

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie  
der Universität Würzburg

**Direktor: Univ. - Prof. Dr. med. Dr. h.c.  
Norbert Roewer**

Antiinflammatorische Effekte von Anthocyanen und Anthocyanidinen

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von  
Sarah Stöckl  
aus Diedorf

Würzburg, März 2018

**Referent:** Prof. Dr. med. Jens-Albert Broscheit  
**Korreferent:** Univ.- Prof. Dr. rer. nat. Manfred Lutz  
**Dekan:** Prof. Dr. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung: 16.04.2019**

**Die Promovendin ist Ärztin.**

## Inhalt

1. Einleitung .....	1
2. Material und Methoden .....	2
2.1 Biochemie der Anthocyane und Anthocyanidine .....	2
2.2 Verwendung von Anthocyanen und Anthocyanidinen .....	16
2.3 Pathophysiologie einer Entzündungsreaktion .....	17
2.4 Antiinflammatorische Therapie .....	26
2.5 Literatursuche .....	30
2.6 Auswertung der Daten .....	34
3. Ergebnisse .....	38
3.1 Ergebnisse aller Tierversuche .....	38
3.2 Ergebnisse aller Zellkulturen .....	40
3.3 Ergebnisse für COX-2 .....	41
3.4 Ergebnisse für TNF- $\alpha$ .....	42
3.5 Ergebnisse für I $\kappa$ -B $\alpha$ .....	43
3.6 Ergebnisse für NF- $\kappa$ B .....	44
3.7 Ergebnisse für IL-6 .....	45
3.8 Ergebnisse für NO .....	47
3.9 Ergebnisse für iNOS .....	48
4. Diskussion .....	49
4.1 Wie sind die statistischen Ergebnisse der Tierversuche zu erklären? .....	49
4.2 Warum wirkt PDG besser als DP und C3G? .....	52
4.3 Warum wirkt Luteolin besser als Cyanidin?.....	56

4.4 Statistische Limitation: Annahme gleicher Studienbedingungen....	58
4.5 Mögliche Fehlerquellen .....	59
5. Zusammenfassung .....	61
6. Statistik .....	63
6.1 Statistik aller Tierversuche .....	63
6.2 Statistik aller Zellversuche .....	73
6.3 Statistik COX-2 .....	85
6.4 Statistik TNF- $\alpha$ .....	96
6.5 Statistik Ik-B $\alpha$ .....	107
6.6 Statistik NF- $\kappa$ B.....	113
6.7 Statistik IL-6.....	123
6.8 Statistik NO.....	133
6.9 Statistik iNOS.....	143
7. Literaturverzeichnis .....	154
8. Abbildungsverzeichnis.....	158
9. Tabellenverzeichnis.....	159
10. Abkürzungsverzeichnis.....	163
11. Anhang .....	165

## 1. Einleitung

Anthocyane kommen in vielen Pflanzen als wasserlösliche Farbstoffe vor und geben damit Früchten und Blüten ihre rote oder violette bis blauschwarze Färbung. Ihr Name setzt sich aus den griechischen Begriffen „anthos“ für „Blüte, Blume“ und „kyanos“ für „blau, dunkelfarbig“ zusammen. Diese Farbgebung durch Anthocyane erweist sich für die Pflanzen in zwei Hinsichten als nützlich: Zum einen scheint eine dunkle Färbung von Blättern und Blüten die Pflanzen durch eine starke Absorption des Lichts vor einer Zellschädigung durch UV-Strahlung zu schützen [2]. Zum anderen ist eine auffällige Färbung für Pflanzen wichtig, da dadurch Tiere angelockt werden, die für eine Verteilung ihrer Samen sorgen [3].

Doch auch für den Menschen scheinen diese Stoffe positive Effekte zu entfalten. Der tägliche Verzehr von Anthocyanen ist in den USA mit einer geschätzten Menge von 180 – 215 mg pro Tag [4-6] höher als die tägliche Aufnahme anderer Flavonoide, wie zum Beispiel Quercetin, Kaempferol, Apigenin oder Luteolin (bis zu 23 mg pro Tag) [7]. Neben ihrer Eigenschaft als Farbstoffe, die auch die Getränke- und Lebensmittelindustrie sich zu Nutze macht [3], scheinen Anthocyane jedoch auch gesundheitsfördernde Effekte aufzuweisen, die sie mittlerweile in den Fokus medizinischen Interesses gerückt haben. Trotz struktureller Unterschiede zwischen den einzelnen Anthocyanen weisen diese sich teilweise ergänzende oder sogar identische Mechanismen auf, die Infektionskrankheiten, Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder neurologischen Krankheitsbildern vorbeugen könnten. Darunter zählen zum Beispiel antioxidative, antibakterielle und antivirale sowie antiangiogenetische Eigenschaften, eine Unterstützung des Immunsystems, Reduktion der Thrombozytenaggregation und einer arteriellen Hypertonie und positive Beeinflussung des Lipidstoffwechsels [5]. Daneben werden Extrakte aus Beeren schon seit vielen Jahren als Hausmittel gegen Entzündungen eingesetzt. Besonders bekannt ist die Verwendung von Preiselbeer- oder Cranberrysaft zur Vorbeugung von Harnwegsinfekten, was auch Eingang in die „DEGAM-Leitlinie Nr. 1 2009: Brennen beim Wasserlassen“ [8] gefunden hat. Unter Berufung auf einen Review von Jepson et al. 2004 [9] wird darin

berichtet, dass der Verzehr von Cranberries einem Rezidiv-Harnwegsinfekt vorzubeugen scheint, jedoch seien genaue Untersuchungen bezüglich Art und Dosierung der Applikation noch ausstehend.

Um diese Punkte zu klären, sind Übersichtsarbeiten wie die hier vorliegende nötig. Durch eine statistische Auswertung von Daten aus der Grundlagenforschung können vergleichbare Werte produziert werden, aus denen sich Anhaltspunkte bezüglich einer zukünftigen, geeigneten antiinflammatorischen Anwendung von Anthocyanen ergeben. Es ist daher von großem wissenschaftlichen Interesse, diese Stoffe, die jeder Mensch täglich verzehrt und die potentiell gesundheitsfördernde Eigenschaften aufweisen, in ihrer Wirkung und Dosierung genau zu analysieren. In einem Zeitalter, in dem die Bekämpfung antibiotikaresistenter Erreger immer mehr zu einem Problem wird und die Entwicklung von neuen antiinflammatorischen Medikamenten zuletzt mit einer Reihe an unerwünschten Arzneimittelwirkungen zu kämpfen hatte (siehe 2.4 Antiinflammatorische Therapie), müssen für entzündliche Erkrankungen neue Therapieansätze gefunden werden.

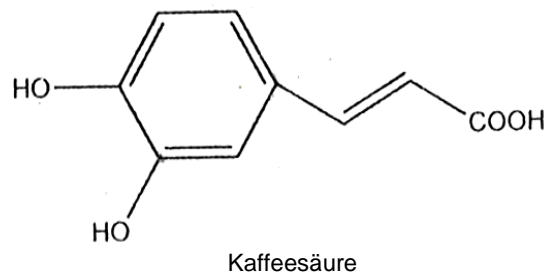
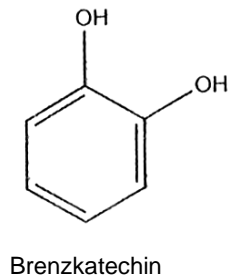
Die zentrale Fragestellung dieser Arbeit lautet also: Können aus den vorhandenen Daten aus der Grundlagenforschung im statistischen Vergleich geeignete Dosierungen berechnet werden, und gibt es Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Anthocyane und ihrer Aglykone, den Anthocyanidinen?

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Biochemie der Anthocyane und Anthocyanidine**

Anthocyane gehören zu den Verbindungen der Pflanzenphenole, die wiederum neben Carotinoiden und Phytoöstrogenen zu den sekundären Pflanzenstoffen zählen. Beispiele für Pflanzenphenole sind das Brenzkatechin, Kaffeesäure und Zimtsäure (siehe Abb.1).

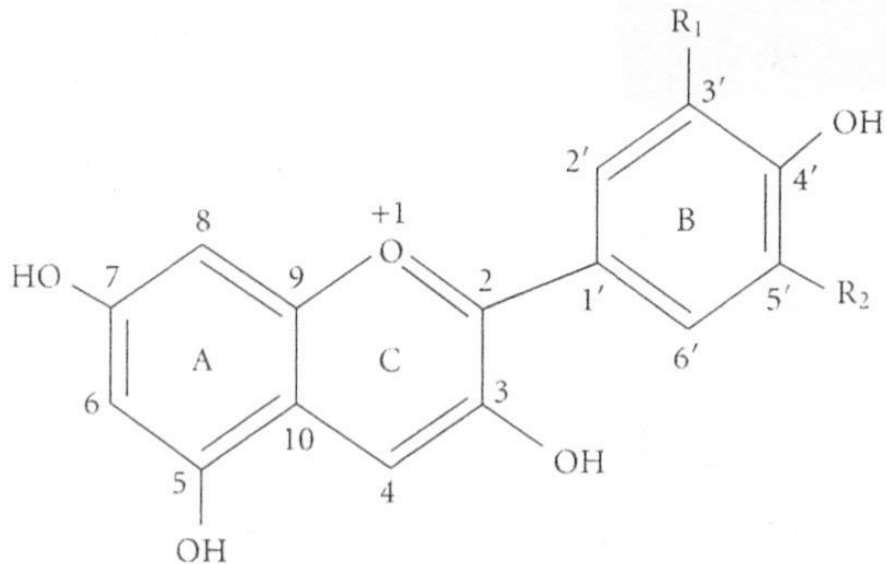
Besitzen Phenole mehr als eine OH-Gruppe, bezeichnet man sie als Polyphenole. Unter diesem Begriff werden Flavonoide (auch: Phenylchromanderivate) und Phenolsäuren zusammengefasst [10].



**Abbildung 1: Strukturformeln von Brenzkatechin (1,2-Dihydroxybenzol) und Kaffeesäure (3,4-Dihydroxycimtsäure) als Beispiele für Pflanzenphenole.**

Brenzkatechin wird als aromatischer Alkohol oder auch zweiwertiges Phenol mit der Summenformel  $C_6H_6O_2$  bezeichnet. Es besitzt zwei benachbarte, sich in ortho-Position befindende Hydroxygruppen an einem Benzolring. Brenzkatechin wird an der Umgebungsluft und bei Lichteinfall instabil und oxidiert zu 1,2-Benzochinon. Die Kaffeesäure gehört zur Gruppe der Hydroxycimtsäuren und hat die Summenformel  $C_9H_8O_4$ . Sie ist der am häufigsten vorkommende sekundäre Pflanzenstoff in Nahrung auf pflanzlicher Basis. Kaffeesäure ist in Pulverform gelblich bis grün und in heißem Wasser löslich [9].

Die Flavonoide lassen sich nun je nach Oxidationsgrad der  $C_3$ -Brücke unter anderem weiter in Flavone (z.B. Apigenin, Luteolin), Flavonole (z.B. Quercetin, Kaempferol), Flavanole (z.B. Catechine, Epicatechin), Isoflavone (z.B. Daidzein, Genistein), Flavanone (z.B. Naringenin, Hesperitin) und Anthocyanidine (Beispiele siehe unten) unterteilen. Derzeit sind insgesamt über 8000 Flavonoide beschrieben [11]. Flavone und Flavonole sind meist hellgelb, ihre Struktur leitet sich vom Chroman ab. Quercetin findet sich beispielsweise in Spargel, das Flavon Luteolin dagegen in Artischocken. Catechine sind farblos und treten als Gerbstoffe in z.B. Tee auf. Isoflavone zeigen vor allem östrogene Wirkungen [10] (siehe Tabelle 107 im Anhang).



Delphinidin,  $R_1 = R_2 = \text{OH}$

Pelargonidin,  $R_1 = R_2 = \text{H}$

Cyanidin,  $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$

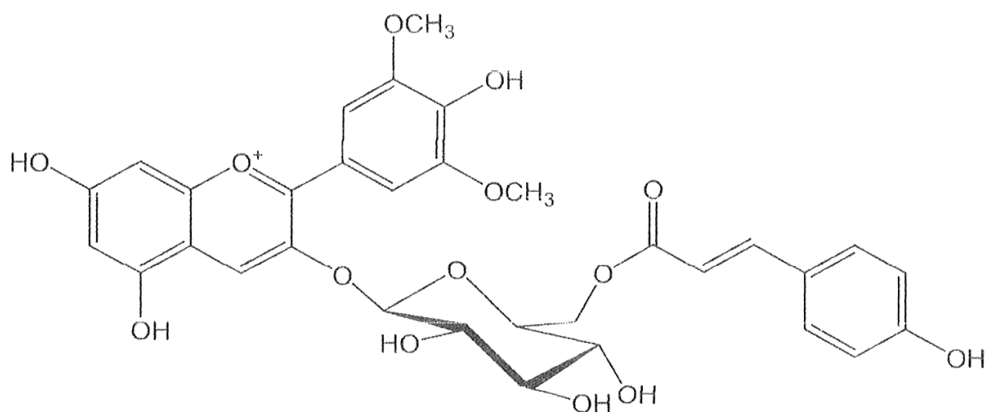
Peonidin,  $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$

Malvidin,  $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

Petunidin,  $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}$

### Abbildung 2: Strukturformel Anthocyanidine

Das Grundgerüst von Anthocyanidinen setzt sich aus einem Pyranring (C) mit einem ankondensiertem Benzolring (A, zusammen auch als „Benzopyran“ bezeichnet), sowie einem Phenylrest an Position 2 zusammen, welcher verschiedene Substituenten tragen kann (B). Je nach Substituent an  $R_1$  oder  $R_2$  ergeben sich die verschiedenen Anthocyanidine. Als Ausgleichsion zum kationischen Sauerstoff im Pyranring ist in Laborpräparaten häufig Chlorid zu finden, wodurch sich Anthocyane von anderen Flavonoiden unterscheiden. In der glykosidischen Form der Anthocyanidine (= Anthocyane) ist meist an Position C-3 des Pyranrings ein Zuckerrest via O-glykosidischer Bindung an der Hydroxylgruppe gebunden.[1]



### Abbildung 3: Beispiel eines acetylierten Anthocyans: Malvidin-3-p-Coumaroyl-Glykosid

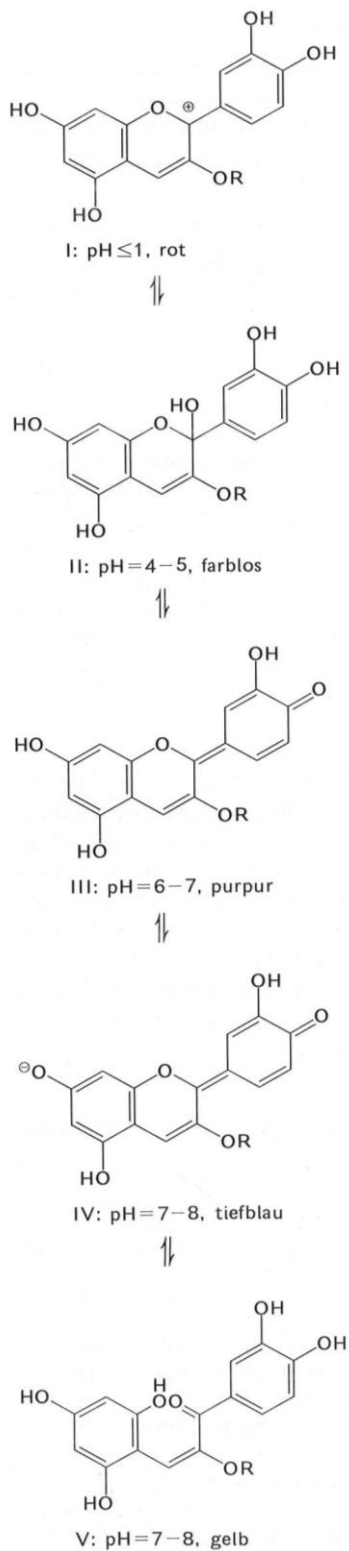
Neben Glykosylierung an C-3 des Pyranrings ist auch eine Acetylierung mit aromatischen Pflanzensäuren an dieser Position möglich. Diese bewirkt, im Gegensatz zur Glykosylierung, eine verminderte Wasserlöslichkeit, sorgt jedoch für die große Vielfalt an Anthocyanen [2].



Flavonoide kommen in der Natur meist als Glykoside vor. Unter anderem auf diese Bindung an verschiedene Zucker (v.a. Glucose, Galactose und Rhamnose) ist ihr weites Spektrum an Erscheinungsformen zurückzuführen. Als glykosylierte Formen werden sie wasserlöslich und können in die Zellvakuolen von Pflanzen aufgenommen werden. Glykosylierung trägt außerdem zur Stabilisierung von Anthocyanen bei, indem intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen gebildet werden. Eine Minderung der Wasserlöslichkeit lässt sich durch Acetylierung erzielen [3] (s. Abb. 3).

Neben Glykosylierung und Acetylierung trägt der pH-Wert der Umgebung zur Stabilität von Anthocyanidinen bei. Die häufigste Form von Anthocyanidinen ist das nur bei sehr niedrigem pH-Wert (pH= 1-2) auftretende Flavyliumkation, das eine rote Farbe besitzt. Je nach pH-Wert in der Umgebung ändern sich die Form und Farbe des Anthocyanidins (s. Abb.4). So entwickelt sich bei Anstieg des pH-Wertes auf 4 bis 5 durch Deprotonierung und Hydrierung des Flavyliumkations über das farblose Chromenol (ein Halbketal) eine chinoide Anhydrobase (pH= 6-7), die purpurne Färbung zeigt. Bei pH-Werten von 7 bis 8 verändert sich die Farbe in ein tiefes Blau, und die Anhydrobase wird ionisch. Ebenfalls bei pH 7-8 entsteht das gelbe bis farblose Chalkon durch Ringöffnung bzw. Tautomerisierung. Bei höheren pH-Werten lässt sich eine Stabilisierung des Anthocyanins durch Reaktion mit Metallionen ( $\text{Al}^{3+}$  oder  $\text{Fe}^{3+}$ ) erzielen. Die entstehenden Komplexe sind tiefblau [12, 13].

#### Abbildung 4: Änderungen der Struktur von Anthocyanen unter verschiedenen pH-Werten



Die Farberscheinung von Anthocyanen wird unter anderem vom pH-Wert der Umgebung beeinflusst. In einem sauren Milieu überwiegt eine Rotfärbung. Je basischer der pH-Wert, desto dunkler wird die Farbe der Anthocyane bis zu einem pH-Wert von ca. 7. Eine Hydroxylierung an Position C-2 des Pyranringes bei pH 4-5 bewirkt ein farbloses Erscheinungsbild. Bei pH-Werten zwischen 6 und 7 kommt es zu einer chinoiden Form durch die Doppelbindung von Sauerstoff an Position 4' des B-Ringes. Ab pH 7 wird das Molekül deprotoniert und es entsteht eine ionische Anhydrobase. Eine weitere Erhöhung des pH-Wertes erbringt ein Dianion (nicht im Bild dargestellt). Ab einem pH-Wert von 8 bricht der Pyranring durch Hydrolyse auf, wird zu einem Chalkon und es entsteht eine gelbliche Färbung. Anthocyane sind im sauren Milieu am stabilsten, lassen sich jedoch in basischen Bereichen mittels Komplexbildung mit Metallen stabilisieren. Am häufigsten sind dabei Reaktionen mit Aluminium, Eisen oder Magnesium [11, 12]

Die Gruppe, die an den Zuckerrest gebunden ist, nennt man Aglykon. So bezeichnen Anthocyanidine die Aglykonkomponente der Anthocyane, Anthocyane selbst sind die glykosidische Form, oder vereinfacht: Anthocyane haben einen Zuckerrest gebunden, Anthocyanidine nicht. Von ihnen existieren nach heutigem Wissensstand 500 bekannte Formen [11]. Häufigste Anthocyanidine sind die folgenden sechs Formen: Pelargonidin, Paeonidin, Cyanidin, Malvidin, Petunidin und Delphinidin (s. Tabelle 1). Sie unterscheiden sich im Substitutionsmuster an R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> am B-Ring, wobei Pelargonidin den Grundtyp darstellt.

Trivialname	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Farbe
<b>Pelargonidin</b>	H	H	rotorange
<b>Paeonidin</b>	H	OCH <sub>3</sub>	rotviolett
<b>Cyanidin</b>	H	OH	rotviolett
<b>Malvidin</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	violettrot
<b>Petunidin</b>	OH	OCH <sub>3</sub>	violettrot
<b>Delphinidin</b>	OH	OH	blauviolett

**Tabelle 1: Häufige Formen von Anthocyanidinen**

Je nach Substituent an R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> entstehen, ausgehend von Pelargonidin, verschiedene Formen von Anthocyanidinen. Die unterschiedlichen Strukturen tragen damit neben dem pH-Wert zur Färbung der Anthocyanidine bei [50].

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, sind Anthocyanidine für eine rotviolette oder bläuliche Färbung der sie enthaltenden Pflanzen und Früchte verantwortlich. Beispielsweise findet sich Delphinidin in Hibiscusblüten oder Cyanidin in Kornblumenblüten oder Rosenblüten [11]. In den in dieser Arbeit verglichenen Studien wurden die Anthocyanidine dagegen meist aus Früchten wie Sauerkirschen, Heidelbeeren, Johannisbeeren oder Granatäpfeln gewonnen. Unter der Bezeichnung E 163 sind Anthocyanidine als Lebensmittelfarbstoffe zugelassen [10].

Die Gruppe der Proanthocyanidine ist im Gegensatz zu den Anthocyanidinen primär farblos, mit zunehmendem Polymerisierungsgrad jedoch gelb bis braun

gefärbt. Diese Stoffe sind für eine bittere Geschmacksnote verantwortlich und kommen vor allem in Äpfeln, Pflaumen, Schokolade, Tee, Rotwein oder Traubenkernen vor. Das Präfix „Pro“ weist auf ihre Eigenschaft, dass durch Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren eine Umwandlung in Anthocyanidine möglich ist, hin. Zu den Proanthocyanidinen gehören zum einen die Flavan-3,4-diole, monomere C15-Verbindungen, die auch Leukoanthocyanidine genannt werden und zum anderen di- und trimere kondensierte Gerbstoffe mit Catechin oder Gallocatechin und Epicatechin oder Epigallocatechin als Grundbausteinen. Die am weitesten verbreitete Untergruppe der Proanthocyanidine sind die sogenannten Procyanidine, die lediglich aus Catechin oder Epicatechin bestehen. Proanthocyanidine zeigen ein ähnliches Wirkungsspektrum wie die Anthocyanidine und agieren beispielsweise als Radikalfänger. In dieser Eigenschaft zeigen sie eine 18 – 20 Mal so starke Wirksamkeit wie Vitamin C und eine 40 – 50 Mal so starke Wirksamkeit wie Vitamin E. Desweiteren sind sie in der Lage, zu hohe Cholesterinspiegel zu senken und zeigen positive Effekte für Sehkraft und Gedächtnis, sowie in der Therapie von Arthritis und der Prophylaxe von allergischen Reaktionen [11, 14].

Die gesundheitsfördernden Eigenschaften der Anthocyanidine sind derzeit Gegenstand intensiver Forschungsarbeiten. So sind bisher antikarzinogene, antibakterielle, antiangiogenetische, antiinflammatorische, kardio- und neuroprotektive Effekte sowie Wirksamkeit gegen Übergewicht und gegen die Entstehung von Diabetes nachgewiesen [5]. Grundlage dieser Effekte scheinen die antioxidativen Fähigkeiten der Anthocyanidine zu sein [15]. Die Pflanzen und Früchte, die Anthocyanidine enthalten, sind jedoch bereits seit Jahrtausenden Bestandteil der Traditionellen Chinesischen Medizin, und jede Patientin, die unter rezidivierenden Blasenentzündungen leidet, weiß, dass Cranberry-Saft oft helfen kann. Pflanzen selbst produzieren Anthocyanidine zum Schutz vor UV-Strahlung und um Insekten anzulocken. All diese positiven Effekte könnten auf die Wirkung von Anthocyanidinen zurückzuführen sein. Die antioxidativen Eigenschaften ebendieser sind bereits vielfältig erforscht worden. So stellten Cao et al. 1997 fest, dass Flavonoide (u.a. Myricetin,

Luteolin, Quercetin und Kaempferol) je nach ihrer Anzahl an OH-Gruppen am B-Ring stärkere oder weniger starke antioxidative Fähigkeiten besitzen. Kaempferol mit vier OH-Gruppen zeigte dabei schwächere ORAC-Aktivitäten als Quercetin mit fünf und Myricetin mit sechs OH-Gruppen [15]. Desweiteren scheint die Position der OH-Gruppen von Bedeutung: Diese müssen sich in ortho-dihydroxy-Stellung an 3' und 4' befinden; eine OH-Substitution an 5' zeigt keine antioxidative Aktivität [15]. Ähnliche Ergebnisse liefern auch Studien von Noda et al. [16], Galvano et al. [4], oder Tsuda et al. [2]. Vermutet wurde außerdem, dass die Art des an das Anthocyanidin gebundenen Zuckerrestes Einfluss auf die antioxidativen Eigenschaften nehmen könnte [4]. Zum Beispiel stellten Wang et al. in einer Studie, in der die antioxidativen und antiphlogistischen Eigenschaften von Anthocyanen aus Sauerkirschen getestet wurden, fest, dass die Aglykone (in diesem Fall Cyanidin) bessere Ergebnisse erzielten als die Glykosid-Formen. Je weniger Zuckereinheiten an ein Anthocyan an C<sub>3</sub> gebunden waren, desto höher war die messbare antioxidative Aktivität. Sie vermuteten daher, dass die Zuckerreste die antioxidative Kapazität von Anthocyanen negativ beeinflussen würden [17]. Tsuda et al. jedoch berichten über eine Studie, in der die Aglykone Pelargonidin, Cyanidin und Delphinidin exakt die gleichen Ergebnisse lieferten wie ihre Glykoside [2]. Doch warum wirken Anthocyanidine überhaupt antioxidativ? Eine mögliche Erklärung liegt in ihrer Struktur. Da Anthocyanidine meist als Flavyliumkation vorliegen, könnte das positiv geladene Sauerstoffatom im Zentrum des Moleküls als Protonendonator fungieren und dadurch freie Radikale abfangen [5].

Eine weitere, jedoch umstrittene Erklärung besagt, dass Anthocyanidine in ihrer Eigenschaft als Chelatoren antioxidative Effekte entfalten. In einer Studie von Noda et al. [16] zeigt sich, dass ein Extrakt aus Granatapfel und Anthocyanidinen selbst dann noch als Radikalfänger wirkt, wenn DMPO (=5,5-Dimethyl-1-pyrrolidin-N-oxid, benutzt als sogenannte „Spin-Trap“ zum Nachweis von Radikalen) im Versuchsansatz stark verringert wurde. Daraus wurde geschlossen, dass die antioxidativen Effekte von Anthocyanidinen nicht direkt von ihren Eigenschaften als Radikalfänger abzuleiten sind, sondern von einer

Chelatbindung mit einem Eisenion stammen könnten. Ein Gegenbeispiel liefern jedoch Cao et al. [15], die zwar antioxidative Aktivität von Flavonoiden gegen Kupfer in einem Versuchsansatz mit EDTA nachweisen konnten, doch verschwand diese Aktivität unter Zusatz eines Peroxyl-Radikal-Generators. Eine Erklärung dieses Unterschiedes in den Ergebnissen von Noda et al. [15] und Cao et al. [14] könnte in den unterschiedlichen Strukturen von Anthocyanidinen und Flavonoiden liegen.

Bemerkenswert ist desweiteren, dass die Kombination mehrerer Beeren (und damit auch mehrerer Arten von Anthocyanidinen) einen synergistischen Effekt zeigt. So erzielten Versuchsansätze mit einer Zusammenstellung von Extrakten aus Heidelbeeren, Cranberries, Holunderbeeren, Johannisbeeren und Erdbeeren bessere Ergebnisse als Extrakte aus den jeweiligen Beeren allein [5]. Auch in einer Übersichtsarbeit von He et al. 2010 wird vermutet, dass das Zusammenspiel mehrerer Pflanzenstoffe für deren positive Effekte auf die menschliche Gesundheit verantwortlich ist und nicht eine einzelne Stoffklasse [3]. Die zugrunde liegenden Mechanismen bedürfen jedoch noch weiterer Forschung.

Neben dem Schutz des Organismus durch Abfangen reaktiver Sauerstoffspezies zeigen Anthocyanidine auch antiinflammatorische Effekte. Dass antioxidative und antiphlogistische Aktivitäten nicht gänzlich voneinander zu trennen sind, zeigt sich unter Punkt „2.2 Theoretischer Ablauf einer Entzündungsreaktion“, wo die Grundlagen zur Entstehung einer Entzündung im Körper und zu den ablaufenden Signalkaskaden dargestellt werden sollen. Im folgenden Abschnitt wird gezeigt, auf welchen Ebenen im vielschichtigen Prozess der Entzündungsentstehung Anthocyanidine eingreifen können.

Die Enzyme Cyclooxygenase-1 und Cyclooxygenase-2 (COX-1 und COX-2) katalysieren unter anderem die Umwandlung von Arachidonsäure in Prostaglandine. Diese wiederum stimulieren, vereinfacht gesagt, Entzündungsvorgänge im Körper. Daher wird deutlich, warum eine Hemmung von COX-1 und COX-2 einer der zentralen Mechanismen in der Bekämpfung von inflammatorischen Reaktionen ist. In diversen Studien wurde bisher

nachgewiesen, dass auch Anthocyane in der Lage sind, diese Enzyme zu hemmen. Beispielsweise berichten He et al. in einer Übersichtsarbeit über eine Studie, in der Anthocyane aus verschiedenen Früchten auf ihre Fähigkeit, COX1- und COX-2 zu hemmen, getestet wurden [3]. Die Extrakte aus Erdbeeren, Johannisbeeren und Brombeeren zeigten dabei die höchsten Aktivitäten im COX-Inhibitory-Assay und lieferten damit Werte, die denen der Positivkontrollen Ibuprofen und Naproxen ähnelten. Wang et al. erzielten vergleichbare Ergebnisse in einer oben bereits erwähnten Studie [17]. Sie fanden für Cyanidin sogar bessere antiphlogistische Aktivitäten als für die Positivkontrolle Aspirin. Die Ergebnisse für Anthocyane waren hier jedoch weitaus schwächer als für Anthocyanidine. Einen COX-Inhibitory-Assay verwendeten auch Mulabagal et al. [18] und fanden je nach Sorte der untersuchten Süß- und Sauerkirschen Verringerungen von COX-2 um 96%, 91% oder 87%, die damit vergleichbar mit den Positivkontrollen Aspirin®, Celebrex® und Vioxx® waren. Jedoch wurde in all diesen genannten Studien mit Zellkulturen *in vitro* gearbeitet. Dass Anthocyane auch *in vivo* in der Lage sind, als COX-Hemmer zu fungieren, zeigen Šarić et al. in einer Arbeit mit männlichen CBA/Hr Mäusen [19]. Diese bekamen über 14 Tage Pellets, die Sauerkirschsaft in verschiedenen Konzentrationen beinhalteten, zu fressen. Mithilfe von Peritonealmakrophagen, die aus diesen Mäusen gewonnen wurden, konnte die COX-2-Aktivität bestimmt werden. Bei beiden untersuchten Konzentrationen von Sauerkirschsaft gelang es, eine Minderung der Aktivität von COX-2 nachzuweisen. Das in den untersuchten Sauerkirschen am stärksten vertretene Anthocyan war Cyanidin-3-Glykosid.

