiters ersichtlich, dass sich die Wirkung komplexer Naturstoffgemische von jener isolierter Einzelsubstanzen unterscheiden kann. Während komplexe Extrakte ein komponentenabhängiges Gesamtprofil aufweisen, ermöglicht die Untersuchung definierter Einzelsubstanzen eine präzise Zuordnung spezifischer biologischer Wirkungen.

Im Rahmen der experimentellen Durchführung spielte zudem die Wahl des Lösungsmittels eine wesentliche Rolle. Für schwer wasserlösliche Substanzen wurde DMSO eingesetzt, um reproduzierbare Konzentrationen zu gewährleisten. Dabei ist zu berücksichtigen, dass DMSO selbst biologische Effekte ausüben und die Zellmembranpermeabilität beeinflussen kann. Bei den in dieser Arbeit verwendeten niedrigen DMSO-Konzentrationen konnte keine relevante Hemmung des Zellwachstums beobachtet werden. Der Einsatz alternativer, besser biokompatibler Lösungsmittel könnte jedoch in zukünftigen Untersuchungen zur weiteren Optimierung experimenteller Ansätze beitragen, um falls erforderlich auch höhere Konzentrationen schlecht wasserlöslicher Naturstoffe testen zu können.

Die gewonnenen Ergebnisse basieren auf *in-vitro*-Untersuchungen an der Ziellinie A549 und erlauben daher nur eine eingeschränkte Übertragbarkeit auf die therapeutischen Anwendungen am Menschen. Es ist zu beachten, dass die im *in vitro*-System beobachteten Wirkungen nicht immer den in der therapeutischen Anwendung am Menschen zu erwartenden Effekten entsprechen beziehungsweise in denselben Konzentrationen wie im Laborversuch eingesetzt werden können. Unterschiede bei den Zellzahlen und Konzentrationen können bei gleicher Substanz zu quantitativen und qualitativen abweichenden Daten führen⁷. Zudem beeinflussen experimentelle Rahmenbedingungen, insbesondere die Wahl der Konzentrationsbereiche und die Präzision bei der Herstellung von Verdünnungsreihen maßgeblich die Aussagekraft und Reproduzierbarkeit der erhobenen Daten. Auch die Messung der metabolischen Aktivität und deren Effekt ist als Summe an Zytotoxizität und Hemmung der Proliferation zu verstehen und nicht dem einzelnen Mechanismus zuzuordnen⁷.

Die Aktivität der getesteten Substanzen wurde an der humanen Zelle der Zelllinie A549 getestet, somit sind auch Aussagen über unspezifische oder spezifische Toxizität nicht möglich. Sowohl weitere Analysen und Screenings auf anderen Zelltypen als auch die Anwendung zusätzlicher Testsysteme könnten die Beobachtungen erhärten. Für eine weiterführende Bewertung der biologischen Effekte sind daher ergänzende Untersuchungen in zusätzlichen Zellmodellen sowie unter optimierten experimentellen Bedingungen erforderlich. Die Analyse nicht zytotoxischer Konzentrationsbereiche könnte weitere Hinweise auf die zugrunde liegenden Wirkmechanismen liefern.

Zusammenfassend liefert die vorliegende Arbeit wichtige Hinweise darauf, dass die Modulation der Zellproliferation durch Naturstoffe nicht allein von ihrer chemischen Gruppenzugehörigkeit abhängt, sondern maßgeblich durch Konzentration, stereochemische Struktur sowie das Vorliegen als Einzelstoff oder Vielstoffgemisch beeinflusst wird. Erweiterte Studien mit einer Anzahl strukturell definierter Verbindungen könnten künftig dazu beitragen, systematische Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu identifizieren und eine Grundlage für die gezielte Entwicklung neuer pharmakologisch relevanter Substanzen zu schaffen.

8 Material und Methoden

8.1 Kultivierung von Zellen

Für alle Untersuchungen wurden A549-Zellen verwendet. Die Zelllinie wurde erstmals 1972 aus einem Lungenkarzinoms eines Mannes isoliert. Der Zelllinienbestand an A549-Lungenkarzinomzellen wurde vom Labor von Dr. Mattia Zampieri an der eidgenössischen technischen Hochschule (ETH) in Zürich (Schweiz) bereitgestellt, der die Zelllinie im Rahmen eines Projekts mit dem National Cancer Institute (NCI) erhielt. Es handelt sich um adhärenzte Zellen, was bedeutet, dass sie sich während der Proliferation an der Oberfläche des Kulturgefäßes anhaften. Das für die Zelllinie geeignete Nährmedium ist das RPMI- 1640 Medium (R8758-500 mL produziert von Sigma- Aldrich). Das Medium enthält L-glutamine und ein Bikarbonat- Puffersystem, was in einer Atmosphäre mit 5% CO₂ den physiologischen pH-Wert aufrechterhält. Da RPMI keine Proteine oder Wachstumsfaktoren enthält, wird es mit 5% fötalem Kälberserum (produziert von Merck) angereichert, um das Zellwachstum zu stimulieren. Um das Medium vor Kontamination zu schützen, werden die Antibiotika Streptomycin und Penicillin (10 000 units-10 mg/mL P4333-100 mL produziert von Sigma- Aldrich) dazugegeben.

Jegliche Zellkulturarbeiten wurden unter sterilen Bedingungen in einer Sicherheitswerkbank (Thermo Scientific Msc- Advantage) durchgeführt. Alle Zellen wurden bei 37°C, 5% CO₂ inkubiert. Alle Materialien und Geräte wurden vor Verwendung entweder desinfiziert oder durch Autoklavierung sterilisiert. Das Nährmedium wird täglich sorgfältig kontrolliert und das Wachstum von Zellen mit einem Mikroskop überwacht.

Folgende Zellkulturflaschen wurden verwendet: T25 (Cat. No. 10062-872 produziert von Avantor) und T75 (Cat. No. 10062-862 produziert von Avantor), Zentrifugenröhrchen 15ml (Cat. No. 525-1068 produziert von Avantor).

8.2 Auftauen der Zellen

A549 Zellen wurden kryokonserviert, was eine lange Aufbewahrung ermöglicht. Sie wurden im Kulturmedium mit 5% DMSO als Kryoprotektivum) eingefroren. Die Kryoröhrchen wurden in einem Flüssigstickstoff-Lagertank in der Flüssigphase gelagert (-196°C).

