

**Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik von
Caffeoylchinasäuren und Flavonoiden nach oraler
Applikation von Artischockenblätter-Extrakt am Menschen**

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Sabine Margrit Maria Wittemer

aus

Pinneberg

Bonn 2003

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Erster Referent: Dr. habil Markus Veit

Zweiter Referent: Prof. Dr. Ulrich Jaehde

Dritter Referent: Prof. Dr. Hartmut Derendorf

Tag der Promotion:

Meinen Eltern

Seid fröhlich in Hoffnung,
geduldig in Trübsal,
beharrlich im Gebet.

Römer 12, 12

Danksagungen

Die Unterstützung und wissenschaftlichen Anregungen von Herrn Dr. habil Markus Veit, Herrn Prof. Dr. Hartmut Derendorf, den Kooperationspartnern, Kollegen und Freunden haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Herzlich danke ich daher:

meinem Doktorvater Dr. habil Markus Veit für sein wissenschaftliches Interesse und persönliches Engagement. Er gab mir die Möglichkeit, selbständig und eigenverantwortlich zu arbeiten und war immer zur Stelle, wenn fachliche sowie menschliche Unterstützung und Förderung notwendig waren.

meinem Co-Betreuer Prof. Dr. Hartmut Derendorf für seine wissenschaftliche und persönliche Unterstützung bei der pharmakokinetischen Auswertung und die Weiterbildung, die er mir während meines Aufenthalts in seinem Arbeitskreis an der University of Florida ermöglichte.

Prof. Dr. Ulrich Jaehde für die spontane Bereitschaft, die Begutachtung dieser Arbeit zu übernehmen.

der Firma Lichtwer Pharma AG für die Bereitstellung des Themas und die Finanzierung dieser Arbeit.

Dr. Werner Schneider, Dr. Thomas Haffner, Dr. Michael Ploch und Dr. Timo Windeck für die unkomplizierte Zusammenarbeit sowie ihre fachliche und menschliche Unterstützung, insbesondere während meines Aufenthalts bei der Lichtwer Pharma AG.

Dr. Sven Oliver Kruse und allen Mitarbeitern des Zentralinstitut Arzneimittelforschung GmbH für die Hilfsbereitschaft während meiner analytischen Arbeiten und das freundschaftliche Arbeitsklima, durch das ich das Rheinland doch noch in guter Erinnerung behalten werde.

Prof. Dr. Bernd Drewelow, Dr. Silke Müller und den weiteren Mitarbeitern der Klinischen Pharmakologie der Universität Rostock für ihr Interesse und ihr großes Engagement bei der Durchführung der klinischen Studie.

Yvonne Meier, Ute Rensing und Daniela Eyrich für ihre wertvolle Mitarbeit bei den analytischen Messungen im Zentralinstitut Arzneimittelforschung GmbH.

meiner Kollegin Kathrin Koll, die über die gesamte Zeit der Promotion Freud und Leid mit mir teilte und gerade während des Zusammenschreibens immer Verständnis und ein offenes Ohr hatte.

meinen Freundinnen Dr. Benita von Glahn, die mich immer wieder darin bestärkte, dass ich den richtigen Weg gehe und Alexandra Schulz, die mich neben der Promotion den Rest des Lebens nicht vergessen ließ.

meinen lieben Eltern für ihre bedingungslose Unterstützung während des gesamten Studiums und Johannes Rump, der mir in dieser nicht immer leichten Zeit stets liebevoll zur Seite stand.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	6
1.1	Artischocke als Arzneipflanze	6
1.1.1	Botanik	7
1.1.2	Inhaltsstoffe, Droge und Extrakte	8
1.1.3	Caffeoylchinasäure- und Flavonoid-Gehalt in Droge und Extrakt.....	10
1.1.4	Antidyspeptische Wirkung	11
1.1.5	Lipidsenkende und antiatherosklerotische Wirkung.....	12
1.1.6	Hepatoprotektive Wirkung	14
1.1.7	Verträglichkeit.....	15
1.2	Bioverfügbarkeit, Resorption und Metabolismus	16
1.2.1	Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Caffeoylchinasäuren	16
1.2.2	Resorption und Metabolisierung von Caffeoylchinasäuren.....	20
1.2.3	Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Luteolin-7-O-glucosid.....	23
1.2.4	Resorption und Metabolisierung von Luteolin-7-O-glucosid	25
1.3	Methoden und Analytik.....	27
1.4	Zielsetzung	30
2	MATERIAL UND METHODEN.....	31
2.1	Chemikalien.....	31
2.2	Materialien und Geräte	32
2.3	HPLC-CAD System zur Plasma- und Urinanalytik	32
2.4	HPLC-PDA System zur Extraktanalytik.....	33
2.5	Pilotstudie zur systemischen Verfügbarkeit und Pharmakokinetik von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt	33
2.5.1	Studienplan	33
2.5.2	Methoden der Pilotstudie.....	34

2.6	Hauptstudie zur systemischen Verfügbarkeit und Pharmakokinetik von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt	36
2.6.1	Studiendesign.....	36
2.6.2	Probanden.....	37
2.6.3	Studienmedikation	38
2.6.3.1	Applikation der Studienmedikation	38
2.6.3.2	Referenzpräparat.....	39
2.6.3.3	Prüfpräparat	39
2.6.4	Analytik von Referenz- und Prüfpräparat.....	40
2.6.5	Diätplan	41
2.6.6	Studienablauf	42
2.7	Entwicklung und Validierung einer Methode zur Probenaufarbeitung und Plasmaanalytik für die Hauptstudie	44
2.7.1	Probenaufarbeitung	44
2.7.2	HPLC Analyse der Plasmaproben	45
2.7.3	Validierung der Plasmaanalytik zur Auswertung der Hauptstudie	46
2.7.3.1	Selektivität.....	46
2.7.3.2	Kalibrierfunktion und Linearität.....	47
2.7.3.3	Bestimmungsgrenze	47
2.7.3.4	Präzision und Richtigkeit.....	47
2.7.3.5	Wiederfindung	48
2.7.3.6	Autosamplerstabilität.....	48
2.7.3.7	Quantifizierung der Plasmaproben aus der Hauptstudie.....	48
2.8	Entwicklung und Validierung einer Methode zur Probenaufarbeitung und Urinanalytik für die Hauptstudie	49
2.8.1	Probenaufarbeitung	50
2.8.2	HPLC Analyse der Urinproben	50
2.8.3	Validierung der Urinanalytik zur Auswertung der Hauptstudie.....	51
2.8.3.1	Selektivität.....	51
2.8.3.2	Kalibrierfunktion und Linearität.....	51
2.8.3.3	Bestimmungsgrenze	52
2.8.3.4	Präzision und Richtigkeit.....	52
2.8.3.5	Wiederfindung	52

2.8.3.6	Autosamplerstabilität.....	52
2.8.3.7	Quantifizierung der Urinproben aus der Hauptstudie	52
2.9	Pharmakokinetische Analyse	54
2.9.1	Nichtkompartimentelle Analyse	54
2.9.1.1	Abzug des Basiswertes für die nichtkompartimentelle Analyse	54
2.9.2	Statistik.....	55
3	ERGEBNISSE.....	56
3.1	Ergebnisse der Pilotstudie.....	56
3.1.1	Nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma identifizierte Substanzen	56
3.1.2	„Peakflächen“-Zeit-Verläufe der im Plasma identifizierten Substanzen nach enzymatischer Spaltung der Konjugate	58
3.1.3	Analytik der Pilotstudie und Methodenentwicklung.....	59
3.2	Methode zur simultanen Bestimmung von Dihydrokaffeesäure, Kaffeesäure, Dihydroferulasäure, Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin im Plasma	60
3.2.1	Selektivität.....	60
3.2.2	Kalibrierbereich, Linearität und Bestimmungsgrenze	62
3.2.3	Präzision und Richtigkeit	62
3.2.4	Wiederfindung	63
3.2.5	Autosamplerstabilität	63
3.3	Methode zur simultanen Bestimmung von Dihydrokaffeesäure, Kaffeesäure, Dihydroferulasäure, Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin im Urin.....	64
3.3.1	Selektivität.....	64
3.3.2	Kalibrierbereich, Linearität und Bestimmungsgrenze	65
3.3.3	Präzision und Richtigkeit	66
3.3.4	Wiederfindung	66
3.3.5	Autosamplerstabilität	66
3.4	Ergebnisse der Hauptstudie	67

3.4.1 Analytik der Plasmaproben vor und nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten	67
3.4.2 Plasmakonzentrationen von Kaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt.....	68
3.4.3 Plasmakonzentrationen von Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt.....	71
3.4.4 Plasmakonzentrationen von Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt.....	73
3.4.5 Plasmakonzentrationen von Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt.....	76
3.4.6 Plasmakonzentrationen von Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter- Gesamt- und Spezialextrakt.....	79
3.4.7 Plasmakonzentrationen von Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt.....	82
3.4.8 Weitere Metabolite im Plasma	85
3.4.9 Renale Elimination der nach Applikation von Artischockenblätter- Gesamt- und Spezialextrakt im Plasma identifizierten Substanzen.....	86
3.5 Pharmakokinetische Auswertung	89
3.5.1 Pharmakokinetik im Nichtkompartiment-Modell.....	91
3.5.2 Bestimmung der renalen Clearance	93
3.6 Biostatistische Betrachtungen der Ergebnisse	95
4 DISKUSSION	99
4.1 Analytische Methoden	99
4.2 Humanstudie zur Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt	102
4.2.1 Metabolismus Caffeoylehinasäuren.....	103
4.2.2 Pharmakokinetik Caffeoylehinasäuren	106
4.2.3 Modell zur Metabolisierung von Caffeoylehinasäuren	110
4.2.4 Metabolismus Luteolin-7-O-glucosid	110
4.2.5 Pharmakokinetik Luteolin-7-O-glucosid	112

4.3	Beurteilung der potentiellen Wirksamkeit	115
4.4	Vergleich von Referenz- und Prüfpräparat	118
5	ZUSAMMENFASSUNG	121
6	LITERATUR	125
7	ANHANG	136
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	186
9	TABELLENVERZEICHNIS	190
10	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	197

1 Einleitung

Die Heilwirkung der Artischocke ist bereits seit dem Altertum bekannt. Sie wird von den Menschen schon viele Jahrhunderte traditionell zur Behandlung von Verdauungsproblemen, die auf Störungen im Leber- und Gallensystem beruhen, eingesetzt. Da die traditionelle Anwendung einer modernen, wissenschaftlich orientierten Therapieform als Wirksamkeitsbeweis jedoch nicht mehr genügt, wurden in den letzten Jahren verschiedene klinische Studien durchgeführt, in denen die Wirksamkeit von artischockenhaltigen Präparaten bestätigt werden konnte. Neuere experimentelle Untersuchungen in in-vitro Assays identifizierten zusätzlich diverse unabhängige Wirkungen von Artischockenblätter-Extrakt oder daraus isolierten Einzelkomponenten.

Daten aus der Wirkungsforschung dürfen aber nur dann zur Wirksamkeitsbewertung herangezogen werden, wenn die in-vitro getesteten genuinen Substanzen unverändert am Wirkort verfügbar sind. Im Fall von Artischockenblätter-Extrakt ist allerdings noch weitgehend unbekannt, welche Substanzen nach oraler Applikation bioverfügbar sind und somit für die beobachtete Wirksamkeit im Körper verantwortlich sein können. Untersuchungen zur Resorption, Verteilung und Metabolismus von genuinen Extraktinhaltsstoffen sind daher grundlegende Voraussetzung für die Extrapolation von in-vitro Wirkungen auf Wirksamkeiten in-vivo und richtungsweisend für den Wirksamkeitsbeleg von artischockenhaltigen Präparaten.

1.1 Artischocke als Arzneipflanze

Bereits im 4. Jahrhundert v. Chr. war die Artischocke als Heilmittel verbreitet. Von Aristoteles-Schüler Theophrast (371 bis 287 v. Chr.) stammt eine der ersten ausführlichen Beschreibungen der Pflanze. Als sogenannte „Speise der Reichen“ wurde sie vor allem bei fettreichen Mahlzeiten zur Unterstützung der Verdauung angepriesen. Der niederländische Botaniker Rembert Dodoens (1516-1585) lieferte einen ersten entscheidenden Hinweis auf die Heilkraft der Artischocke, indem er ihr einen Einfluss auf die Gallebildung zuschrieb (Mayr et al. 1965; Ernst 1995). Heute finden artischockenhaltige Präparate eine weit verbreitete Anwendung in der Therapie funktioneller dyspeptischer Beschwerden. Nach neueren Erkenntnissen

sind auch lipidsenkende, antioxidative und hepatoprotektive Wirkungen bekannt, was den Anwendungsbereich der Artischocke in Zukunft noch vergrößern dürfte (Wegener et al. 1999).

Die zu Arzneizwecken angebaute Artischocke ist eine reine Kulturpflanze. Die Blätter liefern das pflanzliche Ausgangsmaterial zur Arzneimittelherstellung. Verwendet werden Presssäfte aus frischen Blättern sowie wässrige und wässrig/alkoholische Extrakte (Primärextrakte) aus frischen und getrockneten Blättern.

Im Jahr 1988 wurde eine erste Monographie zu *Cynarae folium* (Artischockenblätter) von der Kommission E des ehemaligen Bundesgesundheitsamts im Bundesanzeiger veröffentlicht, die momentan in der Fassung von 1990 vorliegt.

1.1.1 Botanik

Die bislang als *Cynara scolymus* bekannte Artischocke wird nach der botanisch-taxonomischen Revision der Gattung *Cynara* mittlerweile korrekt als *Cynara cardunculus* L. subsp. *flavescens* WIKL. bezeichnet. Nach dieser Revision werden die beiden wirtschaftlich interessanten Formen der Artischocke, die Artischocke - bisher *Cynara scolymus* - und die Kardone - bisher *Cynara cardunculus* - in der neuen Unterart *Cynara cardunculus* subspecies *flavescens* vereint (Wiklund 1992).

Die Artischocke gehört zur Familie der Korbblütler (Asteraceae). Sie wird bis zu 2 m hoch und sieht den Disteln ähnlich. Die Laubblätter sind meist ein- bis zweifach fiederspaltig und an der Unterseite filzig behaart. Die Hüllkelchblätter sind am Grunde wie der Blütenboden fleischig. Das Blütenkörbchen hat einen Durchmesser von etwa 12-15 cm. Die Farbe der Kronblätter ist blau, lila oder weißlich. Anbauggebiete sind Italien, Spanien, Frankreich, Rumänien und Florida (Brand 1990).



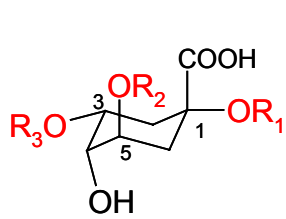
Abb. 1.1 Artischocke (Foto Kruse).

1.1.2 Inhaltsstoffe, Droge und Extrakte

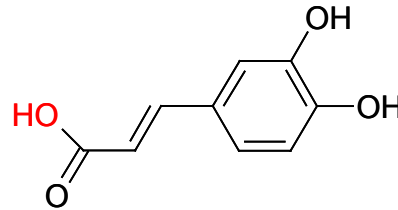
Als Inhaltsstoffe der arzneilich genutzten Laubblätter der Artischocke, *Cynarae folium*, sind hauptsächlich drei Substanzklassen beschrieben (Brand 1992):

- Caffeoylchinasäuren
vor allem 3-O-Monocaffeoylchinasäure (Chlorogensäure), 1,5-O-Dicaffeoylchinasäure, sehr wenig 1,3-O-Dicaffeoylchinasäure (Cynarin) und weitere Caffeoylchinasäure Derivate.
- Flavonoide vom Flavontyp
darunter die Luteolinglycoside Cynarosid (Luteolin-7-O-glucosid), Scolymosid (Luteolin-7-O-rutinosid) und Cynarotriosid (Luteolin-7-O-rutinosyl-4'-O-glucosid).
- Sesquiterpenlactone vom Guajanolidtyp
darunter Cynaropikrin als Hauptkomponente, Dehydrocynaropikrin und Grosheimin.

Caffeoylchinasäureester



Chinasäure



Kaffeesäure

Chlorogensäure:

$R_1 = R_3 = H$

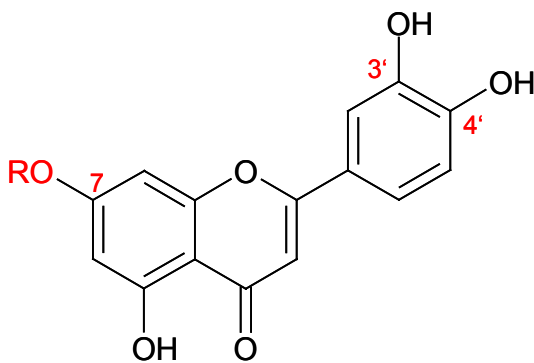
$R_2 = \text{Kaffeesäure}$

Cynarin:

$R_2 = H$

$R_1 = R_3 = \text{Kaffeesäure}$

Flavonoide



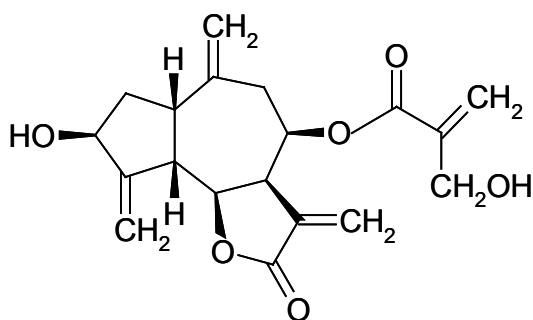
Scolymosid:

$R = \text{Rutinosyl}$

Cynarosid:

$R = \text{Glucosyl}$

Sesquiterpenlactone



Cynaropikrin

Abb. 1.2 Inhaltsstoffe aus Artischockenblättern, *Cynarae folium*.

Die Herstellung der Extrakte erfolgt meist durch erschöpfende Extraktion der frischen oder getrockneten Blätter mit Wasser bei etwa 80°C. Dabei werden für einen Teil Extrakt 3-8 Teile getrocknete Blätter, bzw. 20-40 Teile frische Blätter eingesetzt. Die Bedingungen sowohl der Trocknung als auch der Extraktion haben entscheidenden Einfluss auf die Gehalte an Caffeoylchinasäuren und Flavonoiden. Allein wegen der Trocknung können aufgrund des hohen Saftgehalts der Blätter selbst unter schonenden Bedingungen mehr als 40 % der in frischen Blättern nachweisbaren Komponenten verloren gehen (Brand 1997). Aus diesem Grund ist in der Monographie der Kommission E die Verwendung des frischen Blattmaterials ausdrücklich zugelassen.

Bei der Extraktion mit heißem Wasser gehen die Flavonoide ohne wesentliche Veränderung der Zusammensetzung in den Extrakt über. Anders die übrigen Inhaltsstoffe: Bei den Caffeoylchinasäuren kommt es aufgrund der hohen Temperaturen zu Umesterungen der genuinen 1,5-O-Dicaffeoylchinasäure. Neben anderen Isomeren entsteht überwiegend 1,3-O-Dicaffeoylchinasäure (Cynarin). Die genuinen Sesquiterpenlactone sind aufgrund ihrer exocyclischen Methylengruppe äußerst chemo- und thermolabil und daher im wässrigen Extrakt kaum noch enthalten (Wagenbreth et al. 1996; Brand 1997).

Alkoholische Extrakte enthalten neben den Flavonglycosiden auch die bitteren Sesquiterpenlactone. Zudem kommt es während der Extraktion mit Alkohol nicht zu Umesterungsprozessen, so dass in alkoholischen Extrakten überwiegend die in den frischen Blättern vorkommenden Chlorogensäure und 1,5-O-Dicaffeoylchinasäure enthalten sind und nur wenig Cynarin (Brand et al. 1991).

1.1.3 Caffeoylchinasäure- und Flavonoid-Gehalt in Droge und Extrakt

Die am häufigsten in arzneilichen Zubereitungen enthaltenen primären wässrigen Extrakte aus Artischockenblättern können einen Caffeoylchinasäure-Gehalt von maximal 11 % aufweisen. Dabei entfallen 55-75 % auf Monocaffeoylchinasäuren und 25-45 % auf Dicaffeoylchinasäuren. Der Flavonoid-Gehalt wässriger Primärextrakte kann bis zu 2,5 % betragen. Diese Werte sind stark von den Gehalten in der Ausgangsdroge abhängig. Hochwertige Artischockendroge kann je nach Sorte Herkunft, Erntezeit, Anbau, Trocknungs- und Lagerbedingungen 1-7 % Caffeoylchinasäuren und 0,2-1,2 % Flavonoide enthalten, wobei die

Monocaffeoylchinasäuren einen Anteil von 40-60 % am Caffeoylchinasäure-Gesamtgehalt ausmachen (Daten Lichtwer Pharma AG).

Durch Extraktion des wässrigen Gesamtextrakts mit Auszugsmitteln wie aliphatischen Alkoholen oder Carbonsäureestern kann dieser in zwei Extraktfraktionen aufgetrennt werden. Die dabei aus der organischen Phase gewonnene Extraktfraktion (Spezialextrakt) zeichnet sich durch die Abreicherung an Monocaffeoylchinasäuren und die gleichzeitige Anreicherung an Dicaffeoylchinasäuren und Flavonoiden aus. In pharmakologischen in-vitro Tests zeigte sich, dass die veränderte Zusammensetzung des Spezialextrakts eine deutliche Auswirkung auf das Wirkprofil hat. Die pharmakologischen Wirkungen des Spezialextrakts lagen in Testmodellen zur Dyspepsie, zur Hemmung der Cholesterinbiosynthese und zur oxidativen Kapazität deutlich über denen des wässrigen Gesamtextrakts (Patentanmeldung DE 10138929; Lichtwer Pharma AG).

1.1.4 Antidyspeptische Wirkung

Hauptindikationsgebiet für artischockenhaltige Präparate sind dyspeptische Beschwerden wie Völlegefühl, Übelkeit und Oberbauchdruck, die durch funktionelle Störungen der Gallensekretion verursacht werden. Die Steigerung der Gallensekretion gilt heute als ein wesentliches Wirkprinzip in der Behandlung der o.g. Beschwerden (Ritter 1988). Artischockenblätter-Extrakt zeigte bereits in mehreren experimentellen und klinischen Studien eine choloretische Wirkung. Dabei blieb die Funktion der Gallenblase unbeeinflusst, so dass Artischockenblätter-Extrakt als echtes Choloretikum und nicht als Cholekinetikum anzusehen ist.

An Rattenleberzellkulturen wurde nach Zugabe von wässrigem Artischockenblätter-Extrakt ein deutlicher Anstieg gallepflichtiger Substanzen beobachtet. Elektronenmikroskopisch konnte außerdem eine Anhäufung perikanalikulärer Vesikel sichtbar gemacht werden, was auf einen erhöhten Stoffwechsel hindeutet. Eine durch Lithocholsäure induzierte Cholestase wurde durch vorherige Inkubation mit wässrigem Artischockenblätter-Extrakt gehemmt (Gebhardt 2001; Gebhardt 2002b). An isolierter Rattenleber erhöhte ein Presssaft aus den Blättern und Blütenknospen der Artischocke den Gallenfluss signifikant. Der choloretische Effekt war dabei dosisabhängig (Matuschowski et al. 1996). Neben den in-vitro Experimenten wurde an Ratten auch nach oraler Applikation von wässrigem Artischockenblätter-Extrakt

ein deutlicher Anstieg der Gallensäurekonzentrationen beobachtet (Saenz Rodriguez et al. 2002).

Diese Befunde unterstützen die Ergebnisse aus klinischen Studien. In einer plazebokontrollierten, doppelblinden Cross-over-Studie wurde wässriger Artischockenblätter-Extrakt in einer Einmaldosis von 1,9 g an 20 gesunden männlichen Probanden intraduodenal appliziert und mittels Duodenalsonde die Gallesekretion gemessen. Es konnte eine signifikante Steigerung der Choleresse bestimmt werden, die 30-90 min nach Applikation ihr Maximum erreichte (Kirchhoff et al. 1994). In zwei unkontrollierten klinischen Studien an 533 bzw. 203 Patienten über sechs Wochen bzw. sechs Monate linderte wässriger Artischockenblätter-Extrakt in einer Tagesdosis von jeweils 1,5 g zum Teil bereits lang anhaltenden dyspeptischen Beschwerden (Fintelmann 1996; Fintelmann et al. 1998). In einer neueren Studie an 516 Patienten wurden nach Applikation von 320 bzw. 640 mg wässrigem Artischockenblätter-Extrakt neben der Reduzierung von dyspeptischen Beschwerden auch eine grundsätzliche Verbesserung der Lebensqualität beschrieben (Marakis et al. 2002). Zusätzlich zeigte wässriger Artischockenblätter-Extrakt in einer weiteren unkontrollierten Studie nach 6-wöchiger Behandlung eine Verbesserung in der Symptomatik des nervösen Reizmagens (Walker et al. 2001).

Die Ergebnisse früherer Untersuchungen schrieben die choleretische Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt vor allen Dingen den Substanzen Cynarin, Chlorogensäure und Kaffeesäure zu (Perziosi et al. 1960; Czok et al. 1961; Czok et al. 1973). In neueren Bestimmungen an Rattenleberzellkulturen wurden choleretische bzw. anticholestatische Effekte hingegen besonders für Luteolin und in geringerem Ausmaß für Luteolin-7-O-glucosid beobachtet. Cynarin und Chlorogensäure zeigten hier kaum eine Wirkung (Gebhardt 2001).

1.1.5 Lipidsenkende und antiatherosklerotische Wirkung

Zu den Risikofaktoren der Atherosklerose-Entstehung gehören insbesondere Hypercholesterinämie und Hyperlipidämie. Als Auslöser der Atherosklerose wird die oxidative Modifizierung von LDL-Cholesterin angesehen (Klatt et al. 1996). Wichtige Maßnahmen zur Prävention der Atherosklerose stellen daher sowohl die Senkung des Serumcholesterin- und Serumlipidspiegels als auch die Hemmung der Oxidation von LDL-Cholesterin dar. Verschiedene Ergebnisse aus in-vitro Untersuchungen und

klinischen Studien geben Hinweise auf eine lipidsenkende, antioxidative und damit auch präventiv-atherosklerotische Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt.

Mittels Einbau von ^{14}C -markiertem Acetat in die Sterol-Fraktion der Zellen wurde an Primärkulturen von Rattenhepatozyten nach Zugabe von wässrigem Artischockenblätter-Extrakt eine konzentrationsabhängige reversible Hemmung der Cholesterinbiosynthese beobachtet. Da der Austausch von ^{14}C -markiertem Acetat durch ^{14}C -markiertes Mevalonat keinen Hemmeffekt zur Folge hatte, müsste der biochemische Wirkort des Artischockenblätter-Extrakts auf der Stufe der Hydroxymethylglutaryl-CoA-Reduktase liegen. Es konnte jedoch keine direkte Hemmung des Enzyms nachgewiesen werden. Vermutet wird daher eine indirekte Aktivierung von Hemmmechanismen oder die Inhibition aktivierender Mechanismen (Gebhardt 1998). In entsprechenden Experimenten an menschlichen HepG2 Zellen zeigte der Extrakt deutlich schwächere Hemmwirkungen (Gebhardt 2002a).

Die Hemmwirkung auf die Cholesterinbiosynthese in-vitro korrespondiert mit den Resultaten verschiedener klinischer Studien. In einer kontrollierten doppelblinden Vergleichsstudie mit 44 gesunden Probanden führte die tägliche Applikation von 1,9 g wässrigem Artischockenblätter-Extrakt nach einer Therapiedauer von 12 Wochen zu einer Senkung des Gesamtcholesterins und der Triglyzeride, deren Signifikanz mit der Höhe der Ausgangswerte zunahm (Petrowicz et al. 1997). Eine weitere Doppelblindstudie an 143 Patienten mit erhöhten Cholesterinspiegeln zeigte nach einer 6-wöchigen Behandlung mit wässrigem Artischockenblätter-Extrakt (Tagesdosis 1,8 g) eine signifikante Abnahme des Gesamt- und des LDL-Cholesterins (Englisch et al. 2000). Zusätzlich existieren zahlreiche unkontrollierte Studien, die auf eine cholesterinsenkende Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt hindeuten. Eine von Pittler et al. durchgeführte Metaanalyse kam jedoch zu dem Ergebnis, dass die Datenlage aller Studien zur Behandlung von Hypercholesterinämie mit Artischockenblätter-Extrakt unzureichend ist und daher für einen grundlegenden Wirksamkeitsbeweis nicht ausreicht (Pittler et al. 2002). So wurden in den meisten Studien gerade bei übergewichtigen Teilnehmern Nahrungsaufnahme und Diät nicht konsequent kontrolliert.

Während früher davon ausgegangen wurde, dass Cynarin für die lipidsenkende Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt verantwortlich ist (Fröhlich et al. 1973), widerlegen neuere Untersuchungen dieses. Ein Test der Einzelsubstanzen in kultivierten Rattenhepatozyten ergab hauptsächlich für Luteolin und nur in

geringerem Ausmaß für Luteolin-7-O-glucosid eine Hemmung der Cholesterinbiosynthese. Chlorogensäure war erheblich weniger wirksam, und für Cynarin und Kaffeesäure wurde gar keine signifikante Hemmwirkung festgestellt (Gebhardt 1998). Da sich Luteolin-7-O-glucosid in HepG2 Zellen, die im Gegensatz zu Rattenhepatozyten keine endogene β -Glucosidase enthalten, erst nach Vorbehandlung mit β -Glucosidase als wirksam erwies, kommt nach diesen Untersuchungen insbesondere das Luteolin als Wirksubstanz in Frage (Gebhardt 2002a). Auch für die in methanolischen Artischockenblätter-Extrakten enthaltenen und bislang nur wenig beachteten Sesquiterpenlactone wurde inzwischen eine lipidsenkende Wirkung beobachtet. In mit Olivenöl gefütterten Mäusen führten sie zu einer Unterdrückung des Serumtriglyzeridspiegels (Shimoda et al. 2003).

Eine weitere Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt, die zur Prävention der Atherosklerose beitragen könnte, ist die in-vitro nachgewiesene Hemmung der Oxidation von LDL-Cholesterin. Im Modell einer Kupferionen induzierten LDL-Oxidation bewirkte wässriger Artischockenblätter-Extrakt eine ausgeprägte direkt konzentrationsabhängige Hemmung der Lipidperoxidation unter gleichzeitiger Einsparung von endogenem (RRR)- α -Tocopherol. Die Hemmung des Gesamtextrakts war dabei im Vergleich zu den Einzelkomponenten Luteolin und Luteolin-7-O-glucosid deutlich höher (Brown et al. 1998). Ebenfalls im Modell der Kupferionen induzierten LDL-Oxidation hemmten die Extraktinhaltsstoffe Chlorogensäure und Kaffeesäure die Lipidperoxidation (Nardini et al. 1995; Yamanaka et al. 1997).

1.1.6 Hepatoprotektive Wirkung

Der Leber kommen im Intermediärstoffwechsel des Körpers wichtige metabolische Funktionen zu. Dabei können neben endo- und exogenen Stoffwechselprodukten auch reaktive und zellschädigende Zwischenprodukte entstehen. Ergebnisse aus in-vitro Untersuchungen deuten darauf hin, dass Artischockenblätter-Extrakt in der Lage ist, durch Intoxikationen hergerufene Beeinträchtigungen der Leber zu mindern. Dabei wird von einem antioxidativen Mechanismus der hepatoprotektiven Wirkung ausgegangen.

An Primärkulturen von Rattenhepatozyten konnten nach Zugabe von wässrigem Artischockenblätter-Extrakt sowohl durch Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) hervorgerufene

radikalische Schädigungen zellulärer Kompartimente als auch durch tertiär Butylhydroperoxid induzierte Lipidoxidation und Zytotoxizität signifikant gehemmt werden. Beobachtet wurde zusätzlich eine Stabilisierung der intrazellulären Glutathion-Konzentrationen (Gebhardt 1995; Gebhardt 1997). Entsprechende Ergebnisse konnten in oxidativ gestressten humanen Leukozyten (Stress induziert durch Wasserstoffperoxid u. Phorbol ester) und kultivierten Endothelzellen und Monozyten (Stress induziert durch Entzündungsmediatoren) erhalten werden (Perez-Garcia et al. 2000; Zapolska-Downar et al. 2002). Auch in-vivo verbesserte ein wässriger Extrakt aus Artischocke, der vor der CCl₄-Intoxikation an Ratten oral verabreicht wurde, die Leberfunktion gemessen an den Transaminasen sowie Glutathion und Bilirubin (Adzet et al. 1987a).

Klinische Daten zur hepatoprotektiven Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt gibt es bislang nur sehr wenig. In einer placebokontrollierten, randomisierten doppelblinden Studie wurden 29 Malariapatienten begleitend zur Basistherapie mit Chinin über 7 Tage mit einem wässrigen Extrakt aus frischen Artischocken behandelt. Es zeigte sich eine Verbesserung der klinischen Anfallssymptome (Bauchschmerzen, Krämpfe, Übelkeit, Erbrechen). Die Autoren interpretierten dies als eine hepatoprotektive und leberfunktionsfördernde Wirkung des Extrakts (Wone et al. 1986).

Die hepatoprotektive Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt beruht vermutlich auf den antioxidativen Eigenschaften mehrerer Extraktinhaltsstoffe. In den CCl₄-Modellen riefen zwar nur die Inhaltsstoffe Cynarin und Kaffeesäure Effekte hervor (Adzet et al. 1987b), in den Modellen mit tertiär Butylhydroperoxid waren aber auch Chlorogensäure, Luteolin-7-O-glucosid und Luteolin wirksam. Insgesamt überstieg die Wirkung des Gesamtextrakts in den Testsystemen die der isolierten Einzelkomponenten (Gebhardt et al. 1997; Gebhardt et al. 1999).

1.1.7 Verträglichkeit

In allen bislang durchgeführten Studien wurde Artischockenblätter-Extrakt als sehr gut verträglich bezeichnet. Selten traten milde unerwünschte Arzneimittelwirkungen wie Blähungen, Schwäche- und Hungergefühl auf. Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln sind nicht bekannt. Beachtet werden sollten Allergien auf Korbblütler (Asteraceae), obwohl allergische Reaktionen nur bei Frischpflanzen nach Kontakt mit

der Haut und nicht nach oraler Applikation von Extrakten auftraten (Meding 1983). Zurückzuführen sind diese vermutlich auf die in frischem Pflanzenmaterial enthaltenen Sesquiterpenlactone. Die Monographie der Kommission E zu Artischockenblättern nennt als Gegenanzeigen „Bekannte Allergien gegen Artischocken und andere Korbblütler; Verschluss der Gallenwege. Bei Gallensteinleiden nur nach Rücksprache mit dem Arzt anzuwenden.“. Die gute Verträglichkeit und die sehr geringen Nebenwirkungsrate belegen insgesamt eine hohe Arzneimittelsicherheit von Artischockenblätter-Extrakt.

1.2 Bioverfügbarkeit, Resorption und Metabolismus

Das Ausmaß der Bioverfügbarkeit und der Metabolismus der als wirksam angesehenen Inhaltsstoffe aus Artischockenblätter-Extrakt (Caffeoylchinasäuren, Luteolin-7-O-glucosid) wurde bislang nur wenig untersucht. Es existiert nur eine Studie zur Bioverfügbarkeit des gesamten Extrakts im Menschen. Alle anderen Studien beschäftigten sich in in-vitro und in-vivo Untersuchungen überwiegend mit der Bioverfügbarkeit und dem Metabolismus einzelner isolierter Extraktinhaltsstoffe. Das bereits vorhandene Erkenntnismaterial wird im Folgenden getrennt nach Caffeoylchinasäuren und Luteolin-7-O-gucosid betrachtet.

1.2.1 Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Caffeoylchinasäuren

Studien zur Bioverfügbarkeit von Caffeoylchinasäuren wurden sowohl an der Ratte als auch am Menschen durchgeführt. Der überwiegende Teil dieser Arbeiten beschäftigte sich dabei mit der Bioverfügbarkeit von 3-O-Monocaffeoylchinasäure (Chlorogensäure). Eine Übersicht über die Studien und den bisherigen Kenntnisstand liefert Tab. 1.1.

Nach oraler Applikation von $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Chlorogensäure an Ratten ergab die Analyse des Urins weder vor noch nach β -Glucuronidase-Behandlung den Nachweis von freier oder konjugierter Chlorogensäure (Choudhury et al. 1999). In einem weiteren Experiment erhielten Ratten $247 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Chlorogensäure oral appliziert. Auch hier kam Chlorogensäure weder frei noch konjugiert im Plasma vor. Nach β -Glucuronidase- bzw. Sulfatase-Behandlung konnten in den Proben jedoch Kaffeesäure und Ferulasäure (3'-Methylkaffeesäure) bestimmt werden. Maximale

Konzentrationen wurden für beide Substanzen nach 0,5-1 h erreicht (Azuma et al. 2000). Diese Ergebnisse werden durch in-vitro Versuche mit Rattendünndarm unterstützt. Nach Perfusion mit Chlorogensäure wurden nur 0,1 % (Jejunum) und 0,3 % (Ileum) der Dosis im Resorbat wiedergefunden (Spencer et al. 1999).

Entsprechend der Untersuchungen an der Ratte waren Caffeoylechinolinsäuren auch in den meisten Humanstudien nicht als intaktes Molekül systemisch verfügbar. Booth et al. führten die ersten Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Chlorogensäure bzw. Kaffeesäure am Menschen durch. Dabei konnten Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Dihydroferulasäure, m-Cumarsäure und verschiedene Substanzen mit C₆-C₁-Grundkörper (m-Hydroxyhippursäure, Vanillinsäure) als renale Metabolite bestimmt werden (Booth et al. 1957). Mehrere Studien bestätigen inzwischen diese ersten von Booth et al. gewonnenen Erkenntnisse. Allerdings ist das beschriebene Spektrum der Metaboliten in den Studien zumeist sehr uneinheitlich, was sich vermutlich auf unterschiedliche Analysenmethoden und verschiedene Dosen bzw. Studienmedikationen zurückführen lässt. So war nach der Applikation von Früchten (160 g Tomaten bzw. 120 g getrockneten Aprikosen) zwar ebenfalls keine Chlorogensäure im Urin nachweisbar, nach β -Glucuronidase-Behandlung wurde Kaffeesäure jedoch als einziger Metabolit detektiert (Bourne et al. 1998). In einer Studie zur Bioverfügbarkeit von Artischockenblätter-Extrakt konnten Rechner et al. nach der Applikation von 9 Kapseln Hepar-SL[®] forte hingegen Ferulasäure, Isoferulasäure, Vanillinsäure und Dihydroferulasäure im Urin bestimmen. Außer Dihydroferulasäure lagen die Substanzen überwiegend als Phase-II-Konjugate vor. Die höchsten Urinspiegel wurden für Ferulasäure-, Isoferulasäure- und Vanillinsäure-Konjugate 1-3 h und für Dihydroferulasäure erst 8-12 h nach Applikation der ersten Kapsel erreicht. Genuine Kaffeesäurederivate aus dem Extrakt waren in keiner der Urinproben nachweisbar (Rechner et al. 2001b). Gleiche Resultate lieferten Untersuchungen von Rechner et al. zur Bioverfügbarkeit von Chlorogensäure nach dem Trinken von 6 Tassen Kaffee (Rechner et al. 2001a). Nach Umrechnung auf molare Mengen Kaffeesäure betrug die hypothetische Resorption von Kaffeesäure in beiden Studien insgesamt 5,9 bzw. 5,6 %.

Im Gegensatz zu den bisher erwähnten Humanstudien wurde in zwei weiteren Studien auch intakte Chlorogensäure im Urin detektiert. Nach der Applikation von 1 g Chlorogensäure an Ileostomiepatienten lagen 0,3 % der Dosis unverändert im Urin vor (Olthof et al. 2001). Es ist zu berücksichtigen, dass Chlorogensäure als

Reinsubstanz mit vergleichsweise hoher Dosis appliziert wurde. Cremin et al. konnten nach dem Verzehr von 100 g Pflaumen ebenfalls geringe Mengen intakter Chlorogensäure im Urin bestimmen (Cremin et al. 2001). Die Ergebnisse wurden allerdings nur bei zwei von drei Probanden erhalten und erlauben deshalb nur begrenzte Schlussfolgerungen.

Drei Humanstudien befassten sich bislang mit dem Nachweis von Caffeoylchinasäuren bzw. deren Metaboliten im Plasma. Genuine Chlorogensäure war dabei in keiner der Studien im Plasma nachweisbar. Entsprechend der Untersuchungen im Urin bestimmten Nardini et al. nach dem Trinken von 200 mL Kaffee auch in den Plasmaproben Kaffeesäure. Maximale Plasmaspiegel wurden nach etwa 1 h gemessen. Ein Vergleich mit Referenzsubstanzen zeigte, dass die bereits als renale Metabolite beschriebenen Substanzen Dihydrokaffeesäure, m-Cumarsäure, Ferulasäure und Isoferulasäure weder frei noch konjugiert in den Proben vorkamen (Nardini et al. 2002). In den anderen beiden Studien konnte ebenfalls nur Kaffeesäure im Plasma nachgewiesen werden. Nach dem Trinken von 1,1 L Apfel Cider detektierten Du Pont et al. Kaffeesäure über 120 min (DuPont et al. 2002). Cremin et al. beobachteten 2 h nach dem Essen von 100 g Pflaumen einen Anstieg der Kaffeesäure-Konzentrationen (Cremin et al. 2001). In allen drei Untersuchungen wurde Kaffeesäure zum größten Teil erst nach Behandlung des Plasmas mit β -Glucuronidase bestimmt und lag somit überwiegend in Form von Phase-II-Konjugaten vor.

Tab. 1.1 Übersicht über die bislang publizierten Studien zur Bioverfügbarkeit und Resorption von Caffeoylchinasäuren (CCS) aus verschiedenen Prüfpräparationen. CHS=Chlorogensäure; n=Probenzahl; *=detektiert nach Hydrolyse der Konjugate; C_{max}=maximale Plasmakonzentration; t_{max}=Zeit bis C_{max}; Angaben als MW.