Welche Mechanismen der Inhibition von COX-Enzymen durch Anthocyane zugrunde liegen ist Gegenstand derzeitiger Forschung. Mögliche Erklärungsmodelle sind die Folgenden: Wird - beispielsweise durch UVB-Strahlung die Bildung von COX-2 und damit auch Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) angeregt, so sind unter anderem p38 und ERK1/2 aus der Familie der MAP-Kinasen und Phosphatidylinositol-3-Kinasen (PI3-Kinasen) beteiligt. Es konnte gezeigt werden, dass Anthocyane in der Lage sind, PI3-Kinasen zu hemmen [20]. Über ähnliche Ergebnisse wie die Hemmung von PI3-Kinasen berichten

auch Seong et al. [21]. Diese wiesen auch einen weiteren Weg nach, wie die Produktion von COX-2 gehemmt werden kann: Der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B ist neben vielen anderen Effekten in der Lage, die Expression von COX-2 zu stimulieren. Wird NF- $\kappa$ B gehemmt, reduziert sich auch die Aktivität von COX-2. Seong et al. konnten zeigen, dass Delphinidin die Funktion von NF- $\kappa$ B supprimieren kann [21]. Die Hemmung von NF- $\kappa$ B durch Anthocyane scheint durch eine Verhinderung der Phosphorylierung von I $\kappa$ B $\alpha$  zu geschehen, einem inhibitorischen Faktor, der mit NF- $\kappa$ B komplexiert vorliegt [20, 22]. Eine andere Erklärung für die COX-2-hemmenden Effekte von Anthocyanen könnte ein weiterer Transkriptionsfaktor liefern. Der Leber-X-Rezeptor  $\alpha$  (LXR $\alpha$ ) scheint *in vitro* die Expression von inflammatorischen Genen zu antagonisieren. Wang et al. wiesen nach, dass Cyanidin in der Lage ist, LXR $\alpha$  zu induzieren und dadurch die Expression von COX-2 zu inhibieren [23].

Wie bereits beschrieben, ist die Entstehung von Entzündungen ein sehr komplexes Geschehen. Neben den Cyclooxygenasen und NF- $\kappa$ B ist unter anderem auch der sogenannte Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) beteiligt. Die genauen Mechanismen des Zusammenspiels dieser Faktoren werden weiter unten erläutert. Wie der Name schon vermuten lässt, kann TNF- $\alpha$  in Zellen den Vorgang der Apoptose in Gang setzen. Desweiteren wirkt TNF- $\alpha$  bei der Entstehung von Fieber, der Differenzierung von Zellen und der Ausschüttung von Zytokinen mit. Die Hemmung von TNF- $\alpha$  wird pharmakologisch zum Beispiel in der Therapie der rheumatoiden Arthritis genutzt. Wegen seines vielfältigen Erscheinens beim Ablauf einer Entzündungsreaktion liegt es nahe, Anthocyane auf eine mögliche Fähigkeit, TNF- $\alpha$  zu inhibieren zu untersuchen. Dies ist in diversen Studien sowohl *in vitro* als auch *in vivo* geschehen und fast immer gelang es, eine Reduktion von TNF- $\alpha$  durch die Gabe von Anthocyanen nachzuweisen. Beispielsweise wurden in einer Arbeit von DeFuria et al. [24] männliche C57BL/6 Mäuse je nach Zuteilung in verschiedene Gruppen entweder mit einer „low fat“ Diät, einer „high fat“ Diät oder einer „high fat“ Diät kombiniert mit einem Extrakt aus Heidelbeeren gefüttert. Die Mäuse, die die „high fat“ Diät bekamen, zeigten erhöhte Werte für TNF- $\alpha$ , während die Mäuse mit „low fat“ Diät als Negativkontrollgruppe ohne TNF- $\alpha$  Erhöhung dienten. Die



Gruppe Mäuse, die zusätzlich zur „high fat“ Diät den Heidelbeerextrakt gefressen hatte, wies im Vergleich zur Kontrollgruppe „high fat“ Diät ohne Extrakt niedrigere Werte für TNF- $\alpha$  auf. Dies lässt vermuten, dass Anthocyane aus dem Heidelbeerextrakt für die Reduzierung der Werte für TNF- $\alpha$  verantwortlich sind. Ähnliche Ergebnisse liefern Lei et al. [25], die ebenfalls im Mausmodell eine Reduktion von TNF- $\alpha$  nach Gabe eines Extraktes aus *Abacopteris penangiana*, einer flavonoidhaltigen Pflanze, feststellen konnten. Auch hier stellt sich wiederum die Frage nach den molekularen Mechanismen, die die Inhibition von TNF- $\alpha$  durch Anthocyane möglich machen. Es scheint wahrscheinlich, dass die Hemmung von Schlüsselenzymen der Signaltransduktion beim Ablauf von Entzündungen eine Rolle spielt und damit ähnliche Mechanismen wie bei der Hemmung von COX-2 in Gang gesetzt werden [26]. Die exakten Vorgänge bedürfen allerdings noch weiterer Erforschung.

Möchte man die gesundheitsfördernden Wirkungen von Anthocyanen nutzen, so stellt sich die Frage, ob diese vom menschlichen Körper überhaupt aufgenommen und metabolisiert werden können und, wenn dem so ist, in welcher Form dies geschehen kann. Lange hielt sich die Meinung, dass nur Anthocyanidine absorbiert werden können und Anthocyane ohne vorherige Hydrolyse und damit Abspaltung des Zuckerrestes nicht aufgenommen werden können [7]. Diese Annahme ist bisher vielfältig widerlegt worden. So zeigten beispielsweise Cao et al., dass per os gegebene Anthocyane aus einem Holunderbeerenextrakt von Frauen im Alter von  $67 \pm 4$  Jahren in ihren glykosylierten Formen aufgenommen wurden [7]. Matsumoto et al. verglichen die Absorption von Anthocyanen bei Ratten und männlichen Versuchspersonen und fanden ebenfalls glykosylierte Formen in Plasma und Urin der Männer [6]. Unter ähnlichen Studienbedingungen fanden auch Mazza et al. Anthocyane im Serum männlicher Probanden, nachdem diese ein Pulver aus gefriergetrockneten Heidelbeeren zu sich genommen hatten [27]. Unter dem Aspekt der antioxidativen Eigenschaften von Anthocyanen und Anthocyanidinen wurde bereits der mögliche Einfluss der Zuckerreste auf die antioxidativen

Effekte von Anthocyanen diskutiert. Auch bei Betrachtung der Bioverfügbarkeit verdienen die gebundenen Zuckermoleküle Aufmerksamkeit. Es zeigt sich, dass Cyanidin-3-Sambubiosid, das je ein Molekül Xylose und Glucose enthält, eine längere Halbwertszeit als Cyanidin-3-Glykosid aufweist, das lediglich ein Molekül Glucose enthält [7]. Ebenso werden Delphinidin-3-Rutinosid und Cyanidin-3-Rutinosid mit Rhamnose und Glucose als Zuckerbausteinen langsamer abgebaut als Delphinidin-3-Glykosid und Cyanidin-3-Glykosid mit je einem Glucosemolekül [6]. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Zuckerreste, die die Anthocyane gebunden haben, deren Absorption beeinflussen: Anthocyane mit Disacchariden werden scheinbar langsamer absorbiert als Anthocyane, die Monosaccharide gebunden haben. Jedoch konnten McGhie et al. zeigen, dass auch innerhalb der Monosaccharide Unterschiede in der Bioverfügbarkeit bestehen: Sie fanden heraus, dass Galactoside besser absorbiert werden als Arabinoside, welche sich lediglich in der Konfiguration der OH-Gruppen unterscheiden [12]. Desgleichen stellten McGhie et al. Unterschiede innerhalb der Anthocyanidine selbst fest: Die Plasmakonzentrationen der Anthocyanidine Cyanidin und Delphinidin nach Konsum von Beeren stellten sich als höher als die Konzentrationen für Malvidin heraus [12]. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind derzeit jedoch noch nicht geklärt.

Einigkeit herrscht darüber, dass die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen sehr niedrig zu sein scheint. Sie wird durchweg mit weniger als 1% angegeben [6, 28]. Mazza et al. berichten ebenfalls von nur 0,002 bis 0,003% an Anthocyanen, die drei Stunden nach oraler Aufnahme im Serum vorhanden waren [27].

Der bevorzugte Resorptionsort für Anthocyane scheint der Magen zu sein. Grund hierfür könnte das hier herrschende saure Milieu mit einem pH-Wert von 1 bis 2 sein, unter welchem Anthocyane, wie bereits erwähnt, in ihrer Form als Flavyliumkation besonders stabil sind [12]. Für die Absorption aus dem Magen sind derzeit zwei Mechanismen bekannt: Zum einen wird eine passive Diffusion der Anthocyane in intakten Formen über das Epithel des Magens beschrieben [3]. Zum anderen wird die Beteiligung eines Enzyms mit dem Namen Bilitranslocase vermutet, das Anthocyane ebenfalls in intakten Formen über

das Mageneithel transportieren könnte [29, 12]. Nach Passage der Magenschleimhaut kämen die Moleküle über den Portalkreislauf in die Leber. Gelangen Anthocyane in den Dünndarm, so können sie auch hier metabolisiert werden. Der pH-Wert im Dünndarm ist jedoch wesentlich höher als im Magen, daher werden die Anthocyane hier zunehmend instabil. Nicht in allen Abschnitten des Dünndarmes können Anthocyane absorbiert werden: Talavéra et al. fanden Anthocyane im Jejunum [29]; McGhie et al. berichten über Resorption vor allem im Jejunum, weniger im Duodenum und gar keine im Ileum und Colon [12]. Ein möglicher Transportmechanismus könnte der Cotransport von Glucose und Natrium im SGLT-1-Transporter sein, wie ihn das Flavonoid Quercetin nutzt [7]. Die in diesen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes identifizierten Anthocyane treten allerdings nicht mehr wie im Magen in intakten Formen in Erscheinung, sondern wurden entweder methyliert (z.B. durch das Enzym Catechol-O-Methyl-Transferase), glucuronidiert (z.B. durch die UDP-Glucuronyl-Transferase) oder durch  $\beta$ -Glucosidasen zu Aglykonen hydrolysiert [29]. Hydrolyse könnte auch die Schlüsselreaktion für die Resorption von acetylierten Anthocyanen sein, die dann zu Glykosiden reagieren [27]. Die Rolle der Mikroflora des Colons bleibt bisher weitgehend unklar. Diese könnte bis dato noch nicht absorbierte Anthocyane in Phenolsäuren aufspalten oder anderweitig strukturell modifizieren [12].

Dass die Ergebnisse für die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen niedrige Werte liefern, könnte neben einer tatsächlich sehr geringen Bioverfügbarkeit auch an den in den Studien angewandten Untersuchungsmethoden liegen. So geschieht der Nachweis von Anthocyanen meist über ihre Farbreaktionen in Form einer HPLC-Chromatographie. Sollten die Metaboliten von Anthocyanen jedoch farblos sein, so würden sie mit dieser Methode nicht entdeckt werden. Vielleicht könnten neue Nachweismethoden in diesem Punkt neue Aspekte liefern [28].

In den Untersuchungen mit der bereits erwähnten HPLC-Chromatographie treten andererseits auch immer wieder Peaks in den Nachweis-Profilen auf, die bisher keiner bekannten Struktur zugeordnet werden können [6]. Dies gibt Anlass zu der Annahme, dass diese Peaks Stoffwechselprodukte der

Anthocyane sein könnten. Ein möglicher Metabolit wäre Protocatechusäure (3,4-Dihydroxybenzoesäure), ein Ringspaltprodukt von Cyanidin, welches im Serum nachgewiesen werden kann [3, 12].

## **2.2 Verwendung von Anthocyanen und Anthocyanidinen**

Das stetig wachsende Interesse an gesundheitsbewusster Ernährung stellt die Lebensmittelindustrie vor neue Aufgaben. Im Besonderen versucht man, im Bestreben, sich möglichst „natürlich“ zu ernähren, zugesetzte Farb- und Konservierungsstoffe zu vermeiden. Begibt man sich auf die Suche nach pflanzlichen Farbstoffen, so findet man unter der europäischen Zulassungsnummer E 163, wie oben bereits kurz erwähnt, die Gruppe der Anthocyane [10]. Als Lebensmittelzusatzstoffe unterliegen sie keiner Beschränkung in Bezug auf die zugesetzte Menge, da bisher keine gesundheitsschädlichen Wirkungen nachgewiesen werden konnten. Auch in den in dieser Arbeit verglichenen Studien konnte eine Toxizität von Anthocyanen jeweils ausgeschlossen werden. Doch nicht nur für die Nahrungsmittelindustrie sind Anthocyane interessant geworden, auch im Bereich der Medizin findet man vielfältige Studien über Polyphenole, ihre Untergruppen und deren gesundheitsfördernde Wirkungen. Dass pflanzliche Wirkstoffe auch hier im Fokus der Aufmerksamkeit stehen, könnte zum Beispiel daran liegen, dass Patienten auf der Suche nach Heilung und Linderung von Krankheiten, bei denen bisherige Therapieansätze der Schulmedizin nicht helfen konnten, oft zu komplementärmedizinischen Verfahren greifen. Gerade im Bereich der chronischen Krankheiten ist der Prozentsatz der Patienten, die komplementärmedizinische Behandlungen in Anspruch nehmen, hoch und lag einer Studie aus dem Jahr 1998 zufolge schon bei 40% der US-amerikanischen Bevölkerung [30]. Die Nachfrage nach alternativen Therapiemöglichkeiten scheint also groß zu sein und die wissenschaftliche Betrachtung und Verifizierung dieser Behandlungsmethoden ist ein wünschenswertes Ziel der derzeitigen Forschung.

### **2.3 Pathophysiologie einer Entzündungsreaktion**

Eine Entzündungsreaktion dient als Schutzmechanismus zur Erhaltung oder Wiederherstellung der Integrität eines Organismus und zur Beseitigung der Noxe, die zur Entzündung geführt hat [31]. Dazu müssen die benötigten Abwehrmechanismen am Ort des Schadens zur Verfügung gestellt werden und die Arbeitsbedingungen für diese Mechanismen optimiert werden [32]. In Bezug auf Dauer und Verlauf können verschiedene Formen der Entzündung unterschieden werden: perakute, akute, subakute, chronische und rezidivierende Verläufe sind möglich. Eine perakute Entzündung zeichnet sich durch extrem kurzen, heftigen Verlauf mit sehr hoher Virulenz aus. Sie tritt, wie auch die akute Entzündung, plötzlich auf. Die akute Form einer Entzündung dauert Stunden bis Tage an und weist die klassischen Zeichen Rubor (Rötung des betroffenen Areals durch Vasodilatation), Tumor (Schwellung des Gewebes durch Austreten von entzündlichem Exsudat in das Interstitium), Calor (Erwärmung des Gewebes durch vermehrte Durchblutung), Dolor (Schmerz) und Functio laesa (beeinträchtigte Funktion) auf. Kennzeichen einer chronischen Entzündung ist eine Dauer von Wochen bis Monaten und eine Heilung, die nicht zur Restitutio ad integrum, sondern zu einer sogenannten Defektheilung führt. Die Aufrechterhaltung einer chronischen Entzündung erfolgt durch eine Überproduktion an pro-inflammatorischen Zytokinen wie Interleukin-1, Interleukin-6 oder Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) [33]. Eine rezidivierende Entzündung tritt schubweise auf.

Auslöser jeder Entzündung ist eine Schädigung des Gewebes durch eine oder mehrere Noxen. Noxen können chemischer Natur, z.B. Säuren oder Fremdstoffe, physikalischer Natur, z.B. Kälte, Wärme oder Trauma, mikrobieller Ursache, z.B. Bakterientoxine, oder Folge von Immunreaktionen sein. In den hier verglichenen Studien wurde zur Induktion einer Entzündungsreaktion meist Lipopolysaccharid (LPS), ein Bestandteil der äußeren Membran von gramnegativen Bakterien, verwendet, das im menschlichen Körper als potentes Endotoxin wirken kann.

Da der Ablauf einer Entzündungsreaktion, wie oben beschrieben, recht vielschichtig ist, ist im Folgenden zu beachten, dass viele der genannten Mechanismen nicht zeitlich nacheinander, sondern gleichzeitig und nebeneinander ablaufen. Wird durch eine physikalische Noxe, zum Beispiel ein direktes Gewebetrauma, oder durch Bakterientoxine das Endothel von Gefäßen beschädigt, so wird die Gerinnungskaskade aktiviert. Deren Rolle in der Pathophysiologie von Entzündungen soll hier nur der Vollständigkeit halber kurz erwähnt werden. Die letztendliche Entstehung eines Thrombus im Entzündungsgebiet dient zum einen rein mechanisch der lokalen Begrenzung der Entzündung, indem eine weitere Ausbreitung von etwa Bakterien über die Blutbahn unterbrochen wird. Zum anderen werden durch das bei der Gerinnungskaskade entstehende Thrombin und Fibrin die Freisetzung von Wachstumsfaktoren aus Thrombozyten stimuliert und Leukozyten durch Fibrinolyseprodukte chemotaktisch angezogen [34]. Direkt nach Schädigung des Gewebes werden außerdem Gewebemakrophagen, dendritische Zellen und Mastzellen aktiviert [35]. Diese setzen zur Anlockung von phagozytierenden Zellen, wie zum Beispiel Neutrophile oder Monozyten, Chemokine frei. Mastzellen, aber auch zu einem kleinen Teil basophile und eosinophile Granulozyten, sowie Thrombozyten, sezernieren Histamin, das zur Gruppe der vasoaktiven biogenen Amine gezählt wird. Histamin verursacht innerhalb von Minuten eine Erweiterung der Arteriolen und steigert die Permeabilität von Venolen. Es entfaltet seine Wirkung innerhalb von Minuten über die Bindung an  $H_1$ -Rezeptoren und wird sowohl durch Stimulation aufgrund der direkten Gewebeschädigung als auch durch die Stimulation mittels Komplementfaktoren C3a und C5a, IgE und lysosomalen Proteinen von Leukozyten freigesetzt [31]. Die Dilatation von Arteriolen wird auch durch Serotonin, Prostaglandine, Kinine und den plättchenaktivierenden Faktor (PAF) vermittelt; die sofortige Permeabilitätssteigerung der Venolen verursachen neben Histamin auch Leukotriene und Kinine. Für eine lang anhaltende Permeabilitätssteigerung sorgen unter anderem TNF- $\alpha$ , IL-1 und ebenfalls Leukotriene [31]. Um an den Ort der Entzündung zu gelangen, müssen Leukozyten aus der Blutbahn in das Gewebe übertreten. Durch eine oben bereits beschriebene

Gefäßdilataion kommt es zur Verlangsamung des Blutstromes und zur Stase. Dadurch werden Leukozyten an den Randsaum des Gefäßes verlagert, was auch als „Margination“ bezeichnet wird. So können die Leukozyten mit dem Endothel interagieren und „rollen“ zunächst auf diesem („Rolling“). Durch das Auftreten einer Entzündung exprimieren die Zellen des Endothels vermehrt Selektine, Moleküle, die eine Adhäsion der Leukozyten an der Gefäßwand ermöglichen. Die auf Leukozyten vorhandenen Integrine sorgen dann für ein stabiles Anheften auf dem Endothel („Leukozytensticking“). Mithilfe amöboider Bewegungen gelangen die Leukozyten schließlich durch kleine Endothellücken hindurch in das umliegende Gewebe („Diapedese“ oder „Transmigration“). Die emigrierenden Zellen sind zunächst Neutrophile; in einer zweiten Abwehrwelle folgen dann nach einigen Stunden Monozyten [31].

Neutrophile, Makrophagen und Monozyten sind als phagozytierende Zellen in der Lage, reaktive Sauerstoffspezies zu produzieren. Dies dient der Abtötung und Verdauung phagozytierter Erreger mithilfe lytischer Enzyme unter Ausnutzung des toxischen Potentials der Sauerstoffradikale. Wird der Phagozyt im Rahmen einer Entzündung aktiviert, so wird dessen membranständige NADPH-Oxidase stimuliert. Diese reduziert molekularen Sauerstoff zu Superoxidanionen ( $O_2^{\cdot-}$ ) unter Oxidation von NADPH zu  $NADP^+$ . Superoxidanionen können dann zu weiteren reaktionsfreudigen Verbindungen umgewandelt werden. Die Superoxiddismutase katalysiert die Reaktion von  $O_2^{\cdot-}$  und  $2H^+$  zu Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ). Wasserstoffperoxid und Superoxidanionen können dann wiederum zusammen unter der Bildung von Hydroxylradikalen ( $OH\cdot$ ) reagieren. Diese genannten Sauerstoffradikale sind wiederum in der Lage, bakterizide Wirkung zu entfalten. Der Begriff des „Oxidative“ oder „Respiratory burst“ bezeichnet das Phänomen, dass während der Phagozytose die  $O_2^{\cdot-}$ -Bildung um mehr als das Zehnfache ansteigt und der Phagozyt dadurch vermehrt  $O_2$  verbraucht [32].

Wurden die Erreger bisher noch nicht durch die genannten Mechanismen, wie Phagozytose oder Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, abgetötet, so kommt es durch die Antigene der Erreger zur Aktivierung von Lymphozyten. Die Zellreihe der T-Lymphozyten tötet nun Zellen, die das Antigen an ihrer Oberfläche

tragen; sie werden deshalb auch als cytotoxische T-Lymphozyten bezeichnet. Vor allem für die Eliminierung von Viren sind diese entscheidend. Die Reihe der T-Helfer-Zellen verstärkt und reguliert die Aktivität von B-Lymphozyten und aktiviert noch inaktive Monozyten über IFN- $\gamma$  zu phagozytosefähigen Makrophagen. B-Lymphozyten sind für Produktion und Sezernierung von Antikörpern zuständig. Über die Fc-Rezeptoren von Antikörpern kann die Phagozytose verbessert ablaufen [35]. Die entstehenden Antigen-Antikörper-Komplexe aktivieren das Komplementsystem, das in einer Reihe von Kaskaden schließlich zum „MAK“, dem „Membran attackierenden Komplex“ führt; ein Lysekomplex, der das osmotische Gefälle zwischen Zellinnerem und –äußerem aufhebt und so zur Lyse der Erreger führt [31]. Auch Komplementrezeptoren führen zu einer verbesserten Phagozytose. Die Immunantwort wird in der Regel beendet, wenn die Erreger eliminiert wurden, was zum Beispiel durch die Expression von apoptoseaktivierenden Rezeptoren wie Apo1, Fas oder CD95 geschieht [35].

Einige der bisher genannten Faktoren einer Entzündungsreaktion lassen sich auch unter dem Begriff der Entzündungsmediatoren zusammenfassen. Dazu zählen unter anderem Enzyme wie zum Beispiel Proteasen, Lipidmediatoren wie Prostaglandine und Leukotriene, reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies, die Gewebehormone Histamin und Bradykinin, Komplementfaktoren und vor allem Zytokine. Eine Übersicht über verschiedene Entzündungsmediatoren gibt Tabelle 2.



<b>Substanz</b>	<b>Syntheseort</b>	<b>Hauptwirkung</b>
<b>Prostaglandine,</b> z.B. PGE <sub>2</sub> , PGF <sub>2α</sub>	ubiquitär, v.a. Endothelzellen, Mastzellen, Thrombozyten	Nozizeption, Gefäßdilatation, Pyrogene
<b>Leukotriene,</b> z.B. LTB <sub>4</sub> , LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>	Granulozyten, Gewebemakrophagen	Chemotaxis für Neutrophile und Monozyten, Steigerung der Gefäßpermeabilität durch Endothelkontraktion
<b>Histamin</b>	u.a. Mastzellen, Basophile	Gefäßdilatation, Permeabilitätssteigerung
<b>Bradykinin</b>	u.a. Mastzellen, Basophile	Gefäßdilatation, Permeabilitätssteigerung, Erregung von Schmerzrezeptoren
<b>Komplementfaktoren</b>	Leber, Makrophagen, Endothelzellen	Chemotaxis, Stimulation von Mastzellen, MAK
<b>Sauerstoffradikale</b>	Makrophagen, Neutrophile	Peroxidation, Membranschädigung, Zytotoxizität

**Tabelle 2: Übersicht Entzündungsmediatoren (ohne Zytokine).**

Gliederung der Entzündungsmediatoren nach Substanz, Syntheseort und Hauptwirkung. Entzündungsmediatoren sind biochemisch aktive Substanzen, die eine inflammatorische Reaktion einleiten und aufrechterhalten. Zu den hier nicht erwähnten Zytokinen zählen Interleukine, Interferone, Tumornekrosefaktoren und Kolonie-stimulierende Faktoren [10].

Entzündungsmediatoren sind, allgemein gesagt, für die Regulation der entzündlichen Reaktion verantwortlich, und vom Ausmaß der Schädigung abhängig: Sie steigern die Myelopoese und sorgen so für eine Leukozytose. Desweiteren intensivieren sie die Synthese von Akut-Phase-Proteinen in der Leber, aktivieren das Endothel von Blutgefäßen und erhöhen dessen Permeabilität, wirken chemotaktisch auf Immunzellen und verursachen letztendlich Fieber. Entzündungsmediatoren gelten daher auch als sogenannte „endogene Pyrogene“, im Gegensatz zu exogenen Pyrogenen wie das oben bereits erwähnte LPS [32]. Desweiteren lässt sich eine Einteilung nach ihrer Herkunft vornehmen. Histamin, Arachidonsäurederivate (Prostaglandine, Leukotriene), pro-inflammatorische Zytokine, Sauerstoff- und Stickstoffradikale, sowie Proteasen rechnet man zu den zellulären Mediatoren, da sie im Laufe einer Entzündungsreaktion von Zellen freigesetzt werden. Im Gegensatz dazu werden Kinine und Bestandteile des Komplementsystems als Plasmamediatoren bezeichnet, da sie aus Vorstufen aus dem Blutplasma gebildet werden [31].

Prostaglandine spielen im Rahmen von Entzündungsreaktionen eine wichtige Rolle. In ihrer Eigenschaft als Signalmoleküle sorgen sie für vielfältige Effekte: Prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ) verursacht beispielsweise Entzündungsschmerzen, eine Vaso- und Bronchodilatation sowie Fieber. Prostaglandin  $D_2$  ( $PGD_2$ ) und Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) wirken dagegen bronchokonstriktorisch,  $PGF_{2\alpha}$  außerdem vasokonstriktorisch. Prostaglandin  $I_2$  ( $PGI_2$ , auch: Prostazyklin) bedingt wie  $PGE_2$  eine Vasodilatation und zudem eine Permeabilitätssteigerung der Gefäße und Hemmung der Thrombozytenaggregation. Das ebenfalls bei der Synthese von Prostaglandinen entstehende Thromboxan  $A_2$  bewirkt wie  $PGF_{2\alpha}$  Broncho- und Vasokonstriktion und fördert zusätzlich die Aggregation von Thrombozyten. Das wichtigste Substrat für die Biosynthese der Prostaglandine ist Arachidonsäure, die als Bestandteil von Phospholipiden in Zellmembranen vorliegen kann und daraus durch das Enzym Phospholipase A2 abgespalten wird. Die Prostaglandin H-Synthase (PGHS) katalysiert die Reaktion von Arachidonsäure zu Prostaglandin  $H_2$  ( $PGH_2$ ), aus dem die weiteren Prostaglandine  $PGD_2$ ,  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$ ,  $PGI_2$ , sowie Thromboxan  $A_2$

durch spezifische Prostaglandin-Synthasen gebildet werden. Die PGHS existiert in zwei Isoformen (PGHS-1 und PGHS-2), die beide jeweils eine Cyclooxygenase- und eine Peroxidaseaktivität aufweisen. Dementsprechend werden auch die Cyclooxygenasen als COX-1 und COX-2 bezeichnet. COX-1 wird in vielen Zellen konstitutiv exprimiert und vermittelt vor allem die Thromboxan A<sub>2</sub>-Synthese in Thrombozyten, sowie die PGE<sub>2</sub>-Synthese in der Magenmucosa. COX-2 ist konstitutiv in ZNS, Nieren, Knochen und Gefäßen exprimiert, kann jedoch auch bei Entzündungen, Trauma, Ischämie oder Schmerzen induziert werden. Dies geschieht durch Wachstumsfaktoren und Entzündungsmediatoren wie IL-1 oder TNF-α. Der Arachidonsäuremetabolismus wird in der Therapie von Entzündungen und Schmerzen bereits auf verschiedenen Ebenen durch zum Beispiel nichtsteroidale Entzündungshemmer (NSAR, nicht steroidale Antirheumatika), COX-2-Inhibitoren oder Phospholipase A<sub>2</sub>-Inhibitoren beeinflusst [33]. So hemmt das Medikament Acetylsalicylsäure (ASS) COX-1 und COX-2 irreversibel und behindert damit die Synthese von Thromboxan A<sub>2</sub> und Prostaglandinen. Da Thrombozyten nicht kernhaltige Zellen sind, können sie COX-Enzyme nicht nachbilden und der thrombozytenaggregationshemmende Effekt des ASS hält acht bis zwölf Tage an – eben so lange wie die Lebensdauer eines Thrombozyten. Endothelzellen dagegen können COX-1 und COX-2 nachbilden. Wie bereits beschrieben, konnte auch für Anthocyanidine ein hemmender Effekt auf COX-2 nachgewiesen werden.