Das Auftauen direkt aus dem Lager sollte zügig in einem Wasserbad mit einer Temperatur von 37°C unter Schwenken stattfinden. Schnelles Auftauen ist schonender, da die Zeit wo Eiskristalle die teilweisen schon aufgetauten Zellen zerstören können, minimiert wird. Das DMSO sollte auch so schnell wie möglich ausverdünnt werden. Die 1 mL aufgetaute Zellsuspension wird mit einer Kolbenhub-Pipette direkt in 9 mL vorgewärmtes Zellkulturmedium (RPMI-1640 mit Serum und Antibiotika) überführt. Diese Lösung wird bei 400 x g für fünf Minuten zentrifugiert. Der Überstand

wird vorsichtig abgesaugt und das Pellet in 5 mL Zellmedium suspendiert. Die Zellsuspension wird in eine T25 Zellkulturflasche übertragen, mit Medium verdünnt und anschließend im Inkubator bei 37°C in 5% CO₂- Atmosphäre inkubiert. Während dieser Zeit werden sich die Zellen nach dem Gefrierprozess erholen. Im Medium schwimmende Zellen werden sich mit der Zeit absetzen und am Boden des Kulturgefäßes anhaften. Dort beginnen sie zu wachsen und sich zu vermehren. Ungefähr alle 24 Std erfolgt die Teilung einer Mutterzelle in zwei Tochterzellen. Abgestorbene Zellen lösen sich vom Boden ab und schwimmen frei im Medium. Das Medium samt abgestorbene Zellen wird alle zwei Tage gewechselt.

8.3 Den Passagieren der Zellen auf mehrere Kulturgefäße

Sobald zwischen 80 und 90% der Oberfläche in der Zellkulturflasche mit Zellen bedeckt sind, müssen die adhären Zellen in frische Zellkulturflaschen bei geringerer Zelldichte neu ausgesät werden. Die Zellen erhalten frisches Medium und eine größere Wachstumsfläche, sodass weiteres Wachstum stattfinden kann.

Die A549 Zellen gehören zu den adhären Zellen, deswegen müssen diese vom Boden abgelöst werden, bevor man sie in eine neue Kulturgefäß überträgt. Zunächst wird das Medium abgesaugt, und der adhären Zellrasen mit vorgewärmtem (37°C) PBS (Cat. No. 392-0442 produziert von VWR in Frankreich) gewaschen. Nachdem das PBS abgesaugt wurde, wird das Verdauungsenzym (1 mL T25 oder 2 mL T75) Trypsin (Cat. No. 25200056 produziert von Thermo Fischer) zugegeben. Die Zugabe bewirkt die Spaltung von Adhäsionsproteinen, durch welche sich die Zellen an der Oberfläche von Zellkulturflasche anhaften. Eine kurze Behandlung mit Trypsin ist für die Zellen nicht schädlich, da nur die extrazellulären Proteine gespalten werden. Nach fünf Minuten Einwirkzeit im Brutschrank wird unter dem Mikroskop überprüft, ob alle Zellen abgelöst sind. Sobald die Zellen rundlich erscheinen und im Medium schwimmen, kann die Trypsinierung gestoppt werden. Die Wirkung von Trypsin wird durch Zugabe von vorgewärmtem serumhaltigem Medium (Kälberserum enthält Trypsin- Inhibitoren) gestoppt. Die Zellsuspension wird in 15 mL Zentrifugenröhrchen transferiert und bei 400 x g 5 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt, das Pellet im Medium suspendiert und nach entsprechender Verdünnung in ein neues Kulturgefäß überführt.

8.4 Bestimmung der Viabilität und der Zellkonzentration

Sowohl die Bestimmung der Viabilität als auch die Bestimmung der Zellzahl erfolgt mit Hilfe von einem automatisierten Zellzähler: EVE (NanoEntec). Im Zellzähler befinden sich ein Mikroskop, eine Kamera und eine Lichtquelle, die zur Visualisierung einer Zellprobe verwendet werden. Detektiert werden nur gefärbte Zellen, deswegen muss vorher muss eine Zellfärbung durch

Trypanblau- Färbung stattfinden. Nur tote Zellen werden gefärbt, während bei lebenden Zellen dieser Farbstoff nicht in das Zellinnere eindringen kann.

Die Zellen werden wie bei den Passagieren von der Zellkulturflasche enzymatisch abgelöst, in die Suspension gebracht und zentrifugiert. Das Pellet wird in 2mL Medium resuspendiert und 15µL der Zellsuspension mit 15µL 0,4% Trypanblau- Lösung (produziert von Nano Entek) versetzt. Jeweils 10µL Trypanblau-Zellsuspension Lösung werden in zwei Kammern auf einem Zellkammerobjektträger pipettiert und im Zellzähler platziert. Um genaue Zellzahlen zu erhalten, ist es wichtig den Fokus des Gerätes vorher anzupassen (manuelle Fokussierung). Dies führt zu einem besseren Kontrast zwischen lebenden (hellen Zellen) und toten (dunkelblauen Zentren) zu erzielen. Die Software erkennt lebende und tote Zellen anhand ihrer Verfärbung. Als Messergebnis erhält man die Zellkonzentration (in Zellen pro mL der Ausgangs Zellsuspension), sowie die Viabilität in %, woraus sich die Konzentration der lebenden Zellen ermitteln lässt.

8.5 Aussaat von Zellsuspensionen auf 96-Well-Platte

In Vorbereitung für Wachstumsexperimente mit Naturstoffen wurden A549 Zellen in Mikrotiterplatten (96-Well Platten Cat. No. 167008 produziert von Thermo Scientific) ausgesät. Vor dem Übertragen auf die 96-Well-Platte muss die Zelldichte bestimmt und angepasst werden. Sie hängt von der Zellkulturlinie und ihrer Zellverdopplungszeit ab und muss an das vorgeplante Experiment angepasst sein. Ziel ist es, eine Konzentration zu verwenden bei der am Tag nach dem Aussäen (18-24 h) eine Konfluenz von 20- 25% gegeben ist. Hier wurde vorab bestimmt, dass eine Konzentration von $1,5 \times 10^4$ Zellen/mL geeignet ist.