Erstautor	Jahr	Spezies	n	Prüfpräparation	Dosis	Analysemedium	detektierte Substanzen	C _{max}	t _{max} [h]	ren. Elimin. [Menge]	ren. Elimin. [% Dosis]	Analytik Detektion	Bestimmungsgrenze
Choudhury	1999	Ratte	5	Chlorogensäure	50 mg kg ⁻¹	Urin	-	-	-	-	-	HPLC-PDA	5 µg mL ⁻¹
Azuma	2000	Ratte	3	Chlorogensäure	247 mg kg ⁻¹	Plasma	Kaffeensäure* Ferulasäure*	0,1-0,3 µM	0,5-1	-	-	HPLC-ECD	9 ng mL ⁻¹ 19,4 ng mL ⁻¹
Bourne	1998	Mensch	6	Tomaten getr. Aprikosen	160 g 120 g	Urin	Kaffeensäure*	-	-	-	-	HPLC-PDA	-
Olthof	2001	Mensch	7	Chlorogensäure	1g	Urin	Chlorogensäure Kaffeensäure*	-	-	-	0,3 0,3	GC-MS	0,8 µg mL ⁻¹ 0,4 µg mL ⁻¹
Cremin	2001	Mensch	3	Pflaumen	~76 mg CCS	Plasma	Kaffeensäure*	42-96 nM	2	-	-	HPLC-MS	1,8 ng mL ⁻¹
Cremin	2001	Mensch	3	Pflaumen	~76 mg CCS	Urin	Chlorogensäure Kaffeensäure* Ferulasäure*	-	-	6,7-15,9 µg 26,3-89,3 µg 1,6-6,2 µg	-	HPLC-MS	4,4 ng mL ⁻¹ 1,8 ng mL ⁻¹ 2,4 ng mL ⁻¹
Rechner	2001	Mensch	5	Kaffee	~898 mg CHS	Urin	Dihydroferulasäure Ferulasäure* Isoferulasäure* Vanillinsäure*	-	8-12 1-3 1-3 1-3	15,1 mg 3,2 mg 1,9 mg 2,4 mg	5,9	HPLC-PDA	-
Rechner	2001	Mensch	10	Artischockenblät- blätter-Extrakt	~123 mg CHS	Urin	Dihydroferulasäure Ferulasäure* Isoferulasäure* Vanillinsäure*	-	-	1,3 mg 1,2 mg 0,3 mg 0,9 mg	5,6	HPLC-PDA	-
DuPont	2002	Mensch	6	Apfel Cider	~11 mg CCS	Plasma	Kaffeensäure*	0,4 µM	-	-	-	HPLC-PDA	-
Nardini	2002	Mensch	10	Kaffee	~96 mg CHS	Plasma	Kaffeensäure*	0,5 µM	1	-	-	HPLC-ECD	20 ng mL ⁻¹

1.2.2 Resorption und Metabolisierung von Caffeoylchinasäuren

Die Resorption und die Spaltung der Caffeoylchinasäuren als ein erster Schritt der Metabolisierung konnten im Rahmen der bisherigen Untersuchungen nicht eindeutig aufgeklärt werden. Arbeitsgruppen, die nach Applikation von Chlorogensäure geringe Mengen der intakten Verbindung im Urin detektierten, postulierten die Resorption des intakten Moleküls. Aufgrund der geringen Wiederfindung schlossen sie auf eine Metabolisierung in Plasma und Leber unter Spaltung der Esterbindung (Cremin et al. 2001; Olthof et al. 2001). Gestützt wird diese Annahme durch Untersuchungen an der Ratte. Nach Applikation von Chlorogensäure und anschließender Homogenisierung des Dünndarms lag Chlorogensäure überwiegend als intaktes Molekül im Darmgewebe vor. Kaffeesäure wurde nur zu 1-2 % bestimmt (Azuma et al. 2000). Eine Metabolisierung in Plasma und Leber erst nach der Resorption steht allerdings im Widerspruch zu Untersuchungen von Plumb et al.. Weder die 2-stündige Inkubation von Chlorogensäure mit Humanplasma noch mit einem Homogenisat der menschlichen Leber führte zu einer Spaltung des Moleküls (Plumb et al. 1999).

Andere Gruppen, die nach Applikation von Caffeoylchinasäuren nur Kaffeesäure oder weitere Metabolite in Plasma und Urin bestimmen konnten, gingen daher von einer Spaltung der Esterbindung noch vor Erreichen des systemischen Kreislaufs aus (Rechner et al. 2001b; DuPont et al. 2002; Nardini et al. 2002). Dieser Annahme stehen jedoch auch verschiedene Ergebnisse aus in-vitro Untersuchungen entgegen. Chlorogensäure erwies sich sowohl nach der Inkubation mit Magen- und Darmsaft (Takenaka et al. 2000; Olthof et al. 2001) als auch nach der Inkubation mit einem Homogenisat des menschlichen Dünndarms (Plumb et al. 1999; Andreasen et al. 2001) als stabil.

Nur nach Inkubation mit einem Extrakt des menschlichen Faeces konnte bislang eine Spaltung von Chlorogensäure gezeigt werden (Plumb et al. 1999). Esteraseaktivität gegenüber Chlorogensäure wiesen dabei die aus der Mikroflora des Darms isolierten Bakterienstämme *Escherichia coli*, *Bifidobacterium lactis* und *Lactobacillus gasseri* auf (Couteau et al. 2001).

Die weitere Metabolisierung von Kaffeesäure nach Spaltung der Caffeoylchinasäuren konnte in verschiedenen in-vitro Experimenten weitaus besser geklärt werden. Spencer et al. fanden nach der Perfusion von Rattendünndarm im Resorbat 63,7 % der Kaffeesäure in Form von Glucuroniden wieder (Spencer et al. 1999). Bei der Perfusion von Rattenleber wurden hingegen insgesamt nur 6,7 % der Kaffeesäure in Phase-II-Metabolite umgewandelt. Die Analyse des Resorbats ergab nach β -Glucuronidase-Behandlung zusätzlich den Nachweis der Phase-I-Metabolite Ferulasäure (3'-Methylkaffeesäure) und Isoferulasäure (4'-Methylkaffeesäure) (Gumbinger et al. 1993).

Moridani et al. führten verschiedene Experimente zur Catechol-O-methylierung, O-Demethylierung, Hydrogenierung und Dehydrogenierung an isolierten Hepatozyten der Ratte und einzelnen Zellfraktionen daraus durch. Die Untersuchungen zeigten eine Methylierung von Kaffeesäure zu Ferulasäure und eine Hydrogenierung zu Dihydrokaffeesäure. Dihydrokaffeesäure wurde ebenfalls methyliert, und es entstand entsprechend Dihydroferulasäure, aus der durch Dehydrogenierung wiederum Ferulasäure gebildet wurde. Alle Schritten waren reversible Prozesse, die jedoch überwiegend in eine Richtung verliefen (Abb. 1.3) (Moridani et al. 2002). Die Bildung von Isoferulasäure war im Rahmen dieser Experimente nicht untersucht worden. Andere Untersuchungen an Mikrosomen der Rattenleber zeigten, dass die 4'-O-Methylierung von Dihydroxyphenolverbindungen zwar durch Catechol-O-Methyltransferasen möglich ist, diese Position in der Leber jedoch in höherem Maße einer Demethylierung unterliegt (Masari et al. 1964; Nielsen et al. 1998).

Die nach Applikation von Kaffeesäure im Urin detektierten Verbindungen mit C₆-C₁-Grundkörper (m-Hydroxyhippursäure, Vanillinsäure) bzw. deren Glycinderivate dürften ebenfalls in der Leber durch β -oxidative Verkürzung der Seitenkette gebildet worden sein (Scheline 1991).

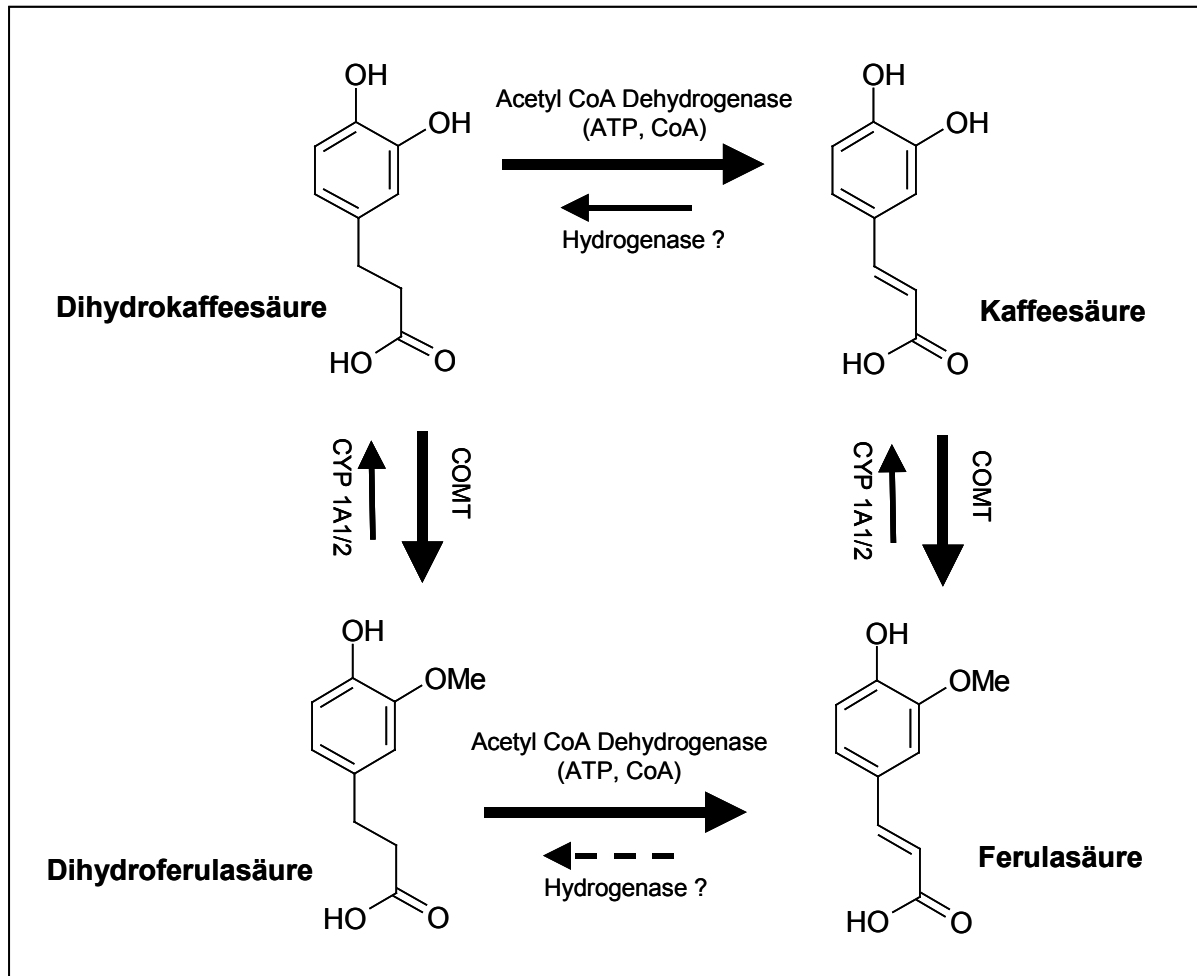


Abb. 1.3 Hypothetische Metabolisierung von Kaffeesäure in isolierten Hepatozyten der Ratte (Moridani et al. 2002).

Neben der Metabolisierung von Kaffeesäure in Enterozyten und Hepatozyten beschrieben verschiedene Untersuchungen auch eine Umwandlung des Moleküls durch Bakterien der intestinalen Mikroflora. Nach Behandlung von Kaffeesäure mit einem Extrakt des menschlichen Faeces wurden die in Abb. 1.4 dargestellten Abbauprodukte durch Dehydroxylierungs-, Decarboxylierungs- und Reduktionsreaktionen erhalten (Peppercorn et al. 1971). In in-vitro Experimenten mit isolierten Bakterienstämmen konnten die für diese Reaktionen verantwortlichen Bakterien näher bestimmt werden. Die Dehydroxylierung von Kaffeesäure bzw. Dihydrokaffeesäure gelang sowohl mit verschiedenen *Pseudomonas*-Arten als auch mit einer Mischkultur aus *Escherichia coli* und *Streptococcus fecalis* var. *liquifaciens*. Die Decarboxylierung von Kaffeesäure war mit dem Stamm *Streptococcus fecium* möglich. Neben der Reduktion der Doppelbindung in der Seitenkette des Kaffeesäure-Moleküls durch Leberenzyme (s.o.) wurde die Reaktion auch für die

Bakterienstämme *Peptostreptococcus* sp. und *Clostridium perfringens* nachgewiesen. Die für die Reduktion von 4-Vinylcatechol verantwortlichen Mikroorganismen konnten nicht näher identifiziert werden (Perez-Silva et al. 1966; Peppercorn et al. 1971).

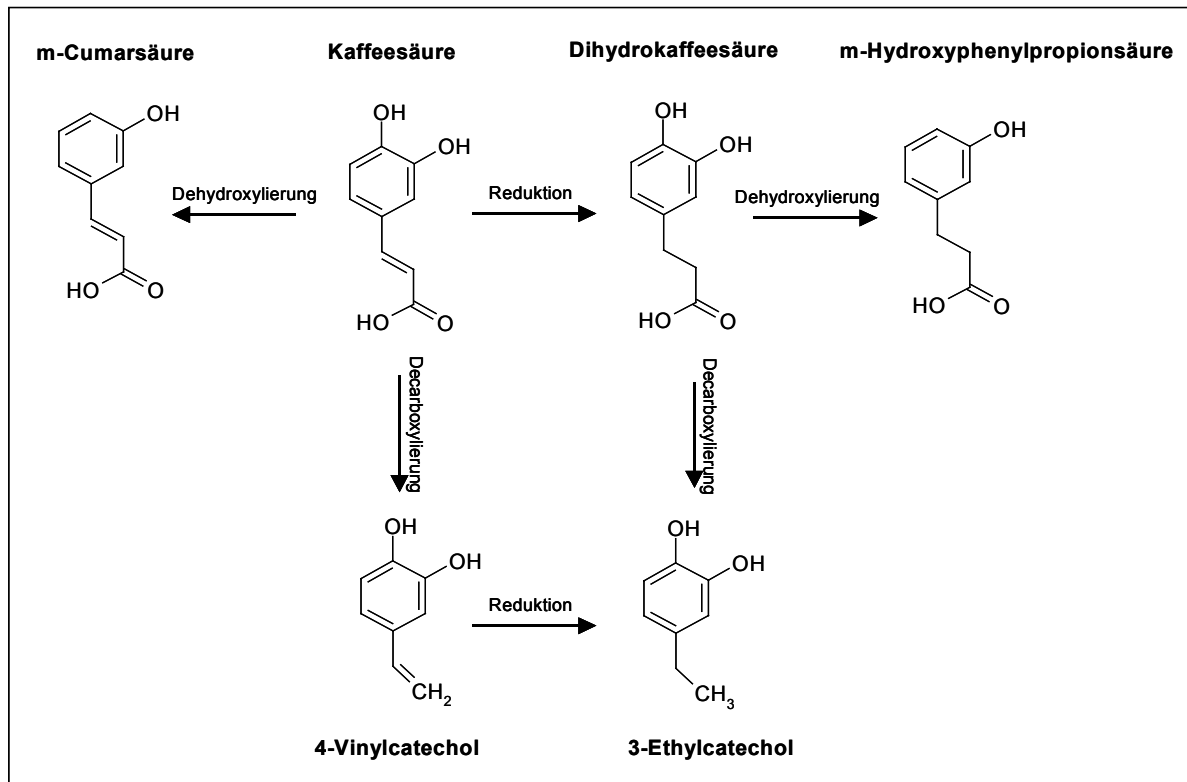


Abb. 1.4 Abbau von Kaffeoesäure durch Bakterien der intestinalen Mikroflora.

1.2.3 Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Luteolin-7-O-glucosid

Arbeiten, die sich mit der Bioverfügbarkeit von Luteolin-7-O-glucosid beschäftigten, wurden bislang überwiegend an der Ratte durchgeführt. Eine Humanstudie mit aussagekräftigen Ergebnissen existiert nicht.

Nach Inkubation von „everted sacs“ aus Rattendünndarm mit Luteolin-7-O-glucosid ergab die Analyse des serosalen Kompartiments neben Luteolin den Nachweis von zwei unbekannt Substanzen. Diese verschwanden nach β -Glucuronidase-Behandlung aus dem Chromatogramm und der Peak von Luteolin vergrößerte sich. Im Rahmen der gleichen Untersuchung wurden $50 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ Luteolin-7-O-glucosid auch oral an Ratten appliziert. Vor β -Glucuronidase-Behandlung konnte neben Luteolin im Plasma nur eine der unbekannt Substanzen detektiert werden.

Massenspektrometrische Untersuchungen identifizierten die Substanz als ein Monoglucuronid von Luteolin (Shimoi et al. 1998).

Auch andere in-vitro Untersuchungen zeigten, dass Luteolin-7-O-glucosid überwiegend in Form von Phase-II-Konjugaten bioverfügbar ist. Nach Perfusion von Rattendünndarm mit Luteolin-7-O-glucosid konnten nur sehr geringe Mengen des freien Aglykons im Resorbat detektiert werden. Wesentlich höhere Konzentrationen wurden nach β -Glucuronidase-Behandlung gemessen. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Shimoi et al. zeigte das Chromatogramm vor β -Glucuronidase-Behandlung des Resorbats sechs unbekannte Peaks. Die Autoren vermuteten aufgrund der UV-Spektren und Retentionszeiten, dass es sich bei den Substanzen um sechs verschiedene Glucuronide von Luteolin handelt (Spencer et al. 1999).

Neben Phase-II-Konjugaten von Luteolin konnten in in-vivo Experimenten an der Ratte auch Phase-I-Metabolite bestimmt werden. Die i.p. Injektion von $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ bzw. $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Luteolin führte zur Detektion von zwei bzw. drei unbekannt Metaboliten in Galle und Urin. Zwei der unbekannt Substanzen konnten mittels GC-MS als 3'-O-Methyluteolin und 4'-O-Methyluteolin (Diosmetin) identifiziert werden. Von der insgesamt applizierten Menge an Luteolin wurden 15 % im Urin und mehr als 28 % in der Galle wiedergefunden (Liu et al. 1995).

Entsprechend der Ergebnisse aus den Rattenexperimenten war Luteolin-7-O-glucosid auch in der einzigen bislang durchgeführten Humanstudie nicht systemisch verfügbar. In einer Studie zur Bioverfügbarkeit von Artischockenblätter-Extrakt konnten Rechner et al. nach der Applikation von 9 Kapseln Hepar-SL[®] forte weder vor noch nach β -Glucuronidase-Behandlung Luteolin-7-O-glucosid in Plasma und Urin nachweisen. Entgegen der Untersuchungen an der Ratte wurde jedoch auch kein freies oder konjugiertes Luteolin bestimmt (Rechner et al. 2001b). Da im Rahmen dieser Studie keine Angaben zur Validität der analytischen Methoden gemacht wurden, kann nicht ausgeschlossen werden, dass das gewählte Analysenverfahren zur Bestimmung von Luteolin in Plasma und Urin ungeeignet war. Eine weitere Humanstudie beschäftigte sich mit der Bioverfügbarkeit des Aglykons Luteolin. Shimoi et al. detektierten nach der oralen Applikation von 50 mg Luteolin neben einem geringeren Anteil freiem Luteolin überwiegend ein Monoglucuronid im menschlichen Plasma (Shimoi et al. 1998).

1.2.4 Resorption und Metabolisierung von Luteolin-7-O-glucosid

Über die Vorgänge der Resorption und die Metabolisierung von Luteolin-7-O-glucosid ist aus bisherigen Untersuchungen nur wenig bekannt. Aus den Ergebnissen ihrer Bioverfügbarkeitsuntersuchungen leiteten sowohl Shimoi et al. als auch Spencer et al. die glycosidische Spaltung von Luteolin-7-O-glucosid und die Konjugation mit Glucuronsäure in den oberen Darmabschnitten ab (Shimoi et al. 1998; Spencer et al. 1999).

Diese Annahme korrespondiert mit Ergebnissen aus Zellexperimenten. Mehrere Flavonoidglucoside u.a. das dem Luteolin-7-O-glucosid strukturähnliche Apigenin-7-O-glucosid wurden durch einen zellfreien Extrakt des menschlichen Dünndarms gespalten (Day et al. 1998). Nicht eindeutig geklärt wurde bislang der Ort der Spaltung und damit verknüpft auch der genaue Vorgang der Resorption. Verschiedene Arbeitsgruppen konnten für Flavonoidglucoside eine Spaltung an der luminalen Seite der Darmwand durch membranständige Lactase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) zeigen und leiteten daraus die Resorption des freiwerdenden Aglykons ab (Day et al. 2000; Sesink et al. 2003). Anderen Untersuchungen zur Folge waren für die Spaltung cytosolische β -Glucosidasen (CBG) verantwortlich, was auf die Resorption des gesamten Moleküls hindeutet (Lambert et al. 1999). Mehrere in-vitro Untersuchungen an Segmenten des Rattendünndarms zeigten für Quercetinglucoside Interaktionen mit einem natriumabhängigen Glucosetransporter (SGLT1) (Gee et al. 2000; Ader et al. 2001). Wolffram et al. konnten in ihren Experimenten den Transport von intakten Quercetinglucosiden durch SGLT1 im Rattendünndarm belegen (Wolffram et al. 2002). Es ist jedoch fraglich, ob diese für Flavonolglucoside erhaltenen Ergebnisse ohne weiteres auf das Flavon Luteolin-7-O-glucosid übertragen werden können.

Auch die Glucuronidierung von Luteolin in den Enterozyten des oberen Darmabschnitts wird durch Zellexperimente bestätigt. Bei einer Behandlung von Luteolin mit humanen Dünndarmmikrosomen wurden insgesamt 74 % des Substrats glucuronidiert. Die Identifizierung der Glucuronide erfolgte mittels $^1\text{H-NMR}$. Den größten Anteil machten das 4'- und 3'-O-glucuronid aus (44 bzw. 51 %). Das 7-O-glucuronid wurde nur zu 5 % gebildet. Im Gegensatz dazu setzten humane Lebermikrosomen nur 27 % von Luteolin zu Glucuroniden um. Das Verteilungsschema war ein völlig anderes. Durch Lebermikrosomen entstand

anstelle von 4'- und 3'-O-glucuronid (6 bzw. 17 %) überwiegend das 7-O-glucuronid (77 %) (Boersma et al. 2002).

Verschiedene Untersuchungen deuten darauf hin, dass die Glucuronide nach Erreichen des systemischen Kreislaufs durch β -Glucuronidasen auch wieder gespalten werden können. Bei Behandlung mit von Rattenplasma nach oraler Applikation von Luteolin mit dem Lysat aus humanen neutrophilen Granulozyten wurde ein deutlicher Anstieg der Luteolinkonzentration beobachtet (Shimoi et al. 2001). Entsprechende β -Glucuronidase-Aktivitäten zeigten auch Venenendothelzellen der menschlichen Nabelschnur (HUVEC) gegenüber verschiedenen Quercetinglucuroniden (Wittig 2002).

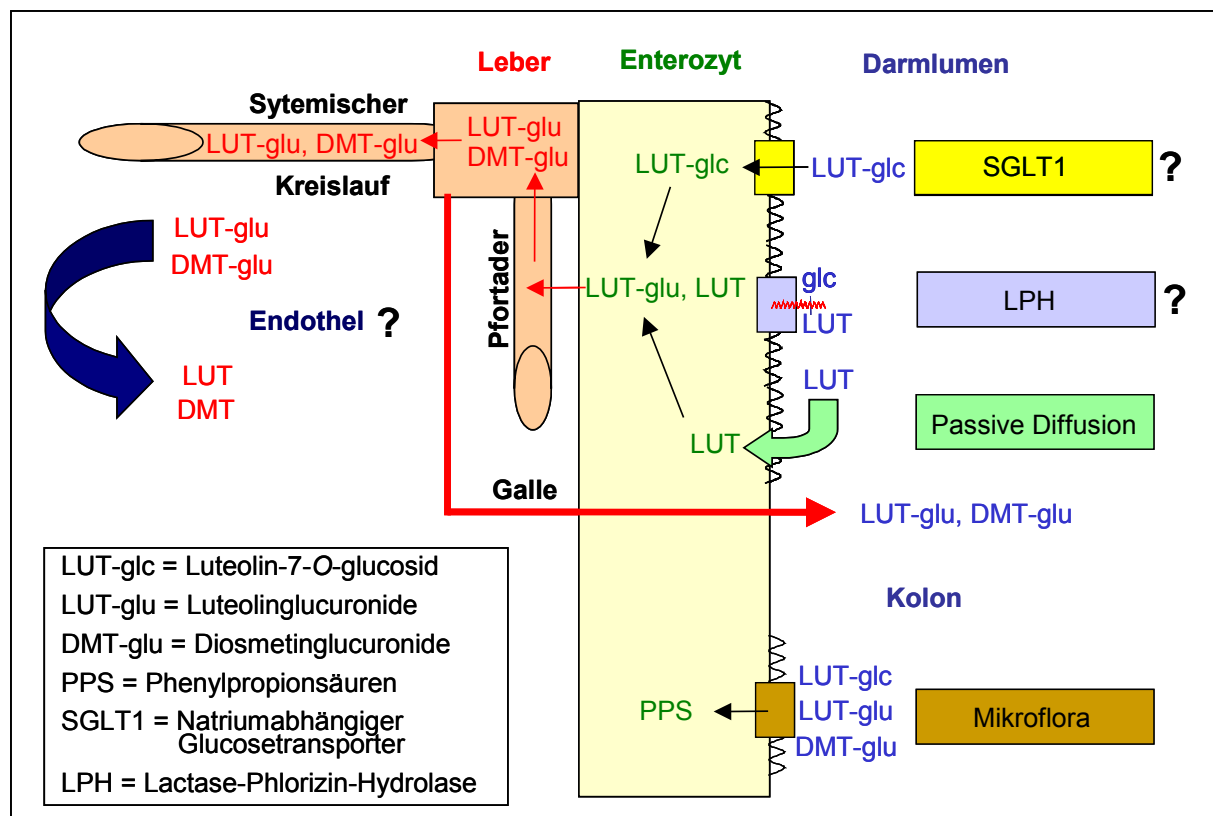


Abb. 1.5 Hypothetischer Resorptionsmechanismus und Metabolisierung von Luteolin-7-O-glucosid vom Darmlumen und Kolon bis zum systemischen Kreislauf. Modifiziert nach (Williamson et al. 2000).

Neben der Metabolisierung und Resorption in den oberen Darmabschnitten und der Leber wurde für Luteolin-7-O-glucosid auch eine Spaltung durch die intestinale Mikroflora beschrieben. Verschiedene Mikroorganismen der menschlichen Darmflora zeigten eine β -Glucosidase Aktivität gegenüber Flavonoidglycosiden (Bokkenheuser et al. 1987; Schneider et al. 2000). Bei einer Behandlung von Luteolin-7-O-glucosid

mit *Eubacterium ramulus* entstand zuerst das Aglykon Luteolin, das dann durch Spaltung zwischen C-4 und C-5 weiter bis zur 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-propionsäure abgebaut wurde. Bei dem aus dem A-Ring erhaltenen Spaltprodukt handelt es sich vermutlich, wie bereits für andere Flavonoide postuliert, um Phloroglucinol (Hattori et al. 1988; Braune et al. 2001). Im Gegensatz zu den Flavonolen, die durch Organismen der intestinalen Mikroflora überwiegend zu Phenyllessigsäuren (C₆-C₂-Körper) abgebaut werden (Heilmann et al. 1998a), ist bei den Flavonen die Spaltung zwischen C-4 und C-5 und damit die Bildung von Phenylpropionsäuren (C₆-C₃-Körper) begünstigt (Heilmann et al. 1998b). Nach oraler Applikation anderer Flavone bzw. Flavonglycoside (Apigenin, Apiin, Diosmin) konnten entsprechende C₆-C₃-Verbindungen im Urin identifiziert werden. Zusätzlich wurden noch verschiedene Benzoessäuren (C₆-C₁-Körper) gefunden. Diese dürften jedoch nicht durch die intestinale Mikroflora, sondern durch Resorption der C₆-C₃-Verbindung und anschließende Metabolisierung in der Leber oder anderen Geweben gebildet worden sein (Griffiths et al. 1972; Cova et al. 1992).

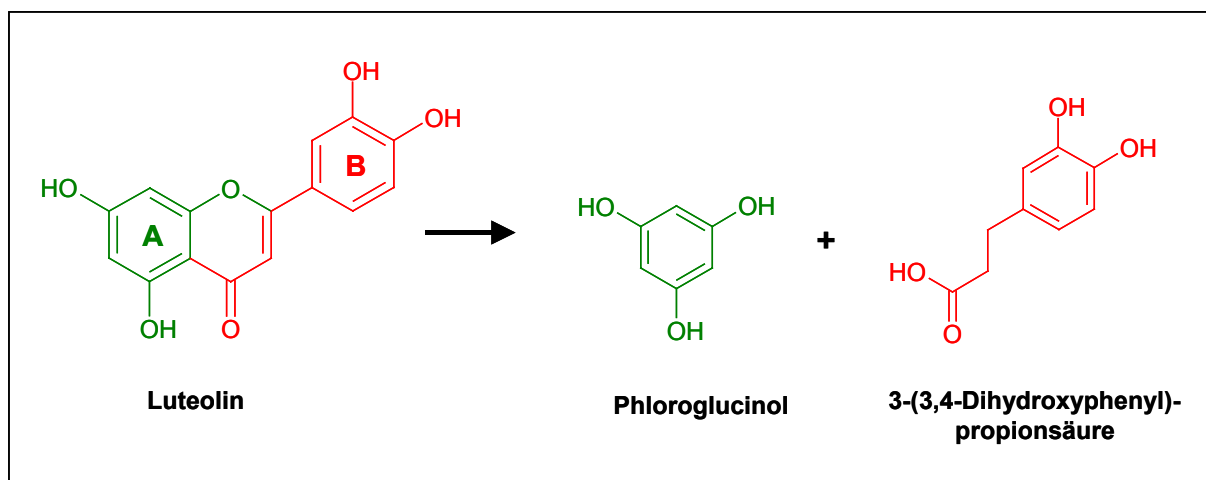


Abb. 1.6 Abbau von Luteolin durch *Eubacterium ramulus*.

1.3 Methoden und Analytik

In der Literatur wurden bislang verschiedene Methoden zur Extraktion von Hydroxyzimtsäuren und Flavonoiden aus biologischen Matrices beschrieben. Die Extraktion der Hydroxyzimtsäuren Ferulasäure und Kaffeesäure aus Plasma und Urin erfolgte dabei überwiegend durch mehrfaches Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln (Flüssig-Flüssig-Extraktion). Unter Verwendung von Ethylacetat

konnte Kaffeesäure in Plasma und Urin fast zu 100 % wiedergefunden werden (Maiani et al. 1997; Cremin et al. 2001; Nardini et al. 2002). Für die Extraktion von Ferulasäure war Ethylacetat hingegen weniger geeignet. Die Wiederfindung betrug nur knapp 50 % (Cremin et al. 2001). Eine Wiederfindung von nahezu 100 % wurde jedoch bei der Extraktion von Ferulasäure mit Ethylether erzielt (Virgili et al. 2000). Noch weniger als für Ferulasäure eignete sich die Flüssig-Flüssig Extraktion mit Ethylacetat für Chlorogensäure. Bei niedrigen Konzentrationen wurden nur etwa 25 % der Chlorogensäure in Plasma und Urin wiedergefunden (Cremin et al. 2001). Höhere Wiederfindungen für Chlorogensäure konnten durch Festphasenextraktion (SPE) an C18-Kartuschen erhalten werden (Choudhury et al. 1999). Auch für die Extraktion von Luteolin aus Plasma und Urin erwies sich die Festphasenextraktion als geeignet. Shimoi et al. fanden unter Verwendung einer C18-Kartusche 100 %, Liu et al. unter Verwendung einer Harzkartusche hingegen nur 79 % wieder (Liu et al. 1995; Shimoi et al. 1998).

Einen Nachteil von der Flüssig-Flüssig-Extraktion und der Festphasenextraktion stellt die relativ aufwendige Art der Probenaufarbeitung dar. Wesentlich weniger zeitaufwendig ist hingegen die von anderen Autoren verwendete Aufarbeitung mit einem einfachen Proteinfällungsschritt. Die Fällung der Proteine erfolgte dabei mit verschiedenen organischen Lösungen wie Aceton, Methanol oder Acetonitril. Nach dem Abzentrifugieren der Proteine wurde der Überstand entweder direkt analysiert oder noch weiter aufkonzentriert. In derartig aufgearbeiteten Plasma- und Urinproben konnte Kaffeesäure zwischen 82 und 84 % und das Flavonoid Quercetin zu fast 100 % wiedergefunden werden (Camarasa et al. 1988; Uang et al. 1995; Graefe 2000). Mit keiner der bislang beschriebenen Methoden wurden jedoch mehrere Hydroxyzimtsäuren und Flavonoide nebeneinander aus Plasma Urin extrahiert.

Für die Analytik von Hydroxyzimtsäuren und Flavonoiden in biologischen Matrices sind entsprechend sensitive und selektive Detektionsmethoden unabdingbare Voraussetzung. Die Methoden müssen Nachweisgrenzen im unteren $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ Bereich ermöglichen. Die meisten bislang verwendeten Methoden, insbesondere die PDA Detektion, waren jedoch wenig sensitiv und arbeiteten nahe an der Nachweisgrenze. Bei der Analyse von Plasmaproben mittels HPLC-PDA hinsichtlich Kaffeesäure konnten nur Konzentrationen bis $0,7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ noch bestimmt werden (Maiani et al. 1997). Wesentlich sensitivere Detektionsverfahren stellen inzwischen

die massenspektrometrische oder elektrochemische Detektion dar. Mittels LC/ES-MS wurden Kaffeesäure, Ferulasäure und Chlorogensäure in Konzentrationen bis zu jeweils $1,8 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $2,4 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ und $4,4 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ in Plasma und Urin nachgewiesen (Cremin et al. 2001). Die Nachweisgrenzen für Kaffeesäure mittels HPLC-ECD lagen zwischen $1 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Simonetti et al. 2001) und $20 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Azuma et al. 2000; Nardini et al. 2002). In einem Methodenvergleich zur Bestimmung von Kaffeesäure und Ferulasäure erwies sich die elektrochemische Detektion bezüglich Sensitivität und Selektivität der UV und MS Detektion als überlegen (Bocchi et al. 1996). Auch für verschiedene Flavonoide konnten mittels HPLC und elektrochemischer Detektion bereits Nachweisgrenzen im unteren $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ Bereich erzielt werden (Erlund et al. 1999; Lee et al. 2000).

Die hohe Selektivität der elektrochemischen Detektion beruht vor allen Dingen auf der coulometrischen Array Technik (Milbury 2001). Dabei werden mehrere analytische Messzellen in Reihe geschaltet und verschiedene Detektionsspannungen an die jeweiligen Zellen angelegt. Entsprechend seiner Redoxeigenschaften wird für einen Analyten an jedem Potential ein Stromsignal erhalten. Zur Auswertung kann das Potential gewählt werden, an dem das Stromsignal die höchste Selektivität zeigt. Trägt man die Größe der jeweiligen Stromsignale gegen die gesetzten Spannungen auf, erhält man zudem ein substanzspezifisches hydrodynamisches Voltammogramm (HDV). Die coulometrische Array Detektion liefert damit auch qualitative Informationen.

In den meisten bislang zur Bioverfügbarkeit von Caffeoylchinasäuren und Luteolin-7-O-glucosid durchgeführten Untersuchungen wurden keine näheren Angaben zur Validierung der verwendeten Methoden gemacht. Ansätze zur Validierung bioanalytischer Methoden bietet der Leitlinienentwurf „Bioanalytical Methods Validation for Human Studies“ der FDA. Diese Guideline behandelt u.a. die einzelnen Validierungsparameter unter bioanalytischen Gesichtspunkten. Es werden beispielsweise Richtwerte zu Fehlertoleranzen bei Bestimmungen der Präzision und Richtigkeit gegeben und der Begriff Bestimmungsgrenze näher definiert.

1.4 Zielsetzung

Artischockenhaltige Präparate zeigten in einer Vielzahl von in-vitro und in-vivo Studien choloretische, lipidsenkende und hepatoprotektive Wirkungen. Wässriger Gesamtextrakt aus Artischockenblättern wies dabei in pharmakologischen Tests ein anderes Wirkprofil auf als eine von der Firma Lichtwer Pharma AG mit bestimmten Inhaltsstoffen abgereicherte bzw. angereicherte Extraktfraktion (Spezialextrakt). In in-vitro Untersuchungen konnten die Wirkungen einzelnen Extraktinhaltsstoffen zugeschrieben werden. Erst pharmakokinetische Studien ermöglichen es jedoch, in-vitro und in-vivo Wirkungen miteinander zu verknüpfen und die für die Wirkungen tatsächlich verantwortlichen Substanzen zu ermitteln. Zur Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik von Artischockenblätter-Extrakt nach oraler Applikation am Menschen fehlen bislang verlässliche Untersuchungen.

Ziele der vorliegenden Arbeit waren daher die grundsätzliche Untersuchung von **Bioverfügbarkeit**, **Pharmakokinetik** und **Metabolismus** von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt im Menschen und der **Vergleich** von **Gesamtextrakt** und **Spezialextrakt** hinsichtlich dieser Parameter.

Für diese Untersuchungen war zunächst die Entwicklung einer **Probenaufarbeitungsmethode** zur simultanen Extraktion von Hydroxyzimtsäuren und Flavonoiden aus den biologischen Matrices Plasma und Urin notwendig. Zur Quantifizierung der in den Proben enthaltenen Metabolite mussten entsprechende selektive und sensitive **analytische Meßmethoden**, die den Anforderungen internationaler Guidelines zur Validierung genügten, erarbeitet werden.

2 Material und Methoden

2.1 Chemikalien

Chlorogensäure	Roth, 6385.1
Dihydroferulasäure	Lancaster Synthesis, 6267
Dihydrokaffeesäure	Fluka, 54130
Ferulasäure	Fluka, 46280
Isoferulasäure	Extrasynthese, 01557i
Kaffeesäure	Roth, 5869.1
Luteolin	Roth, 9046
Luteolin-7-O-glucosid	Roth, 4164.1
Luteolin-7-O-glucuronid	Lichtwer Pharma AG
Aceton	Roth, 5025.2
Acetonitril, HPLC gradient	Promochem, 9128
β -Glucuronidase aus <i>Helix pomatia</i> , Typ HP-2 ≤ 7500 Units/mL Sulfatase-Aktivität 127300 Units/mL Glucuronidase-Aktivität	Sigma, G7017
β -Glucuronidase aus <i>Helix pomatia</i> , Typ H-1 ≤ 10000 Units/g Sulfatase-Aktivität 486000 Units/g Glucuronidase-Aktivität	Sigma, G0751
Dimethylformamid	Roth, 6251.2
Essigsäure p.a. (99,8 %)	Fluka, 45731
L(+)-Ascorbinsäure p.a.	Merck, 100127
Methanol, HPLC gradient	Promochem, 3041
Natriumdihydrogenphosphat	Aldrich, 33.198-8
Natronlauge 1 M	Roth, K021.1
ortho-Phosphorsäure (85 %)	Roth, 6366.1
Salzsäure p.a. (mind. 37 %)	Roth, 4625.1
Salzsäure 1 M	Roth, K025.1
Trifluoressigsäure	Merck, 808260
Wasser, entmineralisiert	aus Reinstwasseranlage

2.2 Materialien und Geräte

Inkubator	Eppendorf Thermostat 5320
Membranfilter	Osmonics Microsep RC, 0,22 µm
pH-Meter	WTW Multical® pH 540 GLP
Ultraschallbad	Bandelin Sonorex super RK 514H
Vakuumpzentrifuge	Univapo 150H
Vortex	Bioblock Scientific Agitateur Top Mix 11118
Waagen	Sartorius MC 210P Sartorius M2P Sartorius LP2200P
Wasserbad	Braun Thermomix BM-P
Zentrifugen	Heraeus instruments Megafuge 2.0R UniEquip UEC Microzentrifuge 14B

2.3 HPLC-CAD System zur Plasma- und Urinanalytik

Säule	Phenomenex Aqua, 5 µm, C ₁₈ , 125 Å, 250 x 4,60 mm
Vorsäule	Phenomenex, Security Guard, C ₁₈ , 4,0 x 3,0 mm
Pumpen	ESA Inc., Model 582
Flussrate	0,8 mL min ⁻¹
Autosampler	ESA Inc, Model 542
Autosamplertemperatur	15°C
Injektionsvolumen	50 µL
Säulenofen	ESA Inc, Model 880
Säulentemperatur	25°C
Detektor	ESA Inc., Elektrochemischer 12 Kanal CoulArray Detektor
Detektion	75 – 900 mV

2.4 HPLC-PDA System zur Extraktanalytik

Säule	Supelcosil LC-18, 5 µm, 150 x 4,60 mm
Pumpen	Kontron, Typ S 522
Autosampler	Kontron, Typ 560
Injektionsvolumen	20 µL
Säulenofen	Kontron, Typ CO-200
Säulentemperatur	29,5 – 30,5°C
Detektor	Kontron, Typ PDA 540
Detektion	PDA 230 – 400 nm Chromatogramm 300 nm

2.5 Pilotstudie zur systemischen Verfügbarkeit und Pharmakokinetik von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt

2.5.1 Studienplan

Prüfpräparat:	250 mg Artischockenblätter-Spezialextrakt (Lichtwer Pharma AG) in Hartgelatinekapseln Gehalt: 8,91 % Monocaffeoylchinasäuren, 19,47 % Dicaffeoylchinasäuren, 0,56 % Kaffeesäure, 8,83 % Flavonoide (siehe Kapitel 2.6.3.3)
Probandenzahl:	2 gesunde männliche Probanden (Proband 1 u. 2) 1 gesunder weiblicher Proband (Proband 3)
Studienort:	Lichtwer Pharma AG, Berlin
Studienablauf:	Pflanzenfreie Diät (siehe Kapitel 2.6.5) mit 2-tägiger Run-In-Phase, Einmaldosis, unterschiedliche Extraktmengen pro Proband;

Proband 2 u. 3: 2 Kapseln zu 250 mg, Proband 1:
4 Kapseln zu 250 mg; Einnahme mit einem Glas
Wasser

Blutentnahmezeitpunkte: 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8 h

2.5.2 Methoden der Pilotstudie

Gewinnung der Plasmaproben

Pro Blutentnahmezeitpunkt wurden maximal 10 mL Blut in EDTA-enthaltende Blutröhrchen (S-Monovetten[®]) entnommen. Zum Abtrennen des Plasmas von den Blutzellen wurden die Röhrchen anschließend 10 min unter Kühlung bei 4700 g zentrifugiert. Das erhaltene Plasma wurde sofort in Eppendorf Reaktionsgefäße zu 500 µL aliquotiert, wobei jedem Aliquot 20 µL 0,58 M Essigsäure zur Stabilisierung zugesetzt wurden. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurden die Plasmaproben dann bei -80°C gelagert.