Wichtige Entzündungsmediatoren sind desweiteren Zytokine, überwiegend glykosylierte Proteine mit einem Molekulargewicht unter 25 kDa. Sie werden vor allem von Zellen des Immunsystems gebildet und steuern im Gegenzug deren Differenzierung und Aktivierung. Zu den Zytokinen zählen unter anderem Interleukine, Interferone und TNF-α. Sie steuern zum Beispiel bei einer lokalen Entzündung die Leukozytenmigration (IL-1, TNF-α), induzieren Fieber und die Synthese von COX-2 (IL-1, IL-6) oder bewirken die Synthese von Akut-Phase-Proteinen wie CRP. Merkmal von Zytokinen ist ihre auto- oder parakrine Wirkweise.

Ein sehr wirksames proinflammatorisches Zytokin ist TNF- $\alpha$ . Es hat seinen Namen aus Studien mit Mäusen, in denen es ein Absterben von Tumoren bewirken konnte. In der Tat kann über seinen Rezeptor eine Apoptose ausgelöst werden. Wie IL-1 und IL-6 ist es ein Pyrogen und kann, in beträchtlichen Mengen freigesetzt, zum septischen Schock führen. Daneben ist TNF- $\alpha$  Mediator chronisch-entzündlicher Erkrankungen. In der Therapie des Morbus Crohn ist beispielsweise ein sogenannter „TNF- $\alpha$ -Blocker“ (monoklonaler Antikörper gegen TNF- $\alpha$ ) namens Infliximab zugelassen. TNF- $\alpha$  existiert in zwei Formen: einer löslichen Form, die ausschließlich über den TNF-Rezeptor 1 wirken kann, und einer membrangebundenen Form, die über TNF-Rezeptor 1 und 2 (TNFR1 und TNFR2) agieren kann. Beide Formen können durch das „TNF-alpha converting enzyme“ ineinander überführt werden. Sowohl TNF- $\alpha$  als auch die dazugehörigen Rezeptoren liegen bevorzugt als Trimere vor. Lediglich TNFR1 ist in der Lage, Apoptose auszulösen. Beide Rezeptoren aktivieren Zielgene, die an Entzündungen beteiligt sind. Die Auslösung des programmierten Zelltodes findet durch eine Bindung von TNF- $\alpha$  an TNFR1 und eine damit verbundene Aktivierung des Rezeptorkomplexes statt. Für die Aktivierung werden verschiedene zytoplasmatische Effektorproteine benötigt, die wie TNFR1 sogenannte „death-domains“ besitzen, mithilfe derer sie miteinander interagieren können. Durch eine Reihe von Signaltransduktionen werden Caspasen aktiviert, die Strukturproteine der Zelle zerstören können oder eine DNase induzieren, die einen Abbau der DNA verursacht. Zusätzlich werden DNA-Reparatur und Zellzyklus arretiert. Der TNF-Signaltransduktionsweg, der zur Auslösung von Entzündungen führt, ist der Signaltransduktion von IL-1 ähnlich. Dabei wird die Serin/Threoninkinase TAK1 (TGF- $\beta$  activated kinase) durch Phosphorylierung aktiviert, danach der I $\kappa$ B-Kinase Komplex (I $\kappa$ B = inhibitor of NF- $\kappa$ B), der aus den Untereinheiten IKK $\alpha$ , IKK $\beta$  und IKK $\gamma$  aufgebaut ist. I $\kappa$ B liegt an NF- $\kappa$ B gebunden vor und wird nach seiner Phosphorylierung ubiquitiniert und über das Proteasom abgebaut. Das so freigesetzte NF- $\kappa$ B besteht aus den Untereinheiten p50 und p65 und transloziert in den Zellkern. Dort bindet es an Enhancer-Elemente und ist so in der Lage, Zielgene zu induzieren. Zu diesen Zielgenen gehören unter anderem

die Gene für IL-8, IL-6, IFN- $\gamma$  oder COX-2. Möchte man I $\kappa$ -B $\alpha$  daher als Marker für antiinflammatorische Aktivität nutzen, ist es sinnvoll, die Degradation von I $\kappa$ -B $\alpha$  zu messen.

Interleukin-6 gehört zu einer Zytokinfamilie, die eine gemeinsame Rezeptorkette nutzt. Mitglieder dieser Zytokinfamilie sind neben IL-6 IL-11, IL-27, LIF (leukemia inhibitory factor) und weitere Zytokine. Die gemeinsame Rezeptorkette ist das Glykoprotein 130 (gp130). IL-6 ist an der Akut-Phase-Reaktion des Körpers beteiligt, sowie an der Hämatopoese und der Differenzierung und dem Wachstum von B- und T-Zellen. Die Mitglieder der IL-6 Zytokinfamilie gehören zu den langkettigen 4- $\alpha$ -Helix-Bündel-Zytokinen und benötigen neben gp130 noch eine weitere Untereinheit, um wirken zu können. Je nach Zytokin kann diese Funktion ein LIF-Rezeptor oder auch ein zweites gp130 übernehmen. IL-6 benötigt als zusätzliche Untereinheit einen  $\alpha$ -Rezeptor und führt zu einer Homodimerisierung von gp130. An gp130 sind konstitutiv Januskinasen gekoppelt. Diese aktivieren sich nach Ligandenbindung durch Tyrosin-Phosphorylierung und phosphorylieren anschließend Tyrosin-Reste im zytoplasmatischen Bereich der IL-6-Rezeptoren. Dadurch wird eine Signaltransduktion ausgelöst, die letztendlich zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren der STAT-Familie und MAP-Kinasen führt. Diese beeinflussen wiederum die Transkription von Zielgenen.

Wie bereits erwähnt, gehören auch Stickstoffradikale im weitesten Sinne zu den Entzündungsmediatoren. Stickstoffmonoxid (NO) fungiert im Rahmen einer Entzündung als Vasodilatator durch die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur und kann die Thrombozytenaggregation hemmen. Es ist in der Lage, frei durch die Zellmembran zu diffundieren und besitzt eine Halbwertszeit von 2 bis 30 Sekunden. Daher kann NO nur die nächstgelegenen Zellen erreichen. Die NO-Synthase stellt in Endothelzellen aus Arginin und O<sub>2</sub> Citrullin und NO her. Dieses kann dann in die umliegenden glatten Muskelzellen diffundieren und dort die lösliche Guanylatzyklase aktivieren, was schließlich zur Vasodilatation führt. Es existieren drei Isoformen der NO-Synthasen: die endotheliale (eNOS), die neuronale (nNOS) und die induzierbare (iNOS) NO-Synthase. Endotheliale und neuronale NOS sind konstitutiv exprimiert und werden durch eine Erhöhung

der  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin-Konzentration aktiviert. Die iNOS kommt vor allem in Makrophagen und anderen Immunzellen vor und wird durch diverse Zytokine induziert. Es wird klar, dass eine Hemmung von NO oder iNOS antiinflammatorische Effekte aufweisen könnte. In den hier verglichenen Studien konnte für Anthocyanidine eine Reduktion von NO bzw. iNOS gezeigt werden.

## **2.4 Antiinflammatorische Therapie**

Die im Rahmen einer Entzündungsreaktion freigesetzten Mediatoren können neben ihren eigentlichen Zielstrukturen, den Noxen oder Fremdstoffen, auch körpereigene Strukturen angreifen. Dabei kommt es zu entzündlichen Veränderungen des umliegenden Gewebes. Gewinnt eine solche Entzündungsreaktion selbst an Krankheitswert, zum Beispiel indem sie überschießend verläuft, so muss therapeutisch mit einer antiinflammatorischen Behandlung eingegriffen werden. Hierbei sollte jedoch immer sorgfältig zwischen dem Nutzen der Therapie und dem Risiko, durch eine Immunsuppression andere Infektionserkrankungen zu verschlechtern oder wieder aufleben zu lassen, abgewogen werden [35].

Die derzeit potentesten antiinflammatorischen Therapeutika gehören zur Gruppe der Glucocorticoide. Wegen ihrer großen Relevanz soll im Folgenden näher auf ihren molekularen Wirkmechanismus eingegangen werden.

Glucocorticoidrezeptoren liegen ubiquitär in fast allen Zellen des menschlichen Körpers vor. Die Ausschüttung des wichtigsten Glucocorticoidhormons Cortisol unterliegt einer zirkadianen Rhythmik und wird durch negative Rückkopplung über Hypothalamus und Hypophyse gesteuert. Cortisol gelangt durch Diffusion in die Zielzelle und bindet dort an den Cortisolrezeptor im Zytosol. Dieser Rezeptor liegt dort in inaktiver Form assoziiert an die sogenannten „heat shock“-Proteine 70 und 90 (HSP 70 und 90) vor. Nach Ligandenbindung löst sich der Rezeptor von den HSP, dimerisiert und transloziert in den Zellkern. Dort interagiert der Rezeptorkomplex mit der DNA über eine Zinkfingerdomäne und reguliert die Transkription von 50 bis 100 Genen. Da Glucocorticoide auf

diesem Wege also über eine Änderung der Genexpression wirken, wird klar, warum diese Wirkung nicht sofort eintreten kann.

Neben einer vielfältigen Beeinflussung des Glucosestoffwechsels besitzen Glucocorticoide auch vielschichtige antiinflammatorische Effekte. Man vermutet, dass ihre große antiphlogistische Potenz gerade dadurch zustande kommt, dass mehrere molekulare Wirkmechanismen zusammenspielen. Zum einen wird die Induktion von proinflammatorischen Enzymen gehemmt. Dies geschieht über eine vermehrte Bildung von Lipocortin, das wiederum die Phospholipase A2 hemmt. Dieses Enzym ist, wie oben bereits erwähnt, für die Freisetzung von Arachidonsäure aus Phospholipiden zuständig, und liefert damit den Grundbaustein für die Synthese von Prostaglandinen und Leukotrienen. Desweiteren hemmen Glucocorticoide die Expression von COX-2 und degradierenden Enzymen wie z.B. Kollagenase sowie von iNOS, wodurch die Bildung von NO vermindert wird. Zum anderen weisen Glucocorticoide auch Effekte auf die zelluläre Immunantwort auf. So kommt es unter Einfluss von Cortisol zur Abnahme der Anzahl von zirkulierenden Lymphozyten, Monozyten und Eosinophilen durch Umverteilung dieser Zellen in andere Kompartimente des Körpers oder durch Apoptose. Zu einer Monozytopenie führt auch die Antagonisierung des Wachstumsfaktors M-CSF, wodurch die Bildung von Monozyten im Knochenmark unterbrochen wird. Ebenso wird die Aktivierung von T-Lymphozyten mittels Hemmung von IL-2 blockiert. Somit sind T-Lymphozyten nicht mehr in der Lage, auf einen antigenen Reiz mit einer klonalen Antwort zu reagieren. Auch wird die Expression von MHC-Molekülen und Zellinteraktionsmolekülen wie Selektinen vermindert. Dadurch können Leukozyten schlechter in entzündete Gewebe emigrieren. Die verbleibenden T-Lymphozyten werden in ihrer Funktion eingeschränkt, indem die Freisetzung von IFN- $\gamma$  gehemmt wird, welches unter anderem für die Aktivierung von Makrophagen verantwortlich ist. Glucocorticoide hemmen auch die Bildung von weiteren proinflammatorischen Zytokinen: So sinkt unter Cortisoleinfluss die Expression von TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, und IL-8-, sowie durch Induktion von I $\kappa$ -B $\alpha$  die Konzentration von NF- $\kappa$ B. Der Effekt auf B-Lymphozyten äußert sich in

einem milden Abfall von IgG-Antikörpern. Die Leber reagiert auf Cortisoleinfluss mit einer gesteigerten Produktion von Akut-Phase-Proteinen.

In der Therapie von Entzündungen werden synthetische Glucocorticoide eingesetzt, da diese wegen einer unterschiedlichen Affinität zu Transcortin, dem Transport- und Bindungsprotein von Glucocorticoiden, sowie zum Rezeptor, oder wegen eines langsameren Abbauweges eine zum Teil höhere Wirksamkeit als Cortisol allein aufweisen. Zu den gängigen eingesetzten Therapeutika gehört Prednisolon, das aufgrund einer Doppel- anstatt einer Einzelbindung zwischen C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> potenter als Cortisol ist. Das wirkstärkste Glucocorticoid ist 9 $\alpha$ -Fluor-16 $\alpha$ -Methyl-Prednisolon (Dexamethason). Aufgrund einer nur schwachen Bindung an Transcortin ist es um das 30-fache wirksamer als Cortisol [33, 35].

Zu den gängigsten Antiphlogistika zählen auch die sogenannten NSAR (nicht-steroidale Antirheumatika), deren Wirkmechanismus bereits erläutert wurde. NSAR lassen sich in saure und nicht saure Verbindungen unterteilen. Zu den nicht sauren NSAR zählen unter anderem Paracetamol, Metamizol und Phenazon, die analgetisch und antipyretisch, in therapeutischer Dosierung aber nicht ausreichend antiphlogistisch wirken. Saure NSAR dagegen zeigen analgetische, antipyretische und antiphlogistische Effekte. Zu diesen sauren Verbindungen gehören beispielsweise Salicylate, Essigsäure-, oder Propionsäure-Derivate oder Oxicame. Es ist möglich, dass die antiphlogistische Wirkung dieser Therapeutika in ihrem sauren pH begründet ist, der sie dazu befähigt, sich in entzündetem Gewebe anzureichern. Jedoch konnte diese Hypothese bisher experimentell noch nicht bewiesen werden.

Zur Gruppe der Salicylate gehört Acetylsalicylsäure (ASS), eines der am häufigsten verwendeten nichtopioiden Analgetika. Wie alle NSAR entfaltet ASS seine Wirkung durch eine Hemmung von COX-Enzymen. ASS inaktiviert COX-Enzyme durch irreversible Acetylierung eines Serin-Restes. Da Thrombozyten keinen Zellkern aufweisen, können sie die so geschädigten Enzymsysteme nicht regenerieren, und der Effekt von ASS hält bis zu zwölf Tage an, bis neue Thrombozyten ausgereift sind. ASS wird zur Prophylaxe von Myokardinfarkten



in Tagesdosen von 100 mg verwendet, in der antirheumatischen Therapie in Dosen von 4-6 g/d und zur Analgesie in Tagesdosen von 1,5-3 g. Um antiphlogistische Effekte zu erzielen, sind jedoch Dosierungen bis 5 g erforderlich. Bei solch hohen Dosen werden aber gastrointestinale Nebenwirkungen wie zum Beispiel Magengeschwüre so häufig, dass ASS zur antiphlogistischen Therapie kaum eingesetzt wird.

Zu den Essigsäure-Derivaten zählen unter anderem Indometacin und sein Prodrug Acemetacin. Indometacin ist ein starker Hemmstoff von COX-1 und COX-2 mit geringer Präferenz für COX-1 und vorwiegend antiphlogistisch wirksam. Die Tageshöchstdosis liegt zwischen 50 und 150 mg. Dieses NSAR hat an Bedeutung verloren, da es hohe Raten an gastrointestinalen Nebenwirkungen aufweist. Auch das häufiger verwendete Diclofenac ist ein Derivat der Essigsäure. Wie auch Indometacin ist es ein potenter Hemmer von COX-Enzymen, jedoch mit geringer Präferenz für COX-2. Im Gegensatz zu Indometacin zeigt Diclofenac weniger schwerwiegende gastrointestinale Nebenwirkungen, führt jedoch häufig zu einer Erhöhung von Leberenzymen. Die Tageshöchstdosis von Diclofenac liegt bei 75-150 mg.

Bekanntes Analgetikum und Antiphlogistikum ist auch Ibuprofen, ein 2-Arylpropionsäure-Derivat. Es ist ein relativ schwacher, nicht selektiver COX-Hemmer, der jedoch wegen seines relativ geringen Nebenwirkungsprofils im Vergleich zu anderen NSAR häufig eingesetzt wird. Wie auch bei ASS sind für antiphlogistische Effekte höhere Dosen (1200-2400 mg/d) als zur Analgesie nötig.

Da die Hemmung der Prostaglandinsynthese vorwiegend über den COX-2-Weg vonstattengeht, die unerwünschten Nebenwirkungen von NSAR jedoch vor allem durch die Hemmung von COX-1 bedingt sind, wurde durch die Entwicklung von COX-2-selektiven Medikamenten versucht, die Rate an Nebenwirkungen deutlich zu reduzieren. Die so gewonnenen Therapeutika weisen ein geringeres Risiko für gastrointestinale Nebenwirkungen und die Auslösung von Asthmaanfällen auf; außerdem wirken sie kaum auf die Thrombozytenaggregation. Jedoch zeigen sich für die sogenannten COX-2-Hemmer erhöhte Raten an Infekten der oberen Luftwege, Diarrhoen,

Kopfschmerzen und vor allem kardiovaskulären Ereignissen. Daher wurde der Wirkstoff Rofecoxib bereits vom Markt genommen, genauso wie Valdecoxib, das neben kardiovaskulären Ereignissen zu allergischen Hautreaktionen führte. Derzeit verfügbar sind zum Beispiel Celecoxib oder Parecoxib, letzteres ist zur Kurzzeitbehandlung von postoperativen Schmerzzuständen indiziert [35, 36].

## 2.5 Literatursuche

Ziel dieser Arbeit war es, Nachweise für antiinflammatorische Effekte von Anthocyanen und Anthocyanidinen, insbesondere von Delphinidin, zusammenzustellen und untereinander zu vergleichen. Zu diesem Zweck war eine Literaturrecherche notwendig, die die Datenbanken „Pubmed“ und „The Cochrane Library“ umfasste. Die Suche nach Studien fand im Juni 2012 statt und spiegelt somit den Stand der Forschung zu antiphlogistischen Effekten von Anthocyanidinen zu diesem Zeitpunkt wider.

Pubmed ist die Suchoberfläche der Datenbank „Medline“, die Literatur aus über 5200 Fachzeitschriften seit dem Jahr 1966 enthält. Entwickelt wurde Pubmed vom „National Center for Biotechnology Information“ (NCBI) der USA, basierend auf der „National Library of Medicine“. Um die Suche zu optimieren wurden sogenannte „MeSH“-Begriffe verwendet. Mit jedem Eintrag auf Pubmed sind solche „Medical Subject Headings“ assoziiert, die den Inhalt der Bibliographie beschreiben und somit als Index fungieren.

Die „Cochrane Library“ ist die Datenbank der „Cochrane Collaboration“, einem internationalen Zusammenschluss von Wissenschaftlern zur Erstellung und Veröffentlichung von systematischen Übersichtsarbeiten. In der „Cochrane Database of Systematic Reviews“ sind derzeit über 4700 Übersichtsarbeiten verzeichnet. Daneben sind weitere Datenbanken wie zum Beispiel die „Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE)“, das „Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)“ oder das „Cochrane Methodology Register (CMR)“ integriert.

Die Literatursuche mittels Pubmed gestaltete sich wie folgt: Mithilfe der „Medical Subject Headings“ fanden sich die Suchbegriffe „Anthocyanins“ und „Antiinflammatory Agents“ („Anthocyanins“ [MeSH] AND „Antiinflammatory Agents“ [MeSH]). Diese Eingabe lieferte insgesamt 56 Studien. Eine Suche nach „Antiphlogistic Agents“ in Kombination mit „Anthocyanins“ lieferte keine Ergebnisse. Auch eine detailliertere Suche nach „Delphinidin“ allein oder in Kombination mit dem Begriff „Antiinflammatory Agents“ oder „Antiphlogistic Agents“ brachte keine weiteren Studien als die bereits bekannten 56 Ergebnisse zu Tage. Die Einschlusskriterien für diese Arbeit waren: klinische Studie („clinical trial“), randomisierte kontrollierte Studie („randomized controlled trial“), Verfügbarkeit der Studie, Untersuchung von immunologischen Signalwegen. Ausgeschlossen wurden Studien, die die antikarzinogene Wirkung von Anthocyanidinen untersuchen, da diese in einer weiteren Arbeit analysiert werden sollen. Auch Reviews und Studien zu kardioprotektiven und neuroprotektiven Eigenschaften von Anthocyanidinen wurden nicht in diese Arbeit mit aufgenommen. Nach Anwendung dieser Kriterien belief sich die Anzahl der verbleibenden Studien auf 24.

Auch für die Suche mit der Cochrane-Bibliothek wurden die bereits genannten Suchbegriffe verwendet. Jedoch waren keine weiteren Ergebnisse, die nicht schon unter den bekannten 24 Studien vorhanden gewesen wären, zu ermitteln.

Zusätzlich zur Recherche mittels Pubmed und der Cochrane-Bibliothek wurde in den Bibliographien der relevanten Studien nach Quellen für Sekundärliteratur recherchiert.

Die verbliebenen 24 Studien lassen sich nach der analysierten Ausgangssubstanz wie folgt gliedern (Tabelle 3):

Anzahl Studien	Ausgangssubstanz
9	Cyanidin-3-Glycosid
6	Delphinidin oder Delphinidin-3-Glycosid
3	Flavonoide, nicht näher bezeichnet
3	Anthocyane, nicht näher bezeichnet
2	Pro-Delphinidin
1	Pro-Anthocyanidine
1	Abacopterin A (aus Farn-Spezies, enthält u.a. Flavone)

**Tabelle 3: Gliederung der Studien nach der Ausgangssubstanz**

Die überwiegende Zahl der verfügbaren Arbeiten erbrachte Daten zu Cyanidin-3-Glycosid. Das am zweithäufigsten verwendete Anthocyan bzw. Anthocyanidin war Delphinidin, jedoch stellt sich die Datenlage insgesamt noch als gering dar. Insgesamt 6 Studien verwendeten eine Mischung aus Flavonoiden bzw. Anthocyanen, die nicht näher bezeichnet wurden.

Manche Studien untersuchten allerdings auch mehrere Ausgangssubstanzen oder einen Extrakt, der aus verschiedenen Anthocyanen und Anthocyanidinen bestand. Tabelle 3 macht bereits deutlich, dass die Studienlage zu Delphinidin allein noch dürftig ist. Die Ausgangssubstanzen wurden aus verschiedenen Pflanzen, Früchten und Lebensmitteln extrahiert. Darunter waren Heidelbeeren (drei Studien), Süß- und Sauerkirschen (vier Studien), Granatapfel, schwarze Johannisbeeren, Purple Carrott (eine lilafarbene Karrottenart), Purple Corn (eine lilafarbene Maisart), blaue Heckenkirsche, schwarze Sojabohnen, Erdbeeren, Rotwein, grüner Tee, Traubenkerne und *Abacopteris penangiana* (in der Tabelle erwähnte Farn-Spezies) zu verzeichnen. In zwei Studien wurde ein synthetisches Pulver mit Anthocyanidinen und Anthocyanen aus nicht näher bezeichneten Bestandteilen analysiert.

Eine weitere Einteilung der betrachteten Studien ist anhand der Untersuchungsgruppen vorzunehmen (Tabelle 4).

<b>Anzahl Studien</b>	<b>Untersuchungsgruppe</b>
11	Mäuse oder Ratten
9	Makrophagen-Zellkultur
2	Menschliche Blutproben
1	MH7A-Zellen

**Tabelle 4: Einteilung der Studien nach Untersuchungsgruppen**

Die Mehrzahl der Studien verwendete ein in-vivo-Modell mit Nagern, fast ebenso häufig waren Daten zu in-vitro-Modellen zu eruieren. Nur zwei Studiengruppen untersuchten antiinflammatorische Effekte anhand von menschlichen Blutproben.

Diese Einteilung, die auch in der statistischen Auswertung wiederzufinden ist, wurde notwendig, um eine Vergleichbarkeit der Studien zu gewährleisten, da die verabreichten Konzentrationen an Extrakten für Mäuse und Ratten natürlich um ein Vielfaches höher waren, als die Konzentrationen für Zellkulturen.

Die in den einzelnen Studien verwendeten Vergleichssubstanzen waren vielfältig. So wurden in den Studien, die antiinflammatorische Effekte von Anthocyanen oder Anthocyanidinen an Mäusen oder Ratten nachzuweisen versuchten, meist zwei Gruppen verglichen: eine hochkalorische „high fat diet“ oder „normal diet“, gegen eine „high fat diet“ plus Anthocyanidin-reiche Kost. Die Studien, die Blutproben von menschlichen Probanden untersuchten, führten Vergleiche mit Placebogruppen durch. Dabei erhielten die Patienten entweder einen Extrakt oral oder kommerziellen Pflaumensaft oder Zuckerkapseln als Placebo. Die Versuche mit Zellreihen verwendeten in zwei Ansätzen jeweils die gleichen Zellen, jedoch einmal ohne inflammatorische Stimulation durch LPS oder ohne Zusatz von Anthocyanidinen oder Anthocyanen. In insgesamt vier Studien wurde die antiinflammatorische Wirksamkeit von Anthocyanidinen und

Anthocyanen mit der von bekannten antiphlogistischen Medikamenten, wie unter anderem Dexamethason, Naproxen, Ibuprofen oder Aspirin verglichen. In einer analysierten Studie diente  $\alpha$ -Tocopherol als Referenzsubstanz.

Bis auf eine Studie (Studie Nr. 20) lieferten alle untersuchten Arbeiten positive Ergebnisse, d.h. sie konnten eine antiinflammatorische Wirkung der untersuchten Stoffe feststellen. In Studie Nr. 20 wurden Polyacetylene aus Purple Carrott isoliert, die die Produktion von NO in Makrophagen reduzierten. Im gleichen Versuchsansatz gelang dies einem Extrakt aus Anthocyanen jedoch nicht.

## **2.6 Auswertung der Daten**

Um die gesammelten Studien vergleichbar zu machen, wurden sie mithilfe des Programms „Microsoft Office Excel 2007“ in Tabellen zusammengefasst. Dazu wurde eine Tabelle angelegt, in welcher die Studien nach den folgenden Gesichtspunkten aufgelistet wurden: untersuchte Substanz, Kontrollgruppe („Control“) oder Placebo, Ausgangssubstanz, Fokus der Studie, Dauer der Versuche, statistische Verfahren, p-Value, Tierart oder Zelllinie, Anzahl der Tiere oder der Personen pro Versuchsgruppe (n), Menge an verabreichtem Extrakt, Dauer der Gabe des Extraktes, histologisch untersuchtes Gewebe, Schichtdicke des histologisch untersuchten Gewebes, Immunhistochemie, Effekt des Extraktes auf die Konzentration von TNF- $\alpha$  (pg/ml), Effekt auf IL-6 (pg/ml), Effekt auf NF- $\kappa$ B in Prozent, Effekt auf IFN- $\gamma$  in Prozent, Effekt auf COX-2 in Prozent, Effekt auf NO in nM/mg oder  $\mu$ M/L, Effekt auf iNOS in Prozent oder U/L, Signifikanz der Messungen und zusätzliche Bemerkungen. Die Anordnung der Studien in der Tabelle erfolgte nach gemeinsamen Merkmalen und entspricht keiner Wertung oder Rangfolge. Begonnen wurde mit den Studien, die TNF- $\alpha$  und IL-6 untersuchten, darauf folgen die Studien, die hauptsächlich die Auswirkungen auf COX-2 verglichen etc. Diese Tabelle dient einer Übersicht über die bearbeiteten Studien und wurde nicht statistisch analysiert. Für die statistische Aufarbeitung wurden sieben Signalwege ausgewählt: COX-2, I $\kappa$ -B $\alpha$ , IL-6, iNOS, NO, NF- $\kappa$ B und TNF- $\alpha$ . Die Daten zu IL-

6, NO, NF- $\kappa$ B und TNF- $\alpha$  konnten sowohl für Zellkulturen als auch in Tierversuchen gesammelt werden. In einigen Studien wurden die inflammatorischen Marker TNF- $\alpha$ , IL-6 und iNOS als Protein oder m-RNA beurteilt, was ebenfalls in den Tabellen zur statistischen Analyse Eingang fand und in der Auswertung unter dem Begriff „Art“ geführt wird. Statistische Vergleichspunkte waren die folgenden: Wirkstoff, Wirkdauer (h), Menge an Wirkstoff (bei Versuchen mit Zellkulturen in  $\mu$ M, bei Tierversuchen in mg), Konzentration des Markers in der Kontrollgruppe, Menge des Markers in der Gruppe mit Wirkstoff, Reduktion des Markers in Prozent, Signifikanz. Für alle verwendeten Werte wurden Standardfehler, sofern nicht bereits vorhanden, berechnet. Lagen die Daten einer Studie nicht in numerischer Form, sondern nur als Grafiken vor, so wurden die jeweiligen Arbeitsgruppen kontaktiert, um die genauen Werte zu erhalten. War dies nicht möglich oder konnten die entsprechenden Arbeiten nicht zur Verfügung gestellt werden, so wurden die Daten aus den Grafiken sorgfältig abgelesen.

Die Methodik, mit der bei der statistischen Auswertung vorgegangen wurde, lässt sich wie folgt beschreiben: Verwendet wurde die Statistiksoftware „IBM SPSS Statistics“. Die grundlegende Fragestellung lautete: Haben die Variablen „Wirkstoff, Wirkdauer, Menge an Wirkstoff und Art (m-RNA oder Protein)“ jeweils unter Kontrolle der anderen Variablen einen Einfluss auf die Reduktion von inflammatorischen Markern? Die zentrale zu analysierende Variable war damit die Reduktion des entsprechenden inflammatorischen Parameters im Vergleich zur Kontrollgruppe. Für jede Studie lagen eine oder mehrere Reduktionen mit jeweils einer bestimmten Standardabweichung vor. Diese Standardabweichung der Reduktion konnte jedoch nicht genau berechnet werden und wurde daher mithilfe von Näherungsformeln aus den Standardabweichungen der Behandlungsgruppe und der Kontrolle sowie der Fallzahlen geschätzt. Je kleiner der Wert einer solchen Standardabweichung der Reduktion ist, desto genauer wird die Information, die man erhält. Daher gingen Ergebnisse mit geringer Standardabweichung mit einem höheren Gewicht in die Analyse ein als ungenauere Informationen. Die Gewichtung der

Ergebnisse erfolgte mit  $1/(\text{Standardabweichung der Reduktion})$  oder mit anderen Worten: Je geringer die Standardabweichung, desto höher das Gewicht.

Ein weiterer Faktor, der in der Auswertung beachtet werden musste, war die Tatsache, dass die Daten innerhalb einer Studie als „Cluster“ auftraten. Das bedeutet vereinfacht gesagt, dass sich die Daten und damit auch die Ergebnisse innerhalb einer Studie ähnlicher waren als die Ergebnisse zwischen den verschiedenen Studien. Dies wurde zunächst versucht, in der Auswertung zu berücksichtigen, indem angenommen wurde, dass die Studienbedingungen nicht in jeder Studie gleich waren und sich damit die verschiedenen Studien um eine gewisse additive Konstante unterscheiden.