Dazu werden die Zellen zunächst in T75 Zellkulturflaschen bis zu einer Zelldichte (Konfluenz) von max. 80-90% vermehrt. Das Medium wird durch Absaugen entfernt und die Zellen mit PBS gewaschen, um Reste des Mediums zu entfernen. Die Zellen werden von dem Boden enzymatisch mit Hilfe von Trypsin aufgelöst. Nach der Kontrolle unter dem Mikroskop, wird die Zellsuspension in ein 15 mL Zentrifugenröhrchen übertragen und zentrifugiert bei $400 \times g$ fünf Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt und Pellet mit Medium resuspendiert (siehe Abschnitt Passagieren oben).

Falls die Kultivierung eine höhere Zelldichte erzielt, ist als gewünscht, muss ein Verdünnungsfaktor berechnet und danach eine entsprechende Verdünnung durchgeführt werden um eine Dichte von $1,5 \times 10^4$ Zell/ mL zu erreichen.

Es ist nachgewiesen, dass es Temperaturunterschiede innerhalb der Platte gibt und Verdunstungseffekte in den Rand- Wells während der Inkubation entstehen. Das kann vor allem an der Peripherie der Platte zu unregelmäßigem Zellwachstum führen. Um diesen Effekt zu minimieren, werden die zuäußerst liegenden Wells am Rand der Platte nicht für Zellkulturen genutzt und

stattdessen mit 200 µL PBS als Verdunstungsschutz befüllt. Die Inkubation erfolgt bei 37° in 5% CO₂- Atmosphäre.

8.6 Experiment mit Naturstoffen am Beispiel von Emodin

Die Zellen (Zelldichte $2,2 \times 10^4$ Zellen/mL) werden auf die 96-Well Platte ausgesät (siehe Kapitel „Aussaat von Zellsuspensionen auf 96-Well Plate“) und 24 Stunden inkubiert.

Für den Stoff Emodin wird eine Verdünnungsreihe hergestellt. Aus der Substanz wird zuerst durch Lösen in DMSO eine 50 mM Stammlösung hergestellt, die dann in zwei Schritten nochmals verdünnt wird. Schritt eins: die Stammlösung mit Medium 5-fach verdünnen (erreichte Konzentration 10 mM). Schritt zwei: weitere Verdünnung wie folgt:

- 10 µL 10 mM Lösung + 490 µL Medium
- 20 µL 10 mM Lösung + 480 µL Medium
- 40 µL 10 mM Lösung + 460 µL Medium
- 50 µL 10 mM Lösung + 450 µL Medium

7,5 µL (d.h. 1:20 Verdünnung bei gesamt 150 µL Kulturmedium) jeder von der oben vorbereitenden Verdünnung wird jeweils in drei Wells der 96-Well-Platte mit Zellsuspension pipettiert. In diesen Wells wird daher folgende Emodin-Endkonzentration erreicht: 10 µM, 20 µM, 40 µM, 50 µM. Zusätzlich wird in drei Wells 0,2% DMSO auf die Zellen im Medium pipettiert. Die vorbereitete Platte wurde zur Inkubation und Konfluenzmessung in das Plattenlesegerät gelegt (Tabelle 4).

Tabelle 4 Schematische Übersicht einer 96-Well-Platte mit unterschiedlichen Konzentrationen der Prüfsubstanz

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
B	PBS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PBS
C	PBS	-	-	10µM	20µM	40µM	50µM	0,3% DMSO	Zellen in Medium	-	-	PBS
D	PBS	-	-	10µM	20µM	40µM	50µM	0,3% DMSO	Zellen in Medium	-	-	PBS
E	PBS	-	-	10µM	20µM	40µM	50µM	0,3% DMSO	Zellen in Medium	-	-	PBS
F	PBS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PBS
G	PBS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PBS
H	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS

8.7 Untersuchungen mit Naturstoffen

Ziel des Experiments ist nachzuforschen, welche Einflüsse chemische Verbindungen natürlicher Herkunft auf das Zellwachstum haben. Die getesteten Substanzen wurden von der Gruppe Prof. Dr. Rollinger aus dem Department für Pharmakognosie Universität Wien bereitgestellt. Die für die Experimente ausgetesteten Konzentrationen der Substanzen wurden im Zuge einer vorangegangenen Recherche so ausgewählt, dass eine konzentrationsabhängige Zellhemmung stattfindet. Alle Substanzen wurden in DMSO gelöst. Weitere Konzentrationen werden durch Verdünnen mit Medium hergestellt. Die Details zu den eingesetzten Substanzen und deren Endkonzentrationen im Medium sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Die Zellaussaat auf die Mikroplatten erfolgen in der gleichen Reihenfolge der Schritte wie schon im Kapitel „Aussaat von Zellsuspensionen auf 96-Well Plate“ beschrieben. Es werden insgesamt neun natürliche Verbindungen (Tabelle 3) auf den A549 Zellen mit einer Zelldichte $1,5 \times 10^4$ Zellen/mL getestet. Da die Testsubstanzen ursprünglich in DMSO gelöst sind und DMSO in bestimmten Konzentrationen eine wachstumshemmende Wirkung hat, wird auch DMSO mittels Kontrollkonzentrationen getestet.

Tabelle 5 Charakterisierung der eingesetzten Naturstoffe: Molekulargewicht, Konzentration der Stammlösungen, verwendete Lösungsmittel und Endkonzentrationen im Medium

Substanz	Molekulargewicht	Konzentration der Stammlösung	Lösungsmittel	Endkonzentration im Medium [µM]
Emodin	270,23 g/mol	50 mM	DMSO	10; 15; 20; 40; 50
Shikonin	288,3 g/mol	5 mM	DMSO	0,3; 0,4; 0,5; 0,6 0,7; 0,8; 0,9; 1
Agaricinsäure	416,55 g/mol	50 mM	DMSO	10; 15; 20; 25; 30 35; 40; 45; 50
Harmin	212,25 g/mol	5 mM	DMSO	3; 6; 9; 12; 15; 18; 21; 23; 24
Sanggenon C	708,71 g/mol	28,22 mM	DMSO	2; 5; 7; 10; 20; 30 40; 60; 80; 100