Probenaufarbeitung

Die Proben wurden nach einer von Graefe et al. (2001) zur Extraktion von Quercetin aus Humanplasma entwickelten Methode aufgearbeitet. Zu einem 500 µL Aliquot wurden 10 µL einer 0,5 % wässrigen Vitamin C-Lösung (m/V) zugegeben. Anschließend wurde der pH-Wert mit 0,58 M Essigsäure auf pH 5 eingestellt. Nach Zugabe von 30 µL β-Glucuronidase (Sigma G7017) und Vortexen, inkubierte der Enzymassay bei 37°C für 60 min. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 600 µL Aceton gestoppt. Der Ansatz wurde gevortext und anschließend für 10 min bei 7826 g zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein Eppendorf Reaktionsgefäß überführt und nach Zugabe von 10 µL einer 0,5 % wässrigen Vitamin C-Lösung (m/V) in der Vakuumzentrifuge bis zur Trockene einrotiert. Der Rückstand wurde in 150 µL Dimethylformamid / Wasser 2:1 (V/V) durch Vortexen vollständig resuspendiert, für 10 min bei 7826 g zentrifugiert und der Überstand mittels HPLC-CAD analysiert. Die Aufarbeitung ohne Glucuronidase-Assay erfolgte analog. Anstelle von 30 µL Enzymlösung wurden hier 30 µL Wasser hinzugesetzt.

Trennung und Detektion

Die Plasmaproben wurden mit dem in Kapitel 2.3 beschriebenen HPLC System analysiert. Die Analyse erfolgte mit einer vorläufigen bisher nicht validierten Methode.

Fließmittel A: 0,2 M Natriumdihydrogenphosphat Lsg. mit *o*-Phosphorsäure auf pH 2 eingestellt, steril filtriert

Fließmittel B: Mischung aus Methanol und 0,1 M Natriumdihydrogenphosphat Lsg. (4:1 V/V) und Zusatz von 0,25 % *o*-Phosphorsäure, steril filtriert

Tab. 2.1 Gradient zur Analyse der Plasmaproben aus der Pilotstudie.

t [min]	Fließmittel B [%]	
0,0	28	linear bis
26,0	58	linear bis
45,0	100	isokratisch bis
55,0	100	linear bis
56,0	28	isokratisch bis
66,0	28	Ende

Die 12 Elektroden des coulometrischen Array Detektors waren in Inkrementen von 75 mV über einen Spannungsbereich von 75 – 900 mV gesetzt.

Peakidentifizierung

Zur Peakidentifizierung wurden die hydrodynamischen Voltammogramme und Retentionszeiten der Peaks, die nach Analyse der Proben eine Konzentrationskinetik zeigten, mit denen von Referenzsubstanzen verglichen. Als Referenzsubstanzen dienten Artischockenblätter-Extrakt, Chlorogensäure, Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure, Luteolin-7-O-glucosid, Luteolin-7-O-glucuronid und Luteolin.

Quantifizierung

Quantifiziert wurden nur die Peaks, die zuvor durch Referenzsubstanzen identifiziert werden konnten. Da die Studie einen Pilotcharakter hatte, erfolgte die quantitative Auswertung lediglich über eine Bestimmung der Peakflächen. Zur orientierenden Einordnung der Konzentrationen wurden zusätzlich blank Plasmaproben mit

bekannter Konzentration an Referenzsubstanzen versetzt und die resultierenden Peakflächen mit denen der Studienproben verglichen. Die Auswertung erfolgte an folgenden Potentialen: Dihydrokaffeensäure 225 mV, Dihydroferulasäure 375 mV, Ferulasäure und Isoferulasäure 450 mV, Luteolin 150 mV.

2.6 Hauptstudie zur systemischen Verfügbarkeit und Pharmakokinetik von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt

Die klinische Prüfung der Hauptstudie wurde monozentrisch am Institut für Klinische Pharmakologie der Universität Rostock unter Leitung von Prof. Dr. med. Bernd Drewelow und PD Dr. med. Anne-Kathrin Riethling durchgeführt. Als Prüfärzte waren Dr. med. Silke Müller, Sora Park und Alexandra Kuhn-Thiel an der Studie beteiligt. Vor Beginn der Prüfung wurden der Prüfplan, die Probandeninformation und die Probandeneinwilligungserklärung der zuständigen Ethikkommission zur Begutachtung vorgelegt und genehmigt. Die Prüfung wurde in Übereinstimmung mit den gültigen rechtlichen Anforderungen, dem Deutschen Arzneimittelgesetz, den Grundsätzen für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln, den GCP-Empfehlungen der EG (Good clinical practice for trials on medicinal products in the European community) und entsprechend den Prinzipien der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

2.6.1 Studiendesign

Es handelte sich um eine zweiarmige Single-Dose-Studie, die als offene Cross-over Studie durchgeführt wurde. Die Probanden wurden nach Geschlecht, Gewicht und Alter randomisiert.

In den beiden Armen erhielten je 50 % der Probanden das Prüfpräparat und 50 % das Referenzpräparat, wobei jeder Proband im zweiten Arm jeweils das im Vergleich zum ersten Arm andere Präparat erhielt. Ziel war der intraindividuelle Vergleich von Prüfpräparat gegen Referenzpräparat. Zwischen den Behandlungsarmen, bestehend aus einer Diätphase und der Behandlung, lagen 10 Tage Wash-Out ohne jegliche Intervention.

2.6.2 Probanden

An der Studie nahmen insgesamt 14 freiwillige gesunde Probanden mit einer Geschlechterverteilung von 1:1 im Alter von 22 bis 38 Jahren teil. Das Durchschnittsalter betrug $25,14 \pm 3,82$ Jahre (MW \pm SD) und der durchschnittliche Body Mass Index lag bei $21,68 \pm 2,26$ kg·m². Keiner der Probanden musste die Studie vorzeitig beenden, so dass sie ohne „drop outs“ zum Abschluss gebracht werden konnte. Detaillierte Angaben zu den Probanden finden sich im Anhang in Tab. 7.1.

Einschlusskriterien

- Schriftliches Einverständnis liegt vor
- Alter von 18-40 Jahren
- Bei Frauen negativer Schwangerschaftstest und sichere Antikonzeption, nicht stillend
- Körperliche Untersuchung ohne klinisch relevante, pathologische Befunde
- Laborparameter (ALAT, ASAT, LDH, alkalische Phosphatase, γ -GT, Kreatinin, Harnstoff, Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Glucose im Blut, Gesamtbilirubin, Differential-Blutbild) ohne pathologischen Befund
- Virologie negativ (Hepatitis B und C, HIV)

Ausschlusskriterien

- Bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Inhaltstoffen der Prüfmedikation
- Arterielle Hypertonie
- Adipositas oder Anorexie
- Regelmäßige Einnahme von Medikamenten während der geplanten Studie sowie 4 Wochen vor Studienbeginn
- Bestehende akute Infektionen bzw. Infektion innerhalb der letzten 2 Wochen vor Studienbeginn (Anamnese)
- Chronische Erkrankungen jeder Genese (Anamnese)
- Bekannte psychische Erkrankungen (Anamnese)
- Bekannte renale, hepatische, respiratorische, neurologische und kardiale Erkrankungen (Anamnese)
- Bekannte intestinale Resorptionsstörungen (Anamnese, z.B. Magenresektion)

- Klinisch relevante Abweichung bei den Laborparametern
- Drogenscreening im Urin positiv
- Alkohol-, Drogen- oder Medikamentenabhängigkeit
- Teilnahme an einer anderen klinischen Prüfung innerhalb der letzten 30 Tage

2.6.3 Studienmedikation

Für die geplanten Untersuchungen wurde die Applikation der Artischockenblätter-Extrakte suspendiert in Tylose-Schleim gewählt, um den Einfluss der möglichen unterschiedlichen Freisetzung aus der Darreichungsform so gering wie möglich zu halten. Die Dosierung des Referenzpräparates entsprach der Obergrenze des handelsüblichen Präparates Hepar-SL[®] forte und durfte daher im Sinne der Arzneimittelsicherheit als sicher eingestuft werden. Die Charakterisierung der Extrakte erfolgte über die chromatographische Auftrennung der Inhaltsstoffe in der HPLC (siehe Kapitel 2.6.4).

2.6.3.1 Applikation der Studienmedikation

Die Herstellung der Formulierung für die Hauptstudie wurde in Anlehnung an eine von Herrn Dr. Jörg Wittig am Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie der Universität Würzburg entwickelten Methode vorgenommen. Referenz- bzw. Prüfpräparat wurden jeweils in Falkontubes eingewogen und langsam unter vortexen insgesamt 3 mL Ethanol 96 % zupipettiert. Anschließend wurde die Suspension portionsweise mit insgesamt 12 mL Tyloeschleim (0,5 % Methocel[®]K4M in Aqua purificata, steril filtriert) versetzt. Auf dem Vortex ließ man die Suspension zu einer homogenen Masse verrühren. Der Ethanolgesamtgehalt der Formulierung betrug 20 % (m/m). Die Suspensionen wurden jeweils am Tag der Medikation frisch zubereitet und zusammen mit einem Glas Wasser appliziert.

2.6.3.2 Referenzpräparat

Pharmazeutisch wirksamer Bestandteil

Artischockenblätter-Gesamtextrakt (Lichtwer Pharma AG, Charge 02012917) als Pulver (Auszugsmittel Wasser, DEV 4-6:1, weitere Bestandteile: Lactosemonohydrat Ph.Eur. 1997, hochdisperses Siliciumdioxid Ph.Eur.Suppl. 2000)

Dosierung

Einmalig an Tag 3/17 2,4 g Extrakt suspendiert in Tyloeschleim (entspricht 1,92 g nativer Extrakt, entspricht ca. 9,6 g Ausgangsdroge)

Gehalt

Nach Bestimmungen der Firma Lichtwer Pharma AG (siehe Kapitel 2.6.4) betrug der Gehalt an:

Monocaffeoylchinasäuren	3,67 %
Dicaffeoylchinasäuren	2,53 %
Kaffeesäure	0,03 %
Flavonoide	0,94 %

Die Caffeoylchinasäuren wurden über die Kalibrierfunktion von Chlorogensäure und die Flavonoide über die von Luteolin-7-O-glucosid quantifiziert. Für die pharmakokinetischen Berechnungen wurden die Gehälter in Äquivalente Kaffeesäure bzw. Äquivalente Luteolin umgerechnet. Daraus ergab sich im Extrakt eine Gesamtmenge von 106,95 mg Kaffeesäure (106,54 mg aus Caffeoylchinasäuren; 0,41 mg freie Kaffeesäure) und von 14,40 mg Luteolin.

2.6.3.3 Prüfpräparat

Pharmazeutisch wirksamer Bestandteil

Artischockenblätter-Spezialextrakt (Lichtwer Pharma AG, Charge EX47_EB) als Pulver (aus wässrigem Primärextrakt; zweites Auszugsmittel Ethylacetat / Butanol, DEV 12-25:1, weitere Bestandteile: wie Referenzpräparat)

Dosierung

Einmalig an Tag 3/17 625 mg Extrakt suspendiert in Tyloeschleim (entspricht 500 mg nativer Extrakt, entspricht ca. 9,5 g Ausgangsdroge)

Gehalt

Nach Bestimmungen der Firma Lichtwer Pharma AG (siehe Kapitel 2.6.4) betrug der Gehalt an:

Monocaffeoylchinasäuren	8,91 %
Dicaffeoylchinasäuren	19,47 %
Kaffeensäure	0,56 %
Flavonoide	8,83 %

Die Caffeoylchinasäuren wurden über die Kalibrierfunktion von Chlorogensäure und die Flavonoide über die von Luteolin-7-O-glucosid quantifiziert. Für die pharmakokinetischen Berechnungen wurden die Gehälter in Äquivalente Kaffeesäure bzw. Äquivalente Luteolin umgerechnet. Daraus ergab sich im Extrakt eine Gesamtmenge von 153,84 mg Kaffeesäure (152,07 mg aus Caffeoylchinasäuren; 1,77 mg freie Kaffeesäure) und von 35,23 mg Luteolin.

2.6.4 Analytik von Referenz- und Prüfpräparat

Für die pharmakokinetischen Berechnungen war es notwendig, die Gehälter der Caffeoylchinasäuren und Flavonoide in den Extrakten genau zu kennen. Für die Gehaltsbestimmung wurden die Inhaltsstoffe durch einfache flüssig Extraktion aus den Extrakten extrahiert und dann mittels HPLC-PDA analysiert (Prüfvorschrift PVQ-30122-00, Lichtwer Pharma AG). Die angewandte Methode war nach den ICH Guidelines CPMP/ICH/381/95 und CPMP/ICH/281/95 validiert (Validierungsbericht VBQ-1035-00, Lichtwer Pharma AG).

Herstellung der Untersuchungslösung

100 ±10 mg Artischockenextraktzubereitung wurden in einen 25 mL Messkolben genau eingewogen, mit 20 mL Methanol R / Wasser R (30/70) versetzt und 30 min im Ultraschallbad extrahiert. Anschließend wurde auf 20°C im Wasserbad temperiert und mit Methanol R / Wasser R (30/70) zu 25,0 mL aufgefüllt. 2 mL der Probenlösung wurden bei 7826 g zentrifugiert und vom Überstand 20 µL injiziert.

Trennung und Detektion

Die Analyse der Extrakte erfolgte mit dem in Kapitel 2.4 beschriebenen HPLC-PDA System.

Fließmittel A: 0,5 %-ige Phosphorsäure

Fließmittel B: Acetonitril gradient grade

Tab. 2.2 Gradient zur Extraktanalytik.

t [min]	Fließmittel B [%]	
0,0	6	isokratisch bis
1,5	6	linear bis
6,5	12	linear bis
8,5	18	isokratisch bis
18,5	18	linear bis
19,5	22	isokratisch bis
29,5	22	linear bis
30,5	100	isokratisch bis
35,5	100	linear bis
36,5	6	isokratisch bis
50,5	6	Ende

Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte bei 330 nm.

Quantifizierung

Die Caffeoylchinasäuren wurden über die Kalibrierfunktion von Chlorogensäure und die Flavonoide über die von Luteolin-7-O-glucosid quantifiziert.

2.6.5 Diätplan

Da es sich bei den zu untersuchenden Inhaltsstoffen um in Nahrungsmitteln ubiquitär vorkommende Verbindungen handelte, war die strikte Einhaltung einer pflanzenfreien Ernährung Grundvoraussetzung für die Auswertbarkeit der Studie.

Es musste daher während der zweitägigen Run-In-Phase sowie am Untersuchungstag auf folgende Nahrungsmittel verzichtet werden:

- Tee, Kaffee, Bier, Wein Saft
- Gemüse, Obst, Kräuter
- Müsliprodukte
- Keks- u. Kuchenfertigprodukte
- Schokolade, Aromastoffe
- Marmelade, Honig

Erlaubt waren:

- Wasser, Milch, Buttermilch
- Eier
- Weißbrot, Brötchen, Baguette
- Milch, Joghurt, Quark, Sahne (ohne Früchte)
- Käse (ohne Kräuter)
- Fleisch, Schinken, Fisch (ungewürzt)
- Reis, Nudeln
- Salz, Vitamin C

2.6.6 Studienablauf

Der Rekrutierung der Probanden (mit Aufklärung und Einwilligung) schloss sich die Überprüfung des Gesundheitszustandes mittels körperlicher Untersuchung und Bestimmung der Laborwerte an. Der einwandfreie Gesundheitszustand war Grundvoraussetzung für die Fortführung der Studie und den Übergang in die Diätphase.

Nach einem Tag ambulanter medikationsfreier Run-In-Phase unter strenger pflanzenfreier Diät erfolgten am zweiten Tag der Run-In-Phase 2 Blutentnahmen, um später die Einhaltung der Diät überprüfen zu können.

Am dritten Tag (Studientag) wurden die Probanden hospitalisiert. Unter Fortsetzung der vorgegebenen Diät wurde die Prüfmedikation oder das Referenzpräparat per oral verabreicht, nach einem strikten Zeitschema Blut entnommen und der Urin über 24

Stunden gesammelt. Am 4. Tag erfolgte die letzte Blutentnahme (24-Stundenwert) und eine Zwischen- bzw. Abschlussuntersuchung.

Zwischen den beiden Phasen wurde eine ambulante Auswaschphase von mindestens 10 Tagen eingefügt. Während dieser Zeit bestand keine Diätvorschrift.

Blutentnahmen

Zur Überprüfung der Ein-/Ausschlusskriterien (Laborparameter) wurden jedem Studienteilnehmer einmalig zu Studienbeginn und -ende ca. 20 mL Blut entnommen. Zu jeder Untersuchungsphase wurden für die pharmakokinetischen Messungen an Tag 2 bzw. 16 (2 mal) und an Tag 3-4 bzw. 17-18 (13 mal) je 1 S-Monovette (Sarstedt, Art. Nr. 02.1066.0012) zu 9 ml Blut benötigt.

Während der Medikationsphasen wurde den Probanden jeweils eine Venenverweilkanüle gelegt und zur AUC Bestimmung zu den Zeitpunkten $t=0$; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 12 und 24 h jeweils 9 mL Blut in EDTA- enthaltende Blutröhrchen (S-Monovetten[®]) entnommen. Nach der Entnahme wurden die Blutproben wie in Kapitel 2.5.2 beschrieben weiterbehandelt. Innerhalb beider Messphasen verteilt über mindestens 3 Wochen wurden jedem Probanden somit einschließlich der Vor- und Nachuntersuchung insgesamt ca. 300 mL Blut abgenommen.

Urinsammlung

Vor Applikation der Medikation erfolgte eine Urinabgabe von 50 mL in ein Falkontube als Nullwert. Danach wurde der 24 h Urin in Urinsammelflaschen gesammelt. Diese wurden bis zur letzten Urinabgabe im Kühlschrank gelagert und die Gesamtmenge vermerkt. Die jeweilige Urinabgabe erfolgte in einem gesonderten Gefäß. Zur Stabilisierung wurden pro 200 mL ca. 1 g Ascorbinsäure als Antioxidans zugesetzt. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurden 50 mL des gesammelten Urins abgenommen und bei -80°C gelagert.

Probenkodierung

Die Plasmaproben der Hauptstudie wurden nach folgendem Prinzip kodiert:

- Probandennummer: 01 bis 14
- Präparatbezeichnung: R=Referenzpräparat
P=Prüfpräparat

- Blutentnahmezeitpunkt: 0=Nullwert; 1 = 0,25 h; 2 = 0,5 h; 3 = 0,75 h;
4 = 1 h; 5 = 1,5 h; 6 = 2 h; 7 = 3 h, 8 = 4 h;
9 = 6 h; 10 = 8 h; 11 = 12 h; 12 = 24 h

Die einzelnen Punkte waren durch Unterstriche voneinander getrennt (z.B. 01_R_10).

Die Urinproben waren entsprechend der Plasmaproben kodiert: Probandennummer, gefolgt von der Präparatbezeichnung. Die Abgabezeitpunkte waren mit NW für Nullwert und SU für Sammelurin gekennzeichnet (z.B. 01_R_SU).

2.7 Entwicklung und Validierung einer Methode zur Probenaufarbeitung und Plasmaanalytik für die Hauptstudie

Die Entwicklung der Methode erfolgte unter Einbeziehung der im Plasma der Pilotstudie identifizierten Substanzen Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin.

2.7.1 Probenaufarbeitung

Die zur Analyse der Pilotstudie verwendete Aufarbeitungsmethode (siehe Kapitel 2.5.2) sah nach dem Enzymassay kein weiteres Ansäuern der Proben vor. Dadurch lagen die Hydroxyzimtsäuren teilweise protoniert als auch unprotoniert vor, was zu Doppelpeaks im Chromatogramm führte. Es wurde daher versucht, das Peakshape der Hydroxyzimtsäuren durch Zusatz verschiedener Säuren an unterschiedlichen Punkten während der Aufarbeitung zu verbessern. Optimale Peaks bei ausreichender Wiederfindung ergaben sich nach der Zugabe von 20 µL 1 M Trifluoressigsäure vor dem Aufkonzentrierungsschritt. Zusätzlich wurde, um die Löslichkeit der hydrophilen Hydroxyzimtsäuren zu erhöhen, der Rückstand nach dem Abdampfen in Methanol / Wasser 1:1 (V/V) anstelle von Dimethylformamid / Wasser 2:1 (V/V) gelöst. Daraus ergab sich für die Analyse der Proben aus der Hauptstudie folgende Aufarbeitung:

Jede Probe wurde sowohl mit und als auch ohne Glucuronidase-Assay aufgearbeitet. Dazu wurden zu einem 500 µL Aliquot 10 µL einer 0,5 % wässrigen Vitamin C-Lösung (m/V) gegeben. Anschließend wurde der pH-Wert mit 0,58 M Essigsäure auf pH 5,0 eingestellt. Nach Zugabe von 30 µL β-Glucuronidase (Sigma 0751) und

Vortexen inkubierte der Enzymassay bei 37°C für 60 min. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 600 µL Aceton gestoppt. Der Ansatz wurde gevortext und anschließend für 10 min bei 7826 g zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein Eppendorf Reaktionsgefäß überführt und nach Zugabe von 10 µL einer 0,5 % wässrigen Vitamin C-Lösung (m/V) und 20 µL 1 M Trifluoressigsäure in der Vakuumzentrifuge bis zur Trockene einrotiert. Der Rückstand wurde in 150 µL Methanol / Wasser 1:1 (V/V) durch Vortexen vollständig resuspendiert, für 10 min bei 7826 g zentrifugiert und der Überstand mittels HPLC-CAD analysiert. Die Aufarbeitung ohne Glucuronidase-Assay erfolgte analog. Anstelle von 30 µL Enzymlösung wurden hier 30 µL Wasser hinzugesetzt.

2.7.2 HPLC Analyse der Plasmaproben

Zur selektiven Trennung der in Kapitel 2.7 genannten Analyten von Plasmapeaks wurde ein neuer Gradient entwickelt. Die Analyse erfolgte mit dem in Kapitel 2.3 beschriebenen HPLC-CAD System.

Fließmittel A: 0,2 M Natriumdihydrogenphosphat Lsg. mit o-Phosphorsäure auf pH 2 eingestellt, steril filtriert

Fließmittel B: Mischung aus Methanol und 0,1 M Natriumdihydrogenphosphat Lsg. (4:1 V/V) und Zusatz von 0,25 % o-Phosphorsäure, steril filtriert

Tab. 2.3 Gradient zur Analyse der Plasmaproben aus der Hauptstudie.

t [min]	Fließmittel B [%]	
0,0	28	linear bis
5,0	33	isokratisch bis
30,5	33	linear bis
50,0	45	isokratisch bis
57,5	45	linear bis
87,5	100	isokratisch bis
97,0	100	linear bis
98,0	28	isokratisch bis
108,0	28	Ende

Die 12 Elektroden des coulometrischen Array Detektors waren in Inkrementen von 75 mV über einen Spannungsbereich von 75 – 900 mV gesetzt. Die Auswertung der Analyten erfolgte an folgenden Potentialen: Kaffeesäure 225 mV, Dihydrokaffeesäure 150 mV, Ferulasäure 375 mV, Dihydroferulasäure 375 mV, Isoferulasäure 450 mV und Luteolin 150 mV.

2.7.3 Validierung der Plasmaanalytik zur Auswertung der Hauptstudie

Die Validierung der Analytik wurde bezüglich Selektivität, Bestimmungsgrenze, Kalibriergeraden, Linearität, Präzision, Richtigkeit, Wiederfindung und Autosamplerstabilität in Anlehnung an einen Richtlinienentwurf „Bioanalytical Methods Validation for Human Studies – Draft Guidance“ des U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, vorgenommen (Guidance for Industry (Draft) - Bioanalytical Methods Validation for Human Studies).

Plasmamatrix

Als Matrix für die Validierung diente eine homogene Mischung aus blank Plasma (gewonnen am Zeitpunkt $t=0$) von neun Probanden.

Standardlösung

Die Standardlösung enthielt die Analyten Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin gelöst in Methanol. Diese Lösung wurde bei Nichtgebrauch im Kühlschrank bei 2-8°C gelagert. Zur Validierung wurden jeweils 500 μL blank Plasma mit 50 μL einer wässrigen Verdünnungen der Standardlösung versetzt. Dadurch wurde sichergestellt, dass die entstandene Matrix im Wesentlichen dem Plasma glich.

2.7.3.1 Selektivität

Zur Überprüfung der Selektivität wurde eine homogene Matrix aus blank Plasma von neun Probanden mit und ohne Glucuronidase-Assay aufgearbeitet und auf Interferenzen mit einer wässrigen Standardlösung verglichen.

2.7.3.2 Kalibrierfunktion und Linearität

Die Linearität wurde für alle Analyten an drei Tagen anhand von mindestens sechs Konzentrationsstufen bestimmt. Jede Konzentrationsstufe wurde dabei jeweils doppelt aufgearbeitet. Zur Bestimmung der Linearität wurden die Flächen des elektrochemischen Signals gegen die Konzentrationen aufgetragen und mittels linearer Regression die Kalibriergeraden erstellt.

2.7.3.3 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze war definiert als die Konzentration der Kalibriergeraden, die noch mit ausreichender Präzision und Richtigkeit (Variationskoeffizient, CV und Richtigkeit, RE \leq 20 %) bestimmt werden konnte. Durchführung siehe Kapitel 2.7.3.4.

2.7.3.4 Präzision und Richtigkeit

Die Bestimmung von Präzision und Richtigkeit erfolgte an zwei Tagen. Dazu wurden Fünffachbestimmungen an drei verschiedenen Konzentrationsstufen, die jeweils den gesamten Kalibrierungsbereich abdeckten, pro Analyt durchgeführt. Es wurden sowohl „within-day precision“ als auch „between-day precision“ ermittelt. Beide wurden durch den Variationskoeffizienten (CV [%]) beschrieben. Unter „within-day precision“ versteht man die Präzision aus einer Mehrfachbestimmung innerhalb eines analytischen Laufs, unter „between-day precision“ die Präzision zwischen Mehrfachbestimmungen an verschiedenen Tagen. Die „between-day precision“ wurde aus den Mittelwerten der „within-day precision“ an den jeweiligen Konzentrationsstufen berechnet. Die Richtigkeit an den jeweiligen Konzentrationsstufen wurde als prozentuale relative Abweichung (RE [%]) aus der Kalibrierfunktion errechneten Konzentration zum wahren Wert angegeben. Der wahre Wert war über die bekannte Einwaage des Analyten definiert (Guidance for Industry (Draft) - Bioanalytical Methods Validation for Human Studies).

Präzision bei Aufarbeitung mit Enzymassay

Um zu überprüfen, ob die Methode auch bei der Aufarbeitung mit Enzymassay valide Ergebnisse liefert, wurden fünf Plasmaproben an einer Konzentrationsstufe von $20 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ nach Zugabe von β -Glucuronidase aufgearbeitet.

2.7.3.5 Wiederfindung

Die Wiederfindung der Analyten im Plasma nach Aufarbeitung wurde entsprechend der Präzision und Richtigkeit für alle Analyten an drei Konzentrationsstufen über jeweils den gesamten Kalibrierbereich bestimmt. Dabei wurden die Peakflächen, die durch direktes Einspritzen der Analyten in wässrig-methanolischer Lösung erhalten wurden, mit denen nach Plasmaaufarbeitung verglichen. Die Menge der Analyten in den Plasmaproben entsprach der Menge, die direkt eingespritzt wurde.

2.7.3.6 Autosamplerstabilität

Zur Bestimmung der Stabilität im Autosampler wurden jeweils zwei Plasmaproben an einer Konzentrationsstufe von $25 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ direkt nach der Aufarbeitung vermessen und dann im Autosampler bei einer Temperatur von 15°C gelagert. Die Überprüfung der Stabilität erfolgte nach 24, 48 und 72 h.

2.7.3.7 Quantifizierung der Plasmaproben aus der Hauptstudie

Zur Erstellung der Kalibriergeraden für die Quantifizierung der Plasmaproben aus der Hauptstudie wurden die an drei Tagen zur Bestimmung der Linearität erhaltenen Flächen je Konzentrationspunkt gemittelt und gegen die Konzentration aufgetragen. Die resultierenden Kalibriergeraden und die Kalibrierfunktionen sind in Abb. 2.1 dargestellt.

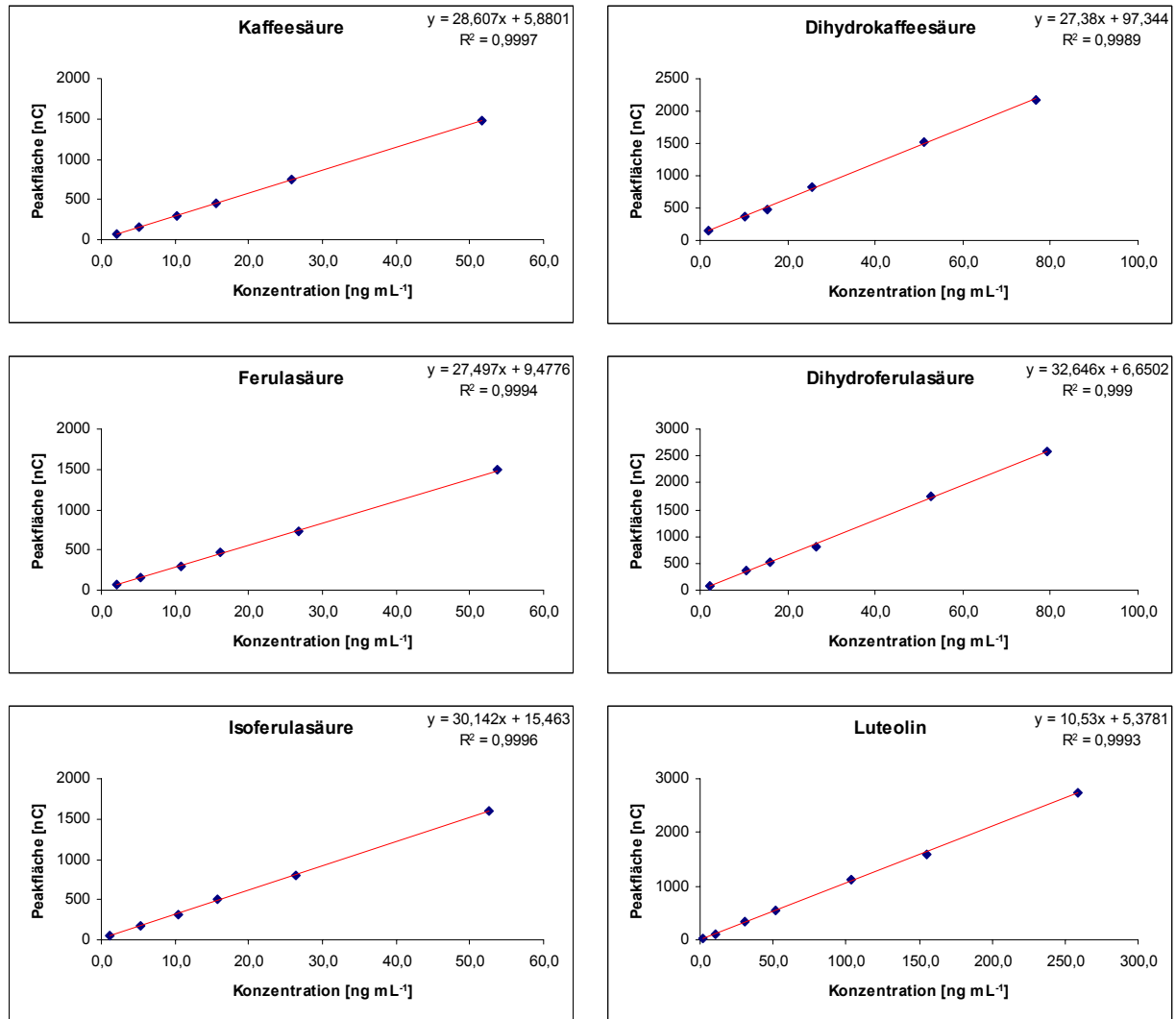


Abb. 2.1 Kalibriergeraden und Kalibrierfunktionen zur Quantifizierung der Analyten im Plasma.

2.8 Entwicklung und Validierung einer Methode zur Probenaufarbeitung und Urinanalytik für die Hauptstudie

Die Methodenentwicklung zur Bestimmung von Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin in humanem Urin basierte auf den in Kapitel 2.7 beschriebenen Methoden zur Aufarbeitung und HPLC Analyse von humanem Plasma. Probenaufarbeitung und HPLC Gradient mussten unter Berücksichtigung der veränderten Matrix geringfügig modifiziert werden.

2.8.1 Probenaufarbeitung

Um sowohl mit Glucuronsäure und Schwefelsäure konjugierte als auch freie Substanzen im Urin zu bestimmen, wurde die Aufarbeitung für jede Probe mit und ohne Glucuronidase-Assay durchgeführt. Die Aufarbeitung eines 500 µL Urinaliquots erfolgte im Wesentlichen analog der Plasmaaufarbeitung (siehe Kapitel 2.7.1). Die Methode erforderte das Einstellen der Proben auf pH 5, um dem pH Optimum des Enzyms zu entsprechen. Da der pH-Wert der Urinproben durch den Ascorbinsäurezusatz bereits im sauren Bereich lag, erfolgte die pH-Wert-Einstellung mit 1 M Natronlauge. Aufgrund der höheren Konzentrationen der Analyten im Urin war außerdem eine Aufkonzentrierung der Proben wie bei der Plasmaaufarbeitung nicht mehr in dem Maße notwendig. Nach dem Abdampfen des Überstands wurde der Rückstand daher in 250 µL anstelle von 150 µL Methanol / Wasser 1:1 (V/V) aufgenommen.

2.8.2 HPLC Analyse der Urinproben

Auch die Analyse der Urinproben erfolgte mit dem in Kapitel 2.3 beschriebenen HPLC System. Zur selektiven Trennung der in Kapitel 2.8 aufgeführten Analyten von der Urinmatrix musste der zur Analyse der Plasmaproben entwickelte Gradient nur leicht modifiziert werden. Alle anderen Methodenparameter und die Fließmittelzusammensetzung blieben unverändert.

Tab. 2.4 Gradient zur Analyse der Urinproben aus der Hauptstudie.

t [min]	Fließmittel B [%]	
0,0	28	linear bis
5,0	33	isokratisch bis
30,5	33	linear bis
42,5	45	isokratisch bis
57,5	45	linear bis
87,5	100	isokratisch bis
97,0	100	linear bis
98,0	28	isokratisch bis
108,0	28	Ende

Um eine selektive Trennung der Analyten von Matrixpeaks zu erhalten, wurde das Potential zur Auswertung von Dihydrokaffeesäure von 150 mV in 225 mV und das von Isoferulasäure von 450 mV in 375 mV geändert. Die Auswertpotentiale aller anderen Analyten entsprachen denen der Plasmaanalytik.

2.8.3 Validierung der Urinanalytik zur Auswertung der Hauptstudie

Die Validierung der Urinanalytik wurde entsprechend der in Kapitel 2.7.3 beschriebenen Kriterien für die Plasmaanalytik vorgenommen.

Urinmatrix

Als Matrix für die Validierung diente eine homogene Mischung aus blank Urin (Nullwert) von sechs Probanden.

Standardlösung

Die Standardlösung enthielt die Analyten Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin gelöst in Methanol. Diese Lösung wurde bei Nichtgebrauch im Kühlschrank bei 2-8°C gelagert. Zur Validierung wurden jeweils 500 µL blank Urin mit 50 µL einer wässrigen Verdünnungen der Standardlösung versetzt. Dadurch wurde sichergestellt, dass die entstandene Matrix im Wesentlichen dem Urin glich.

2.8.3.1 Selektivität

Zur Überprüfung der Selektivität wurde eine homogene Matrix aus blank Urin von sechs Probanden mit und ohne Glucuronidase-Assay aufgearbeitet und auf Interferenzen mit einer wässrigen Standardlösung verglichen.

2.8.3.2 Kalibrierfunktion und Linearität

Die Linearität wurde für alle Analyten wie in Kapitel 2.7.3.2 beschrieben bestimmt. Zur Bestimmung der Linearität wurden jeweils die Flächen des elektrochemischen Signals gegen die Konzentrationen aufgetragen und mittels linearer Regression die Kalibriergeraden erstellt.

2.8.3.3 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze war definiert als die Konzentration der Kalibriergeraden, die noch mit ausreichender Präzision und Richtigkeit (Variationskoeffizient, CV und Richtigkeit, RE ≤ 20 %) bestimmt werden konnte. Durchführung siehe Kapitel 2.8.3.4.

2.8.3.4 Präzision und Richtigkeit

Die Bestimmung von Präzision und Richtigkeit wurde entsprechend Kapitel 2.7.3.4 durchgeführt.

2.8.3.5 Wiederfindung

Die Wiederfindung der Analyten im Urin nach Aufarbeitung wurde analog zu Kapitel 2.7.3.5 bestimmt.

2.8.3.6 Autosamplerstabilität

Zur Bestimmung der Stabilität im Autosampler wurden jeweils zwei Urinproben an einer Konzentrationsstufe von $250 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ direkt nach der Aufarbeitung vermessen und dann im Autosampler bei einer Temperatur von 15°C gelagert. Die Überprüfung der Stabilität erfolgte nach 24, 48 und 96 h.

2.8.3.7 Quantifizierung der Urinproben aus der Hauptstudie

Zur Erstellung der Kalibriergeraden für die Quantifizierung der Urinproben aus der Hauptstudie wurden die an drei Tagen zur Bestimmung der Linearität erhaltenen Flächen je Konzentrationspunkt gemittelt und gegen die Konzentration aufgetragen. Die resultierenden Kalibriergeraden und die Kalibrierfunktionen sind in Abb. 2.2 dargestellt.

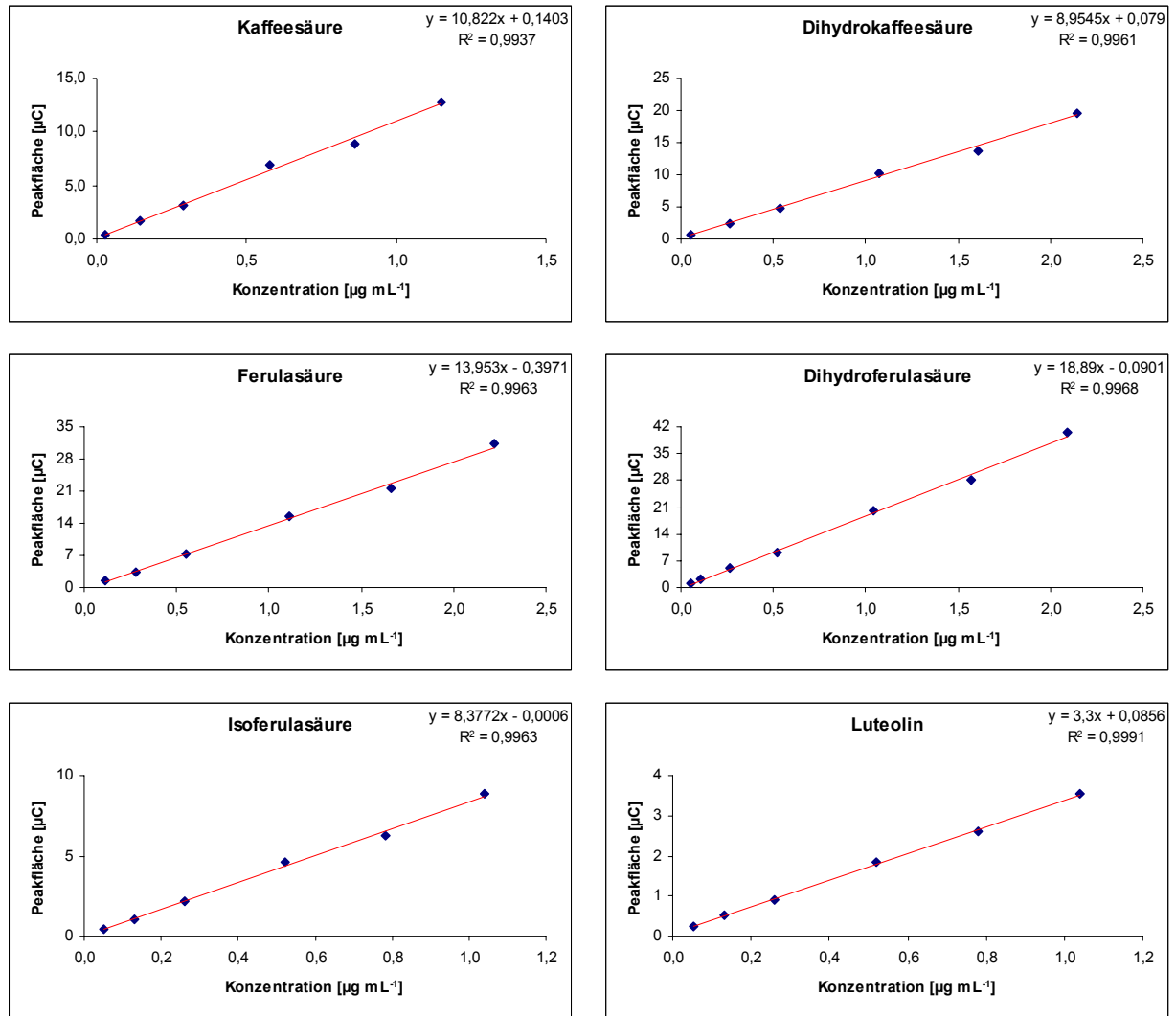


Abb. 2.2 Kalibriergeraden und Kalibrierfunktionen zur Quantifizierung der Analyten im Urin.