Die Variablen „Menge an Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ waren in der Auswertung als sogenannte metrische Variablen zu klassifizieren, da sie echte Zahlen enthalten. Dagegen stellten die Variablen „Wirkstoff“ und „Art des Versuchs“ kategoriale oder nominale Variablen dar, die nicht als Zahlen interpretiert wurden. Lässt sich für metrische Variablen ein Zusammenhang, zum Beispiel zwischen verabreichter Menge an Wirkstoff und der Reduktion eines inflammatorischen Markers, darstellen, so kann zusätzlich die Stärke des linearen Zusammenhanges berechnet werden. In Worten formuliert lautet eine solche Stärke des Zusammenhanges daher beispielsweise: „Erhöht sich die Konzentration an verabreichtem Wirkstoff um  $1 \mu\text{M}$ , so ändert sich die Reduktion um den Faktor  $x$ .“ Bei einem positiven Zusammenhang zeigt ein positiver Wert für den Faktor  $x$  an, dass mit höheren Konzentrationen an Wirkstoff auch die Reduktion an inflammatorischen Markern steigt. Dies bedeutet damit eine Verbesserung der Behandlung im Vergleich mit der Kontrollgruppe. Ist der Faktor  $x$  dagegen negativ, führt eine Erhöhung der Konzentration an verabreichtem Wirkstoff zu einer Verringerung der Reduktion und zeigt damit keine oder eine verminderte antiinflammatorische Wirksamkeit des Extraktes an. Liefert der Vergleich der nominalen Variablen Unterschiede, zum Beispiel zwischen den einzelnen Wirkstoffen, so kann weiter berechnet werden, um welche Wirkstoffe es sich hierbei genau handelt. Dazu werden sogenannte geschätzte Randmittel benutzt. Bei diesem Verfahren wird von



einem hypothetischen Experiment ausgegangen, bei dem die Wirkungsdauer genau dem Mittelwert der Wirkungsdauer in der Stichprobe entspricht und die Menge an Wirkstoff genau dem Mittelwert an Wirkstoff in der Stichprobe. Diese Ergebnisse werden geschätzt und mit den tatsächlichen Ergebnissen, zum Beispiel zwischen den Wirkstoffen, verglichen. Dabei wird eine Bonferroni-Korrektur durchgeführt.

Zwischen den Variablen war teilweise eine sogenannte perfekte Trennung zu beobachten. Dies bedeutet, dass es bei manchen Studien vorkam, dass Wirkstoff A nur mit Dauer x angewendet wurde und Wirkstoff B nur mit Dauer y. Wenn sich in der Auswertung dieser Daten nun ein Unterschied zwischen den Studien herausstellte, konnte nicht getrennt werden, ob dieser von der unterschiedlichen Dauer oder dem unterschiedlichen Wirkstoff rührt. Daher musste in diesen Fällen aus rechentechnischen Gründen eine Variable entfernt werden, wobei hier die Variable „Dauer“ gewählt wurde. Die Ergebnisse für den Wirkstoff müssen dann im Sinne beider Variablen interpretiert werden.

Auch zwischen den einzelnen Studien fiel eine perfekte Trennung auf. Darunter ist zu verstehen, dass bei manchen Parametern jeder Wirkstoff und jede Wirkdauer in nur genau einer Studie vorkam. Wie oben bereits erwähnt, wurde versucht, in der Auswertung darauf Rücksicht zu nehmen, dass die Daten daher als Cluster auftraten und die Studienbedingungen wahrscheinlich nicht immer identisch waren. Wenn nun aber jeder Wirkstoff nur in genau einer Studie analysiert wird, lässt sich bei eventuell berechneten Unterschieden nicht rückschließen, ob die Unterschiede durch die verschiedenen Wirkstoffe oder die unterschiedlichen Rahmenbedingungen der Studien zustande kommen. In diesem Fall wurde angenommen, dass zwischen den Studien keine unterschiedlichen Bedingungen galten, damit möglicherweise auftretende Unterschiede den Variablen zugeordnet werden konnten. Eine Rechtfertigung für diese Annahme könnte die Auswertung der Daten für NF- $\kappa$ B liefern. Hier konnte der Faktor „Studie“ berücksichtigt werden, was bedeutet, dass eventuelle Unterschiede in den Rahmenbedingungen der Studien in diesem Datensatz zu berechnen waren. Die so ermittelte Varianz zwischen den Studien

war nicht signifikant von 0 verschieden (Wert 0,585), was bedeutet, dass keine überzufälligen Abweichungen der Studien vom Gesamtmittelwert festzustellen waren. Damit waren in diesem Modell rechnerisch keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Rahmenbedingungen der Studien nachzuweisen.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Ergebnisse aller Tierversuche**

Die in dieser Statistik verwendeten Daten wurden alle aus wissenschaftlichen Arbeiten entnommen, die durch eine Literaturrecherche nach dem im Abschnitt „2. Material und Methoden, 2.5 Literatursuche“ beschriebenen Prinzip zu finden waren. Eine Abweichung von diesem Prinzip fand nicht statt. Wie oben bereits erwähnt, erbrachte die Suche nach dem Stichwort „Delphinidin“ allein oder in Kombination mit den Stichworten „Antiinflammatory Agents“ oder „Antiphlogistic Agents“ keine weiteren Studien, die für die vorliegende Fragestellung passend gewesen wären und nicht schon durch die Suche nach „Anthocyanins“ in Kombination mit „Antiinflammatory Agents“ abgedeckt gewesen wären. Für eine Übersichtsarbeit zu antiinflammatorischen Effekten von Delphinidin allein ist daher die Datenlage derzeit zu gering und weitere Grundlagenforschung in diesem Bereich nötig.

Nachdem die Daten aus den verschiedenen Studien in Tabellen zusammengefasst und geordnet waren (siehe Anhang), wurden sie im nächsten Schritt statistisch ausgewertet. Wie oben bereits erwähnt, war eine Trennung nach Tier- und Zellversuchen, beziehungsweise nach in vivo- und in vitro-Daten notwendig, um die Vergleichbarkeit der Datensätze zu gewährleisten. Daher war es sinnvoll, zunächst alle Tierversuche gemeinsam zu betrachten. Dabei mussten in der Auswertung die Variablen „Studie“ und „Dauer“ entfernt werden, was bedeutet, dass hier zum einen angenommen wurde, die Studienbedingungen wären für alle Tierversuche gleich gewesen. Zum anderen sind die Ergebnisse unter „Wirkstoff“ dadurch wie eine Kombination aus

„Wirkstoff“ und „Dauer“ zu interpretieren. Unter diesen Annahmen ergaben sich für die Variablen „Wirkstoff/Dauer“ und „Menge an Wirkstoff“ (hier in mg) folgende Ergebnisse: Für die Kombination „Wirkstoff/Dauer“ beträgt die Signifikanz 0,028, für die Variable „Menge“ 0,003. Diese beiden Werte sind im Anhang unter „Ausgabe alle Tierversuche“ in der Tabelle „Tests auf feste Effekte, Typ III“ als gelb markiert zu finden. Untersuchte Wirkstoffe waren APA (*Abacopteris penangiana*), ein nicht weiter aufgeschlüsselter Extrakt aus Anthocyanen (AC), BHE (Blue Honeysuckle-Extrakt, aus der blauen Heckenkirsche *Lonicera caerulea*), Cyanidin-3-Glykosid (C3G), Luteolin, ein Gemisch aus Petonidin-3-Glykosid, Delphinidin-3-Glykosid (D3G), Malvidin-3-Glykosid (M3G), Cyanidin-3-Glykosid und Peonidin-3-Glykosid, desweiteren Pro-Anthocyanidine (Pro-AC, siehe Tabelle „Schätzungen fester Parameter“ im Anhang). Da die Variable „Menge“ ein signifikantes Ergebnis lieferte, konnte die Stärke des linearen Zusammenhanges berechnet werden, jedoch ergab sich hier ein negativer Zusammenhang von -0,006327 (in der Tabelle „Schätzungen fester Parameter“ gelb markiert). Dies bedeutet, dass pro mg verabreichtem Wirkstoff die Reduktion von inflammatorischen Markern um 0,006327 sinkt. Damit verringert sich die Reduktion und der Wirkstoff wirkt schlechter. Dass die Variable „Wirkstoff“ ein signifikantes Ergebnis liefert, bedeutet, dass zwischen den verschiedenen Wirkstoffen Unterschiede bestehen müssen. Dies zeigt sich in der Tabelle „Schätzungen fester Parameter“ in den grün gekennzeichneten Werten. Um weiter zu erfahren, welche Wirkstoffe sich genau unterscheiden, wurden geschätzte Randmittel berechnet. Dabei ging man von einer durchschnittlichen Wirkstoffmenge von 7,453 mg aus (türkis markierter Wert). Der paarweise Vergleich zwischen den einzelnen Wirkstoffen, beziehungsweise der Kombination Wirkstoff/Dauer, lieferte jedoch keine signifikanten Ergebnisse. Somit kann zwar festgestellt werden, dass die untersuchten Wirkstoffe negativen Einfluss auf die Reduktion inflammatorischer Parameter nehmen, aber nicht, inwieweit sich die einzelnen Wirkstoffe in ihrem Effekt voneinander unterscheiden.

### 3.2 Ergebnisse aller Zellkulturen

Ebenso wie die Datensätze der Tierversuche wurden die Studien, in denen Zellkulturen untersucht wurden, zunächst zusammen analysiert. Auch hier musste die Variable „Studie“ entfernt werden, um feststellen zu können, ob die beobachteten Effekte durch die anderen Variablen wie Wirkstoff, Dauer etc. zustande kamen. In der Tabelle „Tests auf feste Effekte, Typ III“ lässt sich erkennen, dass die Variablen „Wirkstoff“ und „Menge in  $\mu\text{M}$ “ jeweils signifikante Ergebnisse mit einem p-Wert von 0,000 aufweisen. Dies war jedoch nicht für die Parameter „Dauer“ und „Art des Versuchs“ der Fall. Das lässt vermuten, dass es bei der Analyse der antiinflammatorischen Effekte von Anthocyanidinen oder Anthocyanen keinen Unterschied macht, ob in den Versuchsansätzen Proteine oder m-RNA untersucht werden.

Folgende Wirkstoffe wurden insgesamt untersucht: BHE, C3G, Cyanidin-3-Rutinosid (C3R), Cyanidin, Delphinidin (DP), Luteolin, Prodelphinidin B2 3-O-gallate (PDG) sowie Prodelphinidin B2 3,3-di-O-gallate (PDGG). Als Stärke des linearen Zusammenhanges (in der Tabelle „Schätzungen fester Parameter“ grün markiert) ergab sich ein Wert von 0,002022. Dies bedeutet, dass pro  $\mu\text{M}$  Wirkstoff die Reduktion inflammatorischer Marker sich um 0,002022 (oder in Prozent ausgedrückt 0,2022%) verstärkt, was einen positiven Zusammenhang zwischen der Menge an verabreichtem Wirkstoff und der Reduktion einer inflammatorischen Reaktion darstellt. Um weiter zu berechnen, welche Wirkstoffe genau für die Reduktion verantwortlich sind, wurde ebenso wie für die Reihe der Tierversuche das Verfahren der geschätzten Randmittel angewandt (grün markierte Werte in der Tabelle „Schätzungen“).

Die verwendeten Mittelwerte waren für die Menge an Wirkstoff 36,255  $\mu\text{M}$  und für die Versuchsdauer 3,000039 h. Bei den darauffolgenden paarweisen Vergleichen der Wirkstoffe untereinander (Tabelle „Paarweise Vergleiche“) konnten jedoch wie schon für die Tierversuche keine signifikanten Ergebnisse erzielt werden. Für die Variable „Wirkstoff“ war damit keine Post-Hoc-Signifikanz zu erreichen, was bedeutet, dass wiederum zwar festgestellt werden

konnte, dass Unterschiede zwischen den einzelnen Wirkstoffen bestehen, aber nicht, für welche Wirkstoffe genau.

### 3.3 Ergebnisse für COX-2

Um eine genauere Aussage über die antiphlogistische Wirksamkeit von Anthocyanidinen und Anthocyanen treffen zu können, wurden die Studien nach den untersuchten Markern für inflammatorische Aktivität eingeteilt und die gewonnenen Daten nach dieser Einteilung statistisch analysiert. Bei der Betrachtung der Werte für den Faktor COX-2 ließen sich folgende Schlüsse ziehen: Insgesamt wurden 22 verschiedene Ansätze ausgewertet, die aus 7 verschiedenen Studien stammten. Es waren keine Studien mit Versuchen an Tiermodellen zu finden, daher beziehen sich die anschließenden Werte nur auf Zellkulturen. Wie schon bei der Auswertung aller Versuche mit Zellkulturen konnte die Variable „Studie“ nicht eingeschlossen werden, wodurch eine Berücksichtigung, dass die Daten aus verschiedenen Studien stammen, nicht möglich war. Es lagen Werte für die Variable „Art“ vor, jedoch waren in der statistischen Analyse dieser Werte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Daten für m-RNA und denen für Protein zu berechnen. Dies lässt wiederum den Schluss zu, dass Anthocyanidine und Anthocyane ihre antiinflammatorische Aktivität auf m-RNA- und Protein-Ebene gleichermaßen entfalten. In der Tabelle „Tests auf feste Effekte, Typ III“ sind die Variablen, für die signifikante Ergebnisse vorlagen, gelb markiert. Es handelt sich dabei um die Parameter „Wirkstoff“ (Signifikanz 0,035) und „Menge Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ (Signifikanz 0,000). Neben der Variable „Art“ konnte damit auch die Wirkdauer nicht in der Analyse berücksichtigt werden (Signifikanz „Art“ 0,353; Signifikanz „Dauer in h“ 0,274). Folgende Wirkstoffe wurden untersucht: C3G, DP, PDG und PDGG. Die Stärke des linearen Zusammenhanges beträgt für COX-2 0,004881. Damit erhöht sich pro  $\mu\text{M}$  mehr Wirkstoff die Reduktion von COX-2 um 0,004881.

Unter dem Punkt „Geschätzte Randmittel“ sind weiterhin die Berechnungen zu Unterschieden zwischen den einzelnen Wirkstoffen zu finden.

Berechnungsgrundlage ist dazu ein Mittelwert von 11,603728 h für die Wirkdauer und 48,616  $\mu\text{M}$  für den Wirkstoff. In der Tabelle „Paarweise Vergleiche“, wo die einzelnen Wirkstoffe nun gegeneinander aufgetragen wurden, fiel ein Unterschied zwischen PDG und DP mit einem p-Value von 0,049 auf. Dies bedeutet, dass Prodelphinidin B2 3-O-gallate mit verwendeten Wirkstoffmengen von 12,5 – 25 – 50 – 75  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 1,16 h bessere Ergebnisse lieferte als Delphinidin mit Wirkstoffmengen von 10 und 30  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 24 h, sowie mit 25 – 50 – 75 – 100  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 1 h. Da die Variablen „Studie“ und „Dauer“ nicht berücksichtigt werden konnten, müssen die Ergebnisse als Kombination von Wirkstoff und Wirkdauer interpretiert werden. Gründe für die berechnete bessere Wirksamkeit von PDG liegen derzeit noch nicht vor und müssen diskutiert werden. Die übrigen untersuchten Wirkstoffmengen waren 250  $\mu\text{M}$  Cyanidin-3-O-Rutinosid und 250  $\mu\text{M}$  Cyanidin-3-O-Glykosylrutinosid jeweils mit einer Wirkdauer von 0,03 h, C3G in einer Menge von 1 – 10 – 50 – 100  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 14 h, sowie in einer Menge von 50 und 100  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 30 h, DP in einer Menge von 25 – 50 – 75 – 100  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 1 h und PDGG in einer Menge von 12,5 – 25 – 50  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 2 h.

### **3.4 Ergebnisse für TNF- $\alpha$**

Für den inflammatorischen Parameter TNF- $\alpha$  lagen Daten sowohl aus Studien mit Tiermodellen als auch aus Studien mit Zellkulturen vor. Insgesamt belief sich die Anzahl der Studien mit Ergebnissen zu Versuchen an Tieren auf 7, jedoch reichte dieses Material aus Mangel an Daten nicht aus, um ein gültiges Modell zu berechnen. Daher war es nicht möglich, diese Studien in die Auswertung zu integrieren. Die in diesen Studien beobachteten Reduktionen von TNF- $\alpha$  lagen zwischen 18% und 100%. Die verwendeten Mengen an Wirkstoff betragen in den Studien mit Tiermodellen 28 und 56 mg, 19,5 – 195 – 336 mg, 14 mg, 56 mg, 1 mg, 0,0922 – 0,922 – 9,22 mg, sowie 0,756 mg. In der Analyse der Studien mit Zellkulturen lagen vier Studien mit insgesamt 13 Ansätzen vor, aus denen ein Modell berechnet werden konnte. Desweiteren

waren Daten zu m-RNA und Protein vorhanden. Wie bereits für die Ergebnisse aller Zellkulturen, sowie für die Ergebnisse von COX-2 beschrieben, konnte auch hier kein signifikanter Unterschied für die Variable „Art“ berechnet werden (Signifikanz 1,000). Für den Parameter „Menge Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ waren keine signifikanten Ergebnisse zu berechnen (Signifikanz 0,087). Weiterhin war eine perfekte Trennung zwischen den Variablen „Studie“, „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ zu beobachten, weshalb in der Auswertung „Studie“ und „Wirkdauer“ nicht berücksichtigt werden konnten. Die Ergebnisse unter „Wirkstoff“ sind damit wie eine Kombination aus „Wirkstoff“ und „Dauer“ zu interpretieren. In den Studien verwendete Wirkstoffe waren C3G, Cyanidin, DP und Luteolin. Luteolin ist ein Flavon und damit mit den Anthocyanidinen und Anthocyanen verwandt (siehe 2.1 Biochemie der Anthocyane und Anthocyanidine). Da der Parameter „Menge Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ keine signifikanten Ergebnisse lieferte, konnte kein linearer Zusammenhang berechnet werden. Deshalb kann in der Analyse der Daten für TNF- $\alpha$  auch keine Aussage zur Wirkstärke der untersuchten Stoffe gemacht werden. Bei der Berechnung der geschätzten Randmittel zur Feststellung von Unterschieden zwischen den einzelnen Wirkstoffen wurde ein Mittelwert der „Menge Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ von 36,255  $\mu\text{M}$  als Grundlage angenommen. Dabei war mit einer Signifikanz von  $p < 0,032$  ein Unterschied zwischen den Wirkstoffen Luteolin und C3G festzustellen: Luteolin zeigte mit einer verabreichten Menge von 20 – 100 – 500  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 3 h eine höhere Reduktion von TNF- $\alpha$  als Cyanidin mit einer Menge von 5 – 10 – 50  $\mu\text{M}$  und einer ebenso langen Wirkdauer von 3 h. Die übrigen untersuchten Wirkstoffe, für die jedoch kein Unterschied zu berechnen war, waren DP in einer Menge von 10 – 30 – 50  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 24 h, sowie Cyanidin-3-Glykosid in einer Menge von 0,005 – 0,050 – 0,500 – 10,000  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 3 h.

### **3.5 Ergebnisse für Ik-B $\alpha$**

Für Ik-B $\alpha$  als Marker einer entzündlichen Reaktion lagen nur Daten zu Studien mit Zellkulturen vor, keine Daten zu Versuchen mit Tiermodellen und keine

Angaben zur Art des untersuchten Agens. Damit ist keine Aussage darüber möglich, ob m-RNA oder Protein von I $\kappa$ -B $\alpha$  analysiert wurde. Insgesamt lagen für I $\kappa$ -B $\alpha$  drei verschiedene Studien vor, die zusammen acht unterschiedliche Versuchsansätze untersuchten. Wie schon in der Auswertung von TNF- $\alpha$  zeigt sich auch hier eine perfekte Trennung der Variablen „Studie“, „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“. Daher musste die Variable „Studie“ im Modell entfernt werden, und die Ergebnisse unter „Wirkstoff“ wären wie die Kombination aus „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ zu interpretieren. Die untersuchten Wirkstoffe waren DP und PDGG. In der Tabelle „Tests auf feste Effekte, Typ III“ findet sich nur für den Parameter „Menge des untersuchten Wirkstoffs in  $\mu$ M“ eine Signifikanz, welche hier einen p-Value von 0,013 aufweist. Unter dem Bereich „Schätzungen fester Parameter“ lässt sich daher ablesen, dass die Stärke des linearen Zusammenhanges für die Variable „Menge“ den Wert 0,013277 beträgt, also pro  $\mu$ M mehr Wirkstoff die Blockade der Degradation von I $\kappa$ -B $\alpha$  um 0,013277 steigt. Da nur für den Parameter „Menge“ ein signifikantes Ergebnis zu berechnen war, nicht jedoch für die Variable „Wirkstoff“, waren unter den Punkten „Geschätzte Randmittel“ und „Paarweise Vergleiche“ auch keine Unterschiede zwischen den einzelnen Wirkstoffen zu ermitteln. Eine Aussage darüber, ob nun DP oder PDGG stärkere antiinflammatorische Effekte auf I $\kappa$ -B $\alpha$  hat, ist daher in diesem Modell nicht möglich. Die untersuchten Wirkstoffmengen waren für DP 25 – 50 – 75 – 100  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von 1 h und für PDGG 12,5 – 25 – 50  $\mu$ M mit einer Dauer von 2 h.

### **3.6 Ergebnisse für NF- $\kappa$ B**

Die Daten für NF- $\kappa$ B als Marker für inflammatorische Aktivität beinhalteten sowohl Studien mit Tiermodellen als auch Studien mit Zellkulturen. In den zwei Studien mit Tiermodellen wurde APA in einer Menge von 28 und 56 mg jeweils über 672 h, sowie BHE in einer Menge von 100 mg mit einer Wirkdauer von 24 h gegeben. Die berechneten Reduktionen von NF- $\kappa$ B beliefen sich für 28 mg APA auf 9%, für 56 mg APA auf 38% und für 100 mg BHE auf 51%. Insgesamt lieferten die Tiermodelle für NF- $\kappa$ B damit zu wenig Datenmaterial, um ein



Modell daraus berechnen zu können. Für NF- $\kappa$ B in Versuchen mit Zellkulturen lagen insgesamt fünf verschiedene Studien mit acht unterschiedlichen Ansätzen vor; jedoch beinhalteten diese keine Angaben, ob m-RNA oder Protein untersucht wurde. Eine Aussage zur Variable „Art des Versuchs“ ist damit nicht möglich. Wie oben bereits erwähnt, war die Auswertung der Daten zu NF- $\kappa$ B der einzige Ansatz, in dem die Variable „Studie“ berücksichtigt werden konnte und könnte damit eine Rechtfertigung für die Annahme gleicher Studienbedingungen in den Auswertungen der anderen Parameter bieten. Der Tabelle „Schätzungen von Kovarianzparametern“ ist zu entnehmen, dass die Varianz zwischen den Studien mit NF- $\kappa$ B als gemeinsamer Variable einen Wert von 0,585 aufweist und damit nicht signifikant von 0 verschieden ist. Die für NF- $\kappa$ B untersuchten Wirkstoffe waren DP, C3G und BHE. In der weiteren Auswertung der Daten ergab sich lediglich für die Variable „Menge an Wirkstoff in  $\mu$ M“ ein signifikantes Ergebnis; für die Parameter „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ war dies nicht der Fall. Das Ergebnis für „Menge an Wirkstoff in  $\mu$ M“ ist in der Tabelle „Schätzungen fester Parameter“ abzulesen und beträgt einen p-Value von 0,000369. Als Stärke des linearen Zusammenhanges ließ sich damit ein Wert von 0,005125 berechnen, was bedeutet, dass sich pro  $\mu$ M mehr Wirkstoff die Reduktion von NF- $\kappa$ B um 0,005125 verstärkt. Da für die einzelnen Wirkstoffe keine signifikanten Ergebnisse vorlagen, konnten auch keine geschätzten Randmittel und damit keine weiteren Unterschiede zwischen den Wirkstoffen errechnet werden. Die untersuchten Wirkstoffmengen waren für DP eine Menge von 10 und 30  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von jeweils 24 h, für BHE eine Menge von 9,2  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von 24 h, für C3G 0,5  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von 16 h und 100  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von 14 h, sowie in einer anderen Studie für C3G eine Wirkstoffmenge von 10 – 50 – 100  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von je 30 h.

### **3.7 Ergebnisse für IL-6**

Für IL-6 als inflammatorischen Marker waren sowohl Studien mit Tiermodellen, als auch Studien, die Zellkulturen untersuchten, zu finden. Die beiden Studien,

die Tiermodelle analysierten, verwendeten APA in einer Wirkstoffmenge von 28 und 56 mg mit einer Wirkdauer von je 672 h, sowie einen nicht näher bezeichneten Extrakt von Anthocyanen in einer Wirkstoffmenge von 19,5 und 195 mg mit einer Wirkdauer von jeweils 1008 h. Diese Studien lieferten für die Reduktion von IL-6 Werte zwischen 29 und 50%. Für die Variablen „Studie“, „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ war eine perfekte Trennung zu beobachten. Insgesamt war die Anzahl an Ereignissen in der Gruppe der Tiermodelle zu gering und die Zahl der Einflussfaktoren zu groß, um daraus statistische Ergebnisse zu gewinnen. Auch die Anzahl der Studien mit Zellkulturen belief sich auf zwei, jedoch waren hier im Vergleich zu den Tiermodellen mehr Ansätze vorhanden, sodass eine statistische Analyse möglich war. Diese insgesamt neun Ansätze beinhalteten auch Angaben zur Variable „Art des Versuches“, sodass berechnet werden konnte, ob ein Unterschied in der Wirkung von Anthocyanidinen auf m-RNA oder Protein besteht. Dies war jedoch nicht der Fall. Wie auch für die Studien mit Tiermodellen lag eine perfekte Trennung zwischen den Variablen „Studie“, „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ vor. Die Faktoren „Studie“ und „Wirkdauer“ wurden daher aus der Analyse entfernt und die für „Wirkstoff“ berechneten Ergebnisse wären wie eine Kombination aus „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ zu interpretieren. Jedoch ergab die Analyse der Daten zur Variable „Wirkstoff“ keine signifikanten Ergebnisse, sondern nur die Analyse zu „Menge an Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ (Signifikanz 0,005). Dies bedeutet, dass keine Unterschiede zwischen den einzelnen Wirkstoffen berechnet werden konnten. Der Tabelle „Schätzungen fester Parameter“ ist zu entnehmen, dass sich pro  $\mu\text{M}$  mehr Wirkstoff die Reduktion von IL-6 als inflammatorischem Parameter um 0,010667 erhöht. Dieser Wert bezeichnet damit die Stärke des linearen Zusammenhanges zwischen der Variable „Menge an Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ und der Reduktion von IL-6. Die in dieser Analyse verwendeten Wirkstoffe waren DP in einer verabreichten Menge von 10 – 30 – 50  $\mu\text{M}$  an JURKAT-Zellen mit einer Wirkdauer von 24 h, sowie in einer Menge von 10  $\mu\text{M}$  und 30  $\mu\text{M}$  an MH7A-Zellen, ebenfalls mit einer Wirkdauer von 24 h. Desweiteren wurde C3G als Wirkstoff verwendet, in einer verabreichten Menge von 0,005 – 0,050 – 0,500 – 10,000  $\mu\text{M}$  und mit einer Wirkdauer von 16 h.

### 3.8 Ergebnisse für NO

Auch für Stickstoffmonoxid (NO) lagen Daten in Form von Tiermodellen und Studien zu Zellkulturen vor. Wiederum betrug die Anzahl an Studien mit Tiermodellen zwei Stück mit insgesamt vier verschiedenen Ansätzen, in denen zum einen Pro-Anthocyanidine in einer Dosierung von 14 mg über 4,5 h gegeben wurden; zum anderen erhielten die Versuchstiere 0,0922 – 0,9220 – 9,2200 mg BHE mit einer Wirkdauer von 24 h. Die damit berechneten Reduktionen von NO als inflammatorischem Parameter beliefen sich auf 63% für Pro-Anthocyanidine, 31,25% für 0,00922 mg BHE und 37,5% für 0,922 mg und 9,22 mg BHE. In der statistischen Auswertung ergab sich für die Variablen „Studie“, „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ eine perfekte Trennung. Für Studien mit Tiermodellen waren nur vier Datensätze vorhanden, mit welchen die Berechnung eines statistischen Modelles nicht möglich war. Die Anzahl der Studien, die Zellkulturen untersucht hatten, betrug drei, welche wiederum in insgesamt 14 Ansätzen die antiinflammatorische Wirkung von Anthocyanen untersuchten. In der statistischen Analyse dieser Daten zeigte sich für die Variablen „Wirkstoff“ und „Menge an Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ eine Signifikanz von 0,046 und 0,003. Als Stärke des linearen Zusammenhanges ließ sich daher ein Wert von 0,0045 berechnen (grün markierter Wert in der Tabelle „Schätzungen fester Parameter“), was bedeutet, dass pro  $\mu\text{M}$  mehr Wirkstoff im Ansatz die Reduktion von NO sich um den Faktor 0,0045 erhöht. Um genaue Unterschiede zwischen den ebenfalls signifikanten Wirkstoffen zu erhalten, wurden wiederum geschätzte Randmittel verwendet. Berechnungsgrundlage waren hierfür Mittelwerte von 46,387  $\mu\text{M}$  für die verwendete Wirkstoffmenge und 14,642689 h für die Wirkdauer. In den darauf folgenden paarweisen Vergleichen konnten jedoch keine Unterschiede zwischen den einzelnen Wirkstoffen berechnet werden. Somit lässt sich sagen, dass die für NO untersuchten Wirkstoffe zwar in der Lage sind, die Reduktion von NO zu verstärken, aber nicht, ob einer dieser Wirkstoffe eventuell bessere Ergebnisse zeigt als die anderen. Die auf ihren Effekt auf NO hin untersuchten Wirkstoffe waren Polyacetylene in einer

Wirkmenge von 2,6 – 5,1 – 10,2 – 20,5 – 41  $\mu\text{M}$  mit einer Wirkdauer von je 16 h, desweiteren C3G in einer Wirkmenge von 1 – 10 – 30 – 100  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 14 h und einer Menge von 100  $\mu\text{M}$  in 24 h, außerdem BHE in einer Wirkmenge von 0,092 – 0,92 – 9,2  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 24 h, sowie C3R in einer Menge von 100  $\mu\text{M}$  und mit einer Wirkdauer von ebenfalls 24 h.