Sanggenon D	708,71 g/mol	28,22 mM	DMSO	2; 5; 10; 20;30 40; 60; 80; 100
Silibinin	482,4 g/mol	50 mM	DMSO	10; 20; 30; 40; 50 60; 70; 80; 90 100; 120
Silymarin	482,4 g/mol	50 mM	DMSO	10; 20; 30; 40; 50 60; 70; 80; 90 100; 120
Rosmarinsäure	360,34 g/mol	100 mM	Wasser	20; 50; 80; 120; 200; 250; 300; 400; 500
			DMSO	120; 150
5-Fluorouracil	130,08 g/mol	5 mM	DMSO	2,5; 5; 10; 20

9 Literaturverzeichnis

1. Gedanken über Tod und Unsterblichkeit von Marcus Tullius Cicero | ISBN 978-3-7873-0023-5 | Fachbuch online kaufen - Lehmanns.de. Accessed July 29, 2024. <https://www.lehmanns.de/shop/geisteswissenschaften/31452210-9783787300235-gedanken-ueber-tod-und-unsterblichkeit>
2. Wie ein Naturstoff die Zellteilung hemmt. Accessed July 29, 2024. <https://medienportal.univie.ac.at/uniview/forschung/detailansicht/artikel/wie-ein-naturstoff-die-zellteilung-hemmt/>
3. Mushtaq S, Abbasi BH, Uzair B, Abbasi R. Natural products as reservoirs of novel therapeutic agents. *EXCLI J* 17Doc420 ISSN 1611-2156. Published online 2018. doi:10.17179/EXCLI2018-1174
4. Butler MS, Capon RJ, Blaskovich MAT, Henderson IR. Natural product-derived compounds in clinical trials and drug approvals. *Nat Prod Rep*. Published online 2026:10.1039.D5NP00031A. doi:10.1039/D5NP00031A
5. Dias DA, Urban S, Roessner U. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. *Metabolites*. 2012;2(2):303-336. doi:10.3390/metabo2020303
6. the International Natural Product Sciences Taskforce, Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM, Supuran CT. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(3):200-216. doi:10.1038/s41573-020-00114-z
7. Hänsel R, Sticher O, Steinegger E, eds. *Pharmakognosie - Phytopharmazie: mit 182 Tabellen*. 9., überarb. und aktualisierte Aufl. Springer Medizin; 2010.
8. Ludwig-Müller J, Gutzeit H. *Biologie von Naturstoffen: Synthese, biologische Funktionen und Bedeutung für die Gesundheit*. Ulmer; 2014.
9. Schneider G, Dingermann T, eds. *Arzneidrogen*. 5. Aufl. Elsevier, Spektrum Akad. Verl; 2004.
10. Sticher O, Heilmann J, Zündorf I, Hänsel R, Steinegger E, eds. *Pharmakognosie - Phytopharmazie*. 10., völlig neu bearbeitete Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 2015.
11. Dingermann T, Schneider G, eds. *Arzneidrogen*. 5. Aufl., Nachdr. Spektrum, Akad. Verl; 2011.
12. Harmine | C13H12N2O. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444445.html>
13. Glucobrassicin | C16H20N2O9S2. Accessed January 11, 2026. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.570890.html>
14. Shikonin | C16H16O5. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.420739.html>
15. emodol | C15H10O5. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3107.html>
16. Silibinin | C25H22O10. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.29263.html>

17. AGARICIN | C22H40O7. Accessed December 21, 2025.
<https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.12108.html>
18. sanggenon C | C40H36O12. Accessed December 21, 2025.
<https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.23267362.html>
19. (±)-Rosmarinic acid | C18H16O8. Accessed December 21, 2025.
<https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4474888.html>
20. Bui TT, Suga K, Umakoshi H. Roles of Sterol Derivatives in Regulating the Properties of Phospholipid Bilayer Systems. *Langmuir*. 2016;32(24):6176-6184. doi:10.1021/acs.langmuir.5b04343
21. Xi Y, Yani Z, Jing M, et al. Mechanisms of induction of tumors by cholesterol and potential therapeutic prospects. *Biomed Pharmacother*. 2021;144:112277. doi:10.1016/j.biopha.2021.112277
22. Yang Y, Luo X, Yasheng M, Zhao J, Li J, Li J. Ergosterol peroxide from *Pleurotus ferulae* inhibits gastrointestinal tumor cell growth through induction of apoptosis via reactive oxygen species and endoplasmic reticulum stress. *Food Funct*. 2020;11(5):4171-4184. doi:10.1039/C9FO02454A
23. Taank Y, Agnihotri N. Exploring the anticancer potential of ergosterol and ergosta-5,22,25-triene-3-ol against colorectal cancer: Insights from experimental models and molecular mechanisms. *Biochem Pharmacol*. 2025;240:117061. doi:10.1016/j.bcp.2025.117061
24. Araújo-Filho HGD, Dos Santos JF, Carvalho MTB, et al. Anticancer activity of limonene: A systematic review of target signaling pathways. *Phytother Res*. 2021;35(9):4957-4970. doi:10.1002/ptr.7125
25. Zhang Q, Chen WW, Sun X, et al. The versatile emodin: A natural easily acquired anthraquinone possesses promising anticancer properties against a variety of cancers. *Int J Biol Sci*. 2022;18(8):3498-3527. doi:10.7150/ijbs.70447
26. Martinez M, Diaz I. Plant Cyanogenic-Derived Metabolites and Herbivore Counter-Defences. *Plants*. 2024;13(9):1239. doi:10.3390/plants13091239
27. El-Desouky MA, Fahmi AA, Abdelkader IY, Nasraldin KM. Anticancer Effect of Amygdalin (Vitamin B-17) on Hepatocellular Carcinoma Cell Line (HepG2) in the Presence and Absence of Zinc. *Anticancer Agents Med Chem*. 2020;20(4):486-494. doi:10.2174/1871520620666200120095525
28. Su X, Jiang X, Meng L, Dong X, Shen Y, Xin Y. Anticancer Activity of Sulforaphane: The Epigenetic Mechanisms and the Nrf2 Signaling Pathway. Singhal SS, ed. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018(1):5438179. doi:10.1155/2018/5438179
29. Xin R, Shen B, Huang ZY, et al. Research Progress in Elucidating the Mechanisms Underlying Resveratrol Action on Lung Cancer. *Curr Pharm Biotechnol*. 2023;24(3):427-437. doi:10.2174/1389201023666220818085945
30. Mantle D, Dewsbury M, Hargreaves IP. The Ubiquinone-Ubiquinol Redox Cycle and Its Clinical Consequences: An Overview. *Int J Mol Sci*. 2024;25(12):6765. doi:10.3390/ijms25126765
31. Dempke W, ed. *Lehrbuch Hämato-Onkologie: Hämatologie - Onkologie - Hämostaseologie*. 1. Aufl. Huber; 2006.