2.9 Pharmakokinetische Analyse

2.9.1 Nichtkompartimentelle Analyse

Die nichtkompartimentelle Analyse wurde unter Verwendung von Kinetica® 2000 Version 4.01 (InnaPhase Corporation, Philadelphia, USA) durchgeführt. Die von der Software vorgegebenen pharmakokinetischen Parameter wurden wie folgt definiert:

C_{max}	maximale Plasmakonzentration
t_{max}	Zeit zum Erreichen der maximalen Plasmakonzentration
k_{el}	terminale Eliminationskonstante
t_{1/2}	terminale Eliminationshalbwertszeit
AUC_{0→last}	„area under the curve“ Zeitpunkt t=0 bis zum letzten Messzeitpunkt t=t _{last}
AUC_{tot}	„area under the curve“ vom Zeitpunkt t=0 bis unendlich

Die Werte für C_{max} und t_{max} wurden direkt aus den gemessenen Daten erhalten. AUC_{0→last} wurde unter der Voraussetzung, dass C_n größer als C_{n-1} war, mit Hilfe der „log-linearen“ Trapezregel aus dem Konzentrations-Zeit-Verlauf von t=0 bis t=t_{last} berechnet. AUC_{tot} ergab sich aus computergestützter Abschätzung von k_{el} durch lineare Regression der letzten Datenpunkte aus dem semilogarithmisch transformierten Konzentrations-Zeit-Verlauf. Grundlage war die Beziehung: k_{el} = Steigung * 2,303. T_{1/2} wurde aus dem Zusammenhang t_{1/2} = ln2/k_{el} bestimmt.

2.9.1.1 Abzug des Basiswertes für die nichtkompartimentelle Analyse

Trotz zweitägiger pflanzenfreier Diät während der Run-In-Phase waren Kaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure und Luteolin bereits vor Applikation der Studienmedikation im Plasma nachweisbar. Vor der pharmakokinetischen Auswertung wurde daher für die o.g. Analyten ein Basiswert abgezogen. Die gemessenen Plasmaspiegel zum Zeitpunkt t=0 und t=24 h entsprachen sich in etwa, so dass vereinfachend davon ausgegangen wurde, dass die individuellen Basiswerte während des Studientages konstant blieben. Da die Plasmaspiegel an t=0 und t=24 h jedoch häufig nicht exakt den gleichen Zahlenwert hatten, wurden individuell für jeden Probanden der erste und letzte Messzeitpunkt aus dem Konzentrations-Zeit-

Verlauf mit einer Geraden verbunden und die Gradengleichung bestimmt. Aus der Gleichung wurde dann für jeden Messzeitpunkt t die Konzentration des Basiswertes berechnet und von der gemessenen Konzentration abgezogen.

2.9.2 Statistik

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mittels Kinetica[®] 2000 Version 4.01 (InnaPhase Corporation, Philadelphia, USA). Entsprechend dem randomisierten Cross-over-Studiendesign wurden die Daten mittels Two-Way Analysis of Variance (ANOVA) ausgewertet. Als Faktoren galten Proband sowie Studienmedikation, als abhängige Variablen wurden die pharmakokinetischen Parameter C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$ und U_t gewählt. Aufgrund der unterschiedlichen Dosierung der Studienmedikationen erfolgte die statistische Auswertung von C_{max} , AUC_{tot} und U_t mit dosisnormierten Werten. Dazu wurden für die Substanzen Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure und Isoferulasäure die den Caffeoylechinasäuren äquivalenten Mengen Kaffeesäure (Gesamtextrakt 106,95 mg; Spezialextrakt 153,84 mg) und für Luteolin die den Flavonoiden äquivalenten Mengen Luteolin (Gesamtextrakt 14,40 mg; Spezialextrakt 35,23 mg) als Dosis zugrunde gelegt. Zur besseren Annäherung der Daten an eine Normalverteilung wurden alle Werte logarithmisch transformiert. Das Signifikanzniveau betrug $\alpha = 0,05$.

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der Pilotstudie

3.1.1 Nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma identifizierte Substanzen

Die Plasmaproben der Pilotstudie wurden mit der in Kapitel 2.5.2 beschriebenen Methode mit bzw. ohne Glucuronidase-Assay aufgearbeitet und analysiert. Dabei handelte es sich um eine vorläufige nicht validierte Methodik. Zunächst stand die Ermittlung von Substanzen, die nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma verfügbar waren und eine Konzentrationskinetik zeigten, im Vordergrund.

Genuine in Artischockenblätter-Extrakt enthaltene Caffeoylechinasäuren wurden weder vor noch nach β -Glucuronidase-Assay in den Plasmaproben nachgewiesen (Abb. 3.1). Nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten konnten anhand von Referenzsubstanzen aber Phase-I-Metabolite der Kaffeesäure (Ferulasäure, Isoferulasäure) und die Hydrogenierungsprodukte Dihydrokaffeesäure und Dihydroferulasäure im Plasma identifiziert werden (Abb. 3.2). Kaffeesäure selbst wurde mit der analytischen Methode der Pilotstudie nicht erfasst. Während der Methodenentwicklung zur Hauptstudie zeigte sich jedoch, dass auch Kaffeesäure in den Proben der Pilotstudie enthalten war. Bei Aufarbeitung ohne β -Glucuronidase-Zusatz wurde nur Dihydroferulasäure in den Plasmaproben detektiert. Die genuinen Caffeoylechinasäuren aus Artischockenblätter-Extrakt lagen also in Form von Kaffeesäure-, Dihydrokaffeesäure-, Dihydroferulasäure-, Ferulasäure-, Isoferulasäure-Konjugaten und nicht-konjugierter Dihydroferulasäure im Plasma vor. Es ist zu beachten, dass der Nachweis der Konjugate nur indirekt über enzymatische Spaltung erfolgte.

Auch das genuin in Artischockenblätter-Extrakt enthaltene Luteolin-7-O-glucosid wurde weder vor noch nach β -Glucuronidase-Assay in den Plasmaproben gefunden (Abb. 3.1). Nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten konnte jedoch anhand der Referenzsubstanz das Aglykon Luteolin in den Plasmaproben identifiziert werden (Abb. 3.2). Freies Luteolin wurde in den Plasmaproben nicht detektiert. Luteolin lag demnach ausschließlich in Form von Phase-II-Konjugaten im Plasma vor. Auch hier ist zu beachten, dass der Nachweis der Konjugate nur indirekt über enzymatische Spaltung erfolgte.

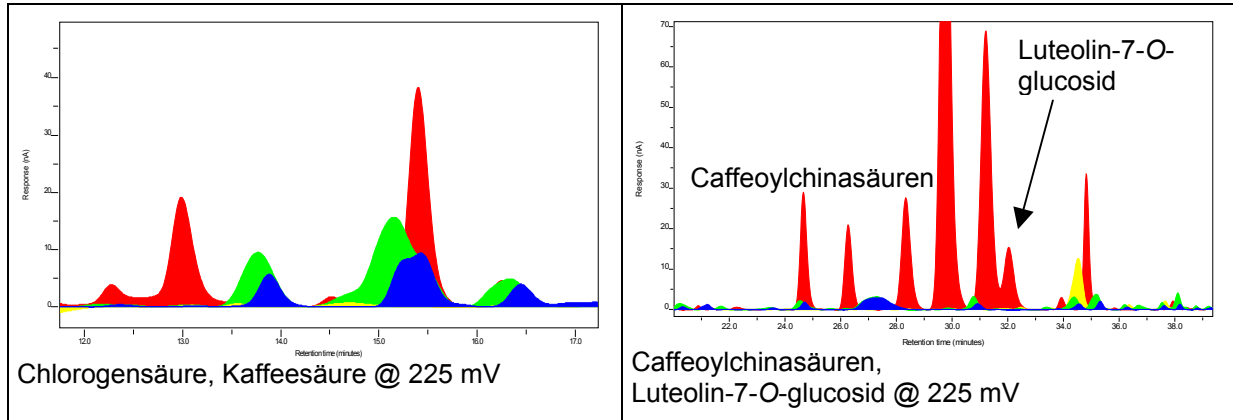


Abb. 3.1 Vergleich der Chromatogramme: Plasmaprobe zum Zeitpunkt t=0 (blau), t=1,5 h vor enzymatischer Spaltung (gelb) und t=1,5 h nach enzymatischer Spaltung (grün) mit einer Standardlösung genuiner Extraktbestandteile (rot).

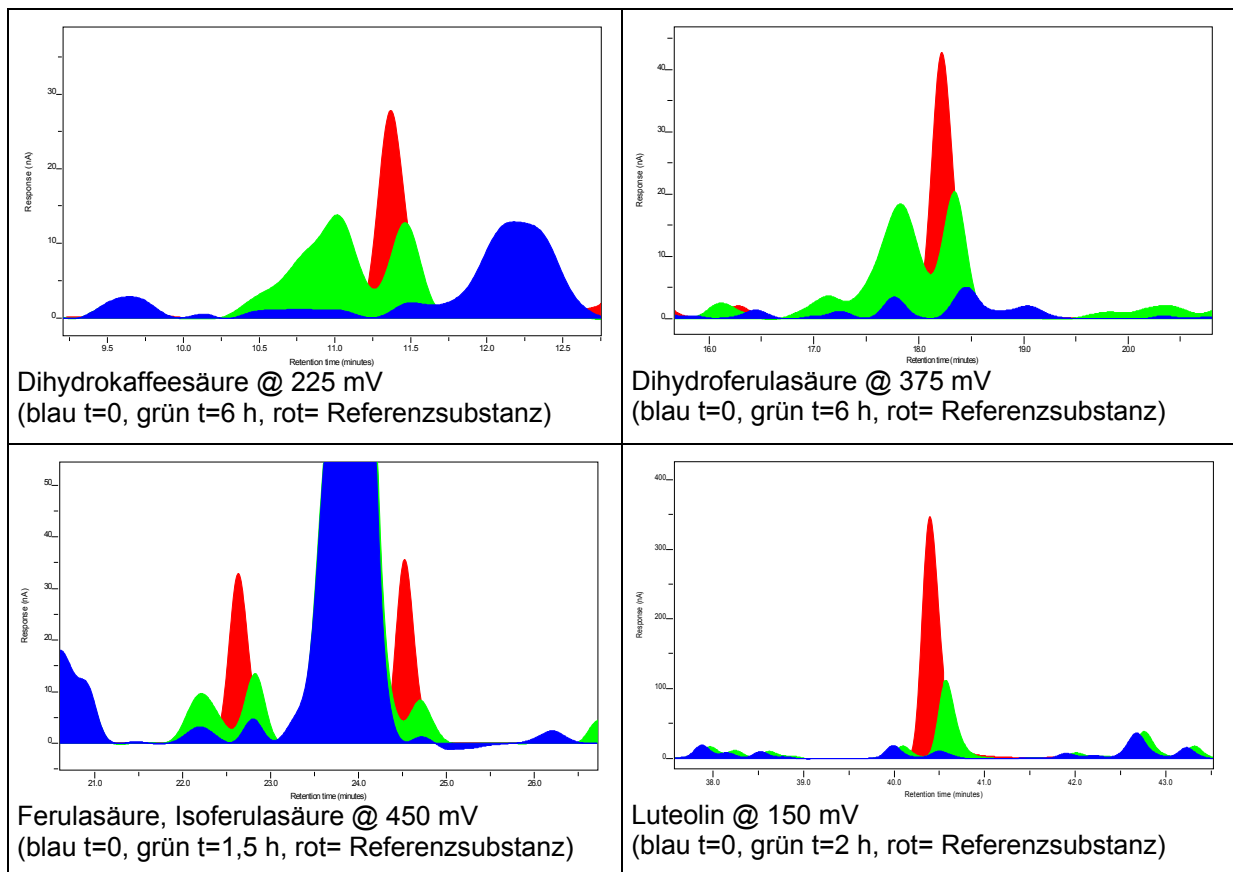


Abb. 3.2 Identifizierung von Dihydrokaffeesäure, Dihydroferulasäure, Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt.

3.1.2 „Peakflächen“-Zeit-Verläufe der im Plasma identifizierte Substanzen nach enzymatischer Spaltung der Konjugate

Aufgrund des Pilotcharakters der Studie erfolgte die quantitative Auswertung lediglich über eine Bestimmung der Peakflächen. Die Auswertung der „Peakflächen“-Zeit-Verläufe diente vor allem zur Planung der Hauptstudie hinsichtlich Messzeitraum, Diät und Dosis.

Nach enzymatischer Spaltung der Konjugate ergaben sich für die im Plasma identifizierte Substanzen die in Abb. 3.3 dargestellten „Peakflächen“-Zeit-Verläufe.

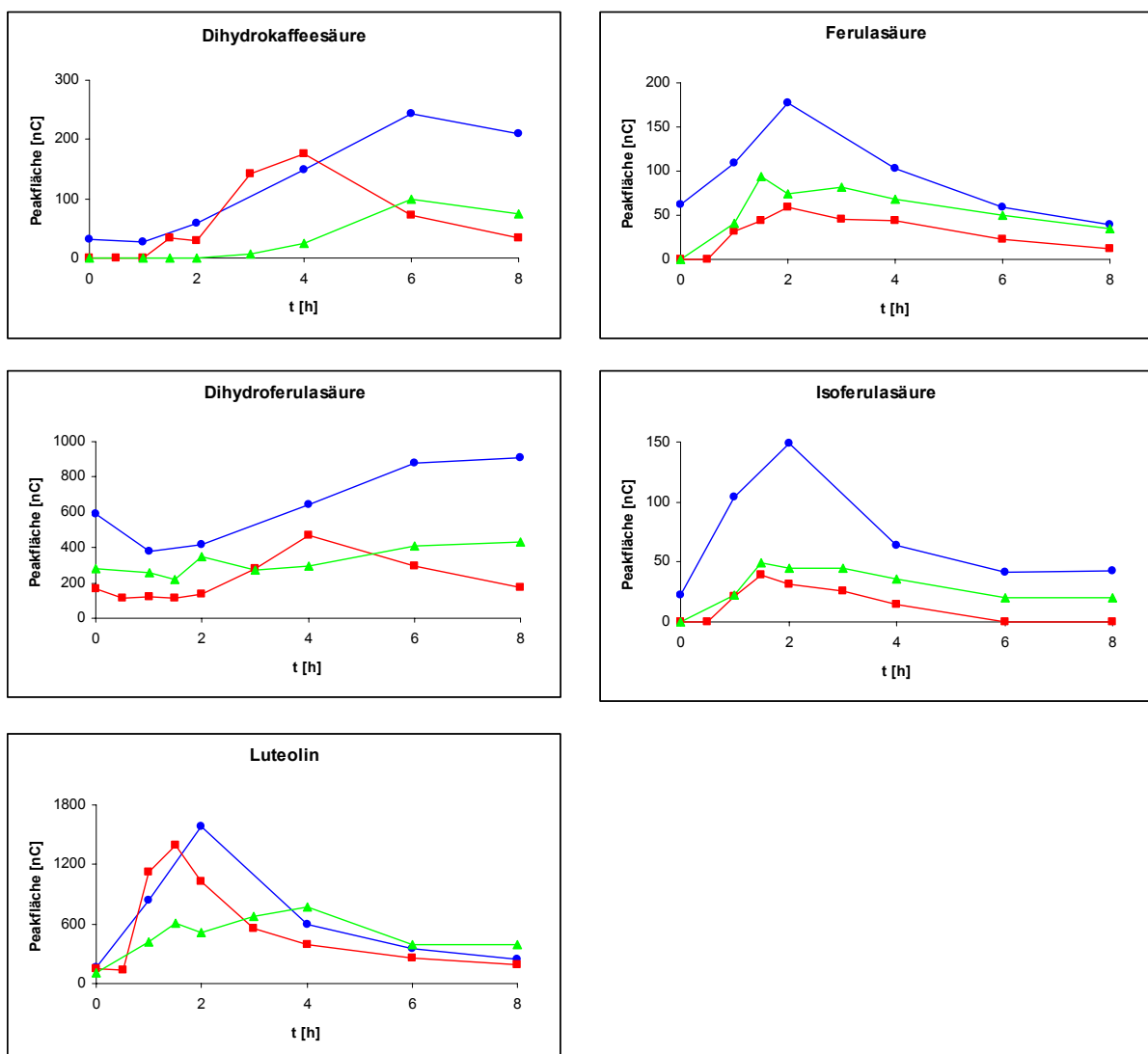


Abb. 3.3 Individuelle „Peakflächen“-Zeit-Verläufe (● Proband 1, ▲ Proband 2, ■ Proband 3) für im Plasma identifizierte Substanzen (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt.

Anhand ihrer Kinetiken konnten die Substanzen in zwei Gruppen eingeteilt werden. Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin erreichten nach 1,5 bis 2 h, Dihydrokaffeesäure und Dihydroferulasäure hingegen erst nach 6 bis 8 h maximale Plasmaspiegel. Während die Plasmaspiegel von Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin nach Erreichen des Maximums innerhalb des Messzeitraums von 8 h bereits wieder fast auf die Basiswerte abfielen, wurde die Eliminationsphase von Dihydrokaffeesäure und Dihydroferulasäure mit einer Messzeit von nur 8 h nicht erfasst. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde der Beobachtungszeitraum für die Hauptstudie angepasst und bis $t=24$ h ausgedehnt.

Die „Peakflächen“-Zeit-Verläufe zeigten für Proband 1, dass alle Substanzen bereits vor der Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma detektiert wurden. Bei den Probanden 2 und 3 war hingegen nur Dihydroferulasäure vor Beginn der Studie im Plasma nachweisbar. Proband 1 hatte nach eigenen Angaben die pflanzenfreie Diät während der Run-In-Phase nur einen statt der geforderten zwei Tage eingehalten und war ein starker Kaffeetrinker. Die Ergebnisse verdeutlichten, dass die Einhaltung einer strikten pflanzenfreien Diät unbedingt erforderlich war, um Basiswerte der Analyten zu Beginn der Studie zu vermeiden. Eine entsprechende Diät während der Run-In-Phase und über die gesamte Studiendauer wurde daher bei der Planung der Hauptstudie berücksichtigt.

Deutlich war auch eine Dosisabhängigkeit aus den „Peakflächen“-Zeit-Verläufen zu sehen. Für Proband 1, der gegenüber Proband 2 und 3 die doppelte Dosis an Artischockenblätter-Extrakt erhalten hatte, wurden bei allen Substanzen höhere Plasmaspiegel gemessen. Nur für Luteolin konnte in den maximalen Plasmaspiegel von Proband 1 und 3 kaum ein Unterschied festgestellt werden. Da die Analytik für beide Dosierungen ausreichende Sensitivität bot, konnte für die Hauptstudie eine Dosis im Bereich von 500 - 1000 mg Artischockenblätter-Spezialextrakt gewählt werden.

3.1.3 Analytik der Pilotstudie und Methodenentwicklung

Ein weiterer Schwerpunkt der Pilotstudie lag auf der Entwicklung einer Aufarbeitungs- und Analysenmethode für die Hauptstudie. Die ursprünglich speziell zur Extraktion des Flavonoids Quercetin aus humanem Plasma entwickelte Aufarbeitungsmethode war für die Analyse der Plasmaproben der Pilotstudie nur

bedingt geeignet. Während das nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten in den Proben detektierte Flavonoid Luteolin zufriedenstellend extrahiert werden konnte, zeigten die als Hydroxyzimtsäuren identifizierten Substanzen in den generierten Chromatogrammen Doppelpeaks (Abb. 3.2). Die Methode sah nach dem Enzymassay kein weiteres Ansäuern der Proben vor, so dass die phenolischen Säuren teilweise protoniert als auch unprotoniert vorlagen. Die Probenaufarbeitung musste demnach für die Aufarbeitung der Hauptstudie optimiert werden (siehe Kapitel 2.7.1).

Das zur Analyse der Proben verwendete analytische Verfahren (HPLC-CAD) war für die im Plasma identifizierten Substanzen ausreichend sensitiv. Der gewählte Gradient ermöglichte jedoch keine Abtrennung von Kaffeesäure von der Plasmamatrix. Da sich die Selektivität auch für die anderen Substanzen während den Arbeiten zur Optimierung der Aufarbeitungsmethode verschlechterte, war für die Analyse der Hauptstudie die Entwicklung eines neuen robusteren Gradienten notwendig (siehe Kapitel 2.7.2).

3.2 Methode zur simultanen Bestimmung von Dihydrokaffeesäure, Kaffeesäure, Dihydroferulasäure, Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin im Plasma

Die zur Analyse der Plasmaproben aus der Hauptstudie entwickelte Methode ist im Detail in Kapitel 2.7 beschrieben. Die Methode konnte nach Entwürfen für internationale Richtlinien zur Validierung bioanalytischer Methoden validiert werden (Guidance for Industry (Draft) - Bioanalytical Methods Validation for Human Studies).

3.2.1 Selektivität

Blank Plasma, das mit β -Glucuronidase-Zusatz aufgearbeitet wurde, zeigte an den Retentionszeiten aller Analyten außer Dihydrokaffeesäure und Isoferulasäure kleine interferierende Peaks. Die hydrodynamischen Voltammogramme dieser Peaks entsprachen denen der Analyten. Dies deutete darauf hin, dass das blank Plasma trotz zweitägiger pflanzenfreier Diät während der Run-In-Phase nicht vollständig frei von Analyten war. Der Vergleich des Chromatogramms von blank Plasma, das ohne Glucuronidase-Assay aufgearbeitet worden war, mit dem von blank Plasma, das mit

einer Standardlösung der Analyten versetzt worden war, zeigte jedoch keine weiteren Interferenzen (Abb. 3.4).

Da das Enzymassay weder einen Einfluss auf die Selektivität gegenüber Plasmapeaks noch auf die Präzision (siehe Kapitel 3.2.3) der Aufarbeitung hatte, wurden die Plasmaproben zur Methodvalidierung ohne Enzymzusatz aufgearbeitet. Dieses ermöglichte aufgrund der nicht interferierenden Peaks zugleich das Erzielen einer niedrigeren Bestimmungsgrenze.

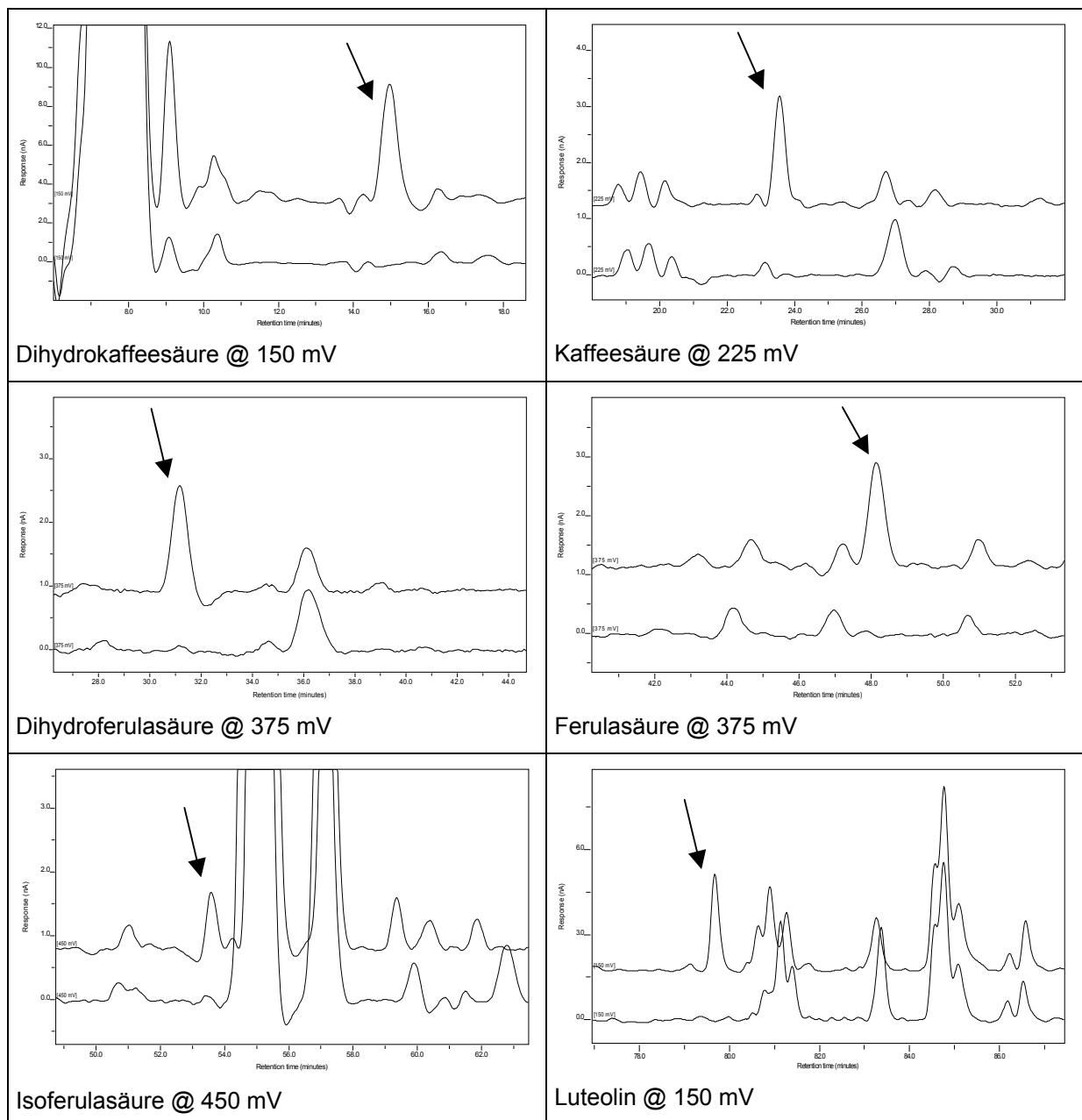


Abb. 3.4 Chromatogramme von blank Plasma und blank Plasma versetzt mit Analyten.

3.2.2 Kalibrierbereich, Linearität und Bestimmungsgrenze

Der Kalibrierbereich lag für Kaffeesäure zwischen 2,07-51,65 ng·mL⁻¹, für Dihydrokaffeesäure zwischen 2,04-76,65 ng·mL⁻¹, für Ferulasäure zwischen 2,15-53,65 ng·mL⁻¹, für Dihydroferulasäure zwischen 2,11-79,20 ng·mL⁻¹, für Isoferulasäure zwischen 1,05-52,60 ng·mL⁻¹ und für Luteolin zwischen 2,07-258,63 ng·mL⁻¹. Über den gesamten Kalibrierbereich konnte jeweils die Linearität nachgewiesen werden. Im Anhang in Tab. 7.2 sind die Daten für Kalibrierfunktion, Steigung und Achsenabschnitt für jeden Analyten im Einzelnen aufgelistet. Zusätzlich wurden zur Überprüfung der Linearität für alle Analyten die Residual Plots der Kalibriergeraden erstellt. Die Ergebnisse dazu finden sich im Anhang in Abb. 7.1.

Die unterste Konzentration des Kalibrierbereichs stellte zugleich für jeden Analyten die Bestimmungsgrenze dar. Präzision und Richtigkeit an der Bestimmungsgrenze (siehe Kapitel 3.2.3) entsprachen für alle Substanzen den allgemein für bioanalytische Methoden akzeptierten Anforderungen.

3.2.3 Präzision und Richtigkeit

Die Variationskoeffizienten (CV) sowie relative Fehler (RE) waren für alle Analyten sowohl für die „within-day precision“ als auch für die „between-day precision“ für die mittlere und hohe Konzentration < 15 % und für die Bestimmungsgrenze < 20 %. Sie entsprachen somit den von der FDA für die Validierung bioanalytischer Methoden angegebenen Anforderungen. Die Daten zu Präzision und Richtigkeit sind für alle Analyten im Einzelnen im Anhang in Tab. 7.3 und Tab. 7.4 aufgeführt.

Neben der Präzision bei Aufarbeitung ohne Enzymassay wurde zusätzlich die Präzision bei Aufarbeitung mit Enzymassay bestimmt. Der Variationskoeffizient war bei allen Analyten < 15% (Tab. 3.1). Damit entsprach die Präzision auch nach Zugabe des Enzyms den FDA Anforderungen für die Validierung bioanalytischer Methoden.

Tab. 3.1 Präzision nach Aufarbeitung mit Enzymassay. Konzentration 20 ng·mL⁻¹. Die Werte entsprechen den Peakflächen in µC; KS=Kaffeesäure, DHKS=Dihydrokaffeesäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.

	KS	DHKS	FS	DHFS	IFS	LUT
Lauf1	0,83	0,49	0,69	1,29	0,64	0,33
Lauf2	0,92	0,54	0,76	1,39	0,74	0,36
Lauf3	0,85	0,49	0,79	1,34	0,65	0,42
Lauf4	1,15	0,62	0,64	1,19	0,80	0,31
Lauf5	1,00	0,60	0,78	1,02	0,73	0,31
MW	0,95	0,55	0,73	1,25	0,71	0,34
SD	0,13	0,06	0,06	0,15	0,07	0,05
CV	13,75	11,08	8,85	11,75	9,44	13,61

3.2.4 Wiederfindung

Die mittlere Wiederfindung im Plasma lag für Kaffeesäure bei 82 %, für Dihydrokaffeesäure bei 84 %, für Ferulasäure bei 66 %, für Dihydroferulasäure bei 75 % und für Isoferulasäure bei 71 %. Luteolin wurde nach der Aufarbeitung im Plasma zu 84 % wiedergefunden. Eine detaillierte Übersicht über die Wiederfindungen aller Analyten findet sich im Anhang in Tab. 7.5.

3.2.5 Autosamplerstabilität

Nach Aufarbeitung der Plasmaproben waren alle Analyten bei Lagerung im Autosampler (15°C) über mindestens 72 h stabil (Tab. 3.2).

Tab. 3.2 Stabilität der Plasmaproben im Autosampler (15°C). Die angegebenen Werte entsprechen den Mittelwerten aus je zwei Proben, Gehalt in [%].

	0 h	24 h	48 h	72 h
Dihydrokaffeesäure	100,0	92,7	101,7	103,4
Kaffeesäure	100,0	101,1	97,0	99,2
Dihydroferulasäure	100,0	100,4	102,0	103,2
Ferulasäure	100,0	96,1	93,7	94,4
Isoferulasäure	100,0	92,4	95,1	95,5
Luteolin	100,0	97,6	93,6	99,7

3.3 Methode zur simultanen Bestimmung von Dihydrokaffeesäure, Kaffeesäure, Dihydroferulasäure, Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin im Urin

Die zur Analyse der Urinproben aus der Hauptstudie entwickelte Methode ist im Detail im Kapitel 2.8 beschrieben. Die Methode konnte nach Entwürfen für internationale Richtlinien zur Validierung bioanalytischer Methoden validiert werden (Guidance for Industry (Draft) - Bioanalytical Methods Validation for Human Studies).

3.3.1 Selektivität

Blank Urin, der mit β -Glucuronidase-Zusatz aufgearbeitet worden war, zeigte, wie schon das Plasma, an den Retentionszeiten aller Analyten außer Isoferulasäure interferierende Peaks. Die hydrodynamischen Voltammogramme dieser Peaks entsprachen jedoch denen der Analyten; d.h. auch blank Urin war trotz zweitägiger pflanzenfreier Diät während der Run-In-Phase nicht vollständig frei von Analyten. Zusätzlich ergaben sich hier auch ohne β -Glucuronidase-Zusatz Interferenzen. Der Vergleich des Chromatogramms von blank Urin, der ohne Glucuronidase-Assay aufgearbeitet worden war, mit dem von blank Urin, der mit einer Standardlösung der Analyten versetzt war, zeigte jedoch dass diese vernachlässigbar gering waren (Abb. 3.5).

Da das Enzymassay keinen Einfluss auf die Selektivität gegenüber der Urinmatrix hatte und bereits bei der Plasmaaufarbeitung gezeigt wurde, dass der Enzymzusatz keine Auswirkungen auf die Präzision hat, wurden die Urinproben zur Methodvalidierung im Folgenden ohne Enzymzusatz aufgearbeitet.

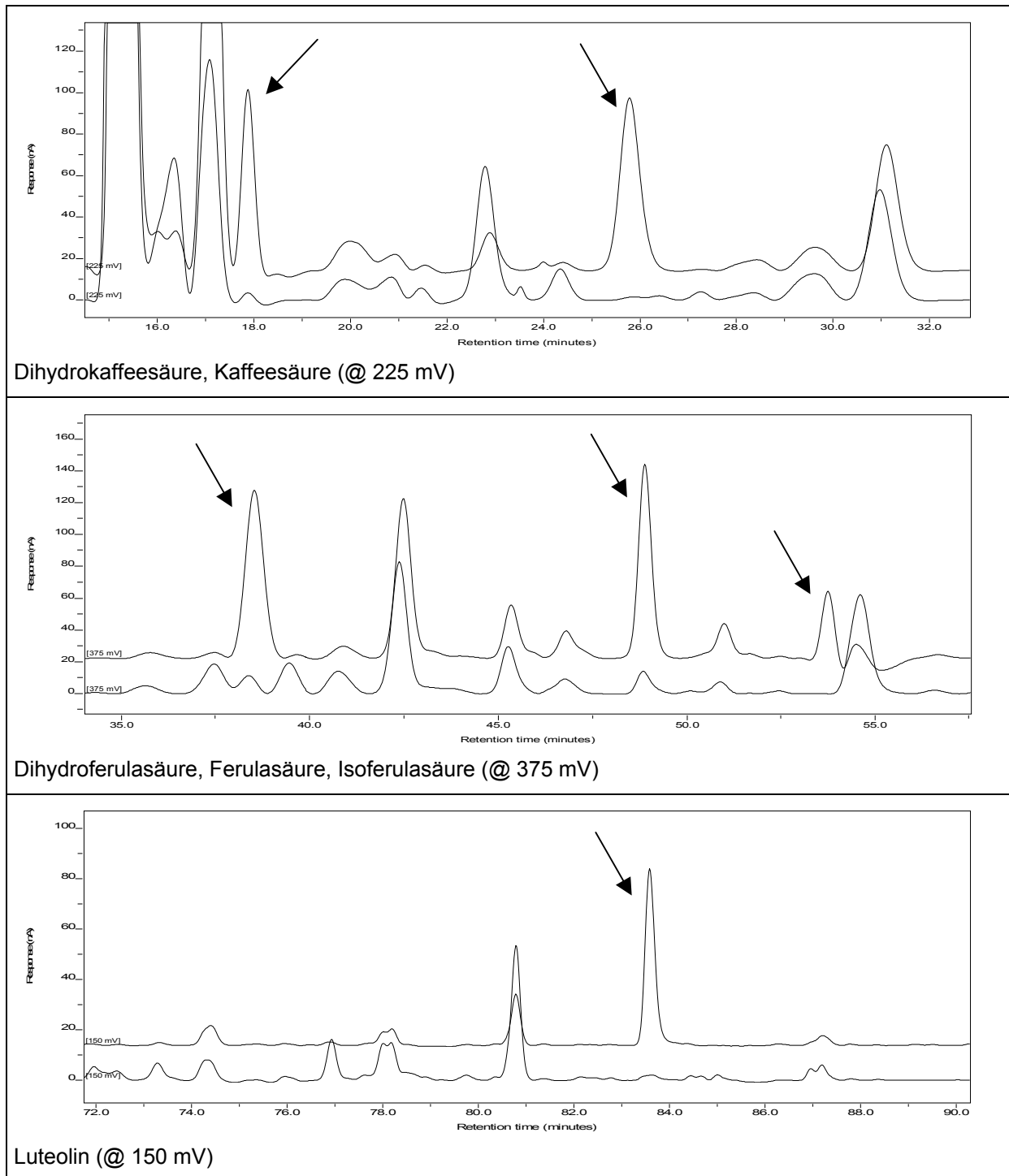


Abb. 3.5 Chromatogramme von blank Urin und blank Urin versetzt mit Analyten.

3.3.2 Kalibrierbereich, Linearität und Bestimmungsgrenze

Der Kalibrierbereich lag für Kaffeesäure zwischen $0,03-1,15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, für Dihydrokaffeesäure zwischen $0,05-2,14 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, für Ferulasäure zwischen $0,11-2,22 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, für Dihydroferulasäure zwischen $0,05-2,09 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, für Isoferulasäure zwischen $0,05-1,04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ und für Luteolin zwischen $0,05-1,04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Über den

gesamten Kalibrierbereich konnte jeweils die Linearität nachgewiesen werden. Im Anhang in Tab. 7.6 sind die Daten für Kalibrierfunktion, Steigung und Achsenabschnitt für jeden Analyten im Einzelnen aufgelistet. Zusätzlich wurden zur Überprüfung der Linearität für alle Analyten die Residual Plots der Kalibriergeraden erstellt. Die Ergebnisse dazu finden sich im Anhang in Abb. 7.2.

Die unterste Konzentration des Kalibrierbereichs stellte zugleich für jeden Analyten die Bestimmungsgrenze dar. Präzision und Richtigkeit an der Bestimmungsgrenze (siehe Kapitel 3.3.3) entsprachen für alle Substanzen den allgemein für bioanalytische Methoden akzeptierten Anforderungen.

3.3.3 Präzision und Richtigkeit

Die Variationskoeffizienten (CV) sowie relative Fehler (RE) waren für alle Analyten sowohl für die „within-day precision“ als auch für die „between-day precision“ für die mittlere und hohe Konzentration < 15 % und für die Bestimmungsgrenze < 20 %. Sie entsprachen somit den von der FDA für die Validierung bioanalytischer Methoden angegebenen Anforderungen. Die Daten zu Präzision und Richtigkeit sind für alle Analyten im Einzelnen im Anhang in Tab. 7.7 und Tab. 7.8 aufgeführt.

3.3.4 Wiederfindung

Die mittlere Wiederfindung im Urin lag für Kaffeesäure bei 63 %, für Dihydrokaffeesäure bei 55 %, für Ferulasäure bei 50 %, für Dihydroferulasäure bei 69 % und für Isoferulasäure bei 55 %. Luteolin wurde nach der Aufarbeitung im Urin zu 81 % wiedergefunden. Eine detaillierte Übersicht über die Wiederfindungen aller Analyten findet sich im Anhang in Tab. 7.9.

3.3.5 Autosamplerstabilität

Nach Aufarbeitung der Urinproben war keiner der Analyten bei Lagerung im Autosampler (15°C) über 96 h stabil. Da auch bereits nach 48 h die Stabilität nicht mehr für alle Analyten ausreichend gewährleistet war, wurden die Messzyklen beim Vermessen der Hauptstudie so gelegt, dass die Verweildauer der Proben im Autosampler nicht mehr als 24 h betrug (Tab. 3.3).

Tab. 3.3 Stabilität der Urinproben im Autosampler. Die angegebenen Werte entsprechen den Mittelwerten aus je zwei Proben, Gehalt in [%].

	0 h	24 h	48 h	96 h
Dihydrokaffeesäure	100,0	97,0	84,3	71,8
Kaffeesäure	100,0	95,8	81,0	73,6
Dihydroferulasäure	100,0	98,5	96,1	73,5
Ferulasäure	100,0	103,6	100,0	84,5
Isoferulasäure	100,0	96,7	78,1	70,6
Luteolin	100,0	99,4	88,8	68,3

3.4 Ergebnisse der Hauptstudie

3.4.1 Analytik der Plasmaproben vor und nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten

Die Plasmaproben der Hauptstudie wurden mit der hierfür entwickelten und validierten Methode mit bzw. ohne Zusatz von β -Gucuronidase aufgearbeitet und analysiert. Kaffeesäure und Luteolin konnten dabei ausschließlich nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten detektiert werden. Im Gegensatz dazu kamen Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure und Isoferulasäure zumindest in geringen Mengen und Dihydroferulasäure überwiegend in der nicht-konjugierten Form vor (siehe Kapitel 3.4.2 bis 3.4.7). Genuine Extraktinhaltsstoffe wurden wie schon in der Pilotstudie weder vor noch nach β -Glucuronidase-Zusatz detektiert.

Bei den Konjugaten konnte es sich sowohl um stellungsisomere Glucuronide als auch Sulfate handeln. Eine genauere Spezifizierung war leider weder für die Hydroxyzimtsäuren noch für Luteolin möglich. Nach enzymatischer Spaltung verschwanden aus den Chromatogrammen zwar einige Substanzen. Diese zeigten aber keine Konzentrationskinetik, wie es von Konjugaten der Analyten zu erwarten gewesen wäre. Da die Analyten jedoch eindeutig nach β -Glucuronidase-Zusatz entstanden, war anzunehmen, dass die Konjugate mit Substanzen aus der Plasmamatrix coeluierten oder mit dem verwendeten Analyseverfahren nicht erfasst wurden. Der Nachweis der Konjugate erfolgte somit nur indirekt durch enzymatische Spaltung.

Einzig Luteolin-7-O-glucuronid stand als Referenzsubstanz zur Verfügung. Ein Vergleich der Chromatogramme zwischen den Plasmaproben und dem

Referenzstandard zeigte jedoch, dass Luteolin-7-O-glucuronid nicht im Plasma enthalten war (Abb. 3.6). Luteolin musste somit in Form anderer Glucuronide oder Sulfate im Plasma vorliegen.

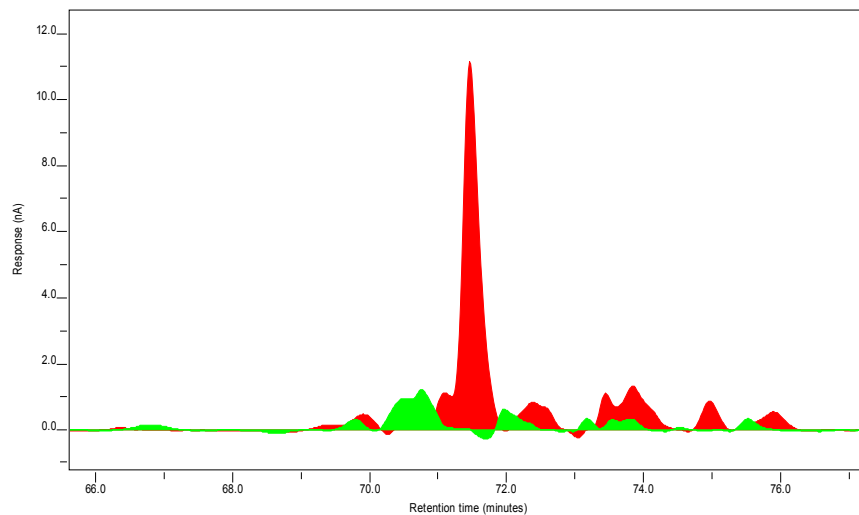


Abb. 3.6 Vergleich der Chromatogramme von einer blank Plasmaprobe versetzt mit Luteolin-7-O-glucuronid (rot) und einer Plasmaprobe zum Zeitpunkt $t=0,5$ h aufgearbeitet ohne Zusatz von β -Glucuronidase (grün), @ 300 mV.

3.4.2 Plasmakonzentrationen von Kaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt

Kaffeesäure konnte nur nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten im Plasma nachgewiesen werden. Daher beziehen sich alle im Weiteren beschriebenen Konzentrationen auf den Gesamtgehalt nach Hydrolyse.