### 3.9 Ergebnisse für iNOS

Die Suche nach Daten für die Wirkung von Anthocyanidinen und Anthocyanen auf iNOS als Marker für entzündliches Geschehen ergab insgesamt vier verschiedene Studien, die Zellkulturen untersuchten, jedoch keinerlei Studien, in denen Tiermodelle analysiert worden wären. In den insgesamt elf verschiedenen Ansätzen wurde sowohl m-RNA als auch Protein von iNOS analysiert, weshalb hier eine Aussage zur Variable „Art des Versuchs“ möglich war. Wie auch schon in den übrigen Analysen, in denen diese Variable berücksichtigt werden konnte, zeigte sich auch hier kein Unterschied zwischen den Messungen für m-RNA und denen für Protein. Für die Variablen „Studie“, „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ war abermals eine perfekte Trennung zu beobachten, sodass die Variablen „Studie“ und „Wirkdauer“ aus der Analyse entfernt werden mussten und die Ergebnisse unter „Wirkstoff“ damit als Kombination der Parameter „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ zu interpretieren sind. Die statistische Auswertung der Daten lieferte unter diesen Annahmen eine Signifikanz von 0,022 für „Wirkstoff“ und eine Signifikanz von 0,000 für die Variable „Menge an Wirkstoff in  $\mu\text{M}$ “ (gelb markierte Werte in der Tabelle „Tests auf feste Effekte, Typ III“). Es wurde weiterhin mithilfe der Schätzungen fester Parameter die Stärke des linearen Zusammenhanges ermittelt, welche einen Wert von 0,003885 beträgt. Dies bedeutet, dass pro  $\mu\text{M}$  mehr Wirkstoff sich die Reduktion von iNOS um einen Faktor von 0,003885 oder um 0,3885% verstärkt. Um einen Unterschied zwischen den einzelnen Wirkstoffen zu berechnen, wurden wiederum geschätzte Randmittel verwendet und paarweise Vergleiche angestrebt. Berechnungsgrundlage für die geschätzten Randmittel

war der Mittelwert der verwendeten Menge an Wirkstoff von 54,954  $\mu\text{M}$ . Der paarweise Vergleich der Wirkstoffe untereinander lieferte mit einer Signifikanz von  $p < 0,022$  folgendes Ergebnis: PDG wirkt in einer verabreichten Menge von 12,5 – 25 – 50 – 75  $\mu\text{M}$  und einer Wirkdauer von 1,16 h stärker als C3G mit 1 – 10 – 50 – 100  $\mu\text{M}$  und 14h. Die weiteren, in der Analyse von iNOS verwendeten Wirkstoffe, waren Pro-Anthocyanidine in einer Wirkmenge von 14  $\mu\text{M}$  und mit einer Wirkdauer von 14 h, sowie Polyacetylene in einer Menge von 6,6 und 13,3  $\mu\text{M}$  und mit einer Wirkdauer von 16 h. Die übrigen Ansätze kamen durch die Trennung der Analyse von m-RNA und Protein zustande.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Wie sind die statistischen Ergebnisse der Tierversuche zu erklären?**

Die grundlegende Fragestellung dieser Arbeit war Folgende: Können aus den vorhandenen Daten aus der Grundlagenforschung im statistischen Vergleich geeignete Dosierungen für antiinflammatorische Effekte von Anthocyanen und Anthocyanidinen berechnet werden und gibt es Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Anthocyane und ihrer Aglykone, den Anthocyanidinen?

Bei der statistischen Auswertung der Daten zu in vivo-Versuchen wurden zunächst alle Datensätze in einem gemeinsamen Modell analysiert. Unter der Annahme, dass alle Studien unter annähernd gleichen Bedingungen durchgeführt worden waren, gelang es, Unterschiede für die Variablen „Wirkstoff/Dauer“ ( $p < 0,028$ ) und „Menge an Wirkstoff in mg“ ( $p < 0,003$ ) zu berechnen. Anders als erwartet, lieferte die Stärke des Zusammenhanges einen negativen Wert von -0,006327 (-0,6327%), was bedeutet, dass pro mg Wirkstoff die Reduktion der inflammatorischen Parameter um diesen Prozentsatz sinkt. Damit zeigen die untersuchten Wirkstoffe bei der gemeinsamen Betrachtung aller in vivo-Daten einen Anstieg der Marker für Entzündung. Da dies genau den gegenteiligen Effekt zu den gewünschten Ergebnissen darstellt, drängt sich die Frage nach Erklärungen für diese Beobachtung auf.

So wäre es denkbar, dass die untersuchten Wirkstoffe auf Grund ihrer Darreichungsform nicht in der Lage sind, antiinflammatorische Effekte in vivo auszulösen. Da in den meisten Studien mit Anthocyanen angereicherte Pellets oder Diäten verfüttert wurden, wäre es möglich, dass die orale Zuführung von Anthocyanen einen ungeeigneten Weg darstellt. Die Wirkstoffe könnten bereits im Magen oder Dünndarm der Tiere zu nicht absorbierbaren Formen verstoffwechselt werden, wodurch die Aufnahme in die Blutbahn beeinträchtigt wäre. Andererseits wäre es ebenso denkbar, dass die vorliegende Verabreichungsform der Wirkstoffe von Grund auf für die Versuchstiere nicht resorbierbar wäre, also beispielsweise die Aufnahme von Anthocyanen unmöglich wäre, die Aufnahme von Anthocyanidinen dagegen möglich. Dafür könnte der Zuckerrest, der bei Anthocyanen vorhanden ist, bei Anthocyanidinen jedoch nicht, verantwortlich sein. Cao et al. gelang es jedoch, diesbezüglich in Urin und Plasma von vier Frauen im Alter von  $67 \pm 4$  Jahren, die 720 mg Anthocyane konsumierten, glykosylierte Formen von Anthocyanen nachzuweisen [7]. Auch Matsumoto et al. fanden im Versuch mit männlichen Probanden im Alter von 26 bis 57 Jahren nach der oralen Aufnahme eines Konzentrates aus schwarzen Johannisbeeren (33 mg/kg Körpergewicht) Anthocyane in ihrer intakten Form in Urin und Plasma. Auch im Plasma von Ratten gelang es, Glykoside nachzuweisen [6]. Zu ähnlichen Ergebnissen bezüglich der Aufnahme von Glykosiden kommen auch Mazza et al., jedoch mit dem Unterschied, dass neben der Absorption von Anthocyanen in glykosylierter Form auch die Absorption von acetylierten Anthocyanen in Erwägung gezogen werden musste [27]. Ob diese Beobachtung auf Studienbedingungen oder Methodik zurückzuführen ist, muss in weiteren Studien geklärt werden. Diese Ergebnisse zeigen jedoch, dass die orale Aufnahme von Anthocyanen im menschlichen Gastrointestinaltrakt sowie bei Ratten grundsätzlich möglich zu sein scheint.

Ein weiterer Grund für den Anstieg der inflammatorischen Parameter in der Zusammenschau der in vivo Versuche könnte die geringe Bioverfügbarkeit der untersuchten Wirkstoffe sein, welche meist unter 1% liegt [28]. Gegen diese

Annahme sprechen die positiven Einzelergebnisse in den in vivo-Studien, die jeweils eine Reduktion der Entzündung verzeichnen konnten [20, 24, 25, 37-41]. Damit scheint die aufgenommene Menge an Anthocyanen zu genügen, um antiphlogistische Effekte auszulösen. Es bleibt jedoch fraglich, worauf die geringe Bioverfügbarkeit der Stoffe zurückzuführen ist und ob diese durch andere Herstellungsverfahren erhöht werden könnte. Außerdem muss in Betracht gezogen werden, dass die bisherigen Nachweismethoden für eventuell entstehende Metabolite von Anthocyanen nicht ausreichend sein könnten. Mit der Entwicklung und Anwendung neuer Laborverfahren könnte es möglich sein, dass die Aussagen zur Bioverfügbarkeit von Anthocyanen und Anthocyanidinen revidiert werden müssen.

Nicht nur in der gemeinsamen statistischen Analyse aller in vivo-Datensätze zeigt sich ein Rückgang der antiinflammatorischen Potenz der untersuchten Wirkstoffe; auch in der Betrachtung der Studien zu in vitro-Versuchen fällt eine Arbeit auf, bei der es bei einer bestimmten Konzentration an Anthocyanen zu einem Anstieg der inflammatorischen Parameter anstatt der erwarteten Reduktion gekommen war. Konkret handelt es sich dabei um eine Arbeit von Zhang et al. 2010 [42], bei der die Wirkung von C3G auf die LPS-induzierte Erhöhung inflammatorischer Mediatoren an THP-1 Makrophagen getestet wurde. Die höchste Reduktion von TNF- $\alpha$ -Protein (52%) wurde in dieser Arbeit bei einer Wirkstoffmenge von 0,5  $\mu$ M und 16 h registriert. Bei einer Versuchsdauer von 16 h und einer Wirkstoffmenge von 10  $\mu$ M C3G konnte auf Protein-Level eine Reduktion von TNF- $\alpha$  um 17% beobachtet werden. Auf mRNA-Ebene zeigte sich jedoch bei 10  $\mu$ M C3G und einer Dauer von 16 h ein Anstieg der TNF- $\alpha$ -m-RNA von 15% im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auffällig ist auch die Analyse von IL-6-m-RNA in dieser Studie, die bei einer Menge von 10  $\mu$ M C3G und einer Wirkdauer von 16 h mit einer Reduktion von 6% den niedrigsten Wert in dieser Reihe zeigt, während die höchste Reduktion von IL-6-m-RNA bei 0,5  $\mu$ M zu verzeichnen war. Bereits im Jahr 2005 ist in einer Veröffentlichung von Jin et al. [39] eine ähnliche Beobachtung zu finden: hier ergab eine Konzentration von 100  $\mu$ g/ml C3G, die einer Kultur von RAW 264.7-Makrophagen mit einer Wirkdauer von 24 h zugeführt wurde, einen Anstieg von

TNF- $\alpha$ -Protein um 6%. Die Behandlung der Zellkulturen mit 1 mg BHE lieferte dagegen eine Reduktion von TNF- $\alpha$  um 31%.

Es stellt sich also die Frage, ob der Anstieg der TNF- $\alpha$ -Konzentrationen auf die applizierte Wirkstoffmenge zurückzuführen ist, wofür auch die Ergebnisse für IL-6-m-RNA bei gleicher Menge an C3G bei Zhang et al. ein Indiz wären, oder ob dieses Ergebnis durch andere Faktoren zustande gekommen ist.

In einer Arbeit von Wang et al. 2008 [23] wurde für eine Wirkmenge von 10  $\mu$ M C3G mit einer Wirkdauer von 14 h COX-2 als Marker für Inflammation um 37% reduziert. In höheren Konzentrationen (50 und 100  $\mu$ M C3G) konnte eine Erhöhung der Reduktion bis auf 66% festgestellt werden. Auch auf iNOS-m-RNA zeigten 10  $\mu$ M C3G einen reduzierenden Effekt (um 28%). Damit stellt sich die Frage, ob die von Jin et al. und Zhang et al. beobachteten Ereignisse eines Anstieges von inflammatorischen Parametern als isolierte Effekte zu betrachten sind, ob sie eventuell durch unterschiedliche Studienbedingungen zustande gekommen sind, oder ob damit tatsächlich eine reduzierte Wirksamkeit von Anthocyanen, respektive C3G, im Zellmodell zu postulieren ist. Angesichts der Vielzahl der positiven Ergebnisse für antiinflammatorische Effekte von Anthocyanen und Anthocyanidinen scheint letztere Möglichkeit unwahrscheinlich, jedoch ist eine definitive Aussage hierzu erst bei umfassenderer Datenlage möglich.

#### **4.2 Warum wirkt PDG besser als DP und C3G?**

In der Auswertung der Daten zu COX-2 als Marker für Inflammation war es möglich, einen Unterschied ( $p < 0,049$ ) zwischen der Wirkung von Delphinidin und Prodelphinidin B-4 3-O-gallate zu berechnen. Dabei wurden für DP die Werte aus zwei Studien betrachtet, wobei bei Seong et al. [21] DP in einer Menge von 10 und 30  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von 24 h gegeben wurde und bei Hou et al. 2005 [22] in einer Menge von 25 – 50 – 75 – 100  $\mu$ M mit einer Wirkdauer von einer Stunde. Seong et al. verwendeten dazu MH7A-Zellen, die durch Immortalisierung synovialer Fibroblasten einer Patientin aus Japan mit



Rheumatoider Arthritis entstanden waren [43]. Hou et al. verwendeten im Jahr 2005 für ihre Versuche die Zelllinie RAW 264.7, die den Makrophagen von Mäusen ähnlich ist und von einer BAB/14-Maus gewonnen wurden, die nach Infektion mit einem murinen Leukämievirus Tumoren entwickelt hatte [44]. Für PDG stand eine Arbeit ebenfalls von Hou et al. [45] zur Verfügung, die wiederum RAW 264.7 Makrophagen verwendeten und PDG in einer Menge von 12,5 – 25 – 50 – 75 µM mit einer Wirkdauer von 1,16 h gaben. Diese Arbeit wurde 04/2007 veröffentlicht.

	Menge (µM)	Dauer (h)	Zellreihe	Reduktion von COX-2
<b>Seong et al. (DP)</b>	10	24	MH7A	40%
	30	24	MH7A	80%
<b>Hou et al. (DP)</b>	25	1	RAW 264.7	6%
	50	1	RAW 264.7	48,89%
	75	1	RAW 264.7	55,56%
	100	1	RAW 264.7	77,78%
<b>Hou et al. (PDG)</b>	12,5	1,16	RAW 264.7	10%
	25	1,16	RAW 264.7	44%
	50	1,16	RAW 264.7	72%
	75	1,16	RAW 264.7	80%

**Tabelle 5: Vergleich der Wirkung von DP und PDG**

Insgesamt waren drei Studien zu ermitteln, anhand derer eine antiinflammatorische Wirkung von DP und PDG analysiert werden konnte. Zwei der Arbeiten kamen dabei von der selben Arbeitsgruppe um Hou et al. [22, 45], eine von Seong et al. [21].

Aufgrund der Heterogenität der vorliegenden Datensätze in Bezug auf Wirkstoffe, Wirkdauer und grundlegende Studienbedingungen, kann es schwer sein, statistische Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Um trotzdem Analysen durchführen zu können, fanden diese unter der hypothetischen Annahme gleicher Studienbedingungen statt. Damit sind die Ergebnisse für PDG nicht für

den Wirkstoff allein zu betrachten, sondern als Kombination aus Wirkstoff und Dauer. In diesem Fall finden sich im Vergleich der beiden Studien von Hou et al., welche im Abstand von zwei Jahren publiziert wurden, viele Übereinstimmungen, die die grundlegenden Studienbedingungen betreffen. Sowohl für DP als auch für PDG wurden RAW 264.7-Makrophagen verwendet und auch Wirkungsdauer und Menge der applizierten Stoffe befanden sich in vergleichbarem Rahmen (siehe Tabelle 5). Im Gegensatz zur Gegenüberstellung von Ergebnissen aus verschiedenen Forschungsgruppen ist hier durch die Tatsache, dass beide Arbeiten von Hou et al. publiziert wurden, eine große Zahl an Übereinstimmungen nicht nur bezüglich der Variablen „Menge“, „Dauer“, und „Zellreihe“ gegeben, sondern auch bezüglich anderer Parameter wie der Kontrollgruppe, Laborbedingungen und auch der statistischen Auswertung. Diese Minimierung der beeinflussenden Größen lässt hoffen, dass die besseren Ergebnisse für PDG in Bezug auf die Reduktion von COX-2 tatsächlich vom Wirkstoff selbst verursacht sind und nicht durch andere Einflussfaktoren.

Auch bei Betrachtung eines anderen Markers für Inflammation fiel eine bessere Wirksamkeit von PDG auf, hier im Vergleich zu C3G. In dieser Analyse der Daten für iNOS war es möglich, einen Unterschied zwischen PDG und C3G zu berechnen. Die Studie, die PDG untersuchte, war dabei die gleiche wie bereits oben ausgeführt: Hou et al. 2007 [45]. Die Studie, die C3G verwendete, wurde 2008 von Wang et al. veröffentlicht [23]. Sie inkubierten menschliche THP-1-Makrophagen, die ursprünglich von einem Patienten mit akuter Monozytenleukämie gewonnen worden waren [46], über einen Zeitraum von 14 h mit einer Wirkmenge von 1 – 10 – 50 – 100  $\mu$ M C3G. Dabei konnte eine Reduktion von iNOS von bis zu 67% festgestellt werden.

	Menge ( $\mu\text{M}$ )	Dauer (h)	Zellreihe	Reduktion von iNOS
<b>Wang et al. (C3G)</b>	1	14	THP-1	17%
	10	14	THP-1	30%
	50	14	THP-1	53%
	100	14	THP-1	67%
<b>Hou et al. (PDG)</b>	12,5	1,16	RAW 264.7	10%
	25	1,16	RAW 264.7	39%
	50	1,16	RAW 264.7	72%
	75	1,16	RAW 264.7	78%

**Tabelle 6: Vergleich der Wirkung von C3G und PDG**

Reduktion von iNOS bei Wang et al. um bis zu 67% [23], bei Hou et al. um maximal 78% [45] bei zwar höherer Menge an Wirkstoff, jedoch kürzerer Wirkdauer des Präparates.

Im Gegensatz zum Vergleich der Daten für PDG und DP in Tabelle 5 wird hier deutlich, dass die beiden Studien andere Designs aufweisen. Die gemessenen Reduktionen von iNOS bewegen sich zwar in einem ähnlichen Rahmen von 17 – 67% bei Wang et al. und von 10 – 78% bei Hou et al., und auch die Menge an Wirkstoff, mit dem die Zellen behandelt wurden, ist nicht grundsätzlich verschieden. Jedoch ist die Zeitspanne, in welcher C3G oder PDG auf die Zellkulturen wirkten mit 1,16 h bei Hou et al. und auf der anderen Seite 14 h bei Wang et al. recht verschieden. Desweiteren waren die verwendeten Zellreihen unterschiedlich. Eine mögliche Interpretation dieser Ergebnisse könnte die postulierte bessere Wirksamkeit von PDG im Vergleich zu C3G sein. Hinweise dafür liefert die Betrachtung der Wirkdauer der Versuche. In der Behandlung der Zellen mit C3G lassen sich Reduktionen von 10 – 67% in einer Zeitspanne von 14 h messen, wohingegen PDG in ähnlichen Mengen, jedoch mit kürzerer Dauer von lediglich 1,16 h ähnliche, wenn nicht stärkere Effekte zeigt: Zum Beispiel führen 50  $\mu\text{M}$  C3G zu einer Reduktion von iNOS um 53%, 50  $\mu\text{M}$  PDG dagegen zu einer Reduktion von iNOS um 72%. Davon abgesehen könnten

neben einer stärkeren Wirkung von PDG auch andere Mechanismen für diese Ergebnisse verantwortlich sein. So gibt es derzeit Hinweise, dass Komplexe von Anthocyanen bereits nach 15 Minuten zerfallen und damit nicht mehr wirksam sind. Auch ein saures Milieu scheint für die Wirksamkeit von Anthocyanen von großer Bedeutung zu sein. Um diese Möglichkeiten zu klären, sind weitere Arbeiten erforderlich, die besonders die Stabilität von Anthocyanen, aber vor allem auch das Verhalten von Proanthocyanidinen unter verschiedenen chemischen und physikalischen Bedingungen eingehend untersuchen.

#### **4.3 Warum wirkt Luteolin besser als Cyanidin?**

Im Vergleich der Daten für die Reduktion von TNF- $\alpha$  als inflammatorischem Marker war es möglich, einen Unterschied zwischen der Wirkung des Anthocyanidins Cyanidin und des Flavons Luteolin zu ermitteln. Der Einschluss von Luteolin in die statistische Auswertung erfolgte aufgrund von auffallenden Ergebnissen im Vergleich zu Anthocyanidinen in den einzelnen analysierten Studien. Dazu gehört eine Arbeit von Ueda et al. 2004 [47], die den Effekt von Flavonoiden mit struktureller Ähnlichkeit zu Luteolin im Hinblick auf antiinflammatorische Aktivitäten und die Produktion von TNF- $\alpha$  in in vitro- und in vivo-Modellen untersuchte. Zu diesen Flavonoiden zählten unter anderem Flavonole, Flavanonole und das Anthocyanidin Cyanidin. Ueda et al. verwendeten für ihre in vitro-Versuche Makrophagen aus Peritoneal-Exsudat von männlichen, vier bis sechs Wochen alten ICR-Mäusen und ließen die Flavonoide über einen Zeitraum von drei Stunden wirken. Untersuchte Wirkstoffe waren für diese Reihe Luteolin, Quercetin, Taxifolin und Cyanidin, die als gemeinsame Eigenschaft eine Grundstruktur mit Hydroxylgruppen an A-5, A-7, B-3` und B-4` aufweisen (siehe Tabelle 107). In der Zusammenschau der Ergebnisse war zu sehen, dass Luteolin die Produktion von TNF- $\alpha$  um bis zu 75% reduzieren konnte, während Taxifolin keinen Effekt aufwies. Die Behandlung mit Cyanidin jedoch ließ die gemessene TNF- $\alpha$ -Aktivität sogar ansteigen. Ueda et al. stellten daher die Hypothese auf, dass für eine

antiinflammatorische Wirksamkeit ein Flavon- oder Flavonol-Grundgerüst nötig sei. Dies lässt sich durch die Beobachtung stützen, dass für die inhibitorischen Effekte von Flavonoiden eine Doppelbindung zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub>, ungesättigte Hydroxylgruppen an Position 5, 7 und 4' sowie eine Ketongruppe an Position 4 nötig sind [48]. Cyanidin weist zwar die geforderten ungesättigten Hydroxylgruppen an Position 5, 7 und 4' auf, jedoch nicht die Doppelbindung und Ketongruppe. Flavone und Flavonole dagegen besitzen alle drei Eigenschaften, womit ihre bessere antiphlogistische Wirksamkeit in der Studie von Ueda et al. erklärt werden könnte.

Eine weitere Arbeit, die die antiinflammatorischen Effekte von unter anderem Luteolin und Cyanidin vergleicht, stammt von Herath et al. [26]. Sie untersuchten ebenfalls die inhibitorische Wirkung einer Reihe von Flavonoiden auf die Produktion von TNF- $\alpha$ , allerdings nur in vitro an Maus-Makrophagen der Zelllinie J774.1. Die Wirkdauer der verwendeten Flavonoide betrug auch hier drei Stunden, die Potenz der inhibitorischen Wirksamkeit wurde mit dem IC<sub>50</sub>-Wert angegeben. Stärkste Inhibitoren der Produktion von TNF- $\alpha$  waren in dieser Arbeit das Flavon Apigenin, Flavonole, Catechin und das Chalkon Phloretin mit IC<sub>50</sub>-Werten von 3,00 bis 3,99  $\mu$ M. Moderate Effekte zeigten das Chalkon Butein, Luteolin als Flavon, das Flavanol Naringenin und das Anthocyanidin Pelargonidin mit Werten von 6,29 bis 20,58  $\mu$ M. Schwächste Wirksamkeit entfalteten Cyanidin mit einem IC<sub>50</sub>-Value von 36,91  $\mu$ M und das Isoflavon Genistein mit einem IC<sub>50</sub>-Value von 65,08  $\mu$ M. Die verschiedenen Ergebnisse der Flavonoide erklären auch Herath et al. mit oben genannten drei Merkmalen: eine Doppelbindung zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub>, ungesättigte Hydroxylgruppen an Position 5, 7 und 4', sowie eine Ketongruppe an Position 4 [48]. Im Fall der Chalkone Phloretin und Butein scheint beispielsweise die Substitution einer Hydroxylgruppe an Position 4' für die Hemmung der TNF- $\alpha$ -Produktion förderlich zu sein, die Substitution an 4' und 3' dagegen ungünstig.

Die von Cao et al. [15] geforderte hohe Anzahl an OH-Gruppen am B-Ring von Flavonoiden als Voraussetzung für antiinflammatorische Aktivität kann in Betrachtung der Ergebnisse von Herath et al. folglich nicht uneingeschränkt gelten. Greift man sich exemplarisch für diese Beobachtungen die Ergebnisse

für Luteolin und Cyanidin heraus, so fällt, wie bereits oben deutlich wird, eine stärkere Wirksamkeit von Luteolin ( $IC_{50}$ -Wert von 14,44  $\mu M$ ) im Vergleich zu Cyanidin ( $IC_{50}$ -Value von 36,91  $\mu M$ ) auf. Beide Flavonoide tragen am B-Ring sowohl an Position 3' als auch an Position 4' eine Hydroxylgruppe. Insgesamt besitzt Luteolin eine OH-Gruppe weniger als Cyanidin, das eine solche noch am C-Ring trägt. Entscheidend scheint jedoch das Vorhandensein der bereits erwähnten Doppelbindung zwischen  $C_2$  und  $C_3$  zu sein, die bei Luteolin, nicht aber bei Cyanidin existent ist. Da sich diese Ergebnisse lediglich auf die Daten aus zwei verschiedenen Studien stützen, wäre es für eine eingehendere Untersuchung dieser Ergebnisse sinnvoll, weitere Arbeiten in diese Richtung durchzuführen.

#### **4.4 Statistische Limitation: Annahme gleicher Studienbedingungen**

Während der statistischen Auswertung der vorhandenen Datensätze fiel eine bereits unter dem Punkt „2.6 Auswertung der Daten“ erwähnte Eigenschaft der gesammelten Daten auf: Zwischen den Variablen „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ sowie zwischen den einzelnen Studien selbst trat in einigen Fällen eine sogenannte perfekte Trennung auf. Konkret bedeutet dies, dass manche Wirkstoffe nur mit einer einzigen Wirkdauer in die Berechnungen eingehen und manche Wirkstoffe oder Wirkzeiten nur in einer Studie verwendet werden. Unter diesen Voraussetzungen ist eine vergleichende Analyse der verschiedenen Studien schwer möglich und würde zu falschen Ergebnissen führen. Im Fall einer perfekten Trennung zwischen den Parametern „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ wurde daher für die Analyse die Variable „Wirkdauer“ entfernt, wodurch es möglich war, die perfekte Trennung aufzuheben. Die so gewonnenen Ergebnisse müssen dann allerdings als Kombination aus „Wirkstoff“ und „Wirkdauer“ interpretiert werden und können nicht nur für einen Wirkstoff allein gelten. Für zukünftige Analysen wäre es daher wünschenswert, wenn durch weitere Studien zu diesen Themen mehr Daten vorlägen, damit dieses Problem der perfekten Trennung nicht mehr auftritt. Kam es zwischen den einzelnen Studien zu einer perfekten Trennung, so ließ sich folglich nicht herausfinden, ob

Unterschiede, die während der Analyse zwischen den Studien zu berechnen gewesen waren, tatsächlich von den unterschiedlich wirkenden Variablen stammten oder durch unterschiedliche Studienbedingungen zustande gekommen waren. Um dieses Problem zu lösen, wurde der Faktor „Studie“ als Variable aus der Analyse genommen und damit postuliert, dass zwischen den einzelnen Arbeiten keine Unterschiede bezüglich der grundlegenden Bedingungen herrschen, sodass herausgearbeitete Unterschiede den Wirkstoffen zuzuordnen waren. Die Notwendigkeit dieser Maßnahme wird deutlich, jedoch wird damit auch die statistische Limitation in der Auswertung der Datensätze offenbar. Die Ergebnisse für NF- $\kappa$ B als Marker für Inflammation könnten jedoch als Rechtfertigung für dieses Vorgehen dienen. Nur hier war es möglich, den Faktor „Studie“ in der Analyse zu berücksichtigen. Damit konnte eine nur geringe Varianz zwischen den einzelnen Studien berechnet werden. Dies bedeutet, dass zwischen den Arbeiten, die auf NF- $\kappa$ B hin ausgewertet wurden, kein Unterschied in Bezug auf die zugrunde liegenden Studienbedingungen festzustellen war. Dieses Ergebnis lässt hoffen, dass diese Annahme auch für die weiteren Variablen gelten könnte.

#### **4.5 Mögliche Fehlerquellen**

Wie bereits unter Punkt „2.6 Auswertung der Daten“ beschrieben, lagen nicht alle für die geplante Analyse benötigten Werte in numerischer Form vor. Leider war es nicht immer möglich, diese Daten über den Kontakt mit den Arbeitsgruppen zu erhalten. Um die Studien trotzdem in die Auswertung integrieren zu können, wurden die Daten aus der jeweiligen Darstellung, meist Graphen, abgelesen. Trotzdem hier mit größter Präzision vorgegangen wurde, kann auf diese Weise gewonnenes Datenmaterial nicht immer so exakte Werte liefern, wie wenn es in numerischer Form vorgelegen hätte. Da dieses Verfahren jedoch nicht die Qualität der Daten der ausgewerteten Studie an sich beeinträchtigt, wurden diese Werte in die Analyse aufgenommen.

Eine weitere Limitation von Übersichtsarbeiten ist jedoch die Qualität der integrierten Studien und damit der ausgewerteten Daten. Neben der

Herausforderung, verschiedene Arbeiten auf möglichst viele vergleichbare Merkmale zu reduzieren, muss darauf geachtet werden, dass die auszuwertenden Studien keine methodischen Mängel aufweisen. Ist dies der Fall, so leidet natürlich auch die Qualität eines Vergleiches der Studien untereinander darunter. Beispiel für diese Problematik ist die gelegentliche Verwendung von Mischextrakten in den einzelnen Arbeiten. So werden beispielsweise bei DeFuria et al. [24] Mäuse mit verschiedenen Zusammensetzungen eines Heidelbeerpulvers gefüttert. Obwohl dieses Pulver nachweislich Anthocyanidine enthält, wurde nicht genannt, um welche Anthocyanidine es sich genau handelt. Daher muss der Tatsache Beachtung geschenkt werden, dass neben Anthocyanidinen auch weitere Inhaltsstoffe für die beobachteten antiinflammatorischen Effekte verantwortlich sein könnten. Ebenso verwendeten weitere Studien [39, 49, 50] für ihre Versuche keine reinen Extrakte von Anthocyanen oder Anthocyanidinen, sondern verschiedene Zusammensetzungen von Wirkstoffen. In der statistischen Auswertung wurden diese Möglichkeiten berücksichtigt. Mit dem Gebrauch von reinen Substanzen als Agens für die durchgeführten Versuche ließen sich die Effekte eindeutig den einzelnen Wirkstoffen zuordnen, und die erzielten Ergebnisse würden zuverlässiger werden. In dieser Literaturanalyse wurde durch eine sorgfältige Auswahl der Studien und kontinuierliche Kontrollen versucht, diesen methodischen Problemen vorzubeugen.