32. El-Tanani M, Nsairat H, Matalka II, et al. The impact of the BCR-ABL oncogene in the pathology and treatment of chronic myeloid leukemia. *Pathol - Res Pract*. 2024;254:155161. doi:10.1016/j.prp.2024.155161
33. Worthylake R, Opresko LK, Wiley HS. ErbB-2 Amplification Inhibits Down-regulation and Induces Constitutive Activation of Both ErbB-2 and Epidermal Growth Factor Receptors. *J Biol Chem*. 1999;274(13):8865-8874. doi:10.1074/jbc.274.13.8865
34. Krump NA, You J. Molecular mechanisms of viral oncogenesis in humans. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(11):684-698. doi:10.1038/s41579-018-0064-6
35. Kang BW, Kim JG, Lee IH, Bae HI, Seo AN. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes for gastric cancer in the era of immunology. *World J Gastrointest Oncol*. 2017;9(7):293. doi:10.4251/wjgo.v9.i7.293
36. Kwok G, Yau TCC, Chiu JW, Tse E, Kwong YL. Pembrolizumab (Keytruda). *Hum Vaccines Immunother*. 2016;12(11):2777-2789. doi:10.1080/21645515.2016.1199310
37. Gutiérrez-Martínez A, Sew WQG, Molano-Fernández M, Carretero-Junquera M, Herranz H. Mechanisms of oncogenic cell competition—Paths of victory. *Semin Cancer Biol*. 2020;63:27-35. doi:10.1016/j.semcancer.2019.05.015
38. Zinatizadeh MR, Miri SR, Zarandi PK, et al. The Hippo Tumor Suppressor Pathway (YAP/TAZ/TEAD/MST/LATS) and EGFR-RAS-RAF-MEK in cancer metastasis. *Genes Dis*. 2021;8(1):48-60. doi:10.1016/j.gendis.2019.11.003
39. Pavlova NN, Zhu J, Thompson CB. The hallmarks of cancer metabolism: Still emerging. *Cell Metab*. 2022;34(3):355-377. doi:10.1016/j.cmet.2022.01.007
40. Brault C, Schulze A. The Role of Glucose and Lipid Metabolism in Growth and Survival of Cancer Cells. In: Cramer T, A. Schmitt C, eds. *Metabolism in Cancer*. Vol 207. Recent Results in Cancer Research. Springer International Publishing; 2016:1-22. doi:10.1007/978-3-319-42118-6_1
41. Pansy K, Uhl B, Krstic J, et al. Immune Regulatory Processes of the Tumor Microenvironment under Malignant Conditions. *Int J Mol Sci*. 2021;22(24):13311. doi:10.3390/ijms222413311
42. Cova TFGG, Bento DJ, Nunes SCC. Computational Approaches in Theranostics: Mining and Predicting Cancer Data. *Pharmaceutics*. 2019;11(3):119. doi:10.3390/pharmaceutics11030119
43. Pizzolato JF, Saltz LB. The camptothecins. *The Lancet*. 2003;361(9376):2235-2242. doi:10.1016/s0140-6736(03)13780-4
44. Dhyani P, Quispe C, Sharma E, et al. Anticancer potential of alkaloids: a key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. *Cancer Cell Int*. 2022;22(1). doi:10.1186/s12935-022-02624-9
45. Markman M, Mekhail TM. Paclitaxel in cancer therapy. *Expert Opin Pharmacother*. 2002;3(6):755-766. doi:10.1517/14656566.3.6.755
46. Singla AK, Garg A, Aggarwal D. Paclitaxel and its formulations. *Int J Pharm*. 2002;235(1-2):179-192. doi:10.1016/s0378-5173(01)00986-3

47. Wang Y, Liu Y, Du X, Ma H, Yao J. The Anti-Cancer Mechanisms of Berberine: A Review. *Cancer Manag Res.* 2020;Volume 12:695-702. doi:10.2147/CMAR.S242329
48. Vinca Alkaloids as Chemotherapeutic Agents Against Breast Cancer. In: *Discovery and Development of Anti-Breast Cancer Agents from Natural Products*. Elsevier; 2021:69-101. doi:10.1016/b978-0-12-821277-6.00004-0
49. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J Nat Prod.* 2012;75(3):311-335. doi:10.1021/np200906s
50. Chavda VP, Ertas YN, Walhekar V, et al. Advanced Computational Methodologies Used in the Discovery of New Natural Anticancer Compounds. *Front Pharmacol.* 2021;12. doi:10.3389/fphar.2021.702611
51. Curcumin | C₂₁H₂₀O₆. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4445080.html>
52. Giordano A, Tommonaro G. Curcumin and Cancer. *Nutrients.* 2019;11(10):2376. doi:10.3390/nu11102376
53. Abdel-Lateef E, Mahmoud F, Hammam O, et al. Bioactive chemical constituents of *Curcuma longa* L. rhizomes extract inhibit the growth of human hepatoma cell line (HepG2). *Acta Pharm.* 2016;66(3):387-398. doi:10.1515/acph-2016-0028
54. Yue GGL, Chan BCL, Hon PM, et al. Evaluation of in vitro anti-proliferative and immunomodulatory activities of compounds isolated from *Curcuma longa*. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(8-9):2011-2020. doi:10.1016/j.fct.2010.04.039
55. Fiala M. Curcumin and Omega-3 Fatty Acids Enhance NK Cell-Induced Apoptosis of Pancreatic Cancer Cells but Curcumin Inhibits Interferon- γ Production: Benefits of Omega-3 with Curcumin against Cancer. *Molecules.* 2015;20(2):3020-3026. doi:10.3390/molecules20023020
56. vincristine. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5758.html>
57. Johnson IS, Armstrong JG, Gorman M, Burnett JP. THE VINCA ALKALOIDS: A NEW CLASS OF ONCOLYTIC AGENTS. *Cancer Res.* 1963;23:1390-1427.
58. Dhamodharan R, Jordan MA, Thrower D, Wilson L, Wadsworth P. Vinblastine suppresses dynamics of individual microtubules in living interphase cells. *Mol Biol Cell.* 1995;6(9):1215-1229. doi:10.1091/mbc.6.9.1215
59. Groninger E, Meeuwssen-de Boer T, Koopmans P, et al. Pharmacokinetics of Vincristine Monotherapy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Res.* 2002;52(1):113-118. doi:10.1203/00006450-200207000-00021
60. Wani MC, Taylor HL, Wall ME, Coggon P, McPhail AT. Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J Am Chem Soc.* 1971;93(9):2325-2327. doi:10.1021/ja00738a045
61. Zhu L, Chen L. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy. *Cell Mol Biol Lett.* 2019;24(1). doi:10.1186/s11658-019-0164-y
62. Baloglu E, Kingston DGI. A New Semisynthesis of Paclitaxel from Baccatin III. *J Nat Prod.* 1999;62(7):1068-1071. doi:10.1021/np990040k