Bereits vor Applikation der Artischockenblätter-Extrakte wurden geringe Mengen von Kaffeesäure in den Proben gemessen. Eine Erhöhung der Plasmakonzentrationen wurde rasch 15 min nach Applikation der Extrakte beobachtet. Um den Anteil an Kaffeesäure, der durch die Studienmedikation hervorgerufen wurde, zu bestimmen, wurde ein Basiswert wie in Kapitel 2.9.1.1 beschrieben von den gemessenen Konzentrationen abgezogen. Danach ergaben sich maximale Plasmaspiegel von $6,51 \pm 1,89 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Gesamtextrakt) und $8,04 \pm 2,64 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Spezialextrakt), die nach ca. 1 h erreicht wurden.

Eine Übersicht über die einzelnen Plasmakonzentrationen zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ist in Tab. 3.4 und Tab. 3.5 gegeben. Die individuellen Daten jedes Probanden finden sich im Anhang in Tab. 7.10 und Tab. 7.11. Die

Konzentrations-Zeit-Kurven verliefen für beide Präparate annähernd parallel. Auffällig war nur, dass die Kurve nach Applikation des Spezialextrakts vor Erreichen der maximalen Plasmakonzentration leicht abgeflacht und das Maximum damit etwas später war. Die Kurven folgten einem biphasischen Verlauf, unterteilt in eine schnelle Verteilungs- und eine langsamere Eliminationsphase (Abb. 3.7).

Tab. 3.4 Kaffeesäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-**Gesamtextrakt**. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL⁻¹]	SD Cp [ng·mL⁻¹]	Min Cp [ng·mL⁻¹]	Median Cp [ng·mL⁻¹]	Max Cp [ng·mL⁻¹]	n
0,00	6,56	3,29	2,12	5,61	13,39	14
0,25	8,74	2,28	5,49	9,20	12,87	14
0,50	9,60	2,60	5,39	9,55	13,08	14
0,75	10,09	2,33	6,40	10,11	14,82	14
1,00	9,79	2,37	6,16	9,69	14,62	14
1,50	9,10	2,30	4,58	9,93	11,92	14
2,00	8,23	2,59	4,06	7,38	12,13	14
3,00	7,53	2,33	3,81	7,17	12,27	14
4,00	6,87	1,93	3,67	6,84	9,69	14
6,00	5,81	1,84	1,69	6,26	8,53	14
8,00	5,57	2,01	2,09	5,68	9,51	14
12,00	5,18	1,61	2,64	5,37	7,14	14
24,00	4,38	1,65	0,97	4,51	6,40	14

Tab. 3.5 Kaffeesäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-**Spezialextrakt**. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	7,06	3,36	2,40	6,75	14,86	14
0,25	8,93	2,75	5,21	8,90	14,76	14
0,50	10,95	1,94	7,69	11,19	14,76	14
0,75	11,02	2,33	7,97	10,82	14,86	14
1,00	11,24	3,53	5,88	11,02	18,01	14
1,50	12,26	2,83	7,14	12,38	18,46	14
2,00	9,54	2,95	5,04	9,08	15,39	14
3,00	8,61	2,61	5,14	7,89	14,86	14
4,00	7,98	2,35	4,44	7,36	12,31	14
6,00	6,05	1,70	3,36	6,09	8,85	14
8,00	5,53	1,88	1,82	6,05	7,69	14
12,00	5,33	1,49	2,48	5,39	7,55	14
24,00	4,51	1,40	2,16	4,71	6,61	14

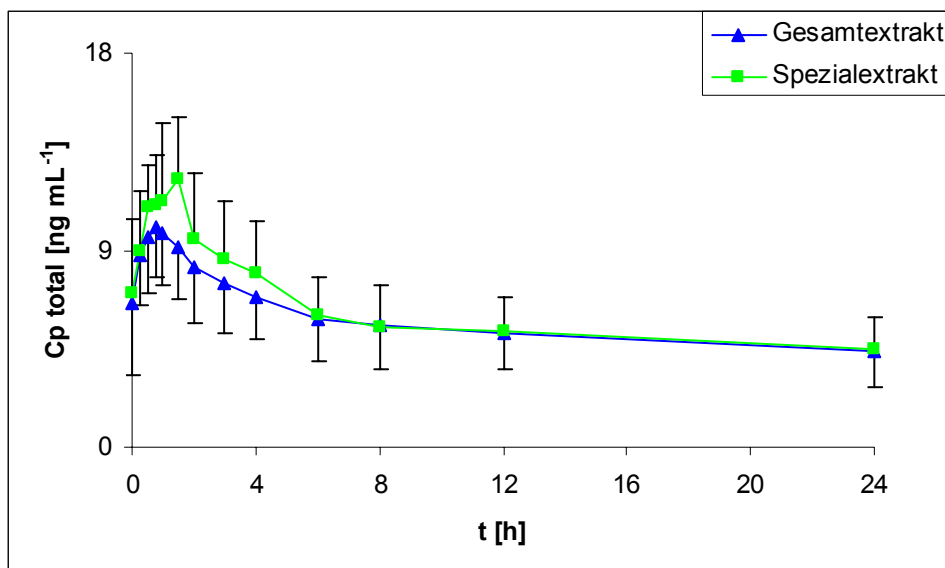


Abb. 3.7 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Kaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

3.4.3 Plasmakonzentrationen von Dihydrokaffeensäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt

Dihydrokaffeensäure wurde überwiegend nach enzymatischer Spaltung von Konjugate im Plasma detektiert. Sowohl nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- als auch Spezialextrakt konnte jedoch bei jeweils 9 der 14 Probanden auch die freie Form vor enzymatischer Spaltung bestimmt werden. Wurde vom Gesamtgehalt der freie Anteil abgezogen, resultierte der Anteil des Gesamtgehalts, der in Form von Konjugaten vorlag. Die Konzentrations-Zeit-Profile von Gesamtgehalt, freier Form und Konjugaten zeigten einen parallelen Verlauf (Abb. 3.8). Der Anteil der freien Form am Gesamtgehalt betrug nach Applikation beider Extrakte in etwa 30 %. Obwohl Dihydrokaffeensäure sowohl vor als auch nach enzymatischer Hydrolyse bestimmt wurde, beziehen sich die weiteren Beschreibungen zur Vereinfachung nur auf den Gesamtgehalt nach Hydrolyse.

Vor Applikation der Artischockenblätter-Extrakte war Dihydrokaffeensäure im Plasma nicht nachweisbar und wurde deutlich verzögert erst 2 bis 3 h nach Applikation der Extrakte im Plasma detektiert. Maximale Plasmaspiegel von $21,30 \pm 12,35 \text{ ng mL}^{-1}$ (Gesamtextrakt) und $29,53 \pm 12,40 \text{ ng mL}^{-1}$ (Spezialextrakt) wurden zwischen 6 und 7 h gemessen.

Eine Übersicht über die einzelnen Plasmakonzentrationen zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ist in Tab. 3.6 und Tab. 3.7 gegeben. Die individuellen Daten jedes Probanden für den Gesamtgehalt und die freie Form finden sich im Anhang in Tab. 7.12 bis Tab. 7.15. Die Konzentrations-Zeit-Kurven verliefen für beide Präparate annähernd parallel. Durch das späte Maximum lagen innerhalb der Eliminationsphase wenig Messpunkte, so dass dieser Bereich nur ungenau beschrieben werden konnte. Verteilungs- und Eliminationsphase schienen danach ungefähr gleich zu verlaufen (Abb. 3.9).

Tab. 3.6 Dihydrokaffeensäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14
0,25	0,53	1,44	0,00	0,00	4,99	14
0,50	0,59	1,51	0,00	0,00	4,33	14
0,75	0,40	1,02	0,00	0,00	3,13	14
1,00	0,39	0,99	0,00	0,00	3,02	14
1,50	0,30	0,77	0,00	0,00	2,22	14
2,00	0,42	0,99	0,00	0,00	3,13	14
3,00	3,01	5,09	0,00	0,14	17,26	14
4,00	7,74	7,83	0,00	6,03	22,60	14
6,00	19,63	13,61	4,00	16,68	53,06	14
8,00	11,52	9,21	0,00	11,25	29,21	14
12,00	2,45	3,66	0,00	0,16	10,00	14
24,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14

Tab. 3.7 Dihydrokaffeensäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-**Spezialextrakt**. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	0,25	0,29	1,10	0,00	0,00	4,11
0,50	0,50	0,48	1,65	0,00	0,00	6,20
0,75	0,75	0,73	1,90	0,00	0,00	6,78
1,00	1,00	1,25	2,33	0,00	0,00	7,44
1,50	1,50	2,53	5,15	0,00	0,00	13,98
2,00	2,00	4,34	7,33	0,00	0,00	21,10
3,00	3,00	10,38	12,36	0,00	5,19	34,79
4,00	4,00	18,03	13,68	0,00	13,96	47,58
6,00	6,00	24,71	12,63	0,00	21,85	49,37
8,00	8,00	13,77	12,01	0,00	11,44	38,45
12,00	12,00	2,13	3,22	0,00	0,54	10,51
24,00	24,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

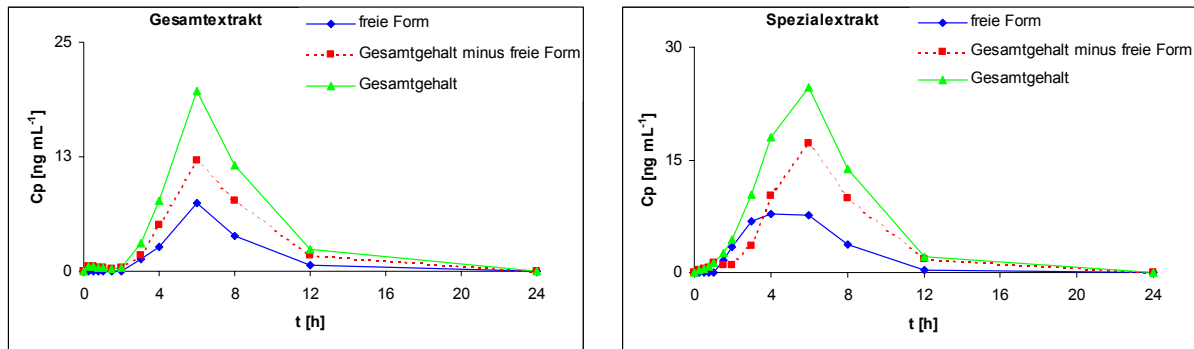


Abb. 3.8 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydrokaffeoesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.

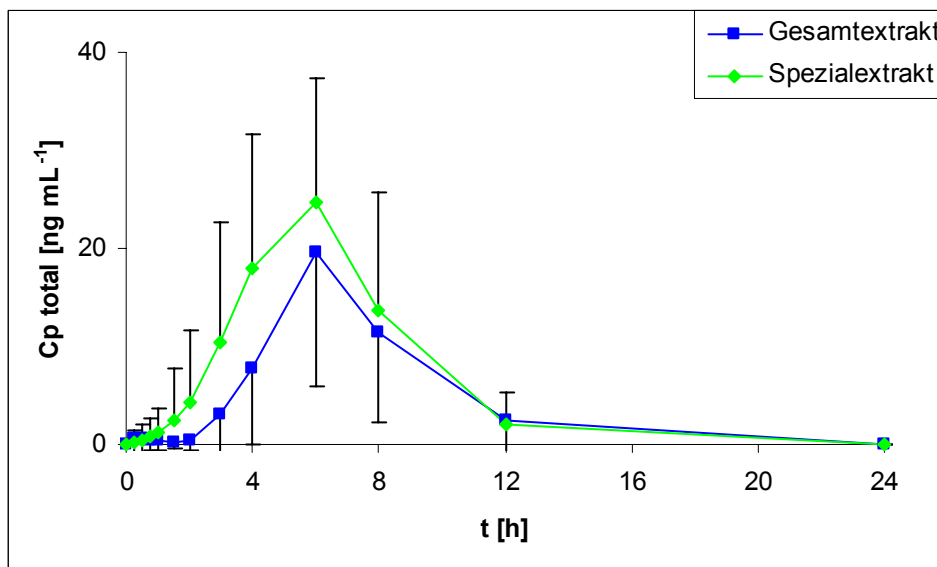


Abb. 3.9 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydrokaffeoesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

3.4.4 Plasmakonzentrationen von Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt

Ferulasäure wurde zum größten Teil erst nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten im Plasma detektiert. Sowohl nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- als auch Spezialextrakt konnte jedoch bei jeweils 12 der 14 Probanden auch die freie Form vor enzymatischer Spaltung nachgewiesen werden. Wurde vom Gesamtgehalt der freie Anteil abgezogen, resultierte der Anteil des Gesamtgehalts, der in Form von Konjugaten vorlag. Im Gegensatz zu Dihydrokaffeoesäure zeigten die Konzentrations-Zeit-Kurven von Gesamtgehalt und freier Form für Ferulasäure einen

nicht ganz parallelen Verlauf. Bei der freien Form war der Konzentrationsanstieg während der Eliminationsphase stärker ausgeprägt. Zwischen den beiden Extrakten unterschieden sich die mittleren Konzentrationen der freien Form trotz der verschiedenen applizierten Dosen fast gar nicht. Damit war der Anteil der freien Form am Gesamtgehalt nach Applikation des Gesamtextrakts größer und das Eliminationsprofil etwas stärker durch den Einfluss der freien Form geprägt als nach Applikation des Spezialextrakts (Abb. 3.10). Dieses musste allerdings unter dem Vorbehalt betrachtet werden, dass die Konzentrationen der freien Form vielfach unter der Bestimmungsgrenze lagen und es sich somit auch um Messartefakte handeln konnte. Die im Folgenden beschriebenen Konzentrationen beziehen sich daher nur auf den Gesamtgehalt nach Hydrolyse.

Vor Applikation der Artischockenblätter-Extrakte waren bereits geringe Mengen Ferulasäure in den Proben nachweisbar. Die Plasmakonzentrationen erhöhten sich jedoch bereits 15 min nach Applikation der Extrakte deutlich. Um den Anteil an Ferulasäure, der durch die Studienmedikation hervorgerufen wurde, zu bestimmen, wurde ein Basiswert wie in Kapitel 2.9.1.1 beschrieben von den gemessenen Konzentrationen abgezogen. Danach ergaben sich maximale Plasmaspiegel von $8,89 \pm 1,65 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Gesamtextrakt) und $15,37 \pm 3,85 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Spezialextrakt), die nach ca. 1 h erreicht wurden.

Eine Übersicht über die einzelnen Plasmakonzentrationen zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ist in Tab. 3.8 und Tab. 3.9 gegeben. Die individuellen Daten jedes Probanden für den Gesamtgehalt und die freie Form finden sich im Anhang in Tab. 7.16 bis Tab. 7.19. Die Konzentrations-Zeit-Kurven verliefen für beide Präparate annähernd parallel. Ähnlich wie bei Kaffeesäure, nur etwas schwächer ausgeprägt, war die Kurve nach Applikation des Spezialextrakts vor Erreichen der maximalen Plasmakonzentration leicht abgeflacht und das Maximum somit auch hier etwas später. Die Kurven folgten einem biphasischen Verlauf, unterteilt in eine schnelle Verteilungs- und eine langsamere Eliminationsphase. Nach Erreichen des Maximums fielen die Plasmakonzentrationen zunächst rasch ab, um dann nur noch langsam zu sinken. Nach Applikation des Gesamtextrakts war nach etwa 4 bis 6 h sogar wieder ein leichter Anstieg der Konzentrationen zu beobachten (Abb. 3.11).

Tab. 3.8 Ferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-**Gesamtextrakt**. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	2,12	1,18	0,54	2,01	3,98	14
0,25	6,37	2,16	2,89	6,35	10,57	14
0,50	9,60	2,75	5,33	8,98	13,95	14
0,75	10,51	2,27	7,29	9,67	14,60	14
1,00	9,51	1,76	6,89	9,09	12,17	14
1,50	8,39	1,94	5,51	8,51	12,27	14
2,00	6,82	2,18	3,40	6,93	11,51	14
3,00	5,59	1,31	3,98	5,27	8,82	14
4,00	5,04	2,12	2,79	3,86	8,60	14
6,00	6,87	1,61	3,98	7,69	8,57	14
8,00	6,55	1,97	4,20	6,15	10,46	14
12,00	5,24	2,20	1,43	5,26	10,13	14
24,00	2,01	1,24	0,50	1,89	4,13	14

Tab. 3.9 Ferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-**Spezialextrakt**. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	2,43	1,51	0,12	2,43	4,67	14
0,25	11,80	5,16	6,27	11,20	25,19	14
0,50	14,85	5,42	7,26	14,11	28,31	14
0,75	15,44	4,15	7,80	15,31	23,48	14
1,00	16,17	3,46	11,58	16,28	21,80	14
1,50	15,60	3,55	10,06	15,57	20,13	14
2,00	12,35	3,64	5,18	12,98	17,18	14
3,00	9,29	2,84	4,71	10,31	13,66	14
4,00	9,21	1,76	6,20	8,86	12,53	14
6,00	8,47	3,16	3,08	8,57	13,22	14
8,00	7,98	3,73	2,14	7,33	13,58	14
12,00	5,34	2,93	1,08	4,56	10,02	14
24,00	2,27	1,30	0,06	2,68	4,31	14

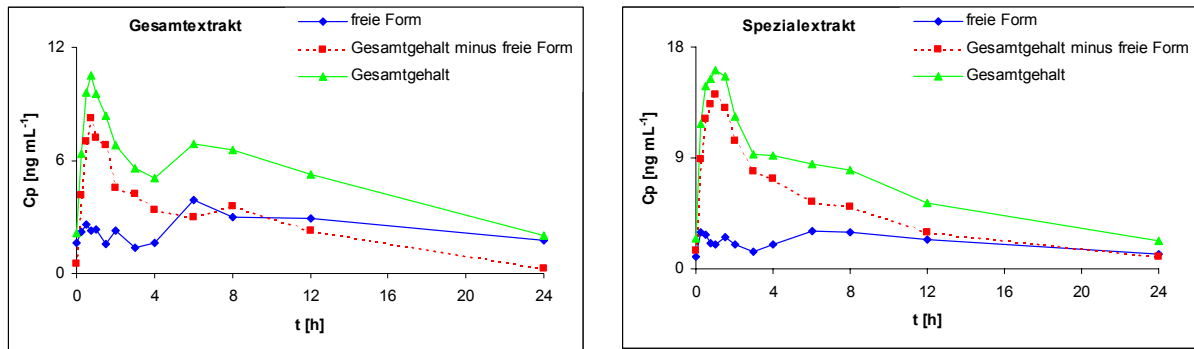


Abb. 3.10 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.

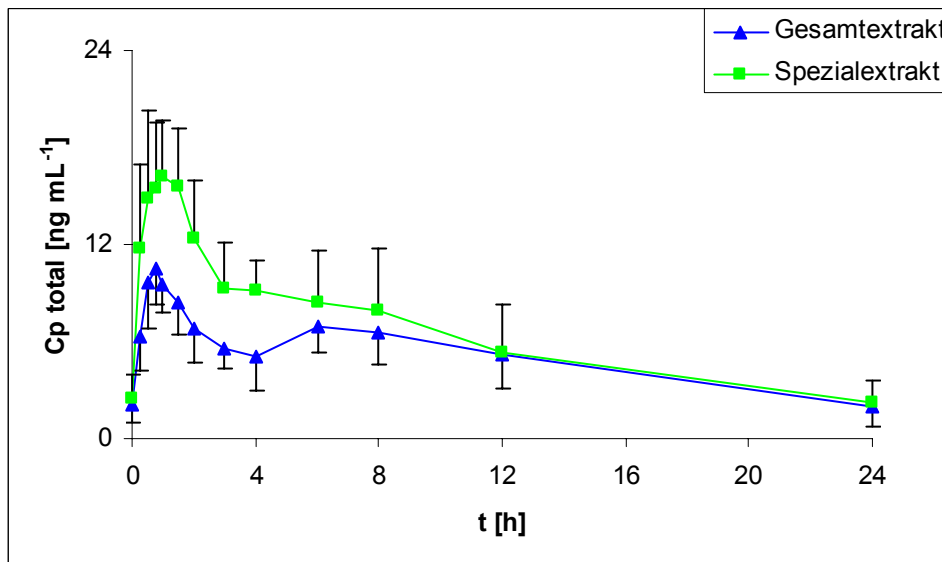


Abb. 3.11 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Ferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

3.4.5 Plasmakonzentrationen von Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt

Dihydroferulasäure war im Gegensatz zu den anderen Hydroxyzimtsäuren überwiegend unkonjugiert im Plasma zu finden. Die enzymatische Spaltung von Konjugaten hatte nur noch eine geringe Erhöhung der Konzentrationen zur Folge. Wurde vom Gesamtgehalt der freie Anteil abgezogen, resultierte der Anteil des Gesamtgehalts, der in Form von Konjugaten vorlag. Die Konzentrations-Zeit-Profile von Gesamtgehalt, freier Form und Konjugaten zeigten einen parallelen Verlauf (Abb. 3.12). Der Anteil der freien Form am Gesamtgehalt betrug nach Applikation

beider Extrakte in etwa 75 %. Obwohl Dihydroferulasäure sowohl vor als auch nach enzymatischer Hydrolyse bestimmt wurde, beziehen sich die weiteren Beschreibungen zur Vereinfachung nur auf den Gesamtgehalt nach Hydrolyse.

Dihydroferulasäure wurden bereits vor Applikation der Artischockenblätter-Extrakte in geringen Mengen in den Plasmaproben gemessen. Eine Erhöhung der Plasmakonzentrationen wurde wie bei Dihydrokaffeesäure deutlich verzögert erst 2 bis 3 h nach Applikation der Extrakte beobachtet. Um den Anteil an Dihydroferulasäure, der durch die Studienmedikation hervorgerufen wurde, zu bestimmen, wurde ein Basiswert wie in Kapitel 2.9.1.1 beschrieben von den gemessenen Konzentrationen abgezogen. Danach ergaben sich maximale Plasmaspiegel von $27,56 \pm 13,79 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Gesamtextrakt) und $39,72 \pm 15,51 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Spezialextrakt), die nach 6 bis 7 h erreicht wurden.

Eine Übersicht über die einzelnen Plasmakonzentrationen zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ist in Tab. 3.10 und Tab. 3.11 gegeben. Die individuellen Daten jedes Probanden für den Gesamtgehalt und die freie Form finden sich im Anhang in Tab. 7.20 bis Tab. 7.23. Die Konzentrations-Zeit-Kurven verliefen für beide Präparate annähernd parallel. Durch das späte Maximum lagen innerhalb der Eliminationsphase wenig Messpunkte, so dass dieser Bereich nur ungenau beschrieben werden konnte. Verteilungs- und Eliminationsphase schienen danach ungefähr gleich zu verlaufen (Abb. 3.13).

Tab. 3.10 Dihydroferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	16,07	10,99	4,88	10,93	35,91	14
0,25	18,50	11,77	6,75	11,83	44,27	14
0,50	18,14	12,12	4,94	12,68	42,13	14
0,75	17,35	11,92	5,49	11,21	46,42	14
1,00	15,53	11,16	4,42	9,55	41,09	14
1,50	13,57	9,68	3,93	8,28	35,64	14
2,00	11,72	9,25	3,04	7,39	32,33	14
3,00	10,78	7,84	1,21	10,15	25,16	14
4,00	18,53	13,68	2,15	21,09	43,69	14
6,00	34,72	15,76	12,81	32,77	77,05	14
8,00	25,47	12,19	8,10	22,43	45,53	14
12,00	15,43	10,19	1,65	12,77	32,88	14
24,00	8,57	7,02	1,27	5,19	20,99	14

Tab. 3.11 Dihydroferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	14,69	13,06	0,66	11,90	40,05	13
0,25	16,69	13,76	1,49	12,43	43,29	13
0,50	16,18	13,07	2,53	12,00	38,70	13
0,75	15,39	11,47	3,50	11,48	36,25	13
1,00	15,48	12,37	3,66	8,86	35,33	13
1,50	15,15	11,58	3,81	10,36	38,58	13
2,00	14,97	10,97	3,41	11,68	41,88	13
3,00	20,83	14,25	1,97	22,77	47,15	13
4,00	30,06	16,01	7,79	24,93	61,06	13
6,00	45,29	19,73	19,55	40,69	81,58	13
8,00	29,41	18,07	4,33	34,26	59,53	13
12,00	16,06	12,27	2,37	10,70	37,17	13
24,00	10,55	9,06	1,35	6,75	23,02	13

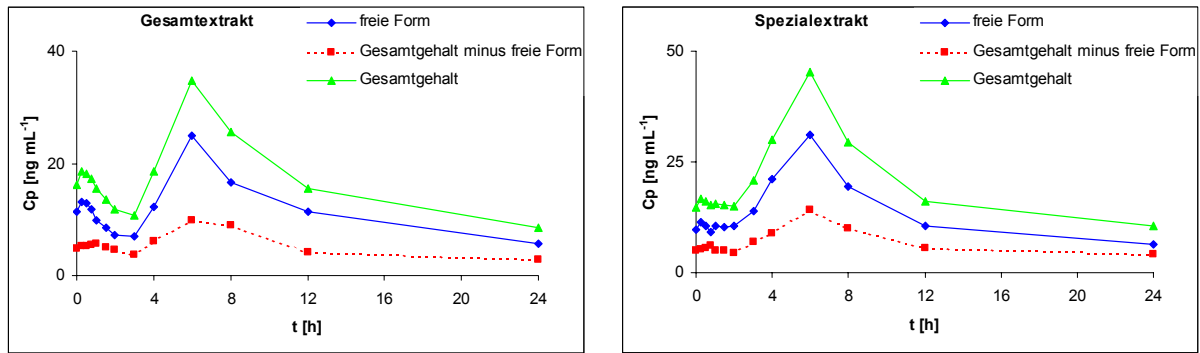


Abb. 3.12 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.

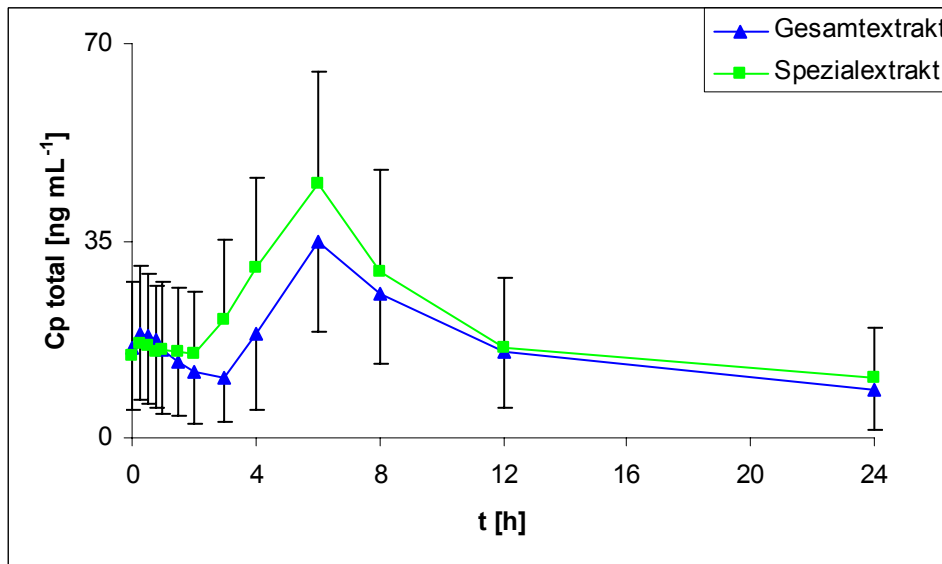


Abb. 3.13 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydroferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

3.4.6 Plasmakonzentrationen von Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter- Gesamt- und Spezialextrakt

Isoferulasäure wurde zum größten Teil erst nach enzymatischer Spaltung im Plasma detektiert. Nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt konnte jedoch bei 8 der 14 Probanden und nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt bei allen Probanden auch die freie Form vor enzymatischer Spaltung nachgewiesen werden. Wurde vom Gesamtgehalt der freie Anteil abgezogen, resultierte der Anteil des Gesamtgehalts, der in Form von Konjugaten vorlag. Die Konzentrations-Zeit-Profile von Gesamtgehalt, freier Form und Konjugaten zeigten einen parallelen

Verlauf (Abb. 3.14). Der Anteil der freien Form am Gesamtgehalt schien dabei nach Applikation des Gesamtextrakts geringer zu sein. Dieses musste allerdings unter dem Vorbehalt betrachtet werden, dass die Konzentrationen der freien Form vielfach unter der Bestimmungsgrenze lagen und es sich somit auch um Messartefakte handeln konnte. Die im Folgenden beschriebenen Konzentrationen beziehen sich daher nur auf den Gesamtgehalt nach Hydrolyse.

Vor Applikation der Artischockenblätter-Extrakte war Isoferulasäure im Plasma nicht nachweisbar, konnte aber bereits 15 min nach Applikation beider Studienmedikationen im Plasma detektiert werden. Maximale Plasmaspiegel von $7,89 \pm 2,17 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Gesamtextrakt) und $10,51 \pm 2,43 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Spezialextrakt) wurden nach ca. 1 h gemessen.

Eine Übersicht über die einzelnen Plasmakonzentrationen zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ist in Tab. 3.12 und Tab. 3.13 gegeben. Die individuellen Daten jedes Probanden für den Gesamtgehalt und die freie Form finden sich im Anhang in Tab. 7.24 bis Tab. 7.27. Die Konzentrations-Zeit-Kurven verliefen für beide Präparate annähernd parallel. Wie schon für Kaffeesäure und Ferulasäure beschrieben, war auch hier die Kurve nach Applikation des Spezialextrakts vor Erreichen der maximalen Plasmakonzentration leicht abgeflacht und das Maximum etwas später. Die Kurven folgten einem biphasischen Verlauf, unterteilt in eine schnelle Verteilungs- und eine langsamere Eliminationsphase (Abb. 3.15).

Tab. 3.12 Isoferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14
0,25	4,91	1,77	2,34	4,78	7,28	14
0,50	6,61	2,27	3,24	6,09	10,27	14
0,75	7,44	1,76	5,49	7,20	11,80	14
1,00	6,94	2,59	3,27	6,12	13,65	14
1,50	6,06	2,27	3,20	5,72	11,99	14
2,00	4,78	2,09	2,27	4,30	10,50	14
3,00	4,12	1,94	2,32	3,48	9,77	14
4,00	3,49	1,52	2,10	3,06	7,15	14
6,00	2,68	1,63	0,27	2,27	6,52	14
8,00	1,71	1,29	0,04	1,54	4,80	14
12,00	0,71	0,93	0,00	0,41	2,87	14
24,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14

Tab. 3.13 Isoferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	13
0,25	6,61	3,40	0,80	7,25	10,70	13
0,50	8,63	3,06	2,97	8,41	12,13	13
0,75	8,81	3,29	3,24	8,68	14,28	13
1,00	9,83	2,66	5,62	9,26	14,55	13
1,50	9,15	2,58	5,92	8,54	13,45	13
2,00	7,43	2,49	4,40	6,69	11,40	13
3,00	5,75	1,78	2,90	5,33	9,24	13
4,00	4,44	1,74	2,71	3,70	8,21	13
6,00	2,71	1,55	0,82	2,48	6,25	13
8,00	1,32	1,45	0,00	0,81	4,76	13
12,00	0,73	1,18	0,00	0,17	3,53	13
24,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	13

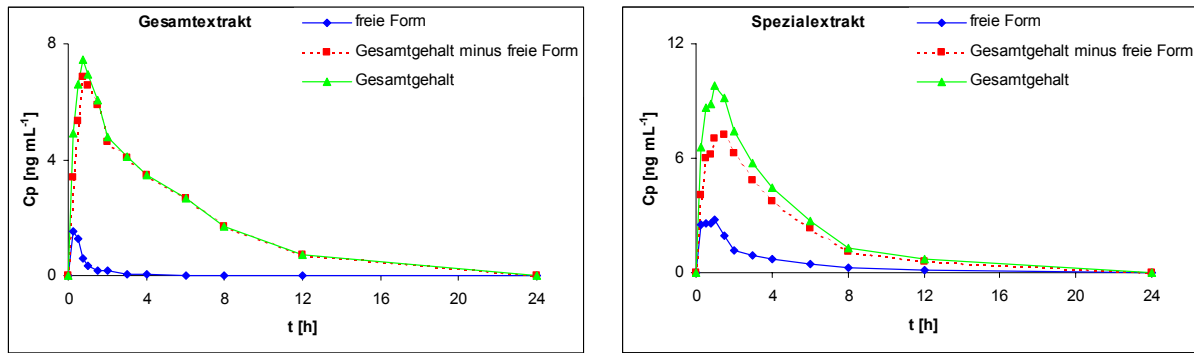


Abb. 3.14 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.

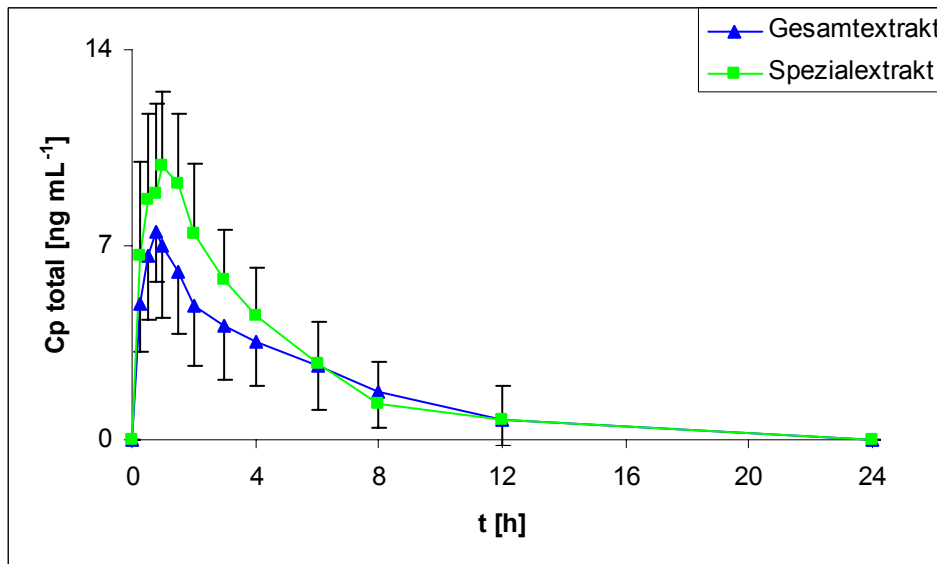


Abb. 3.15 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Isoferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

3.4.7 Plasmakonzentrationen von Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt

Luteolin konnte nur nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten im Plasma nachgewiesen werden. Daher beziehen sich alle im Weiteren beschriebenen Konzentrationen auf den Gesamtgehalt nach Hydrolyse.

Bereits vor Applikation der Artischockenblätter-Extrakte wurden geringe Mengen von Luteolin in den Proben gemessen. Eine Erhöhung der Plasmakonzentrationen wurde rasch 15 min nach Applikation der Extrakte beobachtet. Um den Anteil an Luteolin, der durch die Studienmedikation hervorgerufen wurde, zu bestimmen, wurde ein

Basiswert wie in Kapitel 2.9.1.1 beschrieben von den gemessenen Konzentrationen abgezogen. Danach ergaben sich maximale Plasmaspiegel von $59,07 \pm 32,82 \text{ ng mL}^{-1}$ (Gesamtextrakt) und $156,51 \pm 92,25 \text{ ng mL}^{-1}$ (Spezialextrakt), die sehr schnell nach 30 bis 40 min erreicht wurden.

Eine Übersicht über die einzelnen Plasmakonzentrationen zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ist in Tab. 3.14 und Tab. 3.15 gegeben. Die individuellen Daten jedes Probanden finden sich im Anhang in Tab. 7.28 und Tab. 7.29. Die Konzentrations-Zeit-Kurven verliefen für beide Präparate annähernd parallel. Die Kurven folgten einem biphasischen Verlauf, unterteilt in eine schnelle Verteilungs- und eine langsamere Eliminationsphase (Abb. 3.16).

Tab. 3.14 Luteolin-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-**Gesamtextrakt**. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	5,88	2,21	2,76	5,38	10,89	14
0,25	63,47	33,08	26,17	55,04	142,51	14
0,50	46,91	21,62	23,71	40,42	97,40	14
0,75	42,80	17,85	19,72	37,21	69,86	14
1,00	32,27	11,21	17,06	28,56	54,10	14
1,50	27,40	8,01	17,91	25,42	45,45	14
2,00	21,10	7,95	13,54	18,44	42,03	14
3,00	19,11	8,77	10,51	16,63	40,89	14
4,00	20,82	13,54	12,59	15,28	56,56	14
6,00	20,85	13,28	7,39	19,00	60,74	14
8,00	13,50	7,72	4,78	11,55	37,86	14
12,00	8,23	2,74	3,69	7,80	13,54	14
24,00	5,77	1,63	3,23	5,24	8,91	14

Tab. 3.15 Luteolin-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

t [h]	MW Cp [ng·mL ⁻¹]	SD Cp [ng·mL ⁻¹]	Min Cp [ng·mL ⁻¹]	Median Cp [ng·mL ⁻¹]	Max Cp [ng·mL ⁻¹]	n
0,00	7,83	4,40	3,53	6,51	21,14	14
0,25	155,75	95,56	54,66	145,50	391,32	14
0,50	126,36	56,84	62,36	111,08	240,70	14
0,75	112,21	40,48	60,17	104,29	187,52	14
1,00	105,22	38,81	47,26	101,53	173,28	14
1,50	93,08	36,39	38,43	87,67	163,78	14
2,00	79,36	39,14	33,68	74,80	161,22	14
3,00	66,35	24,83	21,43	69,00	124,09	14
4,00	59,14	26,91	27,31	56,61	119,91	14
6,00	45,60	33,93	12,59	35,01	140,61	14
8,00	24,84	19,10	8,94	18,29	80,12	14
12,00	15,96	7,43	8,26	13,97	34,25	14
24,00	6,66	2,07	3,18	6,44	10,60	14

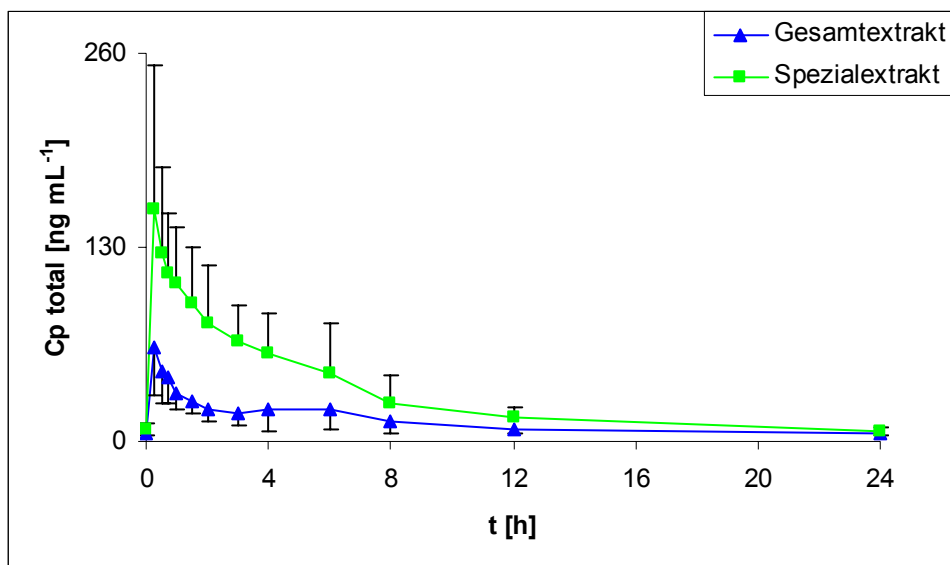


Abb. 3.16 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

3.4.8 Weitere Metabolite im Plasma

Alle bisher nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma detektierten Substanzen, die einer Konzentrationskinetik folgten, konnten anhand von Referenzsubstanzen zugeordnet werden. Eine bislang nicht identifizierte Substanz zeigte allerdings ebenfalls eine deutliche Kinetik. Das hydrodynamische Voltammogramm dieser Substanz entsprach dem von Dihydroferulasäure mit einem Maximum bei 375 mV. Ähnlich wie Dihydroferulasäure hatte die unbekannte Substanz bei 6 bis 7 h ein Maximum und lag überwiegend in der nicht-konjugierten Form in den Proben vor (Abb. 3.17 und Abb. 3.18). Mit einer Retentionszeit von 38 min eluierte sie wenige Minuten nach Dihydroferulasäure, was darauf hindeutete, dass es sich um Dihydroisoferulasäure handeln könnte. Auch Isoferulasäure wurde kurz hinter Ferulasäure detektiert. Dihydroisoferulasäure lag als Referenzsubstanz nicht vor, so dass zur Zeit versucht wird, die Identität der unbekanntes Substanz mittels Massenspektrometrie zu bestimmen.