Die Gewichtung der einzelnen Studien in der statistischen Auswertung erfolgte anhand des Kehrwerts der jeweiligen Standardabweichung, was mit der Wurzel aus der jeweiligen Varianz gleichgesetzt werden kann. Leider war diese Varianz in den Datensätzen nicht gegeben, weswegen sie geschätzt werden musste. Dieses Verfahren kann zu weiteren Ungenauigkeiten in der Auswertung führen. Um möglichst detailliert die Einflussfaktoren auf die antiinflammatorische Wirksamkeit von Anthocyanen und Anthocyanidinen analysieren zu können, wurden die Datensätze nach den Ergebnissen in Tierversuchen und den Ergebnissen in Zellkulturen aufgetrennt und separat ausgewertet. Dadurch sank die Anzahl der einzelnen Studien, die pro Parameter miteinander verglichen werden konnten und einige Parameter mussten aus der Analyse



ausgeschlossen werden, da damit zu wenig Datenmaterial vorlag. Um genauere Ergebnisse zu erzielen, wäre eine größere Anzahl an Studien nötig.

## 5. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, die antiinflammatorischen Effekte von Anthocyanen und Anthocyanidinen mit besonderem Augenmerk auf Delphinidin zu vergleichen. Desweiteren sollten im statistischen Vergleich Dosierungen gefunden werden, bei welchen die größte antiinflammatorische Wirksamkeit von Anthocyanen und Anthocyanidinen zu erwarten wäre und ein eventueller Unterschied in der Wirkung der verschiedenen Stoffe berechnet werden.

Die Literaturrecherche mittels der Datenbanken „Pubmed“ und „The Cochrane Library“ lieferte 24 Studien, die die Einschlusskriterien erfüllten. Für Delphinidin allein war die Datenlage zu diesem Zeitpunkt noch zu dürftig, weswegen die Suche auf die Begriffe „Anthocyanins“ in Kombination mit „Antiinflammatory Agents“ ausgedehnt wurde.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte unter der Fragestellung: „Haben die Variablen Wirkstoff, Wirkdauer, Menge an Wirkstoff und Art (m-RNA oder Protein“ jeweils unter Kontrolle der anderen Variablen einen Einfluss auf die Reduktion von inflammatorischen Markern?“ Die wichtigsten Ergebnisse, die unter dieser Fragestellung errechnet werden konnten, lauten: 1. PDG zeigt eine bessere antiinflammatorische Wirksamkeit als DP und C3G, 2. Luteolin zeigt eine bessere antiinflammatorische Wirksamkeit als Cyanidin.

Gründe für eine höhere antiinflammatorische Wirksamkeit von PDG im Vergleich zu DP und C3G sind derzeit noch offen. Zu diskutieren ist unter anderem, ob DP und C3G biochemisch instabilere Komplexe sind und schneller zerfallen. Grund für eine höhere antiinflammatorische Wirksamkeit von Luteolin im Vergleich zu Cyanidin könnte eine Doppelbindung zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> sein, die bei Luteolin, nicht aber bei Cyanidin zu finden ist. In der Zusammenschau dieser Ergebnisse ist festzustellen, dass weitere Studien für eine möglichst

genaue statistische Analyse nötig sind, vor allem in Bezug auf die antiinflammatorischen Effekte von Delphinidin.

## 6. Statistik

### 6.1 Statistik aller Tierversuche

Analyse von gemischten Modellen

Modelldimension

	Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter
Konstanter Term	1	1
Feste Effekte		
Wirkstoff	7	6
Menge_AC_mg	1	1
Residuum		1
Gesamt	9	9

Tabelle 7: Modelldimension für Daten aller Tierversuche

Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	161,643
Akaike-Informationskriterium (AIC)	163,643
Hurvich und Tsai (IC)	164,143
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	164,946
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	163,946

**Tabelle 8: Informationskriterien für Daten aller Tierversuche**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	10	36,144	,000
Wirkstoff	6	10,000	3,921	,028
Menge_AC_mg	1	10	15,151	,003

**Tabelle 9: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten aller Tierversuche**

Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T- Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,719731	,352262	10,000	2,043	,068	-,065158	1,504620
[Wirkstoff=AC]	,574937	,566358	10	1,015	,334	-,686986	1,836861
[Wirkstoff=APA]	-,211823	,355182	10,000	-,596	,564	-1,003217	,579571
[Wirkstoff=BHE]	-,081593	,369880	10	-,221	,830	-,905738	,742552
[Wirkstoff=C3G]	-,146148	,454750	10,000	-,321	,755	-1,159393	,867098
[Wirkstoff=Luteoli ]	,036596	,352386	10,000	,104	,919	-,748568	,821761
[Wirkstoff=P3G, D3]	-,183525	,500284	10,000	-,367	,721	-1,298226	,931176
[Wirkstoff=Pro AC]	0	0	.	.	.	.	.
Menge_AC_mg	-,006327	,001625	10	-3,892	,003	-,009949	-,002705

Tabelle 10: Schätzungen fester Parameter, Daten aller Tierversuche

Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	162,808484	72,810168	2,236	,025	67,765419	391,152343

Tabelle 11: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten aller Tierversuche

Schätzungen<sup>a</sup>

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall	
				95%	
				Untergrenze	Obergrenze
AC	1,248 <sup>b</sup>	,449	10	,246	2,249
APA	,461 <sup>b</sup>	,060	10	,327	,594
BHE	,591 <sup>b</sup>	,116	10	,332	,850
C3G	,526 <sup>b</sup>	,288	10	-,115	1,168
Luteolin	,709 <sup>b</sup>	,016	10,000	,673	,746
P3G, D3	,489 <sup>b</sup>	,358	10	-,309	1,287
Pro AC	,673 <sup>b</sup>	,352	10	-,111	1,456

a. Abhängige Variable: Reduktion.

b. Die Kovariaten in dem Modell werden anhand der folgenden

Werte berechnet: Menge\_AC\_mg = 7,453.

Tabelle 12: Geschätzte Randmittel Wirkstoff, Daten aller Tierversuche

Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
AC	APA	,787	,426	10	1,000	-,932	2,505
	BHE	,657	,454	10	1,000	-1,176	2,489
	C3G	,721	,538	10	1,000	-1,451	2,893
	Luteolin	,538	,455	10	1,000	-1,298	2,374
	P3G, D3	,758	,542	10	1,000	-1,429	2,946
	Pro AC	,575	,566	10	1,000	-1,710	2,860
	AC	-,787	,426	10	1,000	-2,505	,932
APA	BHE	-,130	,123	10	1,000	-,625	,364
	C3G	-,066	,296	10	1,000	-1,260	1,129
	Luteolin	-,248	,070	10	,114	-,532	,036
	P3G, D3	-,028	,352	10	1,000	-1,447	1,390
	Pro AC	-,212	,355	10,000	1,000	-1,645	1,221
BHE	AC	-,657	,454	10	1,000	-2,489	1,176



C3G	APA	,130	,123	10	1,000	-,364	,625
	C3G	,065	,311	10	1,000	-1,191	1,320
	Luteolin	-,118	,119	10	1,000	-,600	,363
	P3G, D3	,102	,372	10	1,000	-1,401	1,604
	Pro AC	-,082	,370	10	1,000	-1,574	1,411
	AC	-,721	,538	10	1,000	-2,893	1,451
	APA	,066	,296	10	1,000	-1,129	1,260

**Tabelle 13: Paarweise Vergleiche Wirkstoffe aller Tierversuche (AC, APA, BHE, C3G)**

Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz		
						Untergrenze	Obergrenze	
C3G	BHE	-,065	,311	10	1,000	-1,320	1,191	
	Luteolin	-,183	,288	10	1,000	-1,345	,979	
	P3G, D3	,037	,461	10	1,000	-1,824	1,899	
	Pro AC	-,146	,455	10,000	1,000	-1,981	1,689	
	AC	-,538	,455	10	1,000	-2,374	1,298	
	APA	,248	,070	10	,114	-,036	,532	
	Luteolin	BHE	,118	,119	10	1,000	-,363	,600
		C3G	,183	,288	10	1,000	-,979	1,345
		P3G, D3	,220	,361	10	1,000	-1,236	1,676
		Pro AC	,037	,352	10,000	1,000	-1,385	1,458
P3G, D3	AC	-,758	,542	10	1,000	-2,946	1,429	
	APA	,028	,352	10	1,000	-1,390	1,447	
	BHE	-,102	,372	10	1,000	-1,604	1,401	

Pro AC	C3G	-,037	,461	10	1,000	-1,899	1,824
	Luteolin	-,220	,361	10	1,000	-1,676	1,236
	Pro AC	-,184	,500	10,000	1,000	-2,202	1,835
	AC	-,575	,566	10	1,000	-2,860	1,710
	APA	,212	,355	10,000	1,000	-1,221	1,645
	BHE	,082	,370	10	1,000	-1,411	1,574
	C3G	,146	,455	10,000	1,000	-1,689	1,981

Tabelle 14: Paarweise Vergleiche Wirkstoffe aller Tierversuche (C3G, Luteolin, P3G, D3, Pro AC)

Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
Pro AC	Luteoli	-,037	,352	10,000	1,000	-1,458	1,385
	P3G, D3	,184	,500	10,000	1,000	-1,835	2,202

Tabelle 15: Paarweise Vergleiche aller Tierversuche (Pro AC)

Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
6	10,000	3,921	,028

**Tabelle 16: Tests auf Univariate, Daten aller Tierversuche**

## 6.2 Statistik aller Zellversuche

Analyse von gemischten Modellen

Modelldimension

	Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter
Konstanter Term	1	1
Feste Wirkstoff	8	7
Effekte Dauer_h	1	1
Menge_AC_muM	1	1
Art	2	1
Residuum		1
Gesamt	13	12

Tabelle 17: Modelldimension für Daten aller Zellversuche

### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	3239,974
Akaike-Informationskriterium (AIC)	3241,974
Hurvich und Tsai (IC)	3242,017
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	3245,539
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	3244,539

**Tabelle 18: Informationskriterien für Daten aller Zellversuche**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	96,000	,000	,983
Wirkstoff	7	96,000	14,884	,000
Dauer_h	1	96,000	,000	,998
Menge_AC_muM	1	96,000	30,758	,000
Art	1	96,000	,000	,998

Tabelle 19: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten aller Zellversuche

Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,189835	57,785339	96,000	,003	,997	-114,513156	114,892826
[Wirkstoff=BHE]	,498013	95,051214	96,000	,005	,996	-188,177156	189,173181
[Wirkstoff=C3G]	,080572	58,560519	96,000	,001	,999	-116,161139	116,322283
[Wirkstoff=C3R]	-,092038	99,095326	96,000	-,001	,999	-196,794705	196,610629
[Wirkstoff=Cyanidin]	,085576	57,648536	96,000	,001	,999	-114,345865	114,517016
[Wirkstoff=DP]	,294324	59,681339	96,000	,005	,996	-118,172197	118,760845
[Wirkstoff=Luteolin]	,329146	57,648538	96,000	,006	,995	-114,102298	114,760590
[Wirkstoff=PDG]	,352523	59,015932	96,000	,006	,995	-116,793176	117,498222
[Wirkstoff=PDGG]	0	0	.	.	.	.	.
Dauer_h	,001667	,863939	96,000	,002	,998	-1,713237	1,716572
Menge_AC_muM	,002022	,000365	96,000	5,546	,000	,001298	,002746
[Art=m-RNA]	,030752	12,847911	96,000	,002	,998	-25,472150	25,533653
[Art=Protein]	0	0	.	.	.	.	.

Tabelle 20: Schätzungen fester Parameter Daten aller Zellversuche



Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	1239645061	1789273525	6,928	,000	9341938299	1644968987
	513,941000	07,439400			06,877900	527,016400

Tabelle 21: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten aller Zellversuche

Schätzungen<sup>a</sup>

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
BHE	,782 <sup>b</sup>	75,920	96,000	-149,919	151,482
C3G	,364 <sup>b</sup>	14,237	96,000	-27,896	28,625
C3R	,191 <sup>b</sup>	80,926	96,000	-160,445	160,828
Cyanidin	,369 <sup>b</sup>	6,424	96,000	-12,382	13,121
DP	,578 <sup>b</sup>	19,906	96,000	-38,936	40,091
Luteolin	,613 <sup>b</sup>	6,424	96,000	-12,139	13,364
PDG	,636 <sup>b</sup>	15,252	96,000	-29,639	30,911
PDGG	,284 <sup>b</sup>	56,722	96,000	-112,309	112,876

a. Abhängige Variable: Reduktion von Cox2 in %.

b. Die Kovariaten in dem Modell werden anhand der folgenden Werte berechnet:

Menge\_AC\_muM = 36,255, Dauer\_h = 3,000039.

Tabelle 22: Geschätzte Randmittel zur Variable „Wirkstoff“, Daten aller Zellversuche

Paarweise Vergleiche<sup>a,b</sup>

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz <sup>d</sup>	95% Konfidenzintervall für Differenz <sup>d</sup>	
						Untergrenze	Obergrenze
BHE	C3G	,417	74,408	96,000	1,000	-238,695	239,530
	C3R	,590	108,058	96,000	1,000	-346,659	347,839
	Cyanidin	,412	75,993	96,000	1,000	-243,793	244,618
	DP	,204	75,695	96,000	1,000	-243,044	243,452
	Luteolin	,169	75,993	96,000	1,000	-244,036	244,374
	PDG	,145	77,683	96,000	1,000	-249,492	249,783
	PDGG	,498	95,051	96,000	1,000	-304,952	305,948
C3G	BHE	-,417	74,408	96,000	1,000	-239,530	238,695
	C3R	,173	79,509	96,000	1,000	-255,332	255,677
	Cyanidin	-,005	16,082	96,000	1,000	-51,686	51,676
	DP	-,214	16,073	96,000	1,000	-51,866	51,438
	Luteolin	-,249	16,082	96,000	1,000	-51,929	51,432
	PDG	-,272	21,943	96,000	1,000	-70,788	70,244
	PDGG	,081	58,561	96,000	1,000	-188,106	188,267

C3R	BHE	-,590	108,058	96,000	1,000	-347,839	346,659
	C3G	-,173	79,509	96,000	1,000	-255,677	255,332
	Cyanidin	-,178	80,994	96,000	1,000	-260,455	260,100
	DP	-,386	80,715	96,000	1,000	-259,766	258,993
	Luteolin	-,421	80,994	96,000	1,000	-260,698	259,856
	PDG	-,445	82,582	96,000	1,000	-265,825	264,936
	PDGG	-,092	99,095	96,000	1,000	-318,538	318,354
Cyanidin	BHE	-,412	75,993	96,000	1,000	-244,618	243,793
	C3G	,005	16,082	96,000	1,000	-51,676	51,686
	C3R	,178	80,994	96,000	1,000	-260,100	260,455
	DP	-,209	23,062	96,000	1,000	-74,320	73,902
	Luteolin	-,244*	,024	96,000	,000	-,320	-,167
	PDG	-,267	15,120	96,000	1,000	-48,857	48,323
	PDGG	,086	57,649	96,000	1,000	-185,170	185,341
DP	BHE	-,204	75,695	96,000	1,000	-243,452	243,044
	C3G	,214	16,073	96,000	1,000	-51,438	51,866
	C3R	,386	80,715	96,000	1,000	-258,993	259,766
	Cyanidin	,209	23,062	96,000	1,000	-73,902	74,320

	Luteolin	-,035	23,062	96,000	1,000	-74,146	74,076
	PDG	-,058	26,858	96,000	1,000	-86,367	86,250
	PDGG	,294	59,681	96,000	1,000	-191,494	192,082
Luteolin	BHE	-,169	75,993	96,000	1,000	-244,374	244,036
	C3G	,249	16,082	96,000	1,000	-51,432	51,929
	C3R	,421	80,994	96,000	1,000	-259,856	260,698
	Cyanidin	,244*	,024	96,000	,000	,167	,320
	DP	,035	23,062	96,000	1,000	-74,076	74,146
	PDG	-,023	15,120	96,000	1,000	-48,614	48,567
	PDGG	,329	57,649	96,000	1,000	-184,926	185,585
PDG	BHE	-,145	77,683	96,000	1,000	-249,783	249,492
	C3G	,272	21,943	96,000	1,000	-70,244	70,788
	C3R	,445	82,582	96,000	1,000	-264,936	265,825
	Cyanidin	,267	15,120	96,000	1,000	-48,323	48,857
	DP	,058	26,858	96,000	1,000	-86,250	86,367
	Luteolin	,023	15,120	96,000	1,000	-48,567	48,614
	PDGG	,353	59,016	96,000	1,000	-189,297	190,002
PDGG	BHE	-,498	95,051	96,000	1,000	-305,948	304,952

C3G	-,081	58,561	96,000	1,000	-188,267	188,106
C3R	,092	99,095	96,000	1,000	-318,354	318,538
Cyanidin	-,086	57,649	96,000	1,000	-185,341	185,170
DP	-,294	59,681	96,000	1,000	-192,082	191,494
Luteolin	-,329	57,649	96,000	1,000	-185,585	184,926
PDG	-,353	59,016	96,000	1,000	-190,002	189,297

Basiert auf geschätzten Randmitteln

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist in Stufe ,05 signifikant.

a. Abhängige Variable: Reduktion von Cox2 in %.

b. Das Residuum wird durch inv\_se\_ratio1 gewichtet.

d. Anpassung für Mehrfachvergleiche: Bonferroni.

**Tabelle 23: Paarweise Vergleiche, Wirkstoffe aller Zellversuche (BHE, C3G, C3R, Cyanidin, DP, Luteolin, PDG, PDGG)**

### Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
7	96,000	14,884	,000

**Tabelle 24: Tests auf Univariate zur Variable „Wirkstoff“, Daten aller Zellversuche**

### Schätzungen

Art	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
m-RNA	,492	18,622	96,000	-36,472	37,457
Protein	,462	17,959	96,000	-35,186	36,109

**Tabelle 25: Schätzungen zur Variable "Art", Daten aller Zellversuche**

Paarweise Vergleiche

(I) Art (J) Art	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
m-RNA Protein	,031	12,848	96,000	,998	-25,472	25,534
Protein m-RNA	-,031	12,848	96,000	,998	-25,534	25,472

Tabelle 26: Paarweise Vergleiche zur Variable "Art", Daten aller Zellversuche

Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	96,000	,000	,998

Tabelle 27: Tests auf Univariate zur Variable "Art", Daten aller Zellversuche



### 6.3 Statistik COX-2

COX-2 Protein in Zellkulturen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC ( $\mu$ M)	COX-2 Reduktion Protein (%)	COX-2 Control LPS	COX-2 mit AC	Signifikanz p<	COX-2 Control m-RNA LPS (-fach)	COX-2 m-RNA mit AC (-fach)	COX-2 Reduktion m-RNA (%)	Signifikanz p<
Studie 7	DP	24	10	40%	10fach	6fach	o.A.				
Studie 7	DP	24	30	80%	10fach	2fach	o.A.				
Studie 16	C3R	0,03	250	96%			o.A.				
Studie 16	C3G	0,03	250	87%			o.A.				
Studie 16	C3G R	0,03	250	91%			o.A.				
Studie 19	C3G	14	1	14,29%	3,5fach	3fach	0,05	3,5	2,85	18,57%	0,01
Studie 19	C3G	14	10	24,29%	3,5fach	2,65fach	0,01	3,5	2,2	37,14%	0,01
Studie 19	C3G	14	50	50%	3,5fach	1,75fach	0,001	3,5	1,8	48,57%	0,001
Studie 19	C3G	14	100	64%	3,5fach	1,25fach	0,001	3,5	1,2	65,72%	0,001
Studie 25	DP	1	25	6%	4,5fach	4,25fach	Ø	4,5	4,25	6%	Ø
Studie 25	DP	1	50	48,89%	4,5fach	2,3fach	0,05	4,5	2,3	48,89%	0,05
Studie 25	DP	1	75	55,56%	4,5fach	2fach	0,05	4,5	2	55,56%	0,05
Studie 25	DP	1	100	77,78%	4,5fach	1fach	0,05	4,5	1	77,78%	0,05

<b>Studie 23</b>	PDG G	2	12,5	5,56%	4,5fach	4,25 fach	∅	4,5	4,25	5,56%	∅
<b>Studie 23</b>	PDG G	2	25	55,56%	4,5fach	2fach	0,01	4,5	2,3	48,49%	0,05
<b>Studie 23</b>	PDG G	2	50	77,78%	4,5fach	1fach	0,01	4,5	2	55,56%	0,05
<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	12,5	10,00%	5fach	4,5fach	∅	5	4,6	8,00%	∅
<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	25	44,00%	5fach	2,8fach	0,05	5	2,5	50,00%	0,05
<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	50	72,00%	5fach	1,4fach	0,01	5	2	60,00%	0,01
<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	75	80,00%	5fach	1fach	0,01	5	1	80,00%	0,01
<b>Studie 32</b>	C3G	30	50	35,42%	240%	155%	0,01				
<b>Studie 32</b>	C3G	30	100	54,17%	240%	110%	0,01				

**Tabelle 28: Datenerhebung aus Primärliteratur, Parameter COX-2**

## Analyse von gemischten Modellen

### Modelldimensio

	Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter	
	Konstanter Term	1	1
Feste	Wirkstoff	4	3
Effekte	Art	2	1
	Dauer_h	1	1
	Menge_AC_muM	1	1
Residuum			1
Gesamt	9	8	

Tabelle 29: Modelldimension zu COX-2

### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	671,023
Akaike-Informationskriterium (AIC)	673,023
Hurvich und Tsai (IC)	673,183
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	675,319
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	674,319

**Tabelle 30: Informationskriterien zu COX-2**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	27	18,648	,000
Wirkstoff	3	27	3,313	,035
Art	1	27	,893	,353
Dauer_h	1	27	1,248	,274
Menge_AC_muM	1	27	53,059	,000

Tabelle 31: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu COX-2

Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,114671	,153616	27,000	,746	,462	-,200523	,429866
[Wirkstoff=C3G]	,146358	,155231	27	,943	,354	-,172150	,464866
[Wirkstoff=DP]	,044938	,157379	27,000	,286	,777	-,277977	,367852
[Wirkstoff=PDG]	,279532	,150599	27,000	1,856	,074	-,029472	,588535
[Wirkstoff=PDGG]	0	0	.	.	.	.	.
[Art=m-RNA]	,050319	,053257	27	,945	,353	-,058955	,159594
[Art=Protein]	0	0	.	.	.	.	.
Dauer_h	-,004581	,004101	27	-1,117	,274	-,012995	,003833
Menge_AC_muM	,004881	,000670	27	7,284	,000	,003506	,006256

Tabelle 32: Schätzungen fester Parameter zu COX-2

Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	7739322,226743	2106376,712278	3,674	,000	4539784,234380	13193822,753900

Tabelle 33: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu COX-2

Schätzungen<sup>a</sup>

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
C3G	,470 <sup>b</sup>	,037	27,000	,394	,547
DP	,369 <sup>b</sup>	,075	27	,215	,523
PDG	,603 <sup>b</sup>	,064	27	,473	,734
PDGG	,324 <sup>b</sup>	,146	27	,025	,623

a. Abhängige Variable: Reduktion von Cox2 in %.

b. Die Kovariaten in dem Modell werden anhand der folgenden Werte berechnet:

Dauer\_h = 11,603728, Menge\_AC\_muM = 48,616.

Tabelle 34: Geschätzte Randmittel zur Variable "Wirkstoff", Daten zu COX-2



Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
C3G	DP	,101	,094	27	1,000	-,165	,368
	PDG	-,133	,090	27	,907	-,390	,123
	PDGG	,146	,155	27	1,000	-,296	,588
DP	C3G	-,101	,094	27	1,000	-,368	,165
	PDG	-,235	,082	27	,049	-,469	,000
	PDGG	,045	,157	27,000	1,000	-,403	,493
PDG	C3G	,133	,090	27	,907	-,123	,390
	DP	,235	,082	27	,049	,000	,469
	PDGG	,280	,151	27,000	,446	-,149	,708
PDGG	C3G	-,146	,155	27	1,000	-,588	,296
	DP	-,045	,157	27,000	1,000	-,493	,403
	PDG	-,280	,151	27,000	,446	-,708	,149

Tabelle 35: Paarweise Vergleiche zur Variable Wirkstoff, Daten zu COX-2 (C3G, DP, PDG, PDGG)

### Tests auf Univariate

Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
3	27	3,313	,035

**Tabelle 36: Tests auf Univariate zur Variable "Wirkstoff", Daten zu COX-2**

### Schätzungen

Art	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
m-RNA	,467	,056	27,000	,352	,582
Protein	,417	,050	27,000	,313	,520

**Tabelle 37: Schätzungen zur Variable "Art", Daten zu COX-2**

Paarweise Vergleiche

(I) Art (J) Art	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
m-RNA Protein	,050	,053	27	,353	-,059	,160
Protein m-RNA	-,050	,053	27	,353	-,160	,059

Tabelle 38: Paarweise Vergleiche zu Variable "Art", Daten zu COX-2

Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	27	,893	,353

Tabelle 39: Tests auf Univariate zur Variable "Art", Daten zu COX-2

## 6.4 Statistik TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$ in Tierversuchen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC (mg)	TNF- $\alpha$ control	TNF- $\alpha$ mit AC	TNF- $\alpha$ -Reduktion (%)	Signifikanz p<
Studie 3	APA - H	672	28	120,73 43,15	pg/ml $\pm$ 57,29pg/ml 28,91	$\pm$ 52,55%	p<0,05
Studie 3	APA - L	672	56	120,73 43,15	pg/ml $\pm$ 71,29pg/ml 23,37	$\pm$ 40,95%	p<0,05
Studie 4	AC low AC	504	19,5	60pg/ml	o.A.	o.A.	$\emptyset$
Studie 4	AC high AC	504	195	60pg/ml	o.A.	25%	$\emptyset$ !!
Studie 4	HB	504	336	60pg/ml	o.A.	64%	p<0,001
Studie 28	Pro AC	4,5	14	351 $\pm$ 194 ng/l	126 $\pm$ 90 ng/l	64%	p<0,05
Studie 24	P3G, D3G, M3G, C3G	312	56	2,75 ng/ml	2,25 ng/ml	18%	p<0,05
Studie 27	Luteolin	5	1	100%	25%	75%	p<0,05
Studie 38	BHE	24	0,0922	80 ng/ml	30ng/ml	62,50%	p<0,05
Studie 38	BHE	24	0,922	80 ng/ml	0	100%	p<0,05
Studie 38	BHE	24	9,22	80 ng/ml	0	100%	p<0,05
Studie 35	C3G	2016	0,756	253,5 $\pm$ 41,9%	109,3 $\pm$ 14,0%	56,88%	p<0,05

Tabelle 40: Datenerhebung aus Primärliteratur, Parameter TNF-  $\alpha$  in Tierversuchen

TNF- $\alpha$ -Protein und m-RNA in Zellkulturen	Wirkstoff	Besonderheiten	Dauer (h)	Menge ( $\mu$ M)	AC	TNF- $\alpha$ control	TNF- $\alpha$ mit AC	TNF- $\alpha$ -Reduktion (%)	Signifikanz p<	TNF- $\alpha$ control	m-RNA
Studie 7	DP	JURKAT	24	10		11,5fach	8fach	30%	o.A.		
Studie 7	DP	JURKAT	24	30		11,fach	5fach	56,50%	o.A.		
Studie 7	DP	JURKAT	24	50		11,5fach	2fach	82,60%	o.A.		
Studie 11	C3G		16	0,005		100%	85%	25%	p<0,05	100%	
Studie 11	C3G		16	0,05		100%	60%	40%	p<0,05	100%	
Studie 11	C3G		16	0,5		100%	47,80%	52,20%	p<0,05	100%	
Studie 11	C3G		16	10		100%	83%	17%	p<0,05	100%	
Studie 27	Luteolin		3	20		100%	35%	65%	p<0,05		
Studie 27	Luteolin		3	100		100%	40%	60%	p<0,05		
Studie 27	Luteolin		3	500		100%	25%	75%	p<0,05		
Studie 37	Cyanidin		3	5		100%	90%	10%	p<0,05		
Studie 37	Cyanidin		3	10		100%	70%	30%	p<0,05		
Studie 37	Cyanidin		3	50		100%	55%	45%	p<0,05		

Tabelle 41: Datenerhebung aus Primärliteratur, Parameter TNF-  $\alpha$  in Zellkulturen

## Analyse von gemischten Modellen

### Modelldimension

		Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter
	Konstanter Term	1	1
Feste	Wirkstoff	4	3
Effekte	Menge_AC_muM	1	1
	Art	2	1
Residuum			1
Gesamt		8	7

Tabelle 42: Modelldimension für Daten zu TNF- $\alpha$

### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	538,697
Akaike-Informationskriterium (AIC)	540,697
Hurvich und Tsai (IC)	541,142
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	542,095
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	541,095

**Tabelle 43: Informationskriterien zu TNF- $\alpha$**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	11	,000	,993
Wirkstoff	3	11,000	3,980	,038
Menge_AC_muM	1	11	3,524	,087
Art	1	11	,000	1,000

Tabelle 44: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu TNF- $\alpha$



Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,523983	,079646	11	6,579	,000	,348684	,699283
[Wirkstoff=C3G]	-,113151	183,446735	11	-,001	1,000	-403,876692	403,650390
[Wirkstoff=Cyanidin]	-,243570	,070493	11	-3,455	,005	-,398724	-,088416
[Wirkstoff=DP]	,139821	269,899026	11	,001	1,000	-593,903931	594,183572
[Wirkstoff=Luteolin]	0	0	.	.	.	.	.
Menge_AC_muM	,002022	,001077	11	1,877	,087	-,000349	,004392
[Art=m-RNA]	-,047278	264,708051	11	,000	1,000	-582,665769	582,571214
[Art=Protein]	0	0	.	.	.	.	.

Tabelle 45: Schätzungen fester Parameter für TNF- $\alpha$

Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	1081865773 3764,717000	4613091157689, 602000	2,345	,019	4690507382328,089000	24953239728673,863000

Tabelle 46: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu TNF- $\alpha$

Schätzungen<sup>a</sup>

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
C3G	,460 <sup>b</sup>	132,354	11	-290,849	291,770
Cyanidin	,330 <sup>b</sup>	132,354	11	-290,979	291,639
DP	,713 <sup>b</sup>	142,453	11	-312,822	314,249
Luteolin	,574 <sup>b</sup>	132,354	11	-290,736	291,883

a. Abhängige Variable: Reduktion.

b. Die Kovariaten in dem Modell werden anhand der folgenden Werte berechnet:  
 Menge\_AC\_muM = 36,255.