63. Israyilova A, Peykova TZ, Kittleson B, Sprowl PC, Mohammed TO, Quave CL. From Plant to Patient: A Historical Perspective and Review of Selected Medicinal Plants in Dermatology. *JID Innov.* 2025;5(1):100321. doi:10.1016/j.xjidi.2024.100321
64. Nadora D, Ezzati S, Bol B, Aboud O. Serendipity in Neuro-Oncology: The Evolution of Chemotherapeutic Agents. *Int J Mol Sci.* 2025;26(7):2955. doi:10.3390/ijms26072955
65. Etoposide | C29H32O13. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.33510.html>
66. Bailly C. Etoposide: A rider on the cytokine storm. *Cytokine.* 2023;168:156234. doi:10.1016/j.cyto.2023.156234
67. Canel C, Moraes RM, Dayan FE, Ferreira D. Podophyllotoxin. *Phytochemistry.* 2000;54(2):115-120. doi:10.1016/s0031-9422(00)00094-7
68. Mattioli R, Ilari A, Colotti B, Mosca L, Fazi F, Colotti G. Doxorubicin and other anthracyclines in cancers: Activity, chemoresistance and its overcoming. *Mol Aspects Med.* 2023;93:101205. doi:10.1016/j.mam.2023.101205
69. Arwanih EY, Louisa M, Rinaldi I, Wanandi SI. Resistance Mechanism of Acute Myeloid Leukemia Cells Against Daunorubicin and Cytarabine: A Literature Review. *Cureus.* Published online December 31, 2022. doi:10.7759/cureus.33165
70. Pang B, De Jong J, Qiao X, Wessels LFA, Neeffjes J. Chemical profiling of the genome with anti-cancer drugs defines target specificities. *Nat Chem Biol.* 2015;11(7):472-480. doi:10.1038/nchembio.1811
71. Van Der Zanden SY, Qiao X, Neeffjes J. New insights into the activities and toxicities of the old anticancer drug doxorubicin. *FEBS J.* 2021;288(21):6095-6111. doi:10.1111/febs.15583
72. Hofseth LJ, Ying L. Identifying and defusing weapons of mass inflammation in carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer.* 2006;1765(1):74-84. doi:10.1016/j.bbcan.2005.08.005
73. Nishida A, Andoh A. The Role of Inflammation in Cancer: Mechanisms of Tumor Initiation, Progression, and Metastasis. *Cells.* 2025;14(7):488. doi:10.3390/cells14070488
74. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell.* 2010;140(6):883-899. doi:10.1016/j.cell.2010.01.025
75. Rayburn E. Anti-Inflammatory Agents for Cancer Therapy. *Mol Cell Pharmacol.* 2009;1(1):29-43. doi:10.4255/mcpharmacol.09.05
76. Eschenhagen T, Oetjen E. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Lehrbuch und Nachschlagewerk für Studierende der Medizin, Zahnmedizin, Pharmazie und Veterinärmedizin, für Ärzte, Zahnärzte, Apotheker und Tierärzte sowie für Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler verwandter Disziplinen.* 13. Auflage. (Aktories K, Flockerzi V, Förstermann U, et al., eds.). Elsevier; 2022.
77. Bujak R, Struck-Lewicka W, Markuszewski MJ, Kaliszan R. Metabolomics for laboratory diagnostics. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;113:108-120. doi:10.1016/j.jpba.2014.12.017
78. sanggenon D | C40H36O12. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.24534163.html>