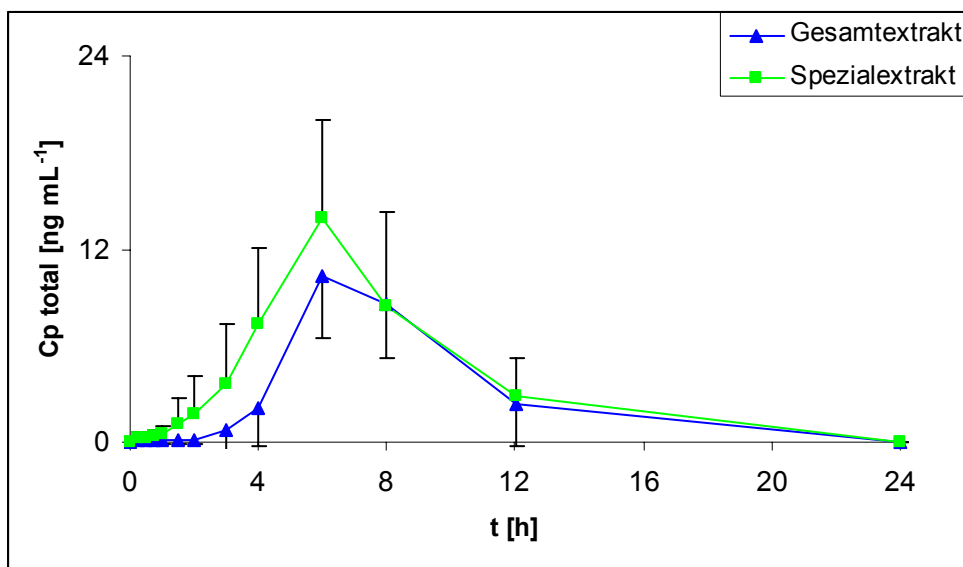


Abb. 3.17 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen (berechnet als Dihydroferulasäure) von der unbekannte Substanz (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

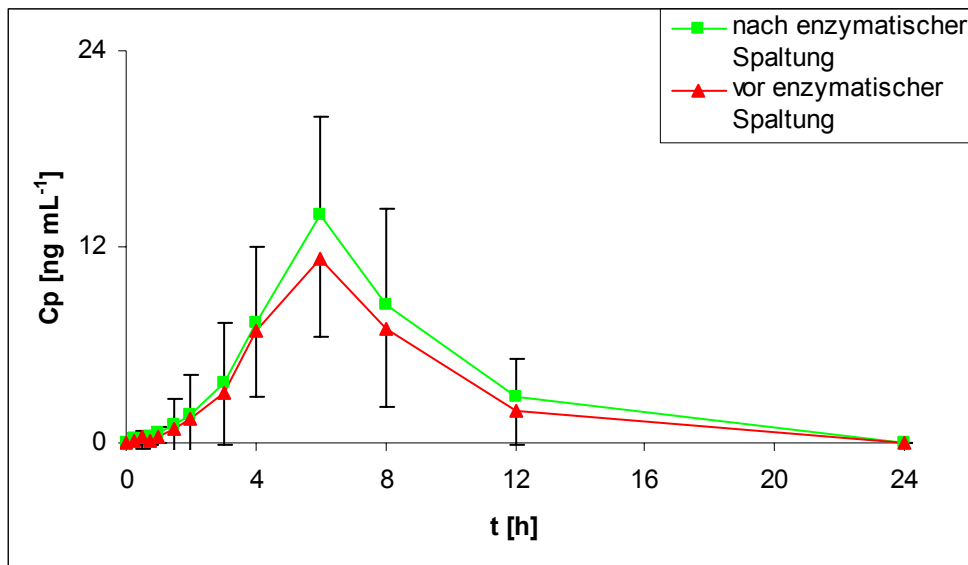


Abb. 3.18 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen (berechnet als Dihydroferulasäure) von der unbekannte Substanz vor und nach enzymatischer Spaltung nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.

3.4.9 Renale Elimination der nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt im Plasma identifizierten Substanzen

Zur Bestimmung des Gesamtgehalts und des unkonjugierten Anteils der Analyten im 24 h-Urin wurden die Urinproben mit der hierfür entwickelten und validierten Methode mit bzw. ohne Zusatz von β -Gucuronidase aufgearbeitet. Dabei konnten Isoferulasäure und Luteolin ausschließlich nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten detektiert werden. Im Gegensatz dazu kamen Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure und Dihydroferulasäure im Urin auch in der freien Form vor. Der unkonjugierte Anteil am Gesamtgehalt betrug für Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure und Ferulasäure zwischen 13 und 18 % und für Dihydroferulasäure etwa 28 % (Abb. 3.19). Ein Unterschied zwischen den beiden Studienmedikationen wurde nicht beobachtet.

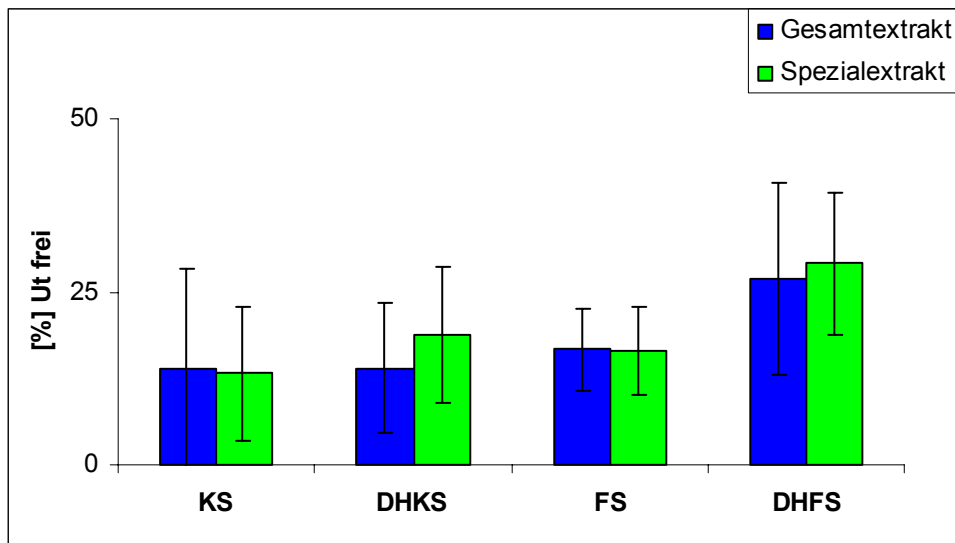


Abb. 3.19 Unkonjugierter Anteil der Analyten (MW \pm SD) im 24 h-Urin nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure.

Um den Plasmadaten zu entsprechen, beziehen sich die folgenden Angaben stets auf den Gesamtgehalt der Analyten nach enzymatischer Spaltung der Konjugate. Die insgesamt nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt im 24 h-Urin eliminierten Mengen (Ut) sind in Abb. 3.20 dargestellt. Die zu erkennenden Unterschiede zwischen den beiden Extrakten ließen sich durch die verschiedenen Mengen an Caffeoylchinasäuren bzw. Flavonoiden in den beiden Extrakten erklären. Nach Dosisnormierung war für keinen der Analyten ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen den Extrakten festzustellen. Deutliche Unterschiede zeigten sich jedoch zwischen den einzelnen Hydroxyzimtsäuren. Wurde die Summe der eliminierten Mengen aller Hydroxyzimtsäuren als 100 %-Wert gesetzt, ergab sich die in Abb. 3.21 dargestellte prozentuale Verteilung der Hydroxyzimtsäuren im Urin.

Wie schon bei der Analyse der Plasmaproben wurde ein Teil der Analyten auch im Urin bereits vor Applikation der Extrakte nachgewiesen. Allerdings waren die Mengen im Nullwert bezogen auf die insgesamt eliminierten Mengen vernachlässigbar gering. Eine Übersicht über die individuellen Daten jedes Probanden findet sich im Anhang in Tab. 7.30 und Tab. 7.41.

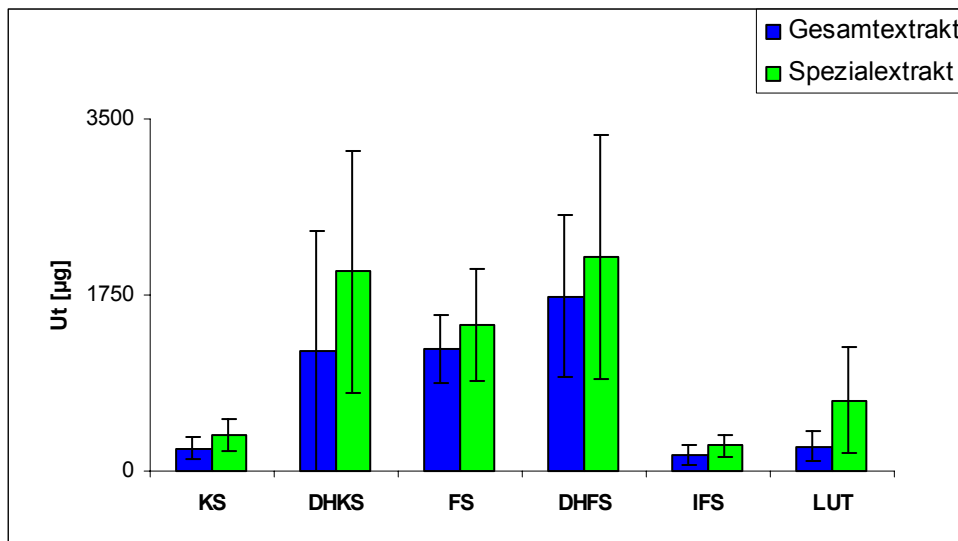


Abb. 3.20 Nach enzymatischer Spaltung im 24 h-Urin nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt bestimmte Mengen (MW±SD). KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.

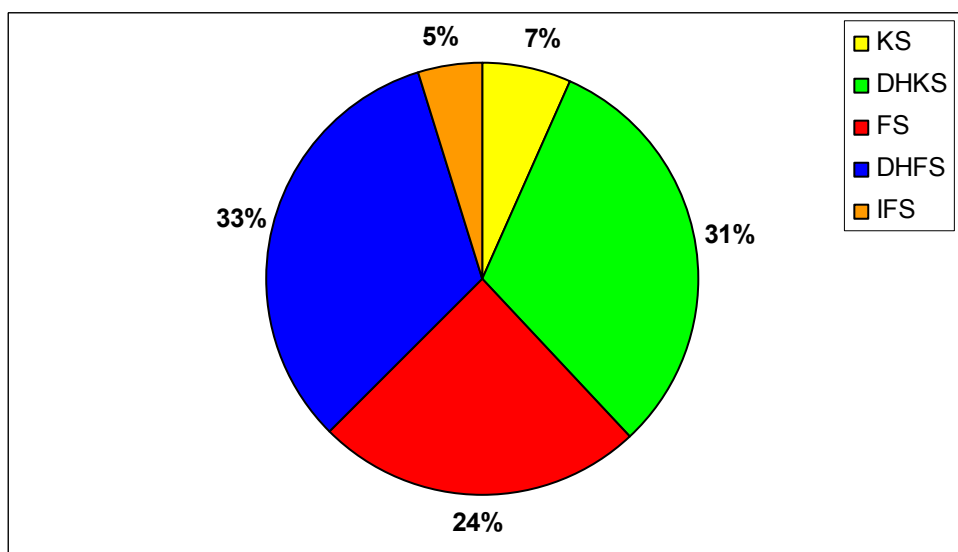


Abb. 3.21 Prozentuale Zusammensetzung der Hydroxycimtsäuren (nach enzymatischer Spaltung) im 24 h-Urin nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure.

Es wurde davon ausgegangen, dass die renale Elimination der Analyten in freier und in Form ihrer Konjugate in allen Fällen innerhalb der Urinsammelperiode von 24 h abgeschlossen war, so dass der renal eliminierte prozentuale Anteil der applizierten Dosis ermittelt werden konnte. Für die Hydroxycimtsäuren wurde dazu die applizierte Menge an Caffeoylchinasäuren (als Kaffeensäure-Äquivalente) und für Luteolin die applizierte Menge an Flavonoiden (als Luteolin-Äquivalente) als Dosis festgesetzt.

Der renal eliminierte prozentuale Anteil der applizierten Caffeoylechinasäuren in Form von Hydroxyzimtsäuren bzw. deren Konjugaten war mit 4 bis 5 % vergleichsweise gering (Abb. 3.22). Auch der renal eliminierte prozentuale Anteil der Flavonoide in Form von Luteolin-Konjugaten betrug nur knapp 2 % (Abb. 3.22). Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Extrakte bestanden nicht. Die individuellen Daten dazu sind im Anhang in Tab. 7.42 und Tab. 7.43 aufgeführt.

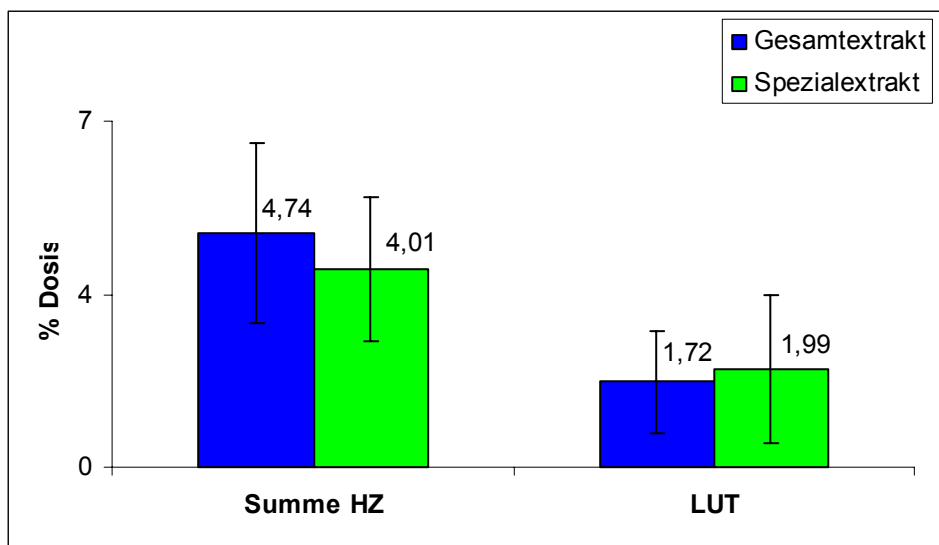


Abb. 3.22 Renale Elimination der Hydroxyzimtsäuren (HZ) und Luteolin (LUT) (nach enzymatischer Spaltung) in Prozent der den Extraktinhaltsstoffen äquivalenten Mengen Kaffeesäure bzw. Luteolin (MW±SD) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt.

3.5 Pharmakokinetische Auswertung

Für die Substanzen, die fast ausschließlich als Konjugate im Plasma vorlagen (Kaffeesäure, Ferulasäure, Isoferulasäure, Luteolin), wurde der nach enzymatischer Hydrolyse des Plasmas erhaltene Gesamtgehalt zur pharmakokinetischen Auswertung herangezogen. Dieses wäre jedoch grundsätzlich nur bei bekanntem Zusammenhang zwischen Konjugaten und Gesamtgehalt zulässig gewesen. Da die Konjugate unter den gegebenen analytischen Bedingungen nicht erfasst werden konnten, war dieser Zusammenhang in der vorliegenden Arbeit nicht bekannt. Möglicherweise wurden zudem mehrere Phase-II-Konjugate nebeneinander gebildet. Bei den Ergebnissen der pharmakokinetischen Auswertung war daher zu beachten, dass es sich zum einen nicht um die Daten der freien Substanzen handelte. Zum

anderen musste es sich auch nicht um die Daten nur eines Phase-II-Metaboliten handeln.

Für die Substanzen, die sowohl nicht-konjugiert als auch als Phase-II-Konjugate im Plasma vorlagen (Dihydrokaffeensäure, Dihydroferulasäure), erfolgte die pharmakokinetische Auswertung ebenfalls auf Basis des nach enzymatischer Hydrolyse des Plasmas erhaltenen Gesamtgehalts. Da nicht-konjugierte Form und konjugierte Form zusammen erfasst wurden, war auch hier zu beachten, dass es sich bei der pharmakokinetischen Auswertung nicht um die Daten nur einer Substanz handelte.

Über die pharmakokinetischen Parameter der jeweiligen Analyten bzw. ihrer Phase-II-Konjugate waren also nur orientierende Aussagen möglich. Da jedoch jeweils die Kinetiken von Gesamtgehalt, freier Form und Konjugaten parallel verliefen, konnten anhand des Gesamtgehalts Informationen bezüglich der t_{\max} -, k_{el} - und $t_{1/2}$ -Werte von Konjugaten und freier Form erhalten werden. Die C_{\max} - und AUC-Werte des Gesamtgehalts unterschieden sich von denen der Konjugate und freien Form nur durch einen bestimmten Faktor. Grundsätzlich war durch die Bestimmung des Gesamtgehalts für jeden Analyten die insgesamt im Plasma verfügbare Menge mit gleichem Grundgerüst bekannt.

Die Analyten konnten bei allen Probanden über einen Zeitraum von 24 h im Plasma bestimmt werden. Bei den Substanzen, die bereits vor der Medikation im Plasma gemessen wurden, näherten sich die Plasmakonzentrationen nach 24 h diesen Werten wieder an. Die Basiswerte wurden vor der pharmakokinetischen Analyse von den gemessenen Konzentrationen abgezogen.

Die Eliminationskonstante k_{el} konnte für Kaffeensäure, Dihydroferulasäure, Ferulasäure und Dihydroferulasäure nicht bei allen Probanden aus den Graphen ermittelt werden. Im Falle von Kaffeensäure und Ferulasäure lagen zu viele Messpunkte unterhalb der Bestimmungsgrenze; im Falle von Dihydrokaffeensäure und Dihydroferulasäure waren aufgrund der verzögerten Absorption zu wenig Messpunkte im Bereich der Eliminationsphase.

3.5.1 Pharmakokinetik im Nichtkompartiment-Modell

Die pharmakokinetischen Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse nach der Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt sind für die Substanzen Kaffeesäure, Dihydrokaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin in Tab. 3.16 bis Tab. 3.21 zusammengefasst. Die individuellen Daten dazu finden sich im Anhang in Tab. 7.44 bis Tab. 7.49.

Tab. 3.16 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von **Kaffeesäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

	Gesamtextrakt					Spezialextrakt				
	MW	SD	Min	Median	Max	MW	SD	Min	Median	Max
C_{\max} [ng·mL ⁻¹]	6,51	1,89	3,10	6,20	10,30	8,04	2,64	3,10	7,80	12,40
t_{\max} [h]	0,83	0,30	0,33	0,79	1,60	0,94	0,47	0,25	0,88	1,58
$AUC_{0 \rightarrow \text{last}}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	19,60	5,35	9,22	19,34	25,74	22,38	9,54	9,17	20,51	45,99
AUC_{tot} [ng·mL ⁻¹ ·h]	23,02	7,15	13,89	22,73	34,34	26,32	10,69	13,62	22,59	46,37
k_{el} [h ⁻¹]	0,28	0,13	0,12	0,26	0,52	0,37	0,20	0,12	0,41	0,74
$t_{1/2}$ [h]	3,08	1,53	1,34	2,65	5,69	2,69	1,80	0,93	1,71	5,78

Tab. 3.17 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von **Dihydrokaffeesäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

	Gesamtextrakt					Spezialextrakt				
	MW	SD	Min	Median	Max	MW	SD	Min	Median	Max
C_{\max} [ng·mL ⁻¹]	21,30	12,35	5,20	17,75	53,10	29,53	12,40	11,70	28,70	49,40
t_{\max} [h]	6,28	1,24	3,08	6,11	8,08	5,77	1,69	3,00	6,07	8,05
$AUC_{0 \rightarrow \text{last}}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	85,23	58,15	23,10	71,71	210,34	124,81	62,57	18,76	134,54	215,35
AUC_{tot} [ng·mL ⁻¹ ·h]	114,93	79,88	26,94	80,74	233,14	146,73	62,93	18,76	153,20	238,51
k_{el} [h ⁻¹]	0,29	0,16	0,09	0,25	0,67	0,38	0,18	0,08	0,45	0,66
$t_{1/2}$ [h]	3,10	1,73	1,03	2,80	7,71	2,52	2,14	1,05	1,54	9,12

Tab. 3.18 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von **Ferulasäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

	Gesamtextrakt					Spezialextrakt				
	MW	SD	Min	Median	Max	MW	SD	Min	Median	Max
C_{\max} [ng·mL ⁻¹]	8,89	1,66	6,20	8,65	12,00	15,37	3,85	10,30	15,15	23,60
t_{\max} [h]	0,77	0,26	0,50	0,76	1,50	0,98	0,35	0,50	1,00	1,58
$AUC_{0 \rightarrow \text{last}}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	47,34	9,22	23,93	48,53	61,66	77,07	26,54	41,48	69,91	113,30
AUC_{tot} [ng·mL ⁻¹ ·h]	68,86	22,09	33,25	71,87	100,90	105,71	54,87	47,82	94,88	215,05
k_{el} [h ⁻¹]	0,14	0,07	0,07	0,10	0,27	0,17	0,08	0,06	0,15	0,30
$t_{1/2}$ [h]	6,35	2,95	2,59	6,63	10,29	5,23	2,73	2,29	4,66	10,94

Tab. 3.19 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von **Dihydroferulasäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

	Gesamtextrakt					Spezialextrakt				
	MW	SD	Min	Median	Max	MW	SD	Min	Median	Max
C_{\max} [ng·mL ⁻¹]	27,56	13,79	11,99	25,02	62,90	39,72	15,51	16,30	44,00	60,50
t_{\max} [h]	6,34	1,05	4,08	6,09	8,08	6,21	1,28	4,00	6,08	8,05
$AUC_{0 \rightarrow \text{last}}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	119,84	62,91	50,31	87,25	226,90	179,95	88,14	44,69	194,19	301,86
AUC_{tot} [ng·mL ⁻¹ ·h]	147,27	95,33	50,31	97,82	352,86	205,61	98,12	75,40	219,69	414,84
k_{el} [h ⁻¹]	0,32	0,25	0,15	0,28	1,04	0,36	0,19	0,15	0,32	0,72
$t_{1/2}$ [h]	2,91	1,35	0,67	2,49	4,68	2,48	1,35	0,97	2,19	4,71

Tab. 3.20 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

	Gesamtextrakt					Spezialextrakt				
	MW	SD	Min	Median	Max	MW	SD	Min	Median	Max
C_{\max} [ng·mL ⁻¹]	7,89	2,17	5,60	7,45	13,70	10,51	2,43	6,30	9,60	14,50
t_{\max} [h]	0,83	0,26	0,52	0,77	1,53	1,10	0,43	0,28	1,08	1,58
$AUC_{0 \rightarrow \text{last}}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	34,94	21,92	18,57	27,91	102,48	41,58	17,10	23,56	34,94	76,71
AUC_{tot} [ng·mL ⁻¹ ·h]	41,19	25,96	18,97	33,36	113,66	47,37	24,04	23,89	36,27	96,81
k_{el} [h ⁻¹]	0,28	0,19	0,09	0,21	0,81	0,36	0,18	0,08	0,35	0,73
$t_{1/2}$ [h]	3,46	1,99	0,85	3,25	7,44	2,69	2,07	0,95	1,99	8,61

Tab. 3.21 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von **Luteolin** nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.

	Gesamtextrakt					Spezialextrakt				
	MW	SD	Min	Median	Max	MW	SD	Min	Median	Max
C_{\max} [ng·mL ⁻¹]	59,07	32,82	20,82	52,00	137,90	156,51	92,25	62,80	142,90	384,10
t_{\max} [h]	0,36	0,18	0,25	0,29	0,80	0,46	0,18	0,25	0,50	0,80
$AUC_{0 \rightarrow \text{last}}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	158,98	73,87	84,49	139,21	336,04	464,81	183,05	186,45	431,36	788,49
AUC_{tot} [ng·mL ⁻¹ ·h]	168,61	76,85	86,86	154,26	345,89	499,57	194,01	196,18	476,13	857,66
k_{el} [h ⁻¹]	0,32	0,13	0,17	0,28	0,67	0,37	0,24	0,14	0,28	1,12
$t_{1/2}$ [h]	2,50	0,85	1,04	2,44	4,01	2,45	1,14	0,62	2,44	5,09

3.5.2 Bestimmung der renalen Clearance

Zur Bestimmung der renale Clearance wurde für jeden Analyten die insgesamt im 24 h-Urin ausgeschiedenen Menge (U_t) durch die jeweilige AUC_{tot} geteilt. Die Unterschiede zwischen den beiden Studienmedikationen kamen durch die großen interindividuellen Schwankungen zwischen die Probanden zustande, waren aber

statistisch nicht signifikant ($p < 0,05$). Die Ergebnisse sind in Tab. 3.22 sowie Abb. 3.23 zusammengefasst.

Tab. 3.22 Bestimmung der renalen Clearance in $L \cdot h^{-1}$ durch jeweilige Division von U_t durch AUC_{tot} . KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.

		KS	DHKS	FS	DHFS	IFS	LUT
Gesamtextrakt	MW	10,73	17,02	21,08	16,24	5,39	1,58
	SD	6,12	7,58	12,64	12,08	4,76	0,92
	Min	3,90	4,44	6,74	2,96	1,01	0,26
	Median	9,92	16,48	18,90	12,78	3,27	1,26
	Max	22,98	32,56	51,05	40,89	16,24	4,00
Spezialextrakt	MW	13,30	16,76	17,53	10,70	6,09	1,39
	SD	3,96	12,16	11,44	5,23	3,63	0,71
	Min	7,98	2,28	5,76	2,88	1,86	0,29
	Median	13,18	14,52	15,49	11,15	5,21	1,46
	Max	37,17	50,05	45,25	21,89	15,29	2,69

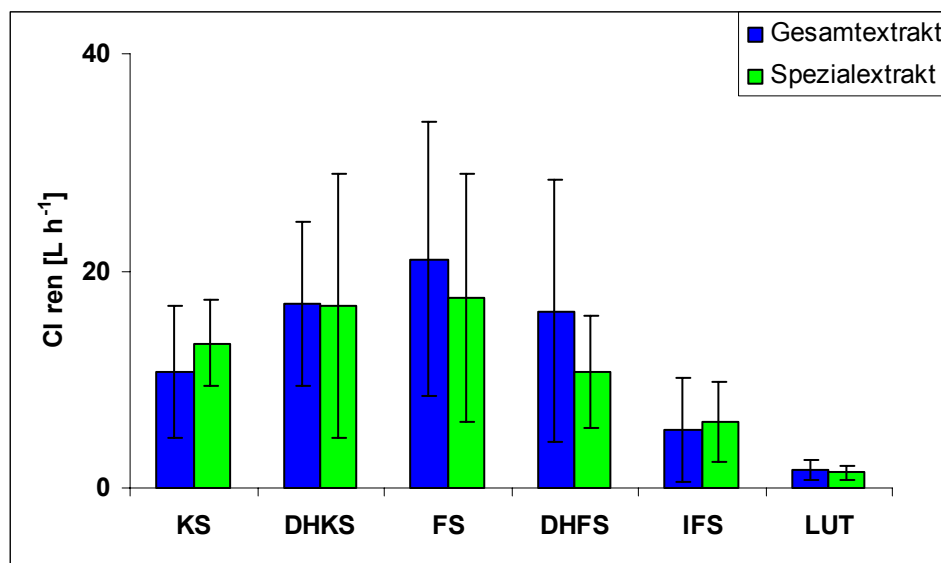


Abb. 3.23 Renale Clearance ($MW \pm SD$) der nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt im Plasma detektierten Analyten (nach enzymatischer Spaltung). KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.

3.6 Biostatistische Betrachtungen der Ergebnisse

Zum Vergleich der pharmakokinetischen Parameter der einzelnen nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt im Plasma detektierten Analyten wurde eine ANOVA durchgeführt. Bei den Berechnungen zu C_{\max} und AUC_{tot} musste die unterschiedliche Dosis an Caffeoylchinasäuren (als Kaffeesäure Äquivalente) bzw. an Flavonoiden (als Luteolin Äquivalente) in den Extrakten berücksichtigt werden. Die Analyse ergab bei keiner der Substanzen für keinen der gewählten pharmakokinetischen Parameter einen statistisch signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied zwischen den beiden Studienmedikationen (siehe Tab. 7.50 bis Tab. 7.55). Auch der bei Kaffeesäure, Ferulasäure und Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt gegenüber dem Gesamtextrakt zu erkennende leichte Trend zu höheren Werten für t_{\max} (Abb. 3.24, Abb. 3.26, Abb. 3.28) war bei keiner der Substanzen signifikant.

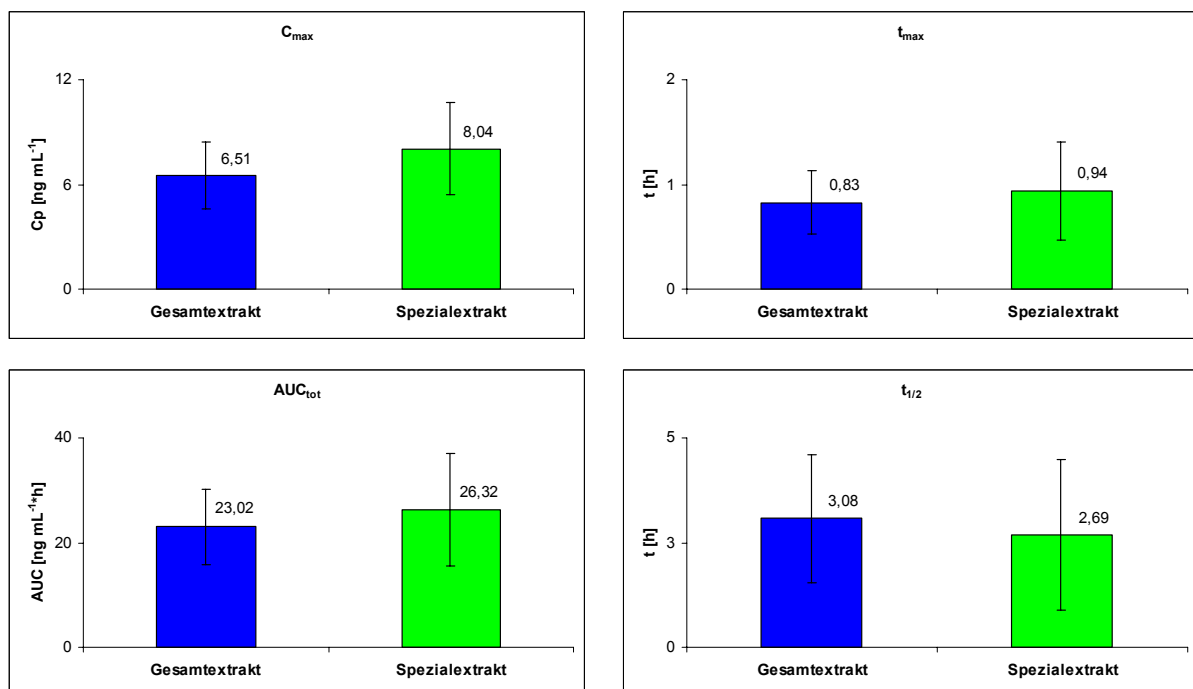


Abb. 3.24 Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von **Kaffeesäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.

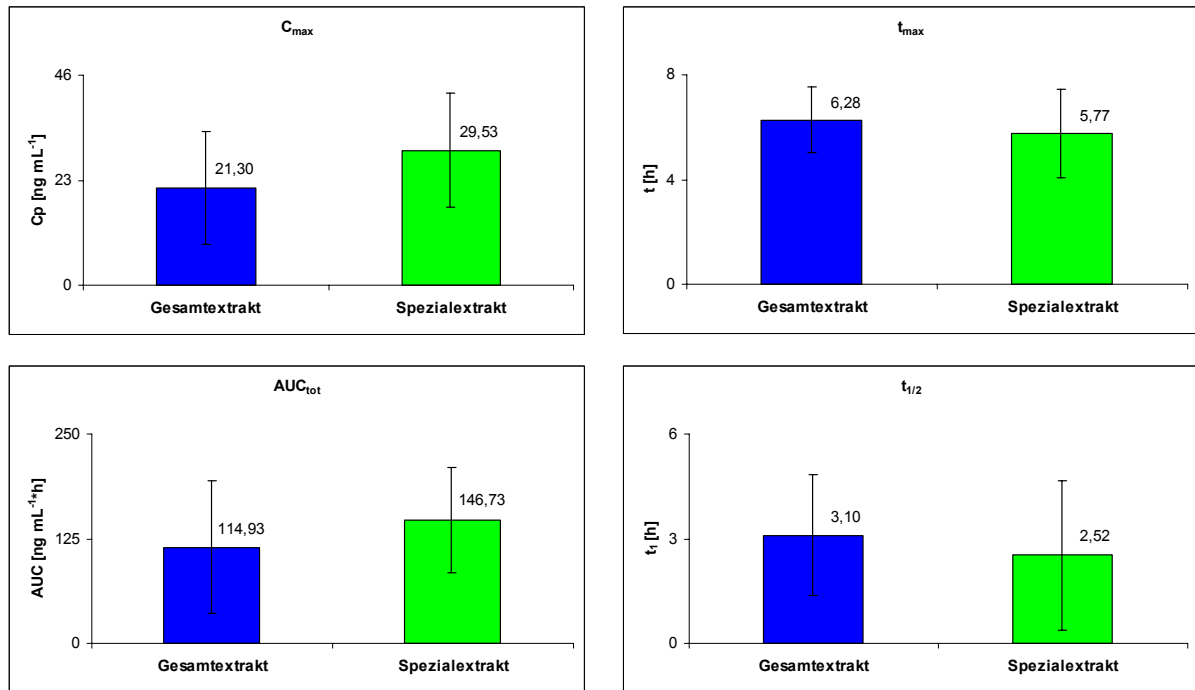


Abb. 3.25 Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von **Dihydrokaffeoesäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.

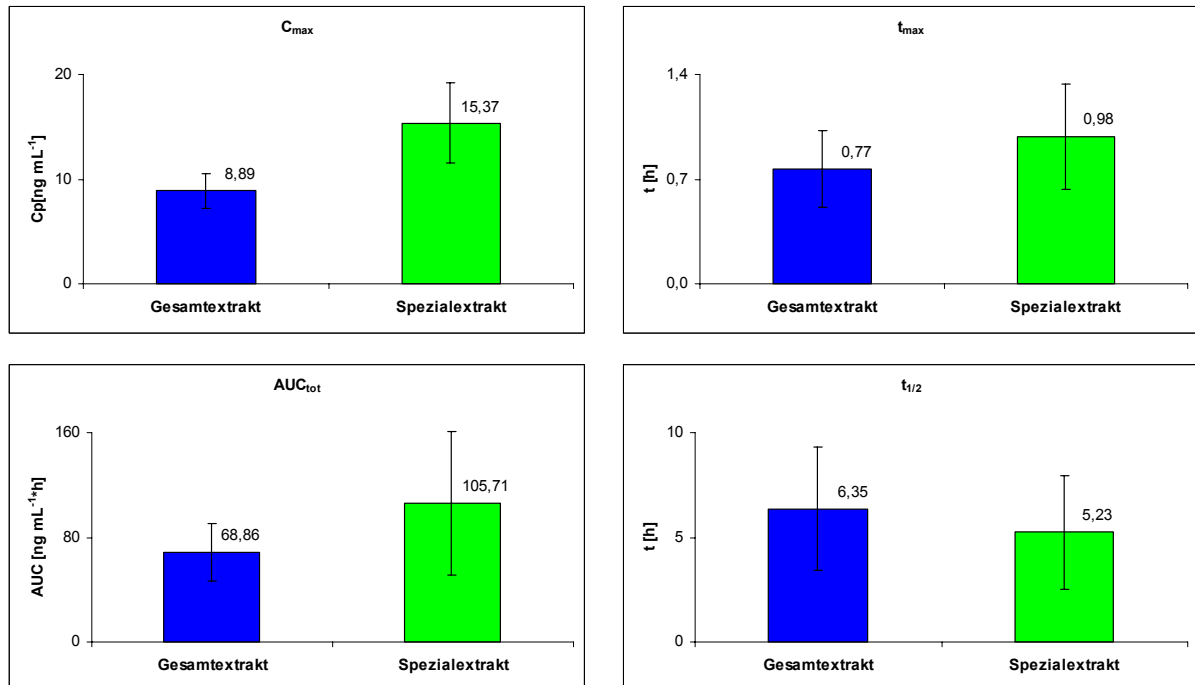


Abb. 3.26 Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von **Ferulasäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.

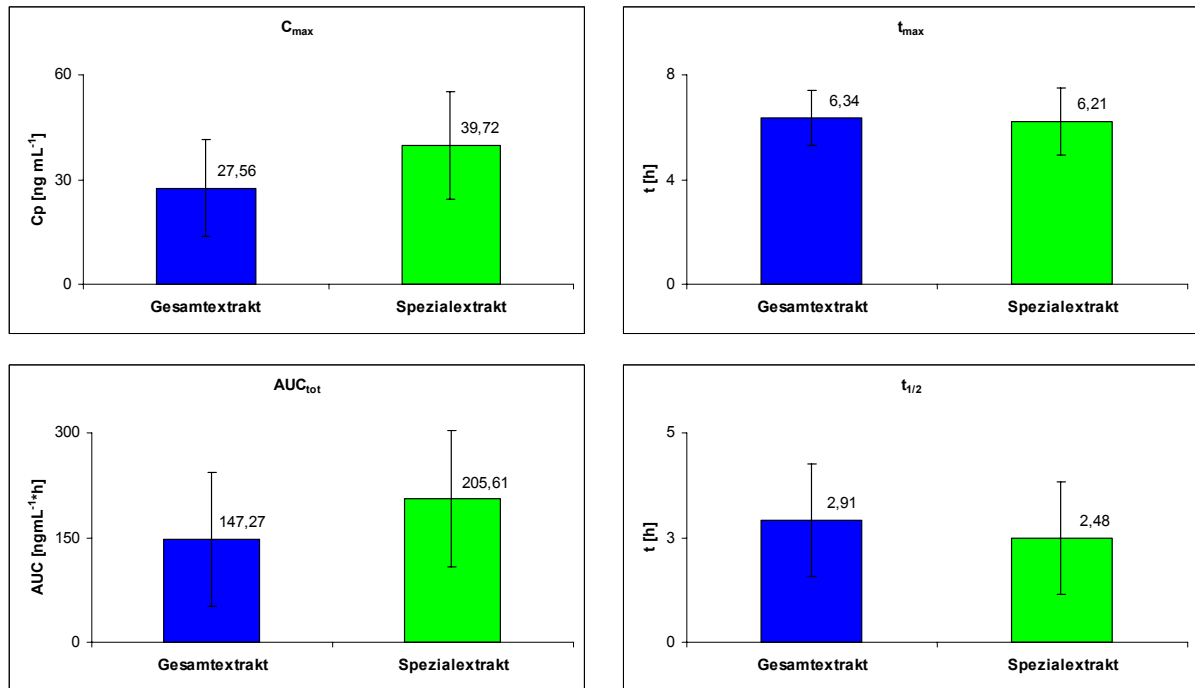


Abb. 3.27 Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von **Dihydroferulasäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.

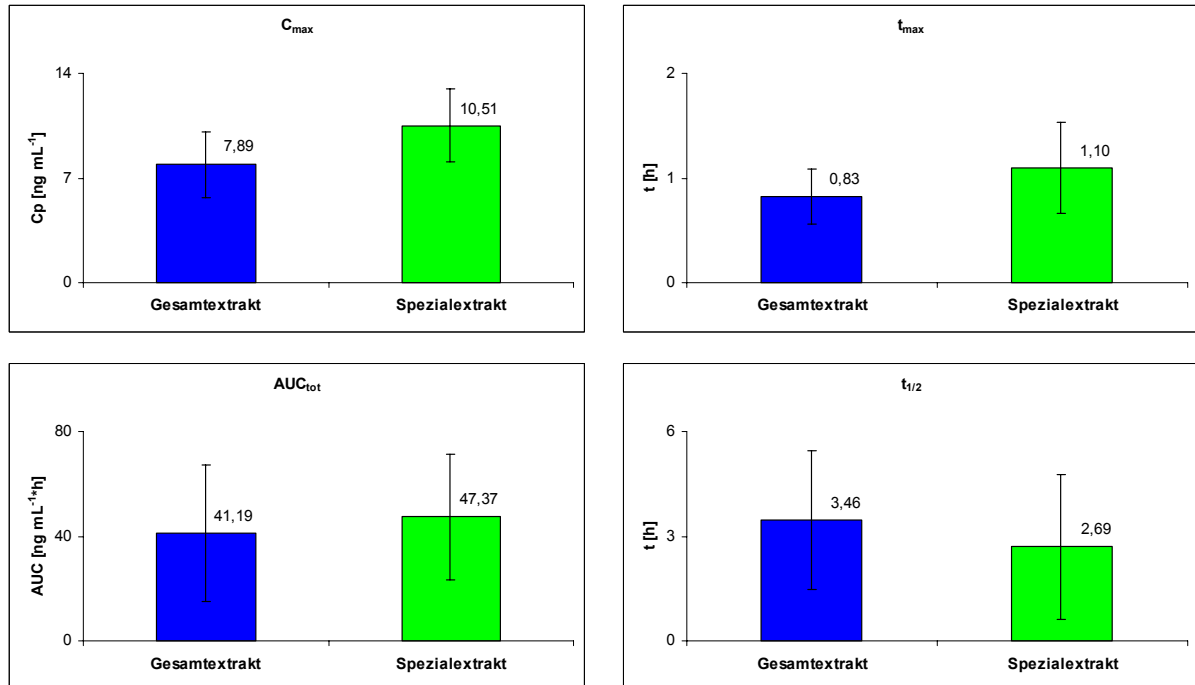


Abb. 3.28 Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von **Isoferulasäure** nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.

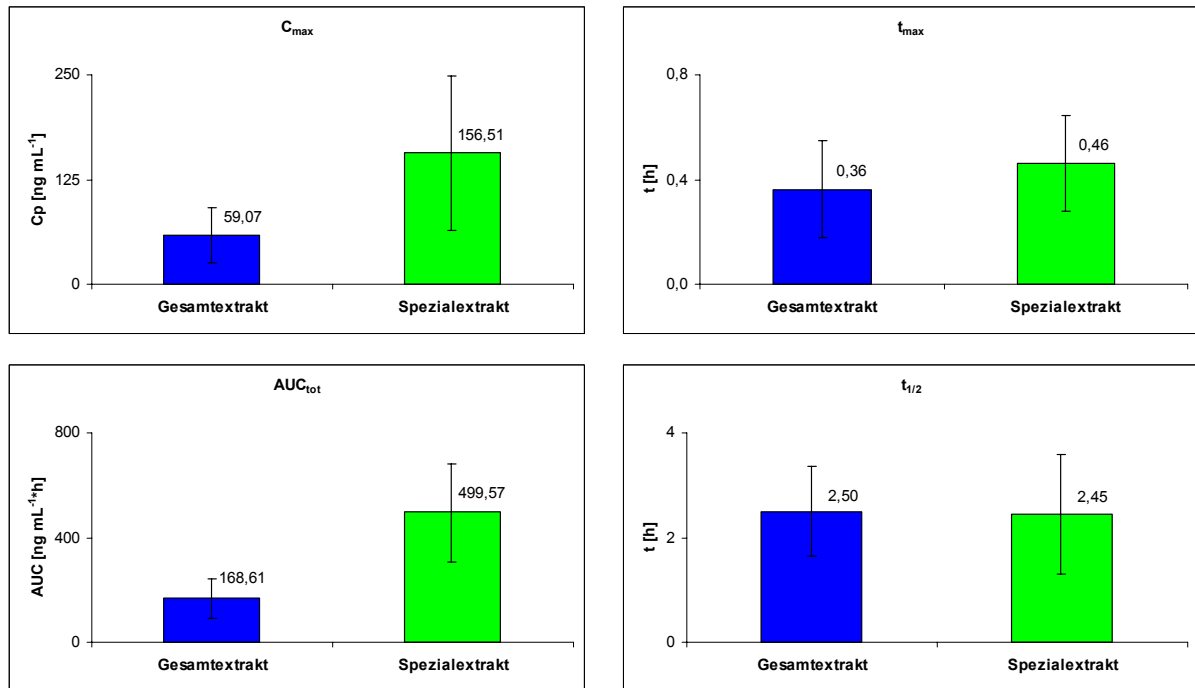


Abb. 3.29 Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von **Luteolin** nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.