Tabelle 47: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu TNF-α

Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
C3G	Cyanidin	,130	183,447	11	1,000	-588,389	588,650
	DP	-,253	197,972	11	1,000	-635,370	634,864
	Luteolin	-,113	183,447	11	1,000	-588,633	588,406
Cyanidin	C3G	-,130	183,447	11	1,000	-588,650	588,389
	DP	-,383	269,899	11	1,000	-866,252	865,486
	Luteolin	-,244	,070	11	,032	-,470	-,017
DP	C3G	,253	197,972	11	1,000	-634,864	635,370
	Cyanidin	,383	269,899	11	1,000	-865,486	866,252
	Luteolin	,140	269,899	11	1,000	-865,729	866,009
Luteolin	C3G	,113	183,447	11	1,000	-588,406	588,633
	Cyanidin	,244	,070	11	,032	,017	,470
	DP	-,140	269,899	11	1,000	-866,009	865,729

Tabelle 48: Paarweise Vergleiche zur Variable "Wirkstoff", Daten zu TNF- $\alpha$

### Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
3	11,000	3,980	,038

**Tabelle 49: Tests auf Univariate zur Variable "Wirkstoff", Daten zu TNF- $\alpha$**

### Schätzungen

Art	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
m-RNA	,496	170,504	11	-374,781	375,772
Protein	,543	104,224	11	-228,853	229,939

**Tabelle 50: Geschätzte Randmittel für Variable "Art", Daten zu TNF- $\alpha$**

Paarweise Vergleiche

(I) Art (J) Art	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
m-RNA Protein	-,047	264,708	11	1,000	-582,666	582,571
Protein m-RNA	,047	264,708	11	1,000	-582,571	582,666

Tabelle 51: Paarweise Vergleiche zur Variable "Art", Daten zu TNF- $\alpha$

Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	11	,000	1,000

Tabelle 52: Tests auf Univariate zur Variable "Art", Daten zu TNF- $\alpha$

## 6.5 Statistik Iκ-Bα

Iκ-Bα in Zellkulturen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC (μM)	Iκ-Bα control	Iκ-Bα mit AC	Blockade der Iκ-Bα-Degradation (%)	Signifikanz p<
Studie 25	DP	1	25	20%	30%	30%	p<0,05
Studie 25	DP	1	50	20%	100%	100%	p<0,05
Studie 25	DP	1	75	20%	100%	100%	p<0,05
Studie 25	DP	1	100	20%	100%	100%	p<0,05
Studie 23	PDGG	2	12,5	20%	20%	20%	p<0,01
Studie 23	PDGG	2	25	20%	60%	60%	∅
Studie 23	PDGG	2	50	20%	80%	80%	∅
Studie 22	PDG	1,16	50	2,3fach	0,8fach	65,22%	p<0,01

Tabelle 53: Datenerhebung aus Primärliteratur, Daten zu Iκ-Bα

## Analyse von gemischten Modellen

### Modelldimension

		Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter
Feste	Konstanter Term	1	1
Effekte	Wirkstoff	2	1
	Menge_AC_muM	1	1
Residuum			1
Gesamt		4	4

**Tabelle 54: Modelldimension, Daten zu Ik-Ba**



### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	74,818
Akaike-Informationskriterium (AIC)	76,818
Hurvich und Tsai (IC)	78,818
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	77,204
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	76,204

**Tabelle 55: Informationskriterien für Daten zu lk-Bα**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	4	,041	,850
Wirkstoff	1	4	,542	,503
Menge_AC_muM	1	4	17,882	,013

Tabelle 56: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu Ik-Ba

### Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,062392	,074478	4	,838	,449	-,144393	,269178
[Wirkstoff=DP]	-,086514	,117560	4	-,736	,503	-,412914	,239887
[Wirkstoff=PDGG]	0	0	.	.	.	.	.
Menge_AC_muM	,013277	,003140	4	4,229	,013	,004560	,021995

Tabelle 57: Schätzungen fester Parameter, Daten zu Ik-Ba

### Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	358,321554	253,371601	1,414	,157	89,615380	1432,726576

Tabelle 58: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu Ik-Ba

### Schätzungen

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
DP	,268	,093	4	,010	,526
PDGG	,355	,059	4	,191	,518

Tabelle 59: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu Ik-Bα

### Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I- J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
DP	PDGG	-,087	,118	4	,503	-,413	,240
PDGG	DP	,087	,118	4	,503	-,240	,413

Tabelle 60: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu Ik-Bα

## Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	4	,542	,503

Tabelle 61: Tests auf Univariate, Daten zu Ik-Bα

## 6.6 Statistik NF-κB

NF-κB in Tierversuchen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC (mg)	NF-κB control	NF-κB mit AC	NF-κB Reduktion (%)	Signifikanz p<
<b>Studie 3</b>	APA - H	672	28	relative Intensität 1,7	relative Intensität 1,06	37,64%	0,05
<b>Studie 3</b>	APA - L	672	56	relative Intensität 1,7	relative Intensität 1,55	8,82%	0,05
<b>Studie 38</b>	BHE	24	100	25,70 ± 4,02%	12,60 ± 1,52%	50,97%	0,01

Tabelle 62: Datenerhebung aus Primärliteratur, Daten zu NF-κB in Tierversuchen

NF-κB in Zellkulturen	Wirkstoff	Besonderheiten	Dauer (h)	Menge AC (μM)	NF-κB control	NF-κB mit AC	κB Reduktion (%)	Signifikanz p<
Studie 7	DP		24	10	8fach	4fach	50%	o.A.
Studie 7	DP		24	30	8fach	1fach	87,50%	o.A.
Studie 11	C3G		16	0,5	1,7fach	1,12fach	30%	0,05
Studie 19	C3G		14	100	8fach	5,5fach	31,25%	0,05
Studie 38	BHE		24	9,2	25,70 ± 4,02%	12,60 ± 1,52%	50,97%	0,01
Studie 32	C3G		30	10	375%	330%	12%	∅
Studie 32	C3G		30	50	375%	300%	20%	0,05
Studie 32	C3G		30	100	375%	160%	57,33%	0,01

Tabelle 63: Datenerhebung aus Primärliteratur, Daten zu NF-κB in Zellversuchen

## Analyse von gemischten Modellen

### Modelldimension

	Anzahl Ausprägungen	Kovarianzstruktur	Anzahl Parameter	Subjektvariablen
Konstanter Term	1	Identität	1	Studie
Feste Effekte	3		2	
Wirkstoff	1		1	
Menge_AC_muM	1		1	
Dauer_h	1		1	
Zufallseffekte	1		1	
Konstanter Term	1		1	
Residuum			1	
Gesamt	7		7	

Tabelle 64: Modelldimension für Daten zu NF-κB

### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	16,288
Akaike-Informationskriterium (AIC)	20,288
Hurvich und Tsai (IC)	.
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	20,485
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	18,485

**Tabelle 65: Informationskriterien für Daten zu NF-κB**



Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	2,002	,000	,993
Wirkstoff	2	2,000	,459	,685
Menge_AC_muM	1	2,177	24,670	,032
Dauer_h	1	,729	,000	,992

Tabelle 66: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu NF-κB

Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,576392	,834231	1,160	,691	,602	-7,125647	8,278430
[Wirkstoff=BHE]	-,122700	106,251931	2,000	-,001	,999	-457,267009	457,021610
[Wirkstoff=C3G]	-,531423	,554609	2,154	-,958	,433	-2,761462	1,698617
[Wirkstoff=DP]	0	0	.	.	.	.	.
Menge_AC_muM	,005125	,001032	2,177	4,967	,032	,001014	,009236
Dauer_h	<b>,000369</b>	,027577	,729	,013	,992	-,873913	,874651

Tabelle 67: Schätzungen fester Parameter, Daten zu NF-κB

Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	3903737,732094	3903737,732094	1,000	,317	549894,136966	27712912,825453
Konstanter Term [Subjekt = Studie] Varianz	,105080	,192241	,547	,585	,002913	3,791106

Tabelle 68: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu NF-κB

Schätzungen

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
BHE	,758	106,251	2,000	-456,390	457,907
C3G	,350	,286	,620	-16,518	17,218
DP	,881	,522	2,479	-,995	2,757

Tabelle 69: Geschätzte Randmittel zur Variable "Wirkstoff", Daten zu NF-κB

Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
BHE	C3G	,409	106,251	2,000	1,000	-812,244	813,061
	DP	-,123	106,252	2,000	1,000	-812,767	812,522
C3G	BHE	-,409	106,251	2,000	1,000	-813,061	812,244
	DP	-,531	,555	2,154	1,000	-4,362	3,299
DP	BHE	,123	106,252	2,000	1,000	-812,522	812,767
	C3G	,531	,555	2,154	1,000	-3,299	4,362

Tabelle 70: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu NF-κB (BHE, C3G, DP)

## Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
2	2,000	,459	,685

**Tabelle 71: Tests auf Univariate, Daten zu NF-κB**

## 6.7 Statistik IL-6

IL-6 Protein und m-RNA in Zellkulturen	Wirkstoff	Besonderheiten	Dauer (h)	Menge AC ( $\mu\text{M}$ )	IL-6 control Protein	IL-6 Protein mit AC	IL-6 Reduktion Protein (%)	Signifikanz p<	IL-6 control m-RNA (-fach)	IL-6 mit AC m-RNA (-fach)	IL-6 Reduktion m-RNA (%)	Signifikanz p<
Studie 7	DP	JURKAT	24	10	80pg/ml	65pg/ml	18,75%	o.A.	4,5	2,8	37,80%	o.A.
Studie 7	DP	JURKAT	24	30	80pg/ml	40pg/ml	50%	o.A.	4,5	1,8	60%	o.A.
Studie 7	DP	JURKAT	24	50	80pg/ml	20pg/ml	75%	o.A.	4,5	1	78%	o.A.
Studie 7	DP	MH7A	24	10					6,5	4	38,64%	o.A.
Studie 7	DP	MH7A	24	30					6,5	1,8	72,31%	o.A.
Studie 11	C3G		16	0,005	2,25fach	2fach	11,12%	p<0,05	16	13,5	15,62%	0,05
Studie 11	C3G		16	0,05	2,25fach	1,5fach	33,34%	p<0,05	16	9	43,75%	0,05
Studie 11	C3G		16	0,5	2,25fach	1,5fach	33,34%	p<0,05	16	7,5	53,12%	0,05
Studie 11	C3G		16	10	2,25fach	1,57fach	22,23%	p<0,05	16	15	6,25%	0,05

Tabelle 72: Datenerhebung aus Primärliteratur zu IL-6 in Zellkulturen

IL-6 in Tierversuchen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC (mg)	IL-6 control (pg/ml)	IL-6 mit AC (pg/ml)	IL-6-Reduktion (%)	Signifikanz p<
Studie 3	APA - H	672	28	34,48 ± 12,03	19,50 ± 5,87	43,45%	0,05
Studie 3	APA - L	672	56	34,48± 12,03	24,50± 4,65	28,95%	0,05
Studie 4	AC low AC	1008	19,5	70	35*	50%	0,001
Studie 4	AC high AC	1008	195	70	21*	30%	0,001

**Tabelle 73: Datenerhebung aus Primärliteratur zu IL-6 in Tierversuche**



## Analyse von gemischten Modellen

### Modelldimension

		Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter
	Konstanter Term	1	1
Feste	Wirkstoff	2	1
Effekte	Art	2	1
	Menge_AC_muM	1	1
Residuum			1
Gesamt		6	5

Tabelle 74: Modelldimension für Daten zu IL-6

### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	300,533
Akaike-Informationskriterium (AIC)	302,533
Hurvich und Tsai (IC)	302,933
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	304,018
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	303,018

**Tabelle 75: Informationskriterien für Daten zu IL-6**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	12	16,227	,002
Wirkstoff	1	12	,328	,577
Art	1	12	2,537	,137
Menge_AC_muM	1	12	12,055	,005

Tabelle 76: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu IL-6

Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,178672	,126836	12	1,409	,184	-,097681	,455025
[Wirkstoff=C3G]	,072521	,126600	12	,573	,577	-,203318	,348359
[Wirkstoff=DP]	0	0	.	.	.	.	.
[Art=m-RNA]	,097511	,061218	12	1,593	,137	-,035872	,230893
[Art=Protein]	0	0	.	.	.	.	.
Menge_AC_muM	<b>,010667</b>	,003072	12	3,472	,005	,003973	,017362

Tabelle 77: Schätzungen fester Parameter, Daten zu IL-6

Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	2661497,061959	1086551,625619	2,449	,014	1195706,021229	5924170,728464

Tabelle 78: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu IL-6

### Schätzungen

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
C3G	,516	,075	12	,353	,679
DP	,443	,066	12	,300	,587

Tabelle 79: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu IL-6

### Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
C3G	DP	,073	,127	12	,577	-,203	,348
DP	C3G	-,073	,127	12	,577	-,348	,203

Tabelle 80: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu IL-6

### Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	12	,328	,577

Tabelle 81: Tests auf Univariate für Variable "Wirkstoff", Daten zu IL-6

### Schätzungen

Art	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
m-RNA	,528	,040	12	,441	,616
Protein	,431	,047	12	,329	,532

Tabelle 82: Geschätzte Randmittel für Variable "Art", Daten zu IL-6

Paarweise Vergleiche

(I) Art	(J) Art	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
m-RNA	Protein	,098	,061	12	,137	-,036	,231
Protein	m-RNA	-,098	,061	12	,137	-,231	,036

Tabelle 83: Paarweise Vergleiche für Variable "Art", Daten zu IL-6

Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	12	2,537	,137

Tabelle 84: Tests auf Univariate für Variable "Art", Daten zu IL-6



## 6.8 Statistik NO

NO in Zellkulturen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC ( $\mu\text{M}$ )	NO control	NO mit AC	NO-Reduktion (%)	Signifikanz p<
Studie 20	Polyacetylene	16	2,6	34 $\mu\text{M}$	26,5 $\mu\text{M}$	22,06%	0,01
Studie 20	Polyacetylene	16	5,1	34 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{M}$	41,18%	0,001
Studie 20	Polyacetylene	16	10,2	34 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	70,59%	0,001
Studie 20	Polyacetylene	16	20,5	34 $\mu\text{M}$	3,5 $\mu\text{M}$	89,71%	0,001
Studie 20	Polyacetylene	16	41	34 $\mu\text{M}$	1 $\mu\text{M}$	97,06%	0,001
Studie 19	C3G	14	1	32,5 nM/mg	27,5nM/mg	15,39%	0,05
Studie 19	C3G	14	10	32,5 nM/mg	24,9nM/mg	23,39%	0,01
Studie 19	C3G	14	50	32,5 nM/mg	16,5nM/mg	49,24%	0,001
Studie 19	C3G	14	100	32,5 nM/mg	13nM/mg	60%	0,001
Studie 38	BHE	24	0,092	50 $\mu\text{M}$	39 $\mu\text{M}$	22%	0,01
Studie 38	BHE	24	0,92	50 $\mu\text{M}$	14 $\mu\text{M}$	72%	0,01
Studie 38	BHE	24	9,2	50 $\mu\text{M}$	12 $\mu\text{M}$	76%	0,01
Studie 38	C3G	24	100	50 $\mu\text{M}$	39 $\mu\text{M}$	22%	0,05
Studie 38	C3R	24	100	50 $\mu\text{M}$	33 $\mu\text{M}$	34%	0,01

Tabelle 85: Datenerhebung aus Primärliteratur für NO in Zellkulturen

NO in Tierversuchen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC (mg)	NO control $\mu\text{M}$	NO mit AC $\mu\text{M}$	NO-Reduktion (%)	Signifikanz p<
Studie 28	Pro AC	4,5	14	54 $\pm$ 21	20 $\pm$ 5	63%	0,01
Studie 38	BHE	24	0,0922	70	56	31,25%	0,01
Studie 38	BHE	24	0,922	70	36	37,50%	0,01
Studie 38	BHE	24	9,22	70	20	37,50%	0,01

Tabelle 86: Datenerhebung aus Primärliteratur für NO in Tierversuchen

## Analyse von gemischten Modellen

### Modelldimension

		Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter
	Konstanter Term	1	1
Feste	Wirkstoff	3	2
Effekte	Menge_AC_muM	1	1
	Dauer_h	1	1
Residuum			1
Gesamt		6	6

**Tabelle 87: Modelldimension für Daten zu NO**

### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	183,891
Akaike-Informationskriterium (AIC)	185,891
Hurvich und Tsai (IC)	187,891
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	186,278
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	185,278

**Tabelle 88: Informationskriterien für Daten zu NO**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	4,000	,427	,549
Wirkstoff	2	4	7,290	,046
Menge_AC_mu M	1	4	44,874	,003
Dauer_h	1	4	,252	,642

Tabelle 89: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu NO

### Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,895445	2,007977	4	,446	,679	-4,679594	6,470484
[Wirkstoff=BHE]	,817631	,217000	4	3,768	,020	,215143	1,420120
[Wirkstoff=C3G]	-,120000	,847517	4,000	-,142	,894	-2,473085	2,233085
[Wirkstoff=C3R]	0	0	.	.	.	.	.
Menge_AC_muM	,004500	,000672	4	6,699	,003	,002635	,006365
Dauer_h	-,041894	,083500	4	-,502	,642	-,273728	,189940

Tabelle 90: Schätzungen fester Parameter, Daten zu NO

Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	4595163,611988	3249271,350698	1,414	,157	1149239,635704	18373477,528046

Tabelle 91: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu NO

Schätzungen<sup>a</sup>

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
BHE	1,308 <sup>b</sup>	,796	4,000	-,901	3,517
C3G	,371 <sup>b</sup>	,059	4,000	,206	,535
C3R	,491 <sup>b</sup>	,795	4,000	-1,717	2,699

a. Abhängige Variable: Reduktion.

b. Die Kovariaten in dem Modell werden anhand der folgenden Werte berechnet:

Menge\_AC\_muM = 46,387, Dauer\_h = 14,642689.

Tabelle 92: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu NO



Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I- J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
BHE	C3G	,938	,848	4,000	,993	-2,421	4,297
	C3R	,818	,217	4	,059	-,042	1,677
C3G	BHE	-,938	,848	4,000	,993	-4,297	2,421
	C3R	-,120	,848	4,000	1,000	-3,477	3,237
C3R	BHE	-,818	,217	4	,059	-1,677	,042
	C3G	,120	,848	4,000	1,000	-3,237	3,477

Tabelle 93: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu NO (BHE, C3G, C3R)

Tests auf Univariate

Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
2	4,000	7,290	,046

Tabelle 94: Tests auf Univariate für Variable "Wirkstoff", Daten zu NO

## 6.9 Statistik iNOS

iNOS Protein und m-RNA in Zellkulturen	Wirkstoff	Dauer (h)	Menge AC ( $\mu$ M)	iNOS control	iNOS mit AC	iNOS Reduktion (%)	Signifi- kanz p<	iNOS control m-RNA (-fach)	iNOS mit AC m-RNA (-fach)	iNOS-m-RNA- Reduktion (%)	Signifi- kanz p<
<b>Studie 20</b>	Polyacetylene	16	6,6	100%	20%	80%	p<0,05				
<b>Studie 20</b>	Polyacetylene	16	13,3	100%	15%	85%	p<0,05				
<b>Studie 19</b>	C3G	14	1	3fach	2,5 f fach	17%	p<0,05	2,5	2	20%	0,01
<b>Studie 19</b>	C3G	14	10	3fach	2,1 f fach	30%	p<0,01	2,5	1,8	28%	0,01
<b>Studie 19</b>	C3G	14	50	3fach	1,4 f fach	53%	p<0,00 1	2,5	1,5	40%	0,001
<b>Studie 19</b>	C3G	14	100	3fach	1fach	67%	p<0,00 1	2,5	1,2	52%	0,001
<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	12,5	3,6 f fach	3,25 f fach	10%	Ø	5	4,5	10%	Ø
<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	25	3,6 f fach	2,2 f fach	39%	p<0,01	5	2,2	56%	0,05
<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	50	3,6 f fach	1fach	72%	p<0,01	5	2	60%	0,01

<b>Studie 22</b>	PDG	1,16	75	3,6 fach	0,8 fach	78%	p<0,01	5	1	80%	0,01
<b>Studie 28</b>	Pro AC	4,5	14	5815± 804 U/l	1992± 899 U/l	66%	p<0,01				

**Tabelle 95: Datenerhebung aus Primärliteratur zu iNOS**

## Analyse von gemischten Modellen

### Modelldimension

	Anzahl Ausprägungen	Anzahl Parameter
Konstanter Term	1	1
Feste Wirkstoff	2	1
Effekte Art	2	1
Menge_AC_muM	1	1
Residuum		1
Gesamt	6	5

**Tabelle 96: Modelldimension für Daten zu iNOS**

### Informationskriterien

Eingeschränkte -2 Log Likelihood	295,373
Akaike-Informationskriterium (AIC)	297,373
Hurvich und Tsai (IC)	297,773
Bozdogan-Kriterium (CAIC)	298,858
Bayes-Kriterium von Schwarz (BIC)	297,858

**Tabelle 97: Informationskriterien für Daten zu iNOS**

Tests auf feste Effekte, Typ III

Quelle	Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
Konstanter Term	1	12	44,919	,000
Wirkstoff	1	12	6,956	,022
Art	1	12	3,644	,080
Menge_AC_muM	1	12	31,780	,000

Tabelle 98: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu iNOS

Schätzungen fester Parameter

Parameter	Schätzung	Standardfehler	Freiheitsgrade	T-Statistik	Signifikanz	Konfidenzintervall 95%	
						Untergrenze	Obergrenze
Konstanter Term	,454371	,065529	12	6,934	,000	,311595	,597146
[Wirkstoff=C3G]	-,166002	,062941	12	-2,637	,022	-,303139	-,028865
[Wirkstoff=PDG]	0	0	.	.	.	.	.
[Art=m-RNA]	-,110657	,057971	12	-1,909	,080	-,236965	,015651
[Art=Protein]	0	0	.	.	.	.	.
Menge_AC_muM	<b>,003885</b>	,000689	12	5,637	,000	,002383	,005386

Tabelle 99: Schätzungen fester Parameter für Daten zu iNOS



Schätzungen von Kovarianzparametern

Parameter	Schätzung	Std.-Fehler	Wald Z	Sig.	Konfidenzintervall 95%	
					Untergrenze	Obergrenze
Residuum	1536292,170816	627188,652389	2,449	,014	690195,689211	3419600,659644

Tabelle 100: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu iNOS

Schätzungen<sup>a</sup>

Wirkstoff	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
C3G	,447 <sup>b</sup>	,033	12	,375	,518
PDG	,613 <sup>b</sup>	,051	12	,501	,724

a. Abhängige Variable: Reduktion.

b. Die Kovariaten in dem Modell werden anhand der folgenden Werte berechnet:

Menge\_AC\_muM = 54,954.

Tabelle 101: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu iNOS

Paarweise Vergleiche

(I) Wirkstoff	(J) Wirkstoff	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
C3G	PDG	-,166	,063	12	,022	-,303	-,029
PDG	C3G	,166	,063	12	,022	,029	,303

Tabelle 102: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu iNOS

Tests auf Univariate

Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	12	6,956	,022

Tabelle 103: Tests auf Univariate, Daten zu iNOS

Schätzungen

Art	Mittelwert	Standardfehler	Freiheitsgrade	Konfidenzintervall 95%	
				Untergrenze	Obergrenze
m-RNA	,474	,037	12	,393	,556
Protein	,585	,045	12	,487	,682

Tabelle 104: Geschätzte Randmittel für Variable "Art", Daten zu iNOS

Paarweise Vergleiche

(I) Art	(J) Art	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	Freiheitsgrade	Signifikanz	95% Konfidenzintervall für Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
m-RNA	Protein	-,111	,058	12	,080	-,237	,016
Protein	m-RNA	,111	,058	12	,080	-,016	,237

Tabelle 105: Paarweise Vergleiche für Variable "Art", Daten zu iNOS

Tests auf Univariate

Zähler- Freiheitsgrade	Nenner- Freiheitsgrade	F-Wert	Signifikanz
1	12	3,644	,080

**Tabelle 106: Tests auf Univariate für Variable "Art", Daten zu iNOS**

## 7. Literaturverzeichnis

1. Hou, D.X., et al., *Molecular Mechanisms Behind the Chemopreventive Effects of Anthocyanidins*. J Biomed Biotechnol, 2004. **2004**(5): p. 321-325.
2. Tsuda, T., et al., *Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from Phaseolus vulgaris L.* Biochem Pharmacol, 1996. **52**(7): p. 1033-9.
3. He, J. and M.M. Giusti, *Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties*. Annu Rev Food Sci Technol, 2010. **1**: p. 163-87.
4. Galvano, F., et al., *Bioavailability, antioxidant and biological properties of the natural free-radical scavengers cyanidin and related glycosides*. Ann Ist Super Sanita, 2007. **43**(4): p. 382-93.
5. Zafra-Stone, S., et al., *Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention*. Mol Nutr Food Res, 2007. **51**(6): p. 675-83.
6. Matsumoto, H., et al., *Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms*. J Agric Food Chem, 2001. **49**(3): p. 1546-51.
7. Cao, G., et al., *Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study*. Am J Clin Nutr, 2001. **73**(5): p. 920-6.
8. (DEGAM), D.G.f.A.u.F. *Brennen beim Wasserlassen DEGAM-Leitlinie Nr. 1 Anwenderversion der S3-Leitlinie Harnwegsinfekte*. 2009. 115.
9. Jepson, R.G., L. Mihaljevic, and J. Craig, *Cranberries for preventing urinary tract infections*. Cochrane Database Syst Rev, 2004(2): p. CD001321.
10. Baltes, W. and R. Matissek, *Lebensmittelchemie*. 7 ed. 2011, Heidelberg.
11. Hänsel, R. and O. Sticher, *Pharmakognosie-Phytopharmazie*. 2010: Hänsel, Rudolf; Sticher, Otto.
12. McGhie, T.K. and M.C. Walton, *The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding*. Mol Nutr Food Res, 2007. **51**(6): p. 702-13.
13. Belitz, H.-D. and W. Grosch, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 1992, Heidelberg. 745-747.
14. Habermehl, G., et al., *Naturstoffchemie. Eine Einführung*. 2008, Heidelberg. 483-491.
15. Cao, G., E. Sofic, and R.L. Prior, *Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships*. Free Radic Biol Med, 1997. **22**(5): p. 749-60.
16. Noda, Y., et al., *Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin*. J Agric Food Chem, 2002. **50**(1): p. 166-71.

17. Wang, H., et al., *Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries*. J Nat Prod, 1999. **62**(2): p. 294-6.
18. Mulabagal, V., et al., *Anthocyanin content, lipid peroxidation and cyclooxygenase enzyme inhibitory activities of sweet and sour cherries*. J Agric Food Chem, 2009. **57**(4): p. 1239-46.
19. Saric, A., et al., *Improved antioxidant and anti-inflammatory potential in mice consuming sour cherry juice (Prunus Cerasus cv. Maraska)*. Plant Foods Hum Nutr, 2009. **64**(4): p. 231-7.
20. Tsoyi, K., et al., *Anthocyanins from black soybean seed coats inhibit UVB-induced inflammatory cyclooxygenase-2 gene expression and PGE2 production through regulation of the nuclear factor-kappaB and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway*. J Agric Food Chem, 2008. **56**(19): p. 8969-74.
21. Seong, A.R., et al., *Delphinidin, a specific inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses inflammatory signaling via prevention of NF-kappaB acetylation in fibroblast-like synoviocyte MH7A cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2011. **410**(3): p. 581-6.
22. Hou, D.X., et al., *Anthocyanidins inhibit cyclooxygenase-2 expression in LPS-evoked macrophages: structure-activity relationship and molecular mechanisms involved*. Biochem Pharmacol, 2005. **70**(3): p. 417-25.
23. Wang, Q., et al., *Cyanidin-3-O-beta-glucoside inhibits iNOS and COX-2 expression by inducing liver X receptor alpha activation in THP-1 macrophages*. Life Sci, 2008. **83**(5-6): p. 176-84.
24. DeFuria, J., et al., *Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae*. J Nutr, 2009. **139**(8): p. 1510-6.
25. Lei, Y.F., et al., *Hypolipidemic and anti-inflammatory properties of Abacopterin A from Abacopteris penangiana in high-fat diet-induced hyperlipidemia mice*. Food Chem Toxicol, 2011. **49**(12): p. 3206-10.
26. Herath, H.M., Y. Takano-Ishikawa, and K. Yamaki, *Inhibitory effect of some flavonoids on tumor necrosis factor-alpha production in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage cell line J774.1*. J Med Food, 2003. **6**(4): p. 365-70.
27. Mazza, G., et al., *Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects*. J Agric Food Chem, 2002. **50**(26): p. 7731-7.
28. Miyazawa, T., et al., *Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans*. J Agric Food Chem, 1999. **47**(3): p. 1083-91.
29. Talavera, S., et al., *Anthocyanin metabolism in rats and their distribution to digestive area, kidney, and brain*. J Agric Food Chem, 2005. **53**(10): p. 3902-8.
30. Tall, J.M., et al., *Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat*. Behav Brain Res, 2004. **153**(1): p. 181-8.
31. Böcker, W., *Pathologie*. 2012, München: Böcker, Werner; Denk, Helmut; Heitz, Philipp U.; Höfler, Gerald; Kreipe, Hans; Moch, Holger.