79. Di Costanzo A, Angelico R. Formulation Strategies for Enhancing the Bioavailability of Silymarin: The State of the Art. *Molecules*. 2019;24(11):2155. doi:10.3390/molecules24112155
80. Fluorouracil | C4H3FN2O2. Accessed December 21, 2025. <https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3268.html>
81. Kuroda K, Komori T, Ishibashi K, et al. Non-aqueous, zwitterionic solvent as an alternative for dimethyl sulfoxide in the life sciences. *Commun Chem*. 2020;3(1):163. doi:10.1038/s42004-020-00409-7
82. Diasio RB, Harris BE. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin Pharmacokinet*. 1989;16(4):215-237. doi:10.2165/00003088-198916040-00002
83. Yuan J, Khan SU, Yan J, Lu J, Yang C, Tong Q. Baicalin enhances the efficacy of 5-Fluorouracil in gastric cancer by promoting ROS-mediated ferroptosis. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. 2023;164:114986. doi:10.1016/j.biopha.2023.114986
84. Cardona-G W, Herrera-R A, Castrillón-L W, Ramírez-Malule H. Chemistry and Anticancer Activity of Hybrid Molecules and Derivatives based on 5-Fluorouracil. *Curr Med Chem*. 2021;28(27):5551-5601. doi:10.2174/0929867328666210211164314
85. Ciaffaglione V, Modica MN, Pittalà V, Romeo G, Salerno L, Intagliata S. Mutual Prodrugs of 5-Fluorouracil: From a Classic Chemotherapeutic Agent to Novel Potential Anticancer Drugs. *ChemMedChem*. 2021;16(23):3496-3512. doi:10.1002/cmdc.202100473
86. Sharifi-Rad J, Herrera-Bravo J, Kamiloglu S, et al. Recent advances in the therapeutic potential of emodin for human health. *Biomed Pharmacother*. 2022;154:113555. doi:10.1016/j.biopha.2022.113555
87. *Biogene Arzneimittel Ein Lehrbuch der Pharmazeutischen Biologie*. 7. neu bearbeitete und erweiterte Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart; 2012.
88. Chen D, Liu J, Lu L, et al. Emodin attenuates TNF- α -induced apoptosis and autophagy in mouse C2C12 myoblasts through the phosphorylation of Akt. *Int Immunopharmacol*. 2016;34:107-113. doi:10.1016/j.intimp.2016.02.023
89. Han JW, Shim DW, Shin WY, et al. Anti-Inflammatory Effect of Emodin via Attenuation of NLRP3 Inflammasome Activation. *Int J Mol Sci*. 2015;16(4):8102-8109. doi:10.3390/ijms16048102
90. Park SY, Jin ML, Ko MJ, Park G, Choi YW. Anti-neuroinflammatory Effect of Emodin in LPS-Stimulated Microglia: Involvement of AMPK/Nrf2 Activation. *Neurochem Res*. 2016;41(11):2981-2992. doi:10.1007/s11064-016-2018-6
91. Dong X, Ni B, Fu J, et al. Emodin induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepaRG cells via the mitochondrial caspase-dependent pathway. *Oncol Rep*. Published online August 2, 2018. doi:10.3892/or.2018.6620
92. Lu J, Xu Y, Wei X, Zhao Z, Xue J, Liu P. Emodin Inhibits the Epithelial to Mesenchymal Transition of Epithelial Ovarian Cancer Cells via ILK/GSK-3 β /Slug Signaling Pathway. *BioMed Res Int*. 2016;2016:1-16. doi:10.1155/2016/6253280
93. Ma Q, Ding Y, Wu Z, Li Y. Antitumor effects of emodin in CACO-2 human colon carcinoma cells are mediated via apoptosis, cell cycle arrest and downregulation of PI3K/AKT signalling pathway. *J BUON Off J Balk Union Oncol*. 2018;23(3):587-591.

94. Kim YS, Lee YM, Oh TI, et al. Emodin Sensitizes Hepatocellular Carcinoma Cells to the Anti-Cancer Effect of Sorafenib through Suppression of Cholesterol Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2018;19(10):3127. doi:10.3390/ijms19103127
95. An S, Bing SJ, Cho J, et al. Emodin induces apoptosis of concanavalin A-stimulated murine splenocytes. *Food Sci Biotechnol.* 2016;25(6):1693-1700. doi:10.1007/s10068-016-0260-y
96. Guo C, He J, Song X, et al. Pharmacological properties and derivatives of shikonin—A review in recent years. *Pharmacol Res.* 2019;149:104463. doi:10.1016/j.phrs.2019.104463
97. Wang F, Mayca Pozo F, Tian D, et al. Shikonin Inhibits Cancer Through P21 Upregulation and Apoptosis Induction. *Front Pharmacol.* 2020;11:861. doi:10.3389/fphar.2020.00861
98. García N, Zazueta C, Pavón N, Chávez E. Agaric acid induces mitochondrial permeability transition through its interaction with the adenine nucleotide translocase. Its dependence on membrane fluidity. *Mitochondrion.* 2005;5(4):272-281. doi:10.1016/j.mito.2005.05.002
99. Dong X, Fu J, Yin X, et al. Emodin: A Review of its Pharmacology, Toxicity and Pharmacokinetics. *Phytother Res.* 2016;30(8):1207-1218. doi:10.1002/ptr.5631
100. Lories B, Belpaire TER, Yssel A, Ramon H, Steenackers HP. Agaric acid reduces Salmonella biofilm formation by inhibiting flagellar motility. *Biofilm.* 2020;2:100022. doi:10.1016/j.bioflm.2020.100022
101. Moloudizargari M, Mikaili P, Aghajanshakeri S, Asghari M, Shayegh J. Pharmacological and therapeutic effects of Peganum harmala and its main alkaloids. *Pharmacogn Rev.* 2013;7(14):199. doi:10.4103/0973-7847.120524
102. Herraiz T, González D, Ancín-Azpilicueta C, Arán VJ, Guillén H. β -Carboline alkaloids in Peganum harmala and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food Chem Toxicol.* 2010;48(3):839-845. doi:10.1016/j.fct.2009.12.019
103. Nafie E, Lolarga J, Lam B, et al. Harmine inhibits breast cancer cell migration and invasion by inducing the degradation of Twist1. Samant R, ed. *PLOS ONE.* 2021;16(2):e0247652. doi:10.1371/journal.pone.0247652
104. Lin Z, Gan T, Huang Y, et al. Anti-Inflammatory Activity of Mulberry Leaf Flavonoids In Vitro and In Vivo. *Int J Mol Sci.* 2022;23(14):7694. doi:10.3390/ijms23147694
105. Eo HJ, Park JH, Park GH, et al. Anti-inflammatory and anti-cancer activity of mulberry (*Morus alba* L.) root bark. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14(1):200. doi:10.1186/1472-6882-14-200
106. Gu Y, Gao L, Chen Y, et al. Sanggenon C protects against cardiomyocyte hypoxia injury by increasing autophagy. *Mol Med Rep.* 2017;16(6):8130-8136. doi:10.3892/mmr.2017.7646
107. Li X, Ren Z, Wu Z, et al. Steric Effect of Antioxidant Diels-Alder-Type Adducts: A Comparison of Sanggenon C with Sanggenon D. *Molecules.* 2018;23(10):2610. doi:10.3390/molecules23102610
108. Schwarzingner J, Adelsberger S, Ortmayr K, et al. Biopharmaceutical profiling of anti-infective sanggenons from *Morus alba* root bark for inhalation administration. *Int J Pharm X.* 2024;8:100272. doi:10.1016/j.ijpx.2024.100272