4 Diskussion

4.1 Analytische Methoden

Die Bestimmung von Dihydrokaffeesäure, Kaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin in Plasma und Urin erforderte ausreichend sensitive und selektive Analysenmethoden. Da die Analyten alle redoxempfindlich waren, stellte die elektrochemische Detektion das Verfahren der Wahl dar. Die elektrochemische Detektion wurde in den letzten Jahren bereits häufig zur Bioanalytik von Hydroxycimtsäuren (Azuma et al. 2000; Simonetti et al. 2001; Nardini et al. 2002) und Flavonoiden (Jones et al. 1998; Erlund et al. 1999; Graefe et al. 2001) eingesetzt. Ein wesentlicher Vorteil des Detektionsverfahrens besteht in den niedrigen Bestimmungs- und Nachweisgrenzen, die sich auch in komplexen Matrices erreichen lassen. Sogar im Vergleich zu der als sehr sensitiv geltenden massenspektrometrischen Detektion sind die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für phenolische Verbindungen in der Regel besser (Bocchi et al. 1996; Saito et al. 2001). Im Rahmen der hier durchgeführten Studie konnten mittels elektrochemischer Detektion für alle Zielanalyten Nachweisgrenzen im unteren Nanogramm Bereich erreicht werden. Dies entspricht den Daten aus vergleichbaren Studien oder übertrifft diese auch (Erlund et al. 1999; Azuma et al. 2000).

Die elektrochemische Detektion ist jedoch nicht nur ein sehr sensitives sondern auch ein selektives Detektionsverfahren (Milbury 2001). Im Gegensatz zu den bisher in der Plasmaanalytik vielfach eingesetzten Einkanal-detektoren mit nur einem festen Messpotential bestand der in der vorliegenden Arbeit verwendete Detektor aus 12 in Reihe geschalteten Elektroden, die jeweils über variable Messpotentiale verfügten. Damit konnte zur Quantifizierung für jeden Analyten das Potential mit der höchsten Selektivität gewählt werden. Gekoppelt an ein HPLC System stand somit ein ausreichend sensitives und selektives Meßsystem zur Verfügung. Zur Trennung aller sechs o.g. Analyten von Matricespeaks aus Plasma und Urin wurden zwei verschiedene Gradientenläufe entwickelt. Einschließlich Säulenspülung betrug die Gradientenlaufzeit zwar jeweils 108 min, ermöglichte jedoch die Trennung aller sechs Analyten innerhalb einer Methode.

Vergleichbare Ansätze liegen nur für massenspektrometrische Methoden vor (Cremin et al. 2001; Nielsen et al. 2003). Die Massenspektrometrie stellt neben der

elektrochemischen Detektion momentan eines der selektivsten Detektionsprinzipien dar. In einer von Cremin et al. beschriebenen MS-Methode konnten Kaffeesäure, Ferulasäure und Chlorogensäure ebenfalls selektiv in biologischen Matrices getrennt werden. Flavonoide wurden jedoch nicht berücksichtigt (Cremin et al. 2001). Die von Nielsen et al. entwickelte MS-Methode zur Trennung von Kaffeesäure, Chlorogensäure und Catechinen beschränkte sich auf die Analyse von Urinproben (Nielsen et al. 2003).

Durch den Vergleich zur MS-Detektion wird ein wichtiger Nachteil der im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendeten Methode offensichtlich. Die Analysenzeit zur selektiven Trennung der Analyten mittels elektrochemischer Detektion war wesentlich länger als in den o.g. MS-Methoden (Cremin et al. 2001; Nielsen et al. 2003). Zudem war die Selektivität der elektrochemischen Detektion nicht ausreichend, um neben der nicht-konjugierten Form der Analyten auch noch deren Konjugate (Glucuronide, Sulfate) zu detektieren. Mit massenselektiven Detektionsmethoden können auch coeluiierende Analyten bestimmt werden, solange sie sich in der Masse unterscheiden. Zur Identifizierung der Konjugate und damit letztendlich zur Abklärung, in welcher Form die Analyten überwiegen in den biologischen Matrices vorlagen, wären massenspektrometrische Untersuchungen daher extrem hilfreich. Diese standen jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht zur Verfügung.

Neben der Detektions- und Trennmethode war für die Analyse der Plasma- und Urinproben auch eine geeignete Aufarbeitungsmethode erforderlich. Zu Beginn dieser Arbeit existierten zwar verschiedene Flüssig-Flüssig- und Festphasenextraktionsmethoden, diese beschränkten sich jedoch im Wesentlichen auf die Extraktion von entweder einzelnen Hydroxyzimtsäuren oder Flavonoiden aus Plasma bzw. Urin. In keiner dieser Methoden wurden bislang Hydroxyzimtsäuren und Flavonoide zusammen extrahiert. Da die Flüssig-Flüssig- und Festphasenextraktionsmethoden zudem aus relativ vielen Aufarbeitungsschritten bestanden, erfolgte die Entwicklung der Aufarbeitungsmethode in Anlehnung an eine von Graefe et al. publizierte Methode zur Extraktion von Quercetin aus biologischen Matrices (Graefe et al. 2001). Diese Methode sah nur eine einfache Proteinfällung mit anschließender Aufkonzentrierung vor und ermöglichte so die parallele Aufarbeitung einer relativ großen Probenanzahl. Da sie jedoch für die Extraktion von

Flavonoiden konzipiert worden war, wurde ein zusätzliches Ansäuern der Proben vor der Analyse notwendig, um neben Flavonoiden auch Hydroxyzimtsäuren zufriedenstellend extrahieren zu können. Die so entwickelte Aufarbeitungsmethode erlaubte dann sowohl eine Bestimmung des frei vorliegenden Anteils der Analyten als auch der Phase-II-Konjugate (über die Bestimmung des Gesamtgehalts nach Konjugatspaltung). Obwohl mit anderen Aufarbeitungsmethoden für einzelne Analyten Wiederfindungen um 100 % erzielt wurden (Maiani et al. 1997; Shimoï et al. 1998; Nardini et al. 2002), gewährleistete die in der vorliegenden Arbeit entwickelte Methode die gemeinsame Extraktion aller Analyten mit einer immer noch ausreichend reproduzierbaren Wiederfindung von 65-85 % in Plasma bzw. von 50-80 % in Urin. Wie schwierig es ist, verschiedene Substanzen simultan aus biologischen Matrices zu extrahieren, zeigten Untersuchungen von Cremin et al., in denen Kaffeesäure, Ferulasäure und Chlorogensäure gemeinsam mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion extrahiert wurden. Die Wiederfindungen lagen hier in einer wesentlich größeren Spanne zwischen 20 und 99 % (Cremin et al. 2001).

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten Methoden zur simultanen Bestimmung von Dihydrokaffeesäure, Kaffeesäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin in Plasma und Urin konnten nach Entwürfen für internationale Richtlinien zur Validierung bioanalytischer Methoden validiert werden (Guidance for Industry (Draft) - Bioanalytical Methods Validation for Human Studies). Die Linearität der Methode wurde sowohl für die Plasma- als auch für die Urinanalytik im jeweiligen Arbeitsbereich gezeigt. Die relative Standardabweichungen für Präzision und Richtigkeit lagen bei allen Analyten innerhalb < 15 % und an der geringsten Konzentration des Arbeitsbereichs innerhalb < 20 %, so dass diese als Bestimmungsgrenze definiert werden konnte. Damit erwiesen sich die entwickelten Methoden zur routinemäßigen Analytik von den o.g. Analyten aus Plasma und Urin als geeignet. Sie waren zugleich die ersten validierten Methoden, die eine gleichzeitige Bestimmung aller sechs Analyten ermöglichten. Zu den bisher zur Auswertung von Bioverfügbarkeitsstudien pflanzlicher Phenole verwendeten Methoden wurden häufig keine Validierungsdaten publiziert. Damit waren diese untereinander nur schwer vergleichbar und kamen für einzelne Analyten zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen.

4.2 Humanstudie zur Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt

Das Ausmaß der Bioverfügbarkeit und der Metabolismus der als wirksam angesehenen Inhaltsstoffe aus Artischockenblätter-Extrakt (Caffeoylchinasäuren und Luteolin-7-O-glucosid) wurde bislang nur wenig untersucht. Es existieren zwar Studien zu einzelnen Extraktinhaltsstoffen, denen lagen jedoch zum Teil sehr unterschiedliche Fragestellungen zugrunde. Den methodischen Unterschieden zur Folge ergab sich aus den publizierten Studien ein sehr uneinheitliches Bild zur Bioverfügbarkeit und Metabolismus der Extraktinhaltsstoffe. In vielen Fällen wurde nur speziell nach einzelnen Metaboliten gesucht und nicht grundsätzlich die Bioverfügbarkeit hinterfragt. Zudem beschränkten sich die meisten Untersuchungen auf die Bestimmung von Substanzen im Urin, so dass Daten zum Nachweis im Plasma weitgehend fehlen.

Eine Studie in der mehrere Metabolite von Inhaltsstoffen aus Artischockenblätter-Extrakt in freier oder gebundener Form in Plasma und Urin untersucht wurden, lag somit zum Beginn der vorliegenden Arbeit nicht vor. Ebenso wenig waren Daten zu pharmakokinetischen Parametern dieser Substanzen publiziert. Solche sind jedoch eine wichtige Voraussetzung, um pharmakologische Resultate aus in-vitro Studien mit Ergebnissen zur klinischen Wirksamkeit korrelieren zu können. Um das uneinheitliche Bild zum Metabolismus von Caffeoylchinasäuren und Luteolin-7-O-glucosid zu klären, wurde im Rahmen der hier vorgestellten Untersuchungen eine Studie zur oralen Bioverfügbarkeit von Artischockenblätter-Extrakt durchgeführt. In der Studie wurde im Cross-over Design die Bioverfügbarkeit zweier Artischockenblätter-Extrakte (Gesamtextrakt, Spezialextrakt) miteinander verglichen. Gegenüber dem wässrigen Gesamtextrakt waren im Spezialextrakt die Monocaffeoylchinasäuren abgereichert und die Dicaffeoylchinasäuren und Flavonoide angereichert. In pharmakologischen in-vitro Tests zeigte sich, dass die veränderte Zusammensetzung der Extrakte eine deutliche Auswirkung auf das Wirkprofil hat. Das veränderte Inhaltsstoffspektrum im Spezialextrakt führte in-vitro zu einer stärkeren Hemmung der Cholesterinbiosynthese, zu einer stärkeren Erhöhung der Gallensäuresekretion und zu einer stärkeren Hemmung der LDL-Oxidation.

4.2.1 Metabolismus Caffeoylchinasäuren

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass Caffeoylchinasäuren nach oraler Applikation von Artischockenblätter-Extrakt nicht systemisch verfügbar waren. Dies bestätigt die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen. In Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Apfel Cider, Kaffee und Artischockenblätter-Extrakt wurden nach oraler Applikation ebenfalls keine intakten Caffeoylchinasäuren in Plasma (DuPont et al. 2002; Nardini et al. 2002) und Urin (Rechner et al. 2001a; Rechner et al. 2001b) nachgewiesen. Der vorliegenden Arbeit zur Folge wurden die Caffeoylchinasäuren metabolisiert und lagen in Form von Hydroxyzimtsäuren bzw. deren Phase-II-Konjugaten im Körper vor.

Dabei konnte zunächst die in den Caffeoylchinasäuren mit Chinasäure veresterte Kaffeesäure in Plasma und Urin nachgewiesen werden. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen anderer Humanstudien, in denen nach oraler Applikation von Caffeoylchinasäuren ebenfalls Kaffeesäure in Plasma (Cremin et al. 2001; DuPont et al. 2002; Nardini et al. 2002) und Urin (Booth et al. 1957; Cremin et al. 2001) bestimmt wurde. Sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in den bisherigen Studien wurde Kaffeesäure überwiegend erst nach hydrolytischer Spaltung von Phase-II-Metaboliten detektiert und lag nur in geringen Mengen nicht-konjugiert vor. Der Nachweis von Kaffeesäure bzw. Kaffeesäure-Konjugaten in Plasma und Urin macht deutlich, dass Caffeoylchinasäuren nach oraler Applikation im Körper einer Esterspaltung unterlagen und die freigesetzte Kaffeesäure glucuronidiert und/oder sulfatiert wurde. Die Potenz zur Sulfatierung und Glucuronidierung von Polyphenolen wurde sowohl für die Enterozyten des Darms als auch für die Leber beschrieben (Scalbert et al. 2000). Bisher publizierten Daten zur Folge erscheint im Fall von Kaffeesäure eine Konjugation in den Enterozyten wahrscheinlicher zu sein. In Perfusionsexperimenten am Rattendarm lag Kaffeesäure zu 63,7 % in Form von Phase-II-Konjugaten im Resorbat vor (Spencer et al. 1999). Nach Perfusion von Rattenleber wurden hingegen nur 6,7 % der Kaffeesäure als Konjugate wiedergefunden (Gumbinger et al. 1993).

Neben Kaffeesäure bzw. Kaffeesäure-Konjugaten wurden nach Applikation von Caffeoylchinasäuren in der vorliegenden Arbeit erstmals auch Phase-I-Metabolite der Kaffeesäure (Ferulasäure, Isoferulasäure) in Plasma und Urin nachgewiesen.

Entsprechend der Kaffeesäure lagen die Phase-I-Metabolite überwiegend konjugiert vor. In früheren Humanstudien konnten Ferulasäure und Isoferulasäure nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten nur im Urin (Rechner et al. 2001a; Rechner et al. 2001b), nicht aber im Plasma bestimmt werden (Cremin et al. 2001; DuPont et al. 2002; Nardini et al. 2002). Phase-I-Metabolite der Kaffeesäure traten also bislang nur renal auf. Demnach war unklar, ob sie bereits vor der Elimination oder erst im Nierengewebe gebildet wurden.

Der Nachweis von Phase-I-Metaboliten unterstreicht die hohe Sensitivität und Selektivität der zur Probenanalyse verwendeten coulometrischen Array Detektion. Zudem wird durch die Bestimmung der Phase-I-Metabolite im Plasma deutlich, dass eine Methylierung von Kaffeesäure bzw. Kaffeesäure-Konjugaten nicht erst im Nierengewebe erfolgte. Die Methylierung fand entweder bereits im Enterozyten des Darms oder in der Leber statt. Verschiedene in-vitro Experimente belegen die Methylierung von Kaffeesäure durch Catechol-O-methyltransferasen unter Bildung von Ferulasäure und Isoferulasäure in der Leber (Scheline 1991; Moridani et al. 2002). Für andere Polyphenole wie z.B. Catechin konnte auch eine Methylierung in den Enterozyten des Darms gezeigt werden (Kuhnle et al. 2000). Eine entsprechende Catechol-O-methyltransferase-Aktivität gegenüber Kaffeesäure ist daher nicht auszuschließen.

Neben den Phase-I- und Phase-II-Metaboliten wurde nach Applikation von Caffeoylechinolchinasäuren in der vorliegenden Arbeit ein weiterer Metabolit der Kaffeesäure in Plasma und Urin detektiert, der sehr wahrscheinlich durch die intestinale Mikroflora gebildet wurde. Zu den intestinalen Abbauprodukten der Kaffeesäure zählen Dihydrokaffeesäure, m-Cumarsäure, m-Hydroxyphenylpropionsäure, 4-Vinylcatechol und 3-Ethylcatechol (Peppercorn et al. 1971). Im Rahmen dieser Arbeit konnte jedoch nur Dihydrokaffeesäure als intestinaler Kaffeesäure-Metabolit nachgewiesen werden. Alle anderen Substanzen wurden nicht weiter berücksichtigt, da eine eindeutige Zuordnung nicht möglich war. Der Nachweis von Dihydrokaffeesäure in Plasma und Urin nach Applikation von Caffeoylechinolchinasäuren bestätigt die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen (Booth et al. 1957; Goldstein et al. 1984).

Dihydrokaffeesäure lag zu etwa 70 % in Form von Phase-II-Konjugaten im Körper vor. Eine Metabolisierung zu Phase-II-Konjugaten erfolgte im Gegensatz zu

Kaffeensäure vermutlich erst in der Leber. Dihydrokaffeensäure wurde als intestinaler Metabolit im Kolon gebildet. Untersuchungen von Strassburg et al. konnten zeigen, dass die Glucuronyltransferase-Aktivität gegenüber Phenolen in der Leber 96-fach höher ist als im Kolon (Strassburg et al. 1999). Über eine Sulfatierung liegen diesbezüglich keine Ergebnisse vor.

In der Leber wurden neben Phase-II-Metaboliten auch Phase-I-Metabolite der Dihydrokaffeensäure gebildet. Zum einen konnte Dihydroferulasäure (3'-O-Methyldihydrokaffeensäure) in Urin und Plasma nachgewiesen werden. Zum anderen zeigte in den vorliegenden Untersuchungen eine bisher nicht identifizierte Substanz eine Dihydroferulasäure entsprechende Konzentrationskinetik im Plasma. Retentionszeit und elektrochemisches Verhalten deuten darauf hin, dass es sich dabei um Dihydroisoferulasäure (4'-O-Methyldihydrokaffeensäure) handelte. Es ist daher anzunehmen, dass analog zur Methylierung von Kaffeensäure auch im Fall von Dihydrokaffeensäure sowohl das 3'-O- als auch das 4'-O-Methylierungsprodukt gebildet wurde. In-vitro Untersuchungen an isolierten Hepatozyten der Ratte bestätigen eine Methylierung von Dihydrokaffeensäure in der Leber (Moridani et al. 2002).

Dihydroferulasäure konnte nach Applikation von Caffeoylechinasäuren in früheren Studien bislang nur im Urin bestimmt werden (Graefe et al. 1999; Rechner et al. 2001a; Rechner et al. 2001b). Der erstmalige Nachweis im Plasma im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist ein weiterer Beleg für die hohe Sensitivität und Selektivität des verwendeten Analysenverfahrens.

Im Gegensatz zu den anderen Hydroxyzimtsäuren lag Dihydroferulasäure zu ca. 75 % nicht-konjugiert im Plasma vor. Im Urin betrug der nicht-konjugierte Anteil hingegen nur noch 25 %. Dies steht im Einklang mit Untersuchungen von Graefe et al., in denen nach Applikation von Schachtelhalmkraut 60-80 % von Dihydroferulasäure als Konjugate im Urin bestimmt wurden (Graefe et al. 1999). Durch UDP-Glucuronyltransferasen könnte eine zusätzliche Glucuronidierung im Nierengewebe bzw. -epithel erfolgt sein. An Hand von Modellsubstanzen konnte gezeigt werden, dass die Nierenmikrosomen Glucuronyltransferaseaktivität besitzen, bzw. sogar einen effizienteren Beitrag zur Glucuronidierung leisten als beispielsweise Lebermikrosomen (Brunelle et al. 1996; Shipkova et al. 2001).

4.2.2 Pharmakokinetik Caffeoylchinasäuren

Der Vergleich der Konzentrations-Zeit-Profile zwischen den einzelnen im Plasma bestimmten Metaboliten zeigt, dass diese bezüglich der t_{\max} -Werte und der maximal erreichten Plasmakonzentrationen in zwei Gruppen eingeteilt werden konnten. Zudem unterschieden sich die einzelnen Metabolite in ihren Eliminationsprofilen nach Erreichen der maximalen Plasmakonzentrationen.

Kaffeesäure-, Ferulasäure- und Isoferulasäure-Konjugate fluteten bereits 15 min nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma an und maximale Plasmaspiegel wurden nach etwa 1 h erreicht. Diese Daten sind vergleichbar mit den Ergebnissen aus zwei anderen Studien. Nach Applikation von Caffeoylchinasäuren in Form von Apfel Cider bzw. Kaffee wurden maximale Konzentrationen von Kaffeesäure-Konjugaten ebenfalls nach etwa 1 h bestimmt (DuPont et al. 2002; Nardini et al. 2002).

Der schnelle Anstieg der Plasmakonzentrationen gibt einen Hinweis darauf, dass die Caffeoylchinasäuren noch vor Erreichen des systemischen Kreislaufs in oberen Darmabschnitten oder direkt nach Erreichen des systemischen Kreislaufs gespalten wurden. Allerdings fehlt dafür ein Beleg. Plumb et al. zeigten, dass Chlorogensäure nach Inkubation mit einem Extrakt aus humanem Dünndarm, Leber oder Plasma nicht enzymatisch gespalten wurde. Zudem erwies sich Chlorogensäure in Magen- und Darmsaft als stabil (Takenaka et al. 2000; Olthof et al. 2001). Möglicherweise erfolgte in Analogie zur Spaltung von glycosidischen Bindungen durch Lactase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) (Day et al. 2000) eine Spaltung der Esterbindung durch membranständige Enzyme des Darms. Deren Aktivität gegenüber Caffeoylchinasäuren wurde bislang jedoch nicht untersucht.

Für die Aufnahme der freigesetzten Kaffeesäure in die Enterozyten des Dünndarms wird neben der passiven Diffusion ein aktiver Transportmechanismus angenommen. Wolfram et al. und Ader et al. zeigten in ihren Untersuchungen an Segmenten des Rattendünndarms die Beteiligung eines natriumabhängigen Transportmechanismus an der Resorption von Kaffeesäure (Wolfram et al. 1995; Ader et al. 1996).

Dihydroferulasäure, Dihydrokaffeesäure bzw. Dihydrokaffeesäure- und Dihydroferulasäure-Konjugate erreichten ihre maximale Plasmakonzentrationen erst 6 bis 7 h nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Hierzu existieren in der

Literatur bislang keine vergleichbaren Daten aus Bestimmungen im humanen Plasma. Rechner et al. detektierten Dihydroferulasäure jedoch nach Applikation von Kaffee im Urin. Die Untersuchungen zeigten, dass Dihydroferulasäure erst 8 bis 12 h nach Trinken des Kaffees ausgeschieden wurde (Rechner et al. 2001b).

Die t_{\max} -Werte von 6 bis 7 h Stunden deuten darauf hin, dass Caffeoylchinasäuren nicht nur in den oberen Darmabschnitten sondern auch im Kolonbereich gespalten wurden. Die Spaltung der Caffeoylchinasäuren durch Bakterien der intestinalen Mikroflora wird durch Untersuchungen von Plumb et al. belegt. Nach Inkubation von Chlorogensäure mit einem Extrakt des menschlichen Faeces wurde Kaffeesäure im Inkubationsmedium nachgewiesen (Plumb et al. 1999).

Der Nachweis von Dihydrokaffeesäure bzw. Dihydrokaffeesäure-Konjugaten im Plasma und das Fehlen eines zweiten Maximums im Konzentrations-Zeit-Profil der Kaffeesäure-Konjugate machen deutlich, dass die im Kolon freigesetzte Kaffeesäure nicht wie in oberen Darmabschnitten resorbiert, sondern noch vor der Resorption metabolisiert wurde.

Für alle Metabolite lagen die Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt t_{\max} im ng mL^{-1} Bereich. Die C_{\max} -Werte der intestinalen Metabolite waren jedoch etwa um ein Drittel höher als die der Kaffeesäure-, Ferulasäure- und Isoferulasäure-Konjugate. Dies deutet darauf hin, dass die Caffeoylchinasäuren mehrheitlich durch die Bakterien der intestinalen Mikroflora metabolisiert und nur zu einem geringen Anteil in oberen Darmabschnitten gespalten wurden.

Mit Ausnahme von Kaffeesäure wurden die Metabolite der Caffeoylchinasäuren im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmalig im Plasma quantifiziert. Somit fehlen hierzu vergleichbare Daten aus der Literatur. Die bisher publizierten Studien, in denen nach oraler Applikation von Caffeoylchinasäuren Plasmakonzentrationen von Kaffeesäure berechnet wurden, kamen bezüglich der C_{\max} -Werte zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen (Tab. 4.1).

Tab. 4.1 Vergleich der maximalen Kaffeesäure-Konzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) nach oraler Applikation von Caffeoylchinasäuren in Form verschiedener Nahrungsmittel/Extrakte.

Autor	Medikation	Caffeoylchinasäuren [mg]	C _{max} [ng mL ⁻¹]
Cremin et al. (2001)	Pflaumen	76	10,6
DuPont et al. (2002)	Apfel Cider	11	77,4
Nardini et al. (2002)	Kaffee	96	76,6
vorliegende Arbeit	Artischocken-Gesamtextrakt	107	6,5
	Artischocken-Spezialextrakt	154	8,9

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt und Konjugatspaltung für Kaffeesäure bestimmten maximalen Plasmakonzentrationen waren vergleichsweise gering. Jedoch ist ein Vergleich kritisch zu betrachten, da die Ergebnisse aller in Tab. 4.1 genannten Studien mit unterschiedlichen Methoden erhalten wurden, die zum Teil nicht validiert waren. Zudem handelte es sich jeweils um andere Studienmedikationen, so dass auch Matrixeffekte die Bioverfügbarkeit beeinflusst haben dürften. Ein Vergleich von quantitativen Ergebnissen unterschiedlicher Studien, insbesondere im Bereich der Bioanalytik, scheint daher nur sinnvoll, wenn zur Analyse der Proben die gleichen validierten Methoden verwendet oder die Methoden interkalibriert wurden.

Neben den t_{max} - und C_{max} -Werten unterschieden sich auch die Eliminationsprofile der Metabolite. Die Eliminationshalbwertszeit betrug für alle Metabolite außer der Ferulasäure-Konjugate jeweils ca. 3 h. Für Ferulasäure-Konjugate war diese hingegen mit 6 h doppelt so lang. Grund dafür war der stark ausgeprägte biphasische Verlauf des Eliminationsprofils mit einer Plateauphase bzw. einem leichten Konzentrationsanstieg zwischen dem 4 und 6 h Wert. Ein vergleichbares Profil war in einer früheren Studie für die Elimination von Ferulasäure-Konjugaten im Urin nach Applikation eines aus Seestrandkiefern gewonnen Extrakts erhalten worden (Virgili et al. 2000).

Eine mögliche Erklärung könnte ein enterohepatischer Kreislauf der Ferulasäure-Konjugate sein. Westendorf et al. beobachteten nach Applikation von Ferulasäure an

Ratten, dass 30 % bilinär ausgeschieden wurden. Die bilinäre Ausscheidung von Kaffeesäure betrug hingegen nur 3 % (Westendorf et al. 1983). Denkbar wäre auch, dass Ferulasäure nicht nur durch Methylierung von Kaffeesäure entstanden ist. In *in-vitro* Untersuchungen von Moridani et al. wurde die Dehydrierung von Dihydroferulasäure zu Ferulasäure durch Enzyme der Leber beschrieben (Moridani et al. 2002). Als Phase-I-Metabolit der intestinal gebildeten Dihydrokaffeesäure fluteten Dihydroferulasäure bzw. Dihydroferulasäure-Konjugate verzögert im Plasma an. Dieses stimmt in etwa mit dem Zeitpunkt der Plateauphase im Eliminationsprofil der Ferulasäure-Konjugate überein.

Insgesamt wurden nur 4 bis 5 % der applizierten Menge an Caffeoylchinasäuren in Form der o.g. Hydroxyzimtsäuren bzw. deren Konjugaten renal eliminiert. Dieses entspricht in etwa den Ergebnissen anderer Arbeiten. In Untersuchungen von Rechner et al. wurden nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt bzw. Kaffee jeweils 5 bis 6 % der Caffeoylchinasäuren in Form von verschiedenen Hydroxyzimtsäuren im Urin wiedergefunden (Rechner et al. 2001a; Rechner et al. 2001b). Allerdings ist zu beachten, dass Rechner et al. die renal eliminierte Menge nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten auf Basis von Dihydroferulasäure, Ferulasäure, Isoferulasäure und Vanillinsäure bestimmten. Kaffeesäure und Dihydrokaffeesäure waren von Rechner et al. nicht nachgewiesen worden.

Zur Resorptionsrate der Caffeoylchinasäuren lassen sich basierend auf den renal eliminierten Mengen nur sehr unzureichende Aussagen machen. Zum einen ist nicht bekannt, in welchem Umfang die Metabolite der Caffeoylchinasäuren auch bilinär eliminiert wurden. Zum anderen könnten noch weitere Metabolite gebildet worden sein, die nicht erfasst wurden. So beschrieben Peppercorn et al. neben Dihydrokaffeesäure noch andere intestinale Metabolite der Kaffeesäure (Peppercorn et al. 1971). Untersuchungen von Booth et al. zum Metabolismus von Caffeoylchinasäuren zeigten die Bildung von verschiedenen Benzoesäuren bzw. deren Glycinderivate (Booth et al. 1957). Die Resorptionsrate der Caffeoylchinasäuren lag demnach vermutlich höher als der basierend auf den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit bestimmte renal eliminierte Anteil.

4.2.3 Modell zur Metabolisierung von Caffeoylchinasäuren

Unter Berücksichtigung der in den Kapiteln 4.2.1 und 4.2.2 diskutierten Punkte ergibt sich aus den Ergebnisse der vorliegenden Arbeit das in Abb. 4.1 dargestellte Modell zur Metabolisierung von Caffeoylchinasäuren nach oraler Applikation am Menschen.

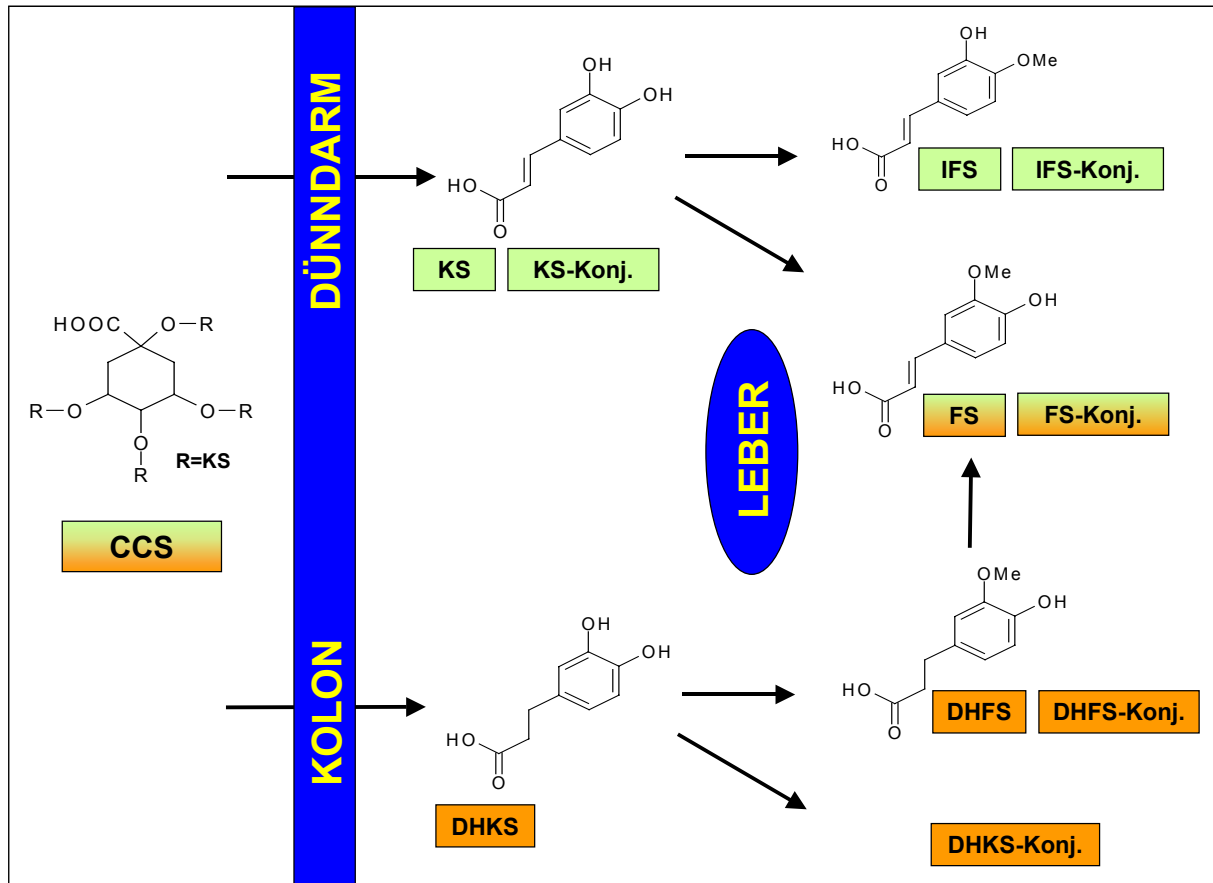


Abb. 4.1 Metabolisierung von Caffeoylchinasäuren im menschlichen Körper. CCS=Caffeoylchinasäuren, KS=Kaffeesäure, FS=Ferulasäure; IFS=Isoferulasäure, DHKS=Dihydrokaffeesäure, DHFS=Dihydroferulasäure, Konj.=Glucuronide/Sulfate.

4.2.4 Metabolismus Luteolin-7-O-glucosid

Auch Luteolin-7-O-glucosid war nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt nicht systemisch verfügbar. Stattdessen lag Luteolin in Form von Phase-II-Konjugaten im Körper vor. Nach oraler Verabreichung von Luteolin-7-O-glucosid an Ratten wurde ebenfalls die Bildung von Phase-II-Konjugaten beobachtet (Shimoi et al. 1998). Während im Rahmen der vorliegenden Arbeit keine nähere Spezifizierung der Konjugate möglich war, konnten Shimoi et al. nach Applikation von Luteolin in humanem Plasma ein Monoglucuronid identifizieren (Shimoi et al. 1998).

Luteolinsulfate wurden in noch keiner der bisherigen Untersuchungen im Plasma nachgewiesen.

Freies Luteolin wurde weder im Plasma noch im Urin detektiert. Dies steht im Widerspruch zu den von Shimoi et al. durchgeführten in-vivo Experimenten an der Ratte. Luteolin wurde zwar überwiegend erst nach der Spaltung von Konjugaten detektiert, kam aber im Plasma der Ratte auch zu einem geringen Teil frei vor (Shimoi et al. 1998). Shimoi et al. nutzten zur Aufarbeitung der Plasmaproben eine Festphasenextraktion. Die in der vorliegenden Arbeit zur Extraktion verwendete Proteinfällung mit organischen Lösungsmitteln könnte eventuell nicht effektiv genug gewesen sein, um kleinste Luteolinmengen zu extrahieren. Luteolin könnte bei der Extraktionsmethode von Shimoi et al. jedoch ebenso durch Wechselwirkungen der Konjugate an der Festphase freigesetzt worden sein. Es ist also möglich, dass es sich bei der Detektion von freiem Luteolin um ein Artefakt der Probenaufarbeitung handelt. Entsprechend Luteolin wurde beispielsweise auch das Flavonol Quercetin nach oraler Applikation verschiedener Quercetinglycoside nicht frei in humanen Plasma detektiert (Graefe et al. 2001).

Der Nachweis von Luteolin-Konjugaten im Plasma macht deutlich, dass Luteolin-7-O-glucosid während der Resorption gespalten und das freigesetzte Aglykon glucuronidiert und/oder sulfatiert wurde. Die Bildung von Phase-II-Metaboliten von Polyphenolen wurde sowohl für die Enterozyten des Darms als auch für die Leber beschrieben (Scalbert et al. 2000). Bisher publizierte Daten zur Folge erscheint im Fall von Luteolin eine Konjugation in den Enterozyten wahrscheinlicher zu sein. Bei einer Behandlung von Luteolin mit humanen Dünndarmmikrosomen wurden insgesamt 74 % des Substrats glucuronidiert. Im Gegensatz dazu setzten humane Lebermikrosomen nur 27 % von Luteolin zu Glucuroniden um. Die Identifizierung der einzelnen Glucuronide zeigte, dass durch die Dünndarmmikrosomen überwiegend das 4'- und 3'-O-glucuronid (44 bzw. 51 %) entstanden, während das 7-O-glucuronid nur zu 5 % gebildet wurde (Boersma et al. 2002). Dieses könnte gleichzeitig eine mögliche Erklärung für das Fehlen von Luteolin-7-O-glucuronid in den Plasmaproben dieser Studie sein.

Weitere Metabolite von Luteolin mit intaktem Grundgerüst konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht detektiert werden. Aus in-vivo Experimenten an der Ratte

ist eine Methylierung der OH-Gruppen von Luteolin in 3'- oder 4'-Position bekannt (Liu et al. 1995). Vergleichbare Untersuchungen zum Metabolismus von Quercetin deuten jedoch darauf hin, dass der Methylierungsgrad von Flavonoiden im Menschen deutlich geringer ist als in der Ratte und diese Metaboliten somit mit großer Wahrscheinlichkeit eine untergeordnete Rolle spielen (Manach et al. 1997; Graefe et al. 2001).

Als intestinaler Metabolit von Luteolin-7-O-glucosid wurde in in-vitro Untersuchungen 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-propionsäure beschrieben (Braune et al. 2001). Dabei handelt es sich um ein Synonym für Dihydrokaffeesäure. Es kann somit nicht ausgeschlossen werden, dass die nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma detektierte Dihydrokaffeesäure nicht nur aus Kaffeesäure sondern auch durch den intestinalen Abbau von Luteolin-7-O-glucosid entstanden ist. Die Bildung aus Kaffeesäure erscheint jedoch wahrscheinlicher. Der Unterschied im Konzentrations-Zeit-Profil von Dihydrokaffeesäure zwischen Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt entsprach dem der anderen Hydroxycimtsäuren. Zudem konnte Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Kaffee bereits eindeutig als ein Metabolit der Chlorogensäure im Plasma bestimmt werden (Goldstein et al. 1984). Für Luteolin-7-O-glucosid fehlt ein derartiger Nachweis aus in-vivo Untersuchungen noch. Zur eindeutigen Klärung des intestinalen Metabolismus von Luteolin-7-O-glucosid wäre daher die Applikation als Reinsubstanz im Rahmen einer zukünftigen Humanstudie notwendig.

4.2.5 Pharmakokinetik Luteolin-7-O-glucosid

Luteolin-Konjugate fluteten bereits 15 min nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma an und maximale Plasmaspiegel wurden nach etwa 30 bis 40 min erreicht. Dieses war die erste Studie, in der Luteolin nach Konjugatspaltung im Plasma quantifiziert und Konzentrations-Zeit-Profile beschrieben wurden. Somit fehlen vergleichbare Daten aus der Literatur. Die Daten stehen jedoch im Einklang mit den Ergebnissen aus Humanstudien zur Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik verschiedener Flavonolglucoside. Für Quercetin wurden nach der Applikation von Quercetinglucosiden und Konjugatspaltung ebenfalls maximale

Plasmakonzentrationen nach 30 bis 40 min bestimmt (Olthof et al. 2000; Graefe et al. 2001).

Der schnelle Anstieg der Plasmakonzentrationen nach Applikation von Luteolin-7-O-glucosid lässt auf eine Spaltung der glycosidischen Bindung während der Resorption in den oberen Darmabschnitten schließen. Belegt wird dieses durch Untersuchungen von Day et al.. Sie konnten zeigen, dass Flavonoidglucoside, u.a. das dem Luteolin-7-O-glucosid strukturähnliche Apigenin-7-O-glucosid, durch einen zellfreien Extrakt des menschlichen Dünndarms gespalten wurden (Day et al. 1998).

Weitere Untersuchungen zur Spaltung der glycosidischen Bindung und zur Resorption in den oberen Darmabschnitten wurden bislang nur für Quercetinglucoside durchgeführt. Die Spaltung der glycosidischen Bindung im Dünndarm wurde dabei sowohl für cytosolische β -Glucosidasen (CBG) als auch für die membranständige Lactase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) beschrieben (Nemeth et al. 2003). Für die Resorption in den oberen Darmabschnitten ergeben sich daraus zwei Möglichkeiten:

Bis vor wenigen Jahren favorisierten mehrere Autoren die Spaltung von Flavonolglucosiden an der luminalen Darmwand durch LPH und die passive Diffusion des freiwerdenden Aglykons (Day et al. 2000; Graefe et al. 2001). In verschiedenen in-vitro Untersuchungen an der Rattendünndarm konnte jedoch in den letzten Jahren auch ein aktiver Transport von Flavonolglucosiden in den Enterozyten mittels natriumabhängiger Glucosetransporter (SGLT1) belegt werden (Arts et al. 2002; Wolfram et al. 2002). Die glycosidische Bindung wird dann erst durch CBG im Enterozyten gespalten.

Es ist nicht klar, ob diese Ergebnisse auf Luteolin-7-O-glucosid übertragen werden können. Entsprechend der Quercetinglucoside wurde Luteolin-7-O-glucosid jedoch nur in Form von Phase-II-Konjugaten im Plasma wiedergefunden. Zudem entsprachen sich die Konzentrations-Zeit-Profile der Metabolite beider Substanzen. Es ist daher zu vermuten, dass die Spaltung der glycosidischen Bindung und die Resorption für Quercetinglucoside und Luteolin-7-O-glucosid identisch verlaufen.

Die Eliminationshalbwertszeit der Luteolin-Konjugate betrug etwa 2,5 h. Damit ist die Eliminationshalbwertszeit kürzer als die von Quercetin-Konjugaten. Graefe et al. bestimmten in ihren pharmakokinetischen Untersuchungen für Quercetin-Konjugate eine Eliminationshalbwertszeit von 10 bis 11 h (Graefe et al. 2001). Die Analyse der

Plasmaproben im Rahmen der vorliegenden Arbeit hatte ergeben, dass geringe Mengen an Luteolin-Konjugaten bereits vor Einnahme der Prüfmedikation ($t=0$ h) in den Proben nachweisbar waren. Die gleichen Mengen wurden nach Abschluss der Studie ($t=24$ h) bestimmt. Vor der pharmakokinetischen Datenanalyse wurde daher von jedem Messpunkt ein Basiswert abgezogen. Um den Einfluss des Basiswertes auf die pharmakokinetischen Parameter zu untersuchen, wurde ebenfalls eine Datenanalyse ohne Abzug des Basiswertes durchgeführt. Dabei ergab sich für die Luteolin-Konjugate, entsprechend der Quercetin-Konjugate, eine Eliminationshalbwertszeit von etwa 10 h.

Auch in den Untersuchungen von Graefe et al. waren teilweise bereits am Beginn der Studie geringe Mengen Quercetin-Konjugate in den Plasmaproben vorhanden. Diese wurden jedoch bei der pharmakokinetischen Datenanalyse nicht abgezogen. Dadurch wurden möglicherweise zu hohe Eliminationshalbwertszeiten bestimmt.

Insgesamt wurden nur ca. 2 % der applizierten Menge an Luteolin-7-O-glucosid in Form von Luteolin-Konjugaten im Urin wiedergefunden. Vergleichbare Daten zur renalen Elimination von Luteolin-Konjugaten wurden bisher nicht publiziert. Die vorliegenden Daten stimmen jedoch mit denen aus Humanstudien zur Bioverfügbarkeit von anderen Flavonoidglucosiden überein. So wurden nach Applikation von Quercetin-4'-O-glucosid und Quercetin-3-O-glucosid nur etwa 3 % der Dosis in Form von Quercetin-Konjugaten renal eliminiert (Olthof et al. 2000).

Wie für die Caffeoylchinasäuren lassen sich auch für Luteolin-7-O-glucosid basierend auf den renal eliminierten Mengen nur sehr unzureichende Aussagen zur Resorptionsrate machen. Es ist nicht bekannt, in welchem Umfang die Konjugate auch bilinär eliminiert wurden. Liu et al. beschrieben beispielsweise für Luteolin-Konjugate an der Ratte eine bilinäre Elimination von über 28 % (Liu et al. 1995). Zudem ist davon auszugehen, dass neben den Phase-II-Metaboliten noch Phase-I- und intestinale Metabolite gebildet wurden, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht erfasst wurden. Auch die Resorptionsrate von Luteolin-7-O-glucosid lag demnach vermutlich höher als der basierend auf den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit bestimmte renal eliminierte Anteil.

4.3 Beurteilung der potentiellen Wirksamkeit

Nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt konnten im Plasma eine Vielzahl von Metaboliten bestimmt werden, die überwiegend als Phase-II-Konjugate vorlagen. Genuine Extraktinhaltsstoffe waren hingegen nicht nachweisbar. Nach dem bisherigen Kenntnisstand müsste also eine pharmakologische Wirkung in-vivo nach Einnahme von Artischockenblätter-Extrakt u.a. auf die in der vorliegenden Arbeit bestimmten Metabolite zurückzuführen sein.

Über die pharmakologische Wirkung der im Plasma detektierten Substanzen ist bislang jedoch kaum etwas bekannt. Anhand des vorliegenden Datenmaterials können die durch Artischockenblätter-Extrakt in-vitro hervorgerufenen Effekte somit nicht ohne weiteres mit der in klinischen Studien beobachteten Wirksamkeit korreliert werden.

In in-vitro Untersuchungen an isolierten Leberzellen hemmte Artischockenblätter-Extrakt die Cholesterinbiosynthese und steigerte die Gallensäuresekretion (Gebhardt 2001; Gebhardt 2002). Daraus wurde auf eine lipidsenkende und choleretische Wirkung in-vivo geschlossen. Bereits in den in-vitro Experimenten erwies sich jedoch das nicht genuin im Extrakt enthaltene Luteolin gegenüber den genuinen Extraktbestandteilen als effektiver (Gebhardt 2001; Gebhardt 2002). Die Übertragung der für Luteolin in-vitro beobachteten Effekte auf eine in-vivo Wirksamkeit ist dennoch nicht ohne weiteres möglich. Luteolin lag nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt ausschließlich in Form von Phase-II-Konjugaten im Plasma vor. Um die klinische Wirksamkeit von Artischockenblätter-Extrakt auf Basis der in-vitro Wirkungen von Luteolin zu erklären, wäre in-vivo eine enzymatische Spaltung der Konjugate durch Sulfatasen oder Glucuronidasen im Gewebe der Leber denkbar. Somit wäre freies Luteolin zwar im Plasma nicht nachweisbar, könnte aber auf diesem Wege in-situ gebildet werden und zu pharmakodynamischen Effekten führen. In in-vitro Experimenten an humanen HepG2 Zellen konnte bereits eine β -Glucuronidase-Aktivität gegenüber Quercetinglucuroniden gezeigt werden (O'Leary et al. 2003).

In den in-vitro Experimenten wurde ab einer Luteolin-Konzentration $> 5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ eine Hemmung der Cholesterinbiosynthese bzw. eine Steigerung der Gallensäuresekretion beobachtet (Gebhardt 2001; Gebhardt 2002). Die in der vorliegenden Arbeit nach Spaltung von Konjugaten im Plasma bestimmten Luteolin-

Konzentrationen lagen nach Applikation beider Artischockenblätter-Extrakte deutlich unter $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Es ist demnach unklar, ob mit diesen Konzentrationen in-vivo pharmakologische Effekte erzielt werden können. Nach dem bisherigen Kenntnisstand müsste Artischockenblätter-Extrakt in erheblich höheren Dosen appliziert werden als im Rahmen der vorliegenden Studie, um die in den in-vitro Test beschriebenen Konzentrationen in-vivo zu erreichen. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass es sich bei den Bestimmungen von Luteolin im Plasma nur um ein Surrogat handelt. Möglicherweise akkumuliert die Substanz in Geweben oder einzelnen Zellen und liegt dort in erheblich höheren Konzentrationen vor. Zudem geben die in in-vitro Experimenten bestimmten effektiven Konzentrationen immer nur einen Anhaltspunkt und können sicher nicht 1:1 auf in-vivo Verhältnisse übertragen werden, da es sich per se um artifizielle Systeme handelt, in denen viele physiologische Einflussgrößen unberücksichtigt bleiben.

Während die Hemmung der Cholesterinbiosynthese und die Steigerung der Gallensäuresekretion in den in-vitro Untersuchungen im Wesentlichen auf Luteolin zurückzuführen war, wurden antioxidative Effekte sowohl für Flavonoide als auch für Caffeoylchinasäuren beobachtet (Brown et al. 1998b). Ob jedoch die in-vivo im Plasma nachgewiesenen Substanzen über das gleiche antioxidative Potential verfügen wie die genuinen Extraktinhaltsstoffe und damit in der Lage sind, die LDL-Oxidation zu hemmen, ist noch ungeklärt.

So hat die Konjugation im Fall von Luteolin vermutlich eine Abnahme des antioxidativen Potentials zur Folge. Untersuchungen mit verschiedenen Flavonolen und Flavonen am Modell der Kupferionen induzierten LDL-Oxidation führten die antioxidative Wirkung dieser Substanzen vor allem auf die 3',4'-Dihydroxy-Substitution zurück (Brown et al. 1998a). Genau diese Positionen werden aber vermutlich während der Resorption durch die UDP-Glucuronosyltransferasen des Dünndarms bevorzugt glucuronidiert (Boersma et al. 2002), so dass Luteolin in Form dieser Glucuronide im Plasma vorliegt. Entsprechend der HepG2 Zellen zeigte jedoch ein Lysat aus neutrophilen Granulozyten β -Glucuronidase-Aktivität gegenüber Luteolinmonoglucuroniden (Shimoi et al. 2001). Da neutrophile Granulozyten an Oxidationsprozessen beteiligt sind, kann möglicherweise durch eine Spaltung der Glucuronide das antioxidative Potential von Luteolin direkt am Wirkort wieder

rekonstruiert und die Oxidationsprozesse gehemmt werden. In diesem Falle wären die Konjugate als Transportform zu betrachten, die verhindern, dass die antioxidative Kapazität der Flavonoide durch Redoxreaktionen im Plasma oder in zellulären Plasmabestandteilen abgeschwächt wird oder verloren geht.

Luteolin hemmte die Kupferionen induzierte LDL-Oxidation in in-vitro Untersuchungen bereits ab einer Konzentration von $28 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Brown et al. 1998b). Diese Konzentration ist deutlich niedriger als die im Rahmen der vorliegenden Arbeit nach Spaltung von Konjugaten im Plasma bestimmten Luteolin-Konzentrationen. Demnach ist hinsichtlich der erreichbaren Konzentrationen nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt eine Hemmung der LDL-Oxidation in-vivo plausibel.

Für die Aglykone der im Plasma vorliegenden Hydroxyzimtsäure-Konjugate wurde in-vitro ebenfalls eine Hemmung der LDL-Oxidation nachgewiesen (Meyer et al. 2001). Über das antioxidative Potential der Konjugate ist hingegen wenig bekannt. So hemmte beispielsweise Plasma, das Ferulasäureglucuronide enthielt, in ex-vivo Experimenten die LDL-Oxidation signifikant stärker als Ferulasäure selbst (Ohta et al. 1997). Im Gegensatz dazu zeigte Plasma, in dem nach Applikation von Rotwein konjugierte Kaffeesäure nachgewiesen wurde, in ex-vivo Experimenten keinen Oxidationsschutz von LDL (Caccetta et al. 2000). Die Autoren führten dieses auf zu geringe Konzentrationen im Plasma zurück, so dass eine antioxidative Wirkung von Kaffeesäurekonjugaten in höheren Konzentrationen nicht ausgeschlossen werden kann.

Unter den Hydroxyzimtsäuren hemmte Kaffeesäure die Kupferionen induzierte LDL-Oxidation in-vitro am stärksten. Eine Hemmung der LDL-Oxidation konnte dabei ab einer Konzentration von $90 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ beobachtet werden (Nardini et al. 1995). Im Gegensatz zum Luteolin lagen die in der vorliegenden Arbeit nach Konjugatspaltung im Plasma bestimmten Konzentrationen der einzelnen Hydroxyzimtsäuren unter denen aus den in-vitro Untersuchungen. Zusammengenommen könnte die insgesamt im Körper vorhandene Menge an Hydroxyzimtsäuren jedoch ausreichen, um antioxidative Effekte in-vivo zu erzielen.

Um genauere Kenntnisse über die lipidsenkende, choleretische und antioxidative Wirkung von Artischockenblätter-Extrakt in-vivo zu erhalten, wären weitere ex-vivo Experimente denkbar. Dabei wird nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt

gewonnenes Plasma direkt in entsprechenden in-vitro Testsystemen zur Hemmung der Cholesterinbiosynthese, zur Steigerung der Gallensäuresekretion oder zur LDL-Oxidation getestet. Möglicherweise wirken die einzelnen im Plasma vorliegenden Metabolite synergistisch, so dass sich damit die in-vivo Wirksamkeit von Artischockenblätter-Extrakt erklären lässt.

4.4 Vergleich von Referenz- und Prüfpräparat

Nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- und Spezialextrakt waren nach enzymatischer Hydrolyse von Konjugaten die gleichen Hydroxymitsäuren in Plasma bzw. Urin nachweisbar. Die unterschiedliche Zusammensetzung der Caffeoylchinasäuren in den beiden Extrakten scheint somit keinen Einfluss auf die Metabolisierung gehabt zu haben. Die kinetischen Daten unterstützen diese Annahme. So waren die Eliminationshalbwertszeit und die renale Clearance für jeweils jeden der Metabolite nach Applikation der zwei Extrakte gleich. Beides legt nahe, dass es sich jeweils um die gleichen Metabolite handelt.

Die Konzentrations-Zeit-Profile der Caffeoylchinasäure-Metabolite verliefen für beide Extrakte nahezu parallel. Unterschiede zwischen beiden Extrakten wurden nur für die jeweiligen C_{\max} - und AUC-Werte der einzelnen Metabolite festgestellt. Dabei zeigte sich eine Abhängigkeit von der applizierten Menge an Caffeoylchinasäuren (berechnet als Kaffeesäure-Äquivalente). Nach Dosisnormierung ergab sich für die pharmakokinetischen Parameter der Metabolite zwischen den beiden Extrakten kein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,05$). Für die Bioverfügbarkeit der in Artischockenblätter-Extrakt enthaltenen Mono- und Dicaffeoylchinasäuren war demnach nur deren äquivalente Menge Kaffeesäure und nicht ihre Zusammensetzung im Einzelnen von Bedeutung.

Auffälliger Unterschied zwischen den beiden Extrakten war die Tendenz zu höheren t_{\max} -Werten im Konzentrations-Zeit-Profil der Kaffeesäure-, Ferulasäure- und Isoferulasäure-Konjugate nach Applikation des Spezialextrakts. Grund dafür könnte eine gesättigte Resorptionskinetik sein. In beiden Extrakten war neben den Caffeoylchinasäuren auch noch freie Kaffeesäure enthalten. Im Gegensatz zum Spezialextrakt waren die Mengen an freier Kaffeesäure im Gesamtextrakt jedoch verschwindend gering. Zusammen mit den Caffeoylchinasäuren standen damit nach Applikation des Spezialextrakts insgesamt höhere Mengen Kaffeesäure zur

Resorption zur Verfügung. Für die Aufnahme von Kaffeesäure in den Enterozyten des Dünndarms war bereits in Kapitel 4.2.2 über einen aktiven Transportmechanismus spekuliert worden. In in-vitro Experimenten an der Ratte konnte gezeigt werden, dass die Resorption von Kaffeesäure mittels eines natriumabhängigen Transporters in Abhängigkeit von der Kaffeesäuremenge einer Michaelis-Menten-Kinetik folgt (Wolffram et al. 1995; Ader et al. 1996). Bei steigender Kaffeesäuremenge im Lumen des Darms verzögert sich die Resorption damit zunehmend und die maximalen Plasmaspiegel werden später erreicht.

Neben den Hydroxyzimtsäuren wurde nach Applikation beider Artischockenblätter-Extrakte und Konjugatspaltung auch Luteolin in Plasma und Urin bestimmt. Die Konzentrations-Zeit-Profile der Luteolin-Konjugate verliefen für beide Extrakte parallel. Der deutliche Unterschied im Flavonoid-Gehalt der beiden Extrakte spiegelte sich nur in den C_{max} - und AUC_{tot} -Werten wider. Bezogen auf die applizierte Menge an Flavonoiden (berechnet als Luteolin-Äquivalente) war der Unterschied der pharmakokinetischen Parameter jedoch statistisch nicht signifikant ($p < 0,05$). Dieses deutet auf einen linearen Zusammenhang zwischen der applizierten Menge an Flavonoiden und den Plasmakonzentrationen der Luteolin-Konjugate hin.

Die höhere in-vitro Wirksamkeit des Spezialextrakts wurde im Wesentlichen auf die veränderte Zusammensetzung der Caffeoylchinasäuren und auf den höheren Flavonoid-Gehalt zurückgeführt. Die unterschiedliche Zusammensetzung der Caffeoylchinasäuren scheint hingegen in-vivo kaum eine Rolle zu spielen. Nach Applikation beider Extrakte wurden die gleichen Metabolite bestimmt. Der deutlich höhere Flavonoid-Gehalt und das daraus resultierende veränderte Verhältnis zwischen Caffeoylchinasäuren und Flavonoiden im Spezialextrakt könnte jedoch in-vivo für eine höhere Wirksamkeit verantwortlich sein. Das Verhältnis spiegelte sich entsprechend in den pharmakokinetischen Parametern (C_{max} , AUC_{tot}) zwischen den Caffeoylchinasäure-Metaboliten auf der einen und den Luteolin-Konjugaten auf der anderen Seite wider.

Grundsätzlich verdeutlichen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die hohe Wirkpotenz des Spezialextrakts. Bei dem Spezialextrakt handelte es sich um eine Weiterentwicklung des Gesamtextrakts. Bezogen auf vergleichbare Mengen Ausgangsdroge wurde der Spezialextrakt daher in einer wesentlich geringeren Dosis

appliziert (Gesamtextrakt 2,4 g; Spezialextrakt 0,625 g). Trotz der geringeren Dosis des Spezialextrakts wurden für die Metabolite höhere Plasmakonzentrationen erreicht. Um die Metabolite im Plasma in gleichen Konzentrationen zu bestimmen wie nach Applikation des Gesamtextrakts, sind also wesentlich geringere Mengen Spezialextrakt notwendig. Daraus ergibt sich bei arzneilicher Anwendung des Spezialextrakts eine geringere Dosierung als bei Anwendung des in vielen Handelspräparaten enthaltenen Gesamtextrakts und damit verbunden eine Verbesserung der Compliance des Patienten.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die **Bioverfügbarkeit** und **Pharmakokinetik** von Inhaltsstoffen (Caffeoylchinasäuren, Luteolin-7-O-glucosid) aus **Artischockenblätter-Extrakt** an gesunden Probanden untersucht. Zur Planung einer Hauptstudie und zur Entwicklung von Aufarbeitungs- und Analysemethoden von Plasma und Urin erhielten in einer **Pilotstudie** 3 Probanden 500 bzw. 1000 mg Artischockenblätter-Spezialextrakt. Basierend auf den Ergebnissen der Pilotstudie wurde in der **Hauptstudie** die Bioverfügbarkeit von zwei Artischockenblätter-Extrakten verglichen, die aufgrund unterschiedlicher Zusammensetzungen in-vitro verschiedene Wirkprofile aufwiesen. Dazu erhielten 14 Probanden in einem zweifach-cross-over Design mit 2-tägiger Run-In-Phase bei pflanzenfreier Diät sowohl 2,4 g Artischockenblätter-Gesamtextrakt (entsprechend 106,95 mg Kaffeesäure; 14,40 mg Luteolin) als auch 625 mg Artischockenblätter-Spezialextrakt (entsprechend 153,84 mg Kaffeesäure; 35,23 mg Luteolin).

Vorraussetzung für die Analyse von Plasma- und Urinproben war die **Entwicklung einer Aufarbeitungsmethode** zur simultanen Extraktion von Hydroxyzimtsäuren und Flavonoiden. Die entwickelte Methode bestand im Gegensatz zur Flüssig-Flüssig- oder Festphasenextraktion nur aus einer einfachen Proteinfällung mit anschließender Aufkonzentrierung und ermöglichte somit die parallele Aufarbeitung einer relativ großen Probenzahl. Alle Analyten wurden gleichzeitig mit einer immer noch ausreichenden reproduzierbaren Wiederfindung von 65-85 % in Plasma bzw. von 50-80 % in Urin extrahiert. Die Methode konnte entsprechend internationaler Richtlinien zur Validierung bioanalytischer Methoden validiert werden.

Zur **Analytik** von Hydroxyzimtsäuren und Flavonoiden wurde eine HPLC Methode mit coulometrischer Array Detektion entwickelt. Die Methode ermöglichte die simultane Bestimmung aller Analyten vor und nach enzymatischer Spaltung in Plasma bzw. Urin im unteren $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ Bereich. Phase-II-Konjugate der Analyten wurden vermutlich aufgrund von Coelutionen nicht erfasst.

Sowohl nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- als auch Spezialextrakt waren genuine Extraktinhaltsstoffe nicht **systemisch verfügbar**. Bei den systemisch verfügbaren Metaboliten handelte es sich um **Kaffeensäure, Dihydrokaffeensäure, Ferulasäure, Dihydroferulasäure, Isoferulasäure** und **Luteolin**, die mit Ausnahme von Dihydroferulasäure überwiegend erst nach enzymatischer Spaltung von **Phase-II-Konjugaten** detektiert wurden. Die Konzentrations-Zeit-Profile der freien Form und des Gesamtgehalts zeigten jeweils einen annähernd parallelen Verlauf. Eine Identifizierung der Konjugate war leider nicht möglich. Die pharmakokinetische Auswertung erfolgte daher nach Bestimmung des Gesamtgehalts.

Der Vergleich der **Konzentrationskinetiken** zwischen den einzelnen Hydroxyzimtsäuren nach Bestimmung des Gesamtgehalts zeigte, dass diese bezüglich der C_{max} - und t_{max} -Werte in zwei Gruppen einzuteilen waren. Nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt und enzymatischer Spaltung von Konjugaten wurden für **Kaffeensäure, Ferulasäure** und **Isoferulasäure** maximale Plasmaspiegel (KS: $6,51 \pm 1,89 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ bzw. $8,04 \pm 2,64 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; FS: $8,89 \pm 1,66 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ bzw. $15,37 \pm 3,85 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; IFS: $7,89 \pm 2,17 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ bzw. $10,51 \pm 2,43 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) nach etwa 1 h gemessen. Demgegenüber waren die nach enzymatischer Spaltung von Konjugaten bestimmten maximalen Plasmaspiegel von **Dihydrokaffeensäure** und **Dihydroferulasäure** etwa um ein Drittel höher (DHKS: $21,30 \pm 12,35 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ bzw. $29,53 \pm 12,40 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$; DHFS: $27,56 \pm 13,79 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ bzw. $39,72 \pm 15,51 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) und wurden erst 6 bis 7 h nach Applikation der Extrakte erreicht. Aufgrund eines deutlich ausgeprägten biphasischen Eliminationsprofils resultierte für Ferulasäure eine etwa doppelt so lange **terminale Halbwertszeit** (ca. 6 h) als für die anderen Hydroxyzimtsäuren (ca. 3 h). Die Bestimmung des Anteils an **renal eliminierten** Caffeoylechinasäuren, bezogen auf Äquivalente Kaffeensäure, in Form der nach hydrolytischer Spaltung im Urin detektierten Hydroxyzimtsäuren, betrug etwa 4 bis 5 %. Den Hauptanteil bildeten Ferulasäure, Dihydrokaffeensäure und Dihydroferulasäure.

Luteolin-Konjugate waren bereits 15 min nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt im Plasma nachweisbar. Maximale Plasmaspiegel von $59,07 \pm 32,82 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Gesamtextrakt) und $156,51 \pm 92,25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Spezialextrakt) wurden nach etwa 30 bis 40 min erreicht. Das Konzentrations-Zeit-Profil zeigte im Plasma einen deutlich

biphasischen Verlauf, unterteilt in eine schnelle Verteilungs- und eine langsamere Eliminationsphase. Die **terminale Halbwertszeit** betrug ca. 2,5 h. Bezogen auf die verabreichte Luteolindosis wurden etwa 2 % in Form von Luteolin-Konjugaten **renal eliminiert**.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass **Caffeoylchinasäuren** noch vor der **Resorption** einer Spaltung unterliegen. Die unterschiedlichen t_{\max} -Werte der im Plasma bestimmten Metabolite deuten darauf hin, dass die Esterbindung nicht nur im Kolonbereich durch intestinale Mikroflora sondern zu einem gewissen Teil auch schon in oberen Darmabschnitten gespalten wird. Für den oberen Darmabschnitt ist allerdings bislang unbekannt, wodurch eine Spaltung erfolgt.

Weitgehend ungeklärt ist der **Resorptionsmechanismus** von Luteolin bzw. **Luteolin-7-O-glucosid**. Für Quercetinglucoside scheint in-vitro Untersuchungen zur Folge sowohl der Transport mittels eines natriumabhängigen Glucosetransporters (SGTL1) und die glycosidische Spaltung im Enterozyten als auch die Spaltung durch luminale Lactase-Phlorizin-Hydrolase (LPH) und passive Diffusion des freiwerdenden Aglykons möglich zu sein. Da Luteolin-7-O-glucosid und Quercetinglucoside beide nur in Form von Phase-II-Konjugaten bioverfügbar sind und sich die Konzentrations-Zeit-Verläufe der Metabolite in etwa entsprechen, lassen sich die beschriebenen Resorptionsmechanismen möglicherweise auf Luteolin-7-O-glucosid übertragen.

Nach den Ergebnissen dieser Arbeit würde eine **pharmakologische Wirkung** in-vivo nach Einnahme von Artischockenblätter-Extrakt u.a. durch die o.g. Substanzen bzw. deren Phase-II-Konjugaten hervorgerufen werden. Die pharmakodynamischen Wirkungen dieser Metabolite sind bislang jedoch wenig untersucht. Vermutlich lässt sich die in klinischen Studien beobachtete Wirksamkeit von artischockenhaltigen Präparaten weniger auf einzelne Substanzen als auf den synergistischen Effekt mehrerer Komponenten zurückführen. Denkbar wäre auch die enzymatische Freisetzung der Aglykone aus den Konjugaten am Zielorgan. Eine entsprechende Aktivität gegenüber Glucuroniden konnte bereits für HepG2 Zellen und neutrophile Granulozyten gezeigt werden. Das Aglykon Luteolin hemmte in in-vitro Untersuchungen die Cholesterinbiosynthese und steigerte die Gallensäuresekretion.

Luteolin und Hydroxyzimtsäuren wiesen zudem in in-vitro Experimenten antioxidative Wirkungen auf.

Der **Vergleich** von Artischockenblätter-**Gesamt- und Spezialextrakt** zeigte, dass nach enzymatischer Spaltung die gleichen Substanzen in Plasma bzw. Urin nachweisbar waren. Unterschiede in den pharmakokinetischen Parametern dieser Substanzen resultierten alleine aus dem unterschiedlichen Gesamtgehalt an Caffeoylchinasäuren (bezogen auf Kaffeesäure) und Flavonoiden (bezogen auf Luteolin) in den Extrakten. Für die Bioverfügbarkeit der in Artischockenblätter-Extrakt enthaltenen Mono- und Dicaffeoylchinasäuren scheint nach diesen Untersuchungen nur deren äquivalente Menge Kaffeesäure und nicht ihre Zusammensetzung im einzelnen von Bedeutung zu sein. Eine höhere Wirksamkeit des Spezialextrakts in vivo könnte demnach nur auf den deutlich höheren Gehalt an Flavonoiden zurückzuführen sein.

Da die Inhaltsstoffe im Spezialextrakt gegenüber dem Gesamtextrakt insgesamt stärker angereichert waren, besitzt dieser vermutlich auch in-vivo eine höhere Wirkpotenz. Nach Applikation des Spezialextrakts waren die Konzentrationen der Metaboliten im Plasma trotz der wesentlich geringeren Dosierung höher als nach Applikation des Gesamtexttrakts (Spezialextrakt 0,625 g; Gesamtextrakt 2,4 g). Dieses ermöglicht bei arzneilicher Anwendung eine Verringerung der Dosis und damit verbunden eine Verbesserung der Compliance des Patienten.

6 Literatur

- Ader, P., Block, M., Pietzsch, S. and Wolffram, S. (2001). "Interaction of quercetin glucosides with the intestinal sodium/glucose co-transporter (SGLT-1)." *Cancer Lett* 162(2): 175-180.
- Ader, P., Grenacher, B., Langguth, P., Scharrer, E. and Wolffram, S. (1996). "Cinnamate uptake by rat small intestine: transport kinetics and transepithelial transfer." *Exp Physiol* 81(6): 943-955.
- Adzet, T., Camarasa, J., Hernandez, J. S. and Laguna, J. C. (1987a). "Action of an artichoke extract against CCl₄-induced hepatotoxicity in rats." *Acta Pharm Jugosl* 37: 183-188.
- Adzet, T., Camarasa, J. and Laguna, J. C. (1987b). "Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl₄ toxicity in isolated rat hepatocytes." *J Nat Prod* 50(4): 612-617.
- Andreasen, M. F., Kroon, P. A., Williamson, G. and Garcia-Conesa, M. T. (2001). "Esterase activity able to hydrolyze dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals." *J Agric Food Chem* 49(11): 5679-5684.
- Arts, I. C., Sesink, A. L. and Hollman, P. C. (2002). "Quercetin-3-glucoside is transported by the glucose carrier SGLT1 across the brush border membrane of rat small intestine." *J Nutr* 132(9): 2823; author reply 2824.
- Azuma, K., Ippoushi, K., Nakayama, M., Ito, H., Higashio, H. and Terao, J. (2000). "Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration." *J Agric Food Chem* 48(11): 5496-5500.
- Bocchi, C., Careri, M., Groppi, F., Mangia, A., Manini, P. and Mori, G. (1996). "Comparative investigation of UV, electrochemical and particle beam mass spectrometric detection for the high-performance liquid chromatographic determination of benzoic and cinnamic acids and of their corresponding phenolic acids." *Journal of Chromatography A* 753: 157-170.
- Boersma, G. M., van der Woude, H., Bogaards, J., Boern, S., Vervoort, J., Cnubben, N. H. P., van Iersel, M. L. P. S., van Bladeren, P. J. and Rietjens, I. M. C. M. (2002). "Regioselectivity of phase II metabolism of luteolin and quercetin by UDP-glucuronosyl transferases." *Chem. Res. Toxicol.* 15: 662-670.

- Bokkenheuser, V. D., Shackleton, C. H. and Winter, J. (1987). "Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans." *Biochem J* 248(3): 953-956.
- Booth, A. N., Emerson, O. H., Jones, F. T. and DeEds, F. (1957). "Urinary metabolites of caffeic and chlorogenic Acids." *J Biol Chem*: 51-59.
- Bourne, L. C. and Rice_Evans, C. A. (1998). "Urinary detection of hydroxycinnamates and flavonoids in humans after high dietary intake of fruit." *Free Radic Res* 28(4): 429-438.
- Brand, N. (1990). "Cynara scolymus L. - Die Artischocke." *Z. Phytother.* 5: 169-175.
- Brand, N. (1992). Monographie Cynara. Hager's Handbuch der pharmazeutischen Praxis. R. Hänsel, K. Keller, H. Rimpler and G. Schneider. Berlin, Springer Verlag. Band 4 Drogen A-D: 1117-1122.
- Brand, N. (1997). "Der Extrakt in Artischockenpräparaten. Pharmazeutische Aspekte eines pflanzlichen Wirkstoffes." *Deutsche Apotheker-Zeitung* 137: 3564-3578.
- Brand, N. and Weschta, H. (1991). "Die analytische Bewertung der Artischocke und ihrer Präparate." *Z. Phytother.* 12: 15-21.
- Braune, A., Gutschow, M., Engst, W. and Blaut, M. (2001). "Degradation of quercetin and luteolin by Eubacterium ramulus." *Appl Environ Microbiol* 67(12): 5558-5567.
- Brown, J. E., Khodr, H., Hider, R. C. and Rice-Evans, C. A. (1998a). "Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties." *Biochem J* 330 (Pt 3): 1173-1178.
- Brown, J. E. and Rice-Evans, C. A. (1998b). "Luteolin-rich artichoke extract protects low density lipoprotein from oxidation in vitro." *Free Radic Res* 29(3): 247-255.
- Brunelle, F. M. and Verbeeck, R. K. (1996). "Glucuronidation of diflunisal in liver and kidney microsomes of rat and man." *Xenobiotica* 26(2): 123-131.
- Caccetta, R. A., Croft, K. D., Beilin, L. J. and Puddey, I. B. (2000). "Ingestion of red wine significantly increases plasma phenolic acid concentrations but does not acutely affect ex vivo lipoprotein oxidizability." *Am J Clin Nutr* 71(1): 67-74.
- Camarasa, J., Escubedo, E. and Adzet, T. (1988). "Pharmacokinetics of caffeic acid in rats by a high-performance liquid chromatography method." *J Pharm Biomed Anal* 6(5): 503-510.

- Choudhury, R., Srail, S. K., Debnam, E. and Rice-Evans, C. A. (1999). "Urinary excretion of hydroxycinnamates and flavonoids after oral and intravenous administration." *Free Radic Biol Med* 27(3-4): 278-286.
- Couteau, D., McCartney, A. L., Gibson, G. R., Williamson, G. and Faulds, C. B. (2001). "Isolation and characterization of human colonic bacteria able to hydrolyse chlorogenic acid." *J Appl Microbiol* 90(6): 873-881.
- Cova, D., De_Angelis, L., Giavarini, F., Palladini, G. and Perego, R. (1992). "Pharmacokinetics and metabolism of oral diosmin in healthy volunteers." *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 30(1): 29-33.
- Cremin, P., Kasim-Karakas, S. and Waterhouse, A. L. (2001). "LC/ES-MS detection of hydroxycinnamates in human plasma and urine." *J Agric Food Chem* 49(4): 1747-1750.
- Czok, G. and Lang, K. (1961). "Chlorogensäure-Wirkungen am Magen-Darmkanal." *Arzneimittelforschung* 11: 545-549.
- Czok, G. and Schulze, P. (1973). "Die Wirkungen von Chlorogensäure, Kaffeesäure und Chinasäure nach i.v. Applikation auf den Gallenfluß der Ratte." *Z Ernährungswiss* 12: 224-236.
- Day, A. J., Canada, F. J., Diaz, J. C., Kroon, P. A., McLauchlan, W. R., Faulds, C. B., Plumb, G. W., Morgan, M. R. and Williamson, G. (2000). "Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase." *FEBS Lett* 468: 166-170.
- Day, A. J., DuPont, M. S., Ridley, S., Rhodes, M., Rhodes, M. J., Morgan, M. R. and Williamson, G. (1998). "Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver β -glucosidase activity." *FEBS Lett* 436: 71-75.
- DuPont, M. S., Bennett, R. N., Mellon, F. A. and Williamson, G. (2002). "Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans." *J Nutr* 132(2): 172-175.
- Englisch, W., Beckers, C., Unkauf, M., Ruepp, M. and Zinserling, V. (2000). "Efficacy of Artichoke dry extract in patients with hyperlipoproteinemia." *Arzneimittelforschung* 50(3): 260-265.
- Erlund, I., Alfthan, G., Siren, H., Ariniemi, K. and Aro, A. (1999). "Validated method for the quantitation of quercetin from human plasma using high-performance

- liquid chromatography with electrochemical detection." *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 727(1-2): 179-189.
- Ernst, E. (1995). "Die Artischocke - eine Heilpflanze mit Geschichte und Zukunftsperspektiven." *naturamed*: 1-4.
- Fintelman, V. (1996). "Antidyspeptische und lipidsenkende Wirkungen von Artischockenblätter Extrakt. Ergebnisse klinischer Untersuchungen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit von Hepar-SL forte an 553 Patienten." *Z. Allg. Med.* 72: 48-57.
- Fintelman, V. and Petrowicz, O. (1998). "Langzeitanwendung eines Artischockenextraktes bei dyspeptischem Symptomkomplex. Ergebnisse einer Beobachtungsstudie." *naturamed* 13: 17-26.
- Fröhlich, E. and Ziegler, W. (1973). "Über die lipidsenkende Wirkung von Cynarin." *Subsidia Med* 25: 5-12.
- Gebhardt, R. (1995). "Hepatoprotektion durch Extrakt aus Artischocke." *Pharmazeutische Zeitung* 140: 34-37.
- Gebhardt, R. (1997). "Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes." *Toxicol Appl Pharmacol* 144(2): 279-286.
- Gebhardt, R. (1998). "Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts." *J Pharmacol Exp Ther* 286(3): 1122-1128.
- Gebhardt, R. (2001). "Anticholestatic activity of flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) and of their metabolites." *Med Sci Monit* 7 Suppl 1: 316-320.
- Gebhardt, R. (2002a). "Inhibition of cholesterol biosynthesis in HepG2 cells by artichoke extracts is reinforced by glucosidase pretreatment." *Phytother Res* 16(4): 368-372.
- Gebhardt, R. (2002b). "Prevention of Tauro lithocholate-Induced Hepatic Bile Canalicular Distortions by HPLC-Characterized Extracts of Artichoke (*Cynara scolymus*) Leaves*." *Planta Med* 68(9): 776-779.
- Gebhardt, R. and Fausel, M. (1997). "Antioxidant and hepatoprotective effects of artichoke extracts and constituents in cultured rat hepatocytes." *Toxicology in Vitro* 11: 669-672.

- Gebhardt, R., Rexhepaj, R. and Fausel, M. (1999). "Antioxidative und hepatoprotektive Wirkung von Flavonoiden aus Blattextrakt der Artischocke." *Zeitschrift für Phytotherapie* 20: 97-98.
- Gee, J. M., DuPont, M. S., Day, A. J., Plumb, G. W., Williamson, G. and Johnson, I. T. (2000). "Intestinal transport of quercetin glycosides in rats involves both deglycosylation and interaction with the hexose transport pathway." *J Nutr* 130(11): 2765-2771.
- Goldstein, D. S., Stull, R., Markey, S. P., Marks, E. S. and Keiser, H. R. (1984). "Dihydrocaffeic acid: a common contaminant in the liquid chromatographic-electrochemical measurement of plasma catecholamines in man." *J Chromatogr* 311(1): 148-153.
- Graefe, E. U. (2000). Relative Systemische Verfügbarkeit und Pharmakokinetik von Quercetin und Quercetinglycosiden im Menschen. Dissertation, Bayrische Julius-Maximilians-Universität Würzburg.
- Graefe, E. U. and Veit, M. (1999). "Urinary metabolites of flavonoids and hydroxycinnamic acids in humans after application of a crude extract from *Equisetum arvense*." *Phytomedicine* 6(4): 239-246.
- Graefe, E. U., Wittig, J., Mueller, S., Riethling, A. K., Uehleke, B., Drewelow, B., Pforte, H., Jacobasch, G., Derendorf, H. and Veit, M. (2001). "Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans." *J Clin Pharmacol* 41(5): 492-499.
- Griffiths, L. A. and Smith, G. E. (1972). "Metabolism of apigenin and related compounds in rat." *Biochem J* 128: 901-911.
- Guidance for Industry (Draft) - Bioanalytical Methods Validation for Human Studies, F., 1998, <http://www.fda.gov/cder/guidance/2578dft.pdf>.
- Gumbinger, H. G., Vahlensieck, U. and Winterhoff, H. (1993). "Metabolism of caffeic acid in the isolated perfused rat liver." *Planta Med* 59(6): 491-493.
- Hattori, M., Shu, Y.-Z., El-Sedawy, A. I. and Namba, T. (1988). "Metabolism of homoorientin by human intestinal bacteria." *J Nat Prod* 51: 874-878.
- Heilmann, J. and Merfort, I. (1998a). "Aktueller Kenntnisstand zum Metabolismus von Flavonoiden: I. Resorption und Metabolismus von Flavonolen." *Pharmazie in unserer Zeit* 27: 58-65.
- Heilmann, J. and Merfort, I. (1998b). "Aktueller Kenntnisstand zum Metabolismus von Flavonoiden: II. Resorption und Metabolismus von Flavonen, Flavanonen,

- Flavanen, Proanthocyanidinen und Isoflavonoiden." *Pharmazie in unserer Zeit* 27(4): 173-183.
- Jones, D. J., Lim, C. K., Ferry, D. R. and Gescher, A. (1998). "Determination of quercetin in human plasma by HPLC with spectrophotometric or electrochemical detection." *Biomed Chromatogr* 12(4): 232-235.
- Kirchhoff, R., Beckers, C. H., Kirchhoff, G. M., Trinczek-Gärtner, H., Petrowicz, O. and Reimann, H.-J. (1994). "Increase in choleresis by means of artichoke extract. Results of a randomised placebo-controlled double-blind study." *Phytomedicine* 1: 107-115.
- Klatt, P. and Esterbauer, P. (1996). "Oxidative hypothesis of atherogenesis." *J Cardiovasc Risk* 3: 346-351.
- Kuhnle, G., Spencer, J. P., Schroeter, H., Shenoy, B., Debnam, E. S., Srail, S. K., Rice-Evans, C. and Hahn, U. (2000). "Epicatechin and catechin are O-methylated and glucuronidated in the small intestine." *Biochem Biophys Res Commun* 277(2): 507-512.
- Lambert, N., Kroon, P. A., Faulds, C. B., Plumb, G. W., McLauchlan, W. R., Day, A. J. and Williamson, G. (1999). "Purification of cytosolic beta-glucosidase from pig liver and its reactivity towards flavonoid glycosides." *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1435: 110-116.
- Lee, M. J., Prabhu, S., Meng, X., Li, C. and Yang, C. S. (2000). "An improved method for the determination of green and black tea polyphenols in biomatrices by high-performance liquid chromatography with coulometric array detection." *Anal Biochem* 279(2): 164-169.
- Liu, C. S., Song, Y. S., Zhang, K. J., Ryu, J. C., Kim, M. and Zhou, T. H. (1995). "Gas chromatographic/mass spectrometric profiling of luteolin and its metabolites in rat urine and bile." *J Pharm Biomed Anal* 13(11): 1409-1414.
- Maiani, G., Serafini, M., Salucci, M., Azzini, E. and Ferro-Luzzi, A. (1997). "Application of a new high-performance liquid chromatographic method for measuring selected polyphenols in human plasma." *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 692(2): 311-317.
- Manach, C., Morand, C., Demigne, C., Texier, O., Regerat, F. and Remesy, C. (1997). "Bioavailability of rutin and quercetin in rats." *FEBS Lett* 409(1): 12-16.

- Marakis, G., Walker, A. F., Middleton, R. W., Booth, J. C., Wright, J. and Pike, D. J. (2002). "Artichoke leaf extract reduces mild dyspepsia in an open study." *Phytomedicine* 9(8): 694-699.
- Masari, M. S., Robbinson, D. J., Emerson, O. H. and DeEds, F. (1964). "Selective para- or meta-O-methylation with catechol-O-methyl transferase from rat liver." *Nature* 202: 878-883.
- Matuschowski, P., Gumbinger, H. G., Nahrstedt, A. and Winerhoff, H. (1996). Testing of *Cynara scolymus* L. in the isolated perfused rat liver. Proceedings of the 44th Annual Congress on Medicinal Plant Research, Prag.
- Mayr, A. and Fröhlich, E. (1965). "Zwei Jahrtausende Artischocke, *Cynara scolymus*." *Österreichische Apotheker-Zeitung*: 468-471.
- Meding, B. (1983). "Allergic contact dermatitis from artichoke, *Cynara scolymus*." *Contact Dermatitis* 9: 314.
- Meyer, A. S. and Frankel, E. N. (2001). "Antioxidant activity of hydroxycinnamic acids on human low-density lipoprotein oxidation." *Methods Enzymol* 335: 256-265.
- Milbury, P. E. (2001). "Analysis of complex mixtures of flavonoids and polyphenols by high-performance liquid chromatography electrochemical detection methods." *Methods Enzymol* 335: 15-26.
- Moridani, M. Y., Scobie, H. and O'Brien, P. J. (2002). "Metabolism of caffeic acid by isolated rat hepatocytes and subcellular fractions." *Toxicol Lett* 133(2-3): 141-151.
- Nardini, M., Cirillo, E., Natella, F. and Scaccini, C. (2002). "Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption." *J Agric Food Chem* 50(20): 5735-5741.
- Nardini, M., D'Aquino, M., Tomassi, G., Gentili, V., Di Felice, M. and Scaccini, C. (1995). "Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by caffeic acid and other hydroxycinnamic acid derivatives." *Free Radic Biol Med* 19(5): 541-552.
- Nemeth, K., Plumb, G. W., Berrin, J. G., Juge, N., Jacob, R., Naim, H. Y., Williamson, G., Swallow, D. M. and Kroon, P. A. (2003). "Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans." *Eur J Nutr* 42(1): 29-42.

- Nielsen, S. E., Breinholt, V., Justesen, U., Cornett, C. and Dragsted, L. O. (1998). "In vitro biotransformation of flavonoids by rat liver microsomes." *Xenobiotica* 28(4): 389-401.
- Nielsen, S. E. and Sandstrom, B. (2003). "Simultaneous determination of hydroxycinnamates and catechins in human urine samples by column switching liquid chromatography coupled to atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry." *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 787(2): 369-379.
- Ohta, T., Nakano, T., Egashira, Y. and Sanada, H. (1997). "Antioxidant activity of ferulic acid beta-glucuronide in the LDL oxidation system." *Biosci Biotechnol