32. Speckmann, E.-J., J. Hescheler, and R. Köhling, *Physiologie*. 2008, München: Speckmann, Erwin-Josef; Hescheler, Jürgen; Köhling, Rüdiger.
33. Löffler, G., P.E. Petrides, and P.C. Heinrich, *Biochemie und Pathobiochemie*. 2007, Heidelberg: Löffler, Georg  
Petrides, Petro E.  
Heinrich, Peter C.
34. Mutschler, E., H.-G. Schaible, and P. Vaupel, *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*. 2007, Stuttgart.
35. Aktories, K., et al., *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 2009, München.
36. Mutschler, E., et al., *Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie, der klinischen Pharmakologie und Toxikologie*. 2013, Stuttgart.
37. Piberger, H., et al., *Bilberries and their anthocyanins ameliorate experimental colitis*. Mol Nutr Food Res, 2011. **55**(11): p. 1724-9.
38. He, Y.H., et al., *Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of cherries on Freund's adjuvant-induced arthritis in rats*. Scand J Rheumatol, 2006. **35**(5): p. 356-8.
39. Jin, X.H., et al., *Effects of blue honeysuckle (Lonicera caerulea L.) extract on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo*. Exp Eye Res, 2005. **82**(5): p. 860-7.
40. Tsuda, T., et al., *Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice*. J Nutr, 2003. **133**(7): p. 2125-30.
41. Prior, R.L., et al., *Whole berries versus berry anthocyanins: interactions with dietary fat levels in the C57BL/6J mouse model of obesity*. J Agric Food Chem, 2008. **56**(3): p. 647-53.
42. Zhang, Y., et al., *Cyanidin-3-O-beta-glucoside inhibits LPS-induced expression of inflammatory mediators through decreasing I $\kappa$ B phosphorylation in THP-1 cells*. Inflamm Res, 2010. **59**(9): p. 723-30.
43. Raschke, W.C., et al., *Functional macrophage cell lines transformed by Abelson leukemia virus*. Cell, 1978. **15**(1): p. 261-7.
44. Miyazawa, K., A. Mori, and H. Okudaira, *Establishment and characterization of a novel human rheumatoid fibroblast-like synoviocyte line, MH7A, immortalized with SV40 T antigen*. J Biochem, 1998. **124**(6): p. 1153-62.
45. Hou, D.X., et al., *Prodelphinidin B-4 3'-O-gallate, a tea polyphenol, is involved in the inhibition of COX-2 and iNOS via the downregulation of TAK1-NF- $\kappa$ B pathway*. Biochem Pharmacol, 2007. **74**(5): p. 742-51.
46. Tsuchiya, S., et al., *Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1)*. Int J Cancer, 1980. **26**(2): p. 171-6.
47. Ueda, H., C. Yamazaki, and M. Yamazaki, *A hydroxyl group of flavonoids affects oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor- $\alpha$  production*. Biosci Biotechnol Biochem, 2004. **68**(1): p. 119-25.



48. Cho, J.Y., et al., *Inhibitor of tumor necrosis factor-alpha production in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells from Amorpha fruticosa*. J Ethnopharmacol, 2000. **70**(2): p. 127-33.
49. Metzger, B.T., D.M. Barnes, and J.D. Reed, *Purple carrot (Daucus carota L.) polyacetylenes decrease lipopolysaccharide-induced expression of inflammatory proteins in macrophage and endothelial cells*. J Agric Food Chem, 2008. **56**(10): p. 3554-60.
50. Nemzer, B.V., et al., *Acute reduction of serum 8-iso-PGF2-alpha and advanced oxidation protein products in vivo by a polyphenol-rich beverage; a pilot clinical study with phytochemical and in vitro antioxidant characterization*. Nutr J, 2011. **10**: p. 67.
51. Hooper, L., et al., *Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials*. Am J Clin Nutr, 2008. **88**(1): p. 38-50.
52. Ju JH, Y.J., Park HJ, Kim MY, Shin HK, Park KY, Yang JO, Sohn MS, Do MS, *Anti-obesity and antioxidative effects of purple sweet potato extract in 3T3-L1 adipocytes in vitro*. J Med Food, 2011. **Oct**;(14(10)): p. 1097-106.
53. Kim, S.J., Park Y.S., Paik H.D., Chang H.I.. *Effects of anthocyanins on expression of matrix metalloproteinase-2 in naproxen-induced gastric ulcers*. Br J Nutr., 2011. **106**(12): p. 1792-801.
54. Muanda F.N., D.A., Soulimani R., *Assessment of polyphenolic compounds, in vitro antioxidant and anti-inflammation properties of Securidaca longepedunculata root barks*. C R Biol, 2010. **333**(9): p. 663-9.
55. Min, S.W., Ryu S.N., Kim D.H., *Anti-inflammatory effects of black rice, cyanidin-3-O-beta-D-glycoside and its metabolites, cyanidin and protocatechuic acid*. Int Immunopharmacol., 2010. **10**(8): p. 959-66.
56. Seymour, E.M., Lewis S.K., Urcuyo-Llanes D.E., Tanone I.I., Kirakosyan P. B., Bolling S.F., *Regular tart cherry intake alters abdominal adiposity, adipose gene transcription, and inflammation in obesity-prone rats fed a high fat diet*. J Med Food, 2009. **12**(5): p. 935-42.
57. Lyall, K.A., et al., *Short-term blackcurrant extract consumption modulates exercise-induced oxidative stress and lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2009. **297**(1): p. R70-81.
58. Hwang M. K., K.N.J., Heo Y. S., Lee K. W., Lee H. J., *Fyn kinase is a direct molecular target of delphinidin for the inhibition of cyclooxygenase-2-expression induced by tumor necrosis factor-alpha*. Biochem Pharmacol, 2009. **77**(7): p. 1213-22.
59. Jensen, G.S., et al. *In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study*. Journal of agricultural and food chemistry, 2008. **56**, 8326-33 DOI: 10.1021/jf8016157.
60. Hou, D.X., et al., *Green tea proanthocyanidins inhibit cyclooxygenase-2 expression in LPS-activated mouse macrophages: molecular*

- mechanisms and structure-activity relationship*. Arch Biochem Biophys, 2007. **460**(1): p. 67-74.
61. Li, W.G., et al., *Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds*. Acta Pharmacol Sin, 2001. **22**(12): p. 1117-20.

## 8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformeln von Brenzkatechin (1,2-Dihydroxybenzol) und Kaffeesäure (3,4-Dihydroxyzimtsäure) als Beispiele für Pflanzenphenole. ....	3
Abbildung 2: Strukturformel Anthocyanidine.....	4
Abbildung 3: Beispiel eines acetylierten Anthocyans: Malvidin-3-p-Coumaroyl-Glykosid.....	4
Abbildung 4: Änderungen der Struktur von Anthocyanen unter verschiedenen pH-Werten.....	6

Abbildung 1: Baltes, Werner und Matissek, Reinhard. Lebensmittelchemie. Heidelberg 2011. S. 509. [9]

Abbildung 2: Hou, De-Xing et al.: Molecular Mechanisms Behind the Chemopreventive Effects of Anthocyanidins in: Journal of Biomedicine and Biotechnology 2004. Ausgabe 5. S. 322. [1]

Abbildung 3: He, Jian et al: Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. Annual Rev. Food Sci. Technol. 2010. Ausgabe 1. S. 166. [2]

Abbildung 4: Belitz, Hans-Dieter und Grosch, Werner. Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Heidelberg 1992. S. 746. [12]

## 9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Häufige Formen von Anthocyanidinen.....	7
Tabelle 2: Übersicht Entzündungsmediatoren (ohne Zytokine) .....	21
Tabelle 3: Gliederung der Studien nach der Ausgangssubstanz.....	32
Tabelle 4: Einteilung der Studien nach Untersuchungsgruppen.....	33
Tabelle 5: Vergleich der Wirkung von DP und PDG .....	53
Tabelle 6: Vergleich der Wirkung von C3G und PDG.....	55
Tabelle 7: Modelldimension für Daten aller Tierversuche.....	63
Tabelle 8: Informationskriterien für Daten aller Tierversuche .....	64
Tabelle 9: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten aller Tierversuche .....	64
Tabelle 10: Schätzungen fester Parameter, Daten aller Tierversuche .....	65
Tabelle 11: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten aller Tierversuche.....	66
Tabelle 12: Geschätzte Randmittel Wirkstoff, Daten aller Tierversuche.....	67
Tabelle 13: Paarweise Vergleiche Wirkstoffe aller Tierversuche (AC, APA, BHE, C3G).....	69
Tabelle 14: Paarweise Vergleiche Wirkstoffe aller Tierversuche (C3G, Luteolin, P3G, D3, Pro AC).....	71
Tabelle 15: Paarweise Vergleiche aller Tierversuche (Pro AC).....	71
Tabelle 16: Tests auf Univariate, Daten aller Tierversuche.....	72
Tabelle 17: Modelldimension für Daten aller Zellversuche .....	73
Tabelle 18: Informationskriterien für Daten aller Zellversuche .....	74
Tabelle 19: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten aller Zellversuche.....	75
Tabelle 20: Schätzungen fester Parameter Daten aller Zellversuche.....	76
Tabelle 21: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten aller Zellversuche.....	77
Tabelle 22: Geschätzte Randmittel zur Variable „Wirkstoff“, Daten aller Zellversuche.....	78
Tabelle 23: Paarweise Vergleiche, Wirkstoffe aller Zellversuche (BHE, C3G, C3R, Cyanidin, DP, Luteolin, PDG, PDGG) .....	82
Tabelle 24: Tests auf Univariate zur Variable „Wirkstoff“, Daten aller Zellversuche.....	83
Tabelle 25: Schätzungen zur Variable "Art", Daten aller Zellversuche .....	83

Tabelle 26: Paarweise Vergleiche zur Variable "Art", Daten aller Zellversuche	84
Tabelle 27: Tests auf Univariate zur Variable "Art", Daten aller Zellversuche ..	84
Tabelle 28: Datenerhebung aus Primärliteratur, Parameter COX-2 .....	86
Tabelle 29: Modelldimension zu COX-2 .....	87
Tabelle 30: Informationskriterien zu COX-2 .....	88
Tabelle 31: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu COX-2 .....	89
Tabelle 32: Schätzungen fester Parameter zu COX-2 .....	90
Tabelle 33: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu COX-2.....	91
Tabelle 34: Geschätzte Randmittel zur Variable "Wirkstoff", Daten zu COX-2.	92
Tabelle 35: Paarweise Vergleiche zur Variable Wirkstoff, Daten zu COX-2 (C3G, DP, PDG, PDGG) .....	93
Tabelle 36: Tests auf Univariate zur Variable "Wirkstoff", Daten zu COX-2 .....	94
Tabelle 37: Schätzungen zur Variable "Art", Daten zu COX-2 .....	94
Tabelle 38: Paarweise Vergleiche zu Variable "Art", Daten zu COX-2.....	95
Tabelle 39: Tests auf Univariate zur Variable "Art", Daten zu COX-2 .....	95
Tabelle 40: Datenerhebung aus Primärliteratur, Parameter TNF- $\alpha$ in Tierversuchen.....	96
Tabelle 41: Datenerhebung aus Primärliteratur, Parameter TNF- $\alpha$ in Zellkulturen.....	97
Tabelle 42: Modelldimension für Daten zu TNF- $\alpha$ .....	98
Tabelle 43: Informationskriterien zu TNF- $\alpha$ .....	99
Tabelle 44: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu TNF- $\alpha$ .....	100
Tabelle 45: Schätzungen fester Parameter für TNF- $\alpha$ .....	101
Tabelle 46: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu TNF- $\alpha$ .....	102
Tabelle 47: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu TNF- $\alpha$	103
Tabelle 48: Paarweise Vergleiche zur Variable "Wirkstoff", Daten zu TNF- $\alpha$ .	104
Tabelle 49: Tests auf Univariate zur Variable "Wirkstoff", Daten zu TNF- $\alpha$ ....	105
Tabelle 50: Geschätzte Randmittel für Variable "Art", Daten zu TNF- $\alpha$ .....	105
Tabelle 51: Paarweise Vergleiche zur Variable "Art", Daten zu TNF- $\alpha$ .....	106
Tabelle 52: Tests auf Univariate zur Variable "Art", Daten zu TNF- $\alpha$ .....	106
Tabelle 53: Datenerhebung aus Primärliteratur, Daten zu Ik-B $\alpha$ .....	107
Tabelle 54: Modelldimension, Daten zu Ik-B $\alpha$ .....	108

Tabelle 55: Informationskriterien für Daten zu Ik-B $\alpha$ .....	109
Tabelle 56: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu Ik-B $\alpha$ .....	110
Tabelle 57: Schätzungen fester Parameter, Daten zu Ik-B $\alpha$ .....	111
Tabelle 58: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu Ik-B $\alpha$ .....	111
Tabelle 59: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu Ik-B $\alpha$ ..	112
Tabelle 60: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu Ik-B $\alpha$ ....	112
Tabelle 61: Tests auf Univariate, Daten zu Ik-B $\alpha$ .....	113
Tabelle 62: Datenerhebung aus Primärliteratur, Daten zu NF- $\kappa$ B in Tierversuchen.....	113
Tabelle 63: Datenerhebung aus Primärliteratur, Daten zu NF- $\kappa$ B in Zellversuchen.....	114
Tabelle 64: Modelldimension für Daten zu NF- $\kappa$ B .....	115
Tabelle 65: Informationskriterien für Daten zu NF- $\kappa$ B.....	116
Tabelle 66: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu NF- $\kappa$ B.....	117
Tabelle 67: Schätzungen fester Parameter, Daten zu NF- $\kappa$ B.....	118
Tabelle 68: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu NF- $\kappa$ B .....	119
Tabelle 69: Geschätzte Randmittel zur Variable "Wirkstoff", Daten zu NF- $\kappa$ B	120
Tabelle 70: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu NF- $\kappa$ B (BHE, C3G, DP) .....	121
Tabelle 71: Tests auf Univariate, Daten zu NF- $\kappa$ B .....	122
Tabelle 72: Datenerhebung aus Primärliteratur zu IL-6 in Zellkulturen.....	123
Tabelle 73: Datenerhebung aus Primärliteratur zu IL-6 in Tierversuche .....	124
Tabelle 74: Modelldimension für Daten zu IL-6 .....	125
Tabelle 75: Informationskriterien für Daten zu IL-6.....	126
Tabelle 76: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu IL-6.....	127
Tabelle 77: Schätzungen fester Parameter, Daten zu IL-6.....	128
Tabelle 78: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu IL-6 .....	129
Tabelle 79: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu IL-6 ....	130
Tabelle 80: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu IL-6 .....	130
Tabelle 81: Tests auf Univariate für Variable "Wirkstoff", Daten zu IL-6.....	131
Tabelle 82: Geschätzte Randmittel für Variable "Art", Daten zu IL-6.....	131
Tabelle 83: Paarweise Vergleiche für Variable "Art", Daten zu IL-6 .....	132

Tabelle 84: Tests auf Univariate für Variable "Art", Daten zu IL-6 .....	132
Tabelle 85: Datenerhebung aus Primärliteratur für NO in Zellkulturen .....	133
Tabelle 86: Datenerhebung aus Primärliteratur für NO in Tierversuchen .....	134
Tabelle 87: Modelldimension für Daten zu NO .....	135
Tabelle 88: Informationskriterien für Daten zu NO .....	136
Tabelle 89: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu NO .....	137
Tabelle 90: Schätzungen fester Parameter, Daten zu NO .....	138
Tabelle 91: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu NO .....	139
Tabelle 92: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu NO .....	140
Tabelle 93: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu NO (BHE, C3G, C3R).....	141
Tabelle 94: Tests auf Univariate für Variable "Wirkstoff", Daten zu NO .....	142
Tabelle 95: Datenerhebung aus Primärliteratur zu iNOS .....	144
Tabelle 96: Modelldimension für Daten zu iNOS.....	145
Tabelle 97: Informationskriterien für Daten zu iNOS .....	146
Tabelle 98: Tests auf feste Effekte, Typ III, Daten zu iNOS .....	147
Tabelle 99: Schätzungen fester Parameter für Daten zu iNOS .....	148
Tabelle 100: Schätzungen von Kovarianzparametern, Daten zu iNOS .....	149
Tabelle 101: Geschätzte Randmittel für Variable "Wirkstoff", Daten zu iNOS .....	150
Tabelle 102: Paarweise Vergleiche für Variable "Wirkstoff", Daten zu iNOS..	151
Tabelle 103: Tests auf Univariate, Daten zu iNOS .....	151
Tabelle 104: Geschätzte Randmittel für Variable "Art", Daten zu iNOS .....	152
Tabelle 105: Paarweise Vergleiche für Variable "Art", Daten zu iNOS .....	152
Tabelle 106: Tests auf Univariate für Variable "Art", Daten zu iNOS.....	153
Tabelle 107: Übersicht Flavonoide .....	166
Tabelle 108: Übersicht Primärliteratur .....	173

Tabelle 1: nach [51]

Tabelle 2: nach [11]

Tabelle 3-108: eigene Daten

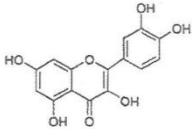
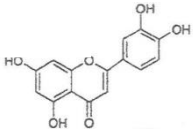
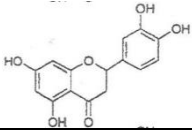
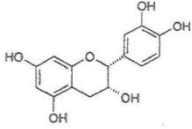
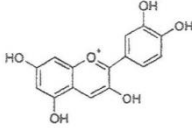
## 10. Abkürzungsverzeichnis

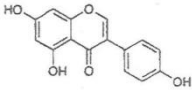
μM	Mikromolar
AC	Anthocyane
APA	Abacopteris penangiana
ASS	Acetylsalicylsäure
BHE	Blue Honeysuckle-Extrakt
C3G	Cyanidin-3-Glykosid
COX	Cyclooxygenase
CRP	C-reaktives Protein
D3G	Delphinidin-3-Glykosid
DMPO	5,5-Dimethyl-1-pyrrolidin-N-oxid
DP	Delphinidin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
HSP	Heat shock protein
IFN	Interferon
IgE	Immunglobulin E
Iκ-B	Inhibitor von NF-κB
IL	Interleukin
iNOS	Induzierbare NO-Synthase
JURKAT-Zellen	immortalized line of human T lymphocyte cells
LPS	Lipopolysaccharid
LXRα	Leber-X-Rezeptor α
M3G	Malvidin-3-Glykosid
MCSF	Macrophage-Colony stimulating factor
MHC-Moleküle	Major histocompatibility complex-Moleküle
m-RNA	Messenger-Ribonukleinsäure
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NF-κB	Nuclear factor 'kappa-light-chain-

	enhancer' of activated B-cells
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
MAP-Kinasen	Mitogen-activated-protein-Kinasen
MH7A	human rheumatoid arthritis synovial cell line
NO	Stickstoffmonoxid
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PDG	Prodelphinidin
PDGG	Prodelphinidin B2 3,3-di-O-gallate
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
Pro-AC	Pro-Anthocyanidine
RAW 264.7	Mausmakrophagen-ähnliche Zelllinie
SGLT-1	Sodium-dependent glucose transporter
THP1-Zellen	Human acute monocytic leukemia cell line
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TNFR	TNF-Rezeptor



## 11. Anhang

Flavonoid - Subklasse	Strukturformel	Synonym	Beispiel-substanzen	Quellen
Flavonole			Quercetin, Kaempferol, Myricetin, Isorhamnetin	Zwiebeln, Brokkoli, Tee, verschiedene Früchte
Flavone			Apigenin, Luteolin, Tangeretin	Kräuter ( v.a. Petersilie), Sellerie, Kamillentee
Flavanone			Naringenin, Hesperitin	Zitrusfrüchte
Flavanole		Flavan-3-ole Catechine Polymere Formen: Proantho- cyanidine (z.B. Pro- delphinidine, Procyanidine )	(+)-Catechin, (-)- Epicatechin, Polymere: z.B. Procyanidin- B1, -C1 Catechine aus grünem Tee: z.B. Epigallo- catechin	Kakao, Äpfel, Weintrauben, Rotwein, grüner Tee
Antho- cyanidine		Glykosylierte Formen: Anthocyane	z.B. Cyanidin, Delphinidin, Pelargonidin , Malvidin	Beerenfrüchte, v.a. Cranberries, schwarze Johannisbeeren , Heidelbeeren

Isoflavone		Phyto- östrogene	Daidzein, Genistein, Glycitein, Glykosylierte Formen: Daidzin, Genistin, Glycitin	Sojaprodukte, Eier
------------	---	---------------------	--	-----------------------

**Tabelle 107: Übersicht Flavonoide**

Studie Nr.	Autoren	Titel
3	Lei YF, Chen JL, Wei H, Xiong CM, Zhang YH, Ruan JL.	Hypolipidemic and anti-inflammatory properties of Abacopterin A from <i>Abacopteris penangiana</i> in high-fat diet-induced hyperlipidemia mice. [25]
4	Piberger H, Oehme A, Hofmann C, Dreiseitel A, Sand PG, Obermeier F, Schoelmerich J, Schreier P, Krammer G, Rogler G.	Bilberries and their anthocyanins ameliorate experimental colitis. [37]
5	Ju JH, Yoon HS, Park HJ, Kim MY, Shin HK, Park KY, Yang JO, Sohn MS, Do MS.	Anti-obesity and antioxidative effects of purple sweet potato extract in 3T3-L1 adipocytes in vitro. [52]
6	Kim SJ, Park YS, Paik HD, Chang HI.	Effect of anthocyanins on expression of matrix metalloproteinase-2 in naproxen-induced gastric ulcers.[53]
7	Seong AR, Yoo JY, Choi K, Lee MH, Lee YH, Lee J, Jun W, Kim S, Yoon HG.	Delphinidin, a specific inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses inflammatory signaling via prevention of NF- $\kappa$ B acetylation in fibroblast-like synoviocyte MH7A cells. [21]

8	Nemzer BV, Rodriguez LC, Hammond L, Disilvestro R, Hunter JM, Pietrzkowski Z.	Acute reduction of serum 8-iso-PGF2-alpha and advanced oxidation protein products in vivo by a polyphenol-rich beverage; a pilot clinical study with phytochemical and in vitro antioxidant characterization. [50]
9	Muanda FN, Dicko A, Soulimani R	Assessment of polyphenolic compounds, in vitro antioxidant and anti-inflammation properties of Securidaca longepedunculata root barks. [54]
10	Min SW, Ryu SN, Kim DH.	Anti-inflammatory effects of black rice, cyanidin-3-O-beta-D-glycoside, and its metabolites, cyanidin and protocatechuic acid. [55]
11	Zhang Y, Lian F, Zhu Y, Xia M, Wang Q, Ling W, Wang XD.	Cyanidin-3-O-beta-glucoside inhibits LPS-induced expression of inflammatory mediators through decreasing I $\kappa$ B $\alpha$ phosphorylation in THP-1 cells. [42]

12	Seymour EM, Lewis SK, Urcuyo-Llanes DE, Tanone II, Kirakosyan A, Kaufman PB, Bolling SF.	Regular tart cherry intake alters abdominal adiposity, adipose gene transcription, and inflammation in obesity-prone rats fed a high fat diet. [56]
13	Sarić A, Sobocanec S, Balog T, Kusić B, Sverko V, Dragović-Uzelac V, Levaj B, Cosić Z, Macak Safranko Z, Marotti T.	Improved antioxidant and anti-inflammatory potential in mice consuming sour cherry juice ( <i>Prunus Cerasus</i> cv. Maraska). [19]
14	DeFuria J, Bennett G, Strissel KJ, Perfield JW 2nd, Milbury PE, Greenberg AS, Obin MS.	Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. [24]
15	Lyll KA, Hurst SM, Cooney J, Jensen D, Lo K, Hurst RD, Stevenson LM	Short-term blackcurrant extract consumption modulates exercise-induced oxidative stress and lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses. [57]
16	Mulabagal V, Lang GA, DeWitt DL, Dalavoy SS, Nair MG.	Anthocyanin content, lipid peroxidation and cyclooxygenase enzyme inhibitory activities of sweet and sour cherries.

		[18]
17	Hwang MK, Kang NJ, Heo YS, Lee KW, Lee HJ.	Fyn kinase is a direct molecular target of delphinidin for the inhibition of cyclooxygenase-2 expression induced by tumor necrosis factor-alpha. [58]
18	Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, Beaman R, Endres JR, Schauss AG.	In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. [59]
19	Wang Q, Xia M, Liu C, Guo H, Ye Q, Hu Y, Zhang Y, Hou M, Zhu H, Ma J, Ling W.	Cyanidin-3-O-beta-glucoside inhibits iNOS and COX-2 expression by inducing liver X receptor alpha activation in THP-1 macrophages. [23]
20	Metzger BT, Barnes DM, Reed JD.	Purple carrot ( <i>Daucus carota</i> L.) polyacetylenes decrease lipopolysaccharide-induced expression of inflammatory proteins in

		macrophage and endothelial cells. [49]
21	Galvano F, La Fauci L, Vitaglione P, Fogliano V, Vanella L, Felgines C.	Bioavailability, antioxidant and biological properties of the natural free-radical scavengers cyanidin and related glycosides. [4]
22	Hou DX, Luo D, Tanigawa S, Hashimoto F, Uto T, Masuzaki S, Fujii M, Sakata Y.	Prodelfphinidin B-4 3'-O-gallate, a tea polyphenol, is involved in the inhibition of COX-2 and iNOS via the downregulation of TAK1-NF-kappaB pathway. [45]
23	Hou DX, Masuzaki S, Hashimoto F, Uto T, Tanigawa S, Fujii M, Sakata Y.	Green tea proanthocyanidins inhibit cyclooxygenase-2 expression in LPS-activated mouse macrophages: molecular mechanisms and structure-activity relationship. [60]
24	He YH, Zhou J, Wang YS, Xiao C, Tong Y, Tang JC, Chan AS, Lu AP.	Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of cherries on Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. [38]
25	Hou DX, Yanagita T, Uto T, Masuzaki S, Fujii M.	Anthocyanidins inhibit cyclooxygenase-2

		expression in LPS-evoked macrophages: structure-activity relationship and molecular mechanisms involved. [22]
26	Tall JM, Seeram NP, Zhao C, Nair MG, Meyer RA, Raja SN.	Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat.[30]
27	Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M.	A hydroxyl group of flavonoids affects oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor-alpha production. [47]
28	Li WG, Zhang XY, Wu YJ, Tian X.	Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. [61]
29	Wang H, Nair MG, Strasburg GM, Chang YC, Booren AM, Gray JI, DeWitt DL.	Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. [17]
37	Herath, H.M., Y. Takano-Ishikawa, and K. Yamaki	<i>Inhibitory effect of some flavonoids on tumor necrosis factor-alpha production in lipopolysaccharide-</i>



		<i>stimulated mouse macrophage cell line J774.1. [26]</i>
--	--	---

**Tabelle 108: Übersicht Primärliteratur**

## Danksagung

*“Gewisse Bücher scheinen geschrieben zu sein, nicht damit man daraus lerne, sondern damit man wisse, dass der Verfasser etwas gewusst hat.”*

(Johann Wolfgang von Goethe)

An dieser Stelle möchte ich nachstehenden Personen von Herzen danken, ohne die die Fertigstellung dieser Dissertationsschrift nicht möglich gewesen wäre: Mein Dank geht zunächst an Herrn Prof. Dr. Jens Broscheit für die Bereitstellung dieses interessanten Themas und seine unermüdliche Betreuung über Jahre hinweg und Frau Dr. Sabine Karl für die statistische Beratung.

Ohne die Unterstützung meiner Familie wäre diese Arbeit wohl unvollendet geblieben - deshalb danke ich meinem wunderbaren Ehemann Alexander für seinen liebevollen Beistand und seine Ermutigungen, sowie natürlich meinen Eltern Kerstin und Stefan Frühwald und Geschwistern Lisa und Felix für ihre seelische und moralische Unterstützung zu jeder Tages- und Nachtzeit.

Besonders danken möchte ich außerdem meiner Tante Maria Frühwald für ihre Korrekturarbeiten und meinem Patenonkel Michael Frühwald, dessen Vorbild und motivierende Worte mich aus manchem Tief befreit haben. Ohne manches Gespräch mit meinen Großeltern hätte mich gewiss der Mut verlassen - Danke für euren Zuspruch.

## Lebenslauf

### AUSBILDUNG

---

Seit Februar 2018	Tätigkeit als Notärztin am Standpunkt Zusmarshausen
Januar 2018	Erwerb der Zusatzbezeichnung Notfallmedizin
Seit September 2015	<b>Assistenzärztin</b> in der Klinik für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Augsburg
Juni 2015	<b>Approbation</b> als Ärztin, Regierung von Oberbayern
Juni 2015	<b>Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung</b> , Note „Sehr gut“
April 2014	<b>Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung</b> , Note „gut“
Ab WS 2013/14	Studium der Humanmedizin an der LMU München
Seit SS 2012	Promotion an der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Würzburg, Thema: „Antiinflammatorische Effekte von Anthocyanen und Anthocyanidinen“
März 2011	<b>Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung</b> , Note „gut“
SS 2009 - WS 2013/14	Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilian-Universität in Würzburg
1999 - 2008	Gymnasium Maria Stern, Augsburg Abitur 2008, Durchschnittsnote 1,7; Leistungskurse: Latein und Biologie, Musischer Zweig

### PRAKTIKA UND FAMULATUREN

---

Mai 2014 – April 2015	Studentin im Praktischen Jahr Wahlfach: Anästhesiologie, Zentralklinikum Augsburg Innere Medizin: Klinik Augustinum, München Chirurgie: Zentralklinikum Augsburg
September 2012	Famulatur in der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin im Klinikum der Universität München, Campus Großhadern
März 2012	Famulatur in der Kinderklinik Augsburg
August – September 2011	Famulatur in der Allgemeinmedizin in der Gemeinschaftspraxis Dr. med. Doesel und Schwarz-Ficotto, Augsburg
Januar 2009 – April 2009	Freiwilliges Soziales Jahr im Rettungsdienst im Kreisverband Augsburg Stadt des Bayerischen Roten Kreuzes, im Rahmen dessen Ausbildung zur Rettungssanitäterin im Bezirksverband Schwaben des Bayerischen Roten Kreuzes

### TÄTIGKEITEN ALS STUDENTISCHE HILFSKRAFT

---

2013 - 2015	Tätigkeit als Studentische Hilfskraft im Dialysezentrum München Dr. Andreas Heller
2012 – 2013	Tätigkeit als OP-Assistentin für die orthopädische Gemeinschaftspraxis Dres. Kraus und Kollegen im Krankenhaus Kitzingen
SS 2012	Tätigkeit als studentische Hilfskraft am Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg (Betreuung des mikrobiologischen Praktikums für Studenten der Humanmedizin)
WS 2010/11 und WS 2011/12	Tätigkeit als Präparationsassistentin am Institut für Anatomie und Zellbiologie der Universität Würzburg (Betreuung des Präparierkurses für Studenten der Humanmedizin)

### EHRENAMTLICHE TÄTIGKEITEN

---

Seit Oktober 2013	Aktives Mitglied der Helfer-vor-Ort-Gruppe Schmuttertal
Seit Mai 2009	Ehrenamtliche Tätigkeit im Rettungsdienst des Bayerischen Roten Kreuzes, Kreisverband Augsburg Stadt und Augsburg Land
Bis 2008	Tätigkeit als Jugendgruppenleiterin in der Pfarrei St. Ulrich, Königsbrunn

Oktober 2005 - Januar 2007

Organisation der Sternsingeraktion für die Pfarrei St. Ulrich,  
Königsbrunn

**WEITERE KENNTNISSE UND INTERESSEN**

---

Fremdsprachen:

Englisch (fließend), Italienisch (Grundkenntnisse), Latein

Interessen:

Reisen, Outdoor-Sport, Klavier- und Chormusik

Sarah Stöckl