109. Hu X, Li J, Yu L, et al. Screening of anti-melanoma compounds from *Morus alba* L.: Sanggenon C promotes melanoma cell apoptosis by disrupting intracellular Ca²⁺ homeostasis. *J Ethnopharmacol.* 2024;324:117759. doi:10.1016/j.jep.2024.117759
110. Liu J. Sanggenon C decreases tumor cell viability associated with proteasome inhibition. *Front Biosci.* 2011;E3(4):1315-1325. doi:10.2741/e335
111. Chen X, Han Y, Chen L, et al. Discovery and characterization of the flavonoids in Cortex Mori Radicis as naturally occurring inhibitors against intestinal nitroreductases. *Chem Biol Interact.* 2022;368:110222. doi:10.1016/j.cbi.2022.110222
112. Polachi N, Bai G, Li T, et al. Modulatory effects of silibinin in various cell signaling pathways against liver disorders and cancer – A comprehensive review. *Eur J Med Chem.* 2016;123:577-595. doi:10.1016/j.ejmech.2016.07.070
113. Singh R, Agarwal R. Prostate Cancer Prevention by Silibinin. *Curr Cancer Drug Targets.* 2004;4(1):1-11. doi:10.2174/1568009043481605
114. Vargas-Mendoza N. Hepatoprotective effect of silymarin. *World J Hepatol.* 2014;6(3):144. doi:10.4254/wjh.v6.i3.144
115. Koltai T, Fliegel L. Role of Silymarin in Cancer Treatment: Facts, Hypotheses, and Questions. *J Evid-Based Integr Med.* 2022;27:2515690X211068826. doi:10.1177/2515690X211068826
116. Luo C, Zou L, Sun H, et al. A Review of the Anti-Inflammatory Effects of Rosmarinic Acid on Inflammatory Diseases. *Front Pharmacol.* 2020;11:153. doi:10.3389/fphar.2020.00153
117. Ngo YL, Lau CH, Chua LS. Review on rosmarinic acid extraction, fractionation and its anti-diabetic potential. *Food Chem Toxicol.* 2018;121:687-700. doi:10.1016/j.fct.2018.09.064
118. Messeha SS, Zarmouh NO, Asiri A, Soliman KFA. Rosmarinic acid-induced apoptosis and cell cycle arrest in triple-negative breast cancer cells. *Eur J Pharmacol.* 2020;885:173419. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173419
119. Basiglio CL, Sánchez Pozzi EJ, Mottino AD, Roma MG. Differential effects of silymarin and its active component silibinin on plasma membrane stability and hepatocellular lysis. *Chem Biol Interact.* 2009;179(2-3):297-303. doi:10.1016/j.cbi.2008.12.008

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Chemische Struktur von Curcumin.....	14
Abbildung 2 Chemische Struktur von Vincristin	14
Abbildung 3 Chemische Struktur von Paclitaxel.....	15
Abbildung 4 Chemische Struktur von Etoposid	16
Abbildung 5 Chemische Struktur von Daunorubicin	16
Abbildung 6 Zellwachstumskurve der A549-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von DMSO, aufgenommen mittels automatisierter Hellfeld-Mikroskopie in einem TECAN Spark Cyto Plattenleser	24
Abbildung 7 Chemische Struktur von 5-FU.....	24
Abbildung 8 Wachstumskurven der A549-Zellen nach Behandlung mit vier unterschiedlichen Konzentrationen von 5-Fluorouracil.....	25
Abbildung 9 Chemische Struktur von Emodin	25
Abbildung 10 Zellwachstumskurve der A549-Zellen unter Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von Emodin.	26
Abbildung 11 Zellwachstumskurve der A549- Zellen bei optimierten Emodin-Konzentrationen...	27
Abbildung 12 Chemische Struktur von Shikonin	27
Abbildung 13 Einfluss mehrerer Shikonin-Konzentrationen auf die Proliferation der A549-Zellen.	28
Abbildung 14 Zellwachstumskurve von A549-Zellen bei optimierten Konzentrationen an Shikonin.	28
Abbildung 15 Chemische Struktur von Agaricinsäure	29
Abbildung 16 Zellwachstum von A549-Zellen bei verschiedenen Konzentrationen von Agaricinsäure.....	30
Abbildung 20 Chemische Struktur von Sanggenon C	32
Abbildung 19 Chemische Struktur von Sanggenon D.....	32
Abbildung 21 Einfluss unterschiedlicher Sanggenon C-Konzentrationen auf die Proliferation der A549-Zelle.....	33
Abbildung 22 Zellkonfluenz von zwei Konzentrationen von Sanggenon C	34
Abbildung 23 Zellwachstumskurven der A549-Zellen nach Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von Sanggenon D.....	35
Abbildung 24 Zellwachstumskurve von A549-Zellen nach Behandlung mit zwei Konzentrationen von Sanggenon D	36
Abbildung 26 Einfluss unterschiedlicher Silibinin-Konzentrationen auf die Proliferation der A549-Zellen.....	37
Abbildung 27 Zellwachstumskurven von A549-Zellen mit zwei Konzentrationen von Silibinin...	38

Abbildung 28 Zellwachstumskurven von A549-Zellen bei verschiedenen Konzentrationen von Silymarin	39
Abbildung 29 Wachstumskurve der A549-Zellen nach Behandlung mit Konzentrationen von Silymarin	40
Abbildung 31 Wachstumskurve der A549-Zellen nach Behandlung mit unterschiedlichen Konzentrationen von Rosmarinsäure.....	41
Abbildung 32 Zellwachstumskurve der A549-Zellen mit zwei Konzentrationen von Rosmarinsäure	42
Abbildung 33 Zellwachstumskurven von A549-Zellen mit je zwei Vertretern von allen ausgewählten Substanzklassen.....	43
Abbildung 34 Ausmaß der Hemmung zwei ausgewählten Konzentrationen eines Vertreters der einzelnen chemischen Gruppen auf die Proliferation von A549-Zellen	46

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht der ausgewählten Substanzen, die die chemische Vielfalt verschiedener Stoffklassen veranschaulichen.....	8
Tabelle 2 Übersicht ausgewählter Klassen von Sekundärmetaboliten und beispielhafte Wirkung auf Krebszellen ⁸	10
Tabelle 3 Übersicht der ausgewählten Testsubstanzen	21
Tabelle 4 Schematische Übersicht einer 96-Well-Platte mit unterschiedlichen Konzentrationen der Prüfsubstanz	54
Tabelle 5 Charakterisierung der eingesetzten Naturstoffe: Molekulargewicht, Konzentration der Stammlösungen, verwendete Lösungsmittel und Endkonzentrationen im Medium	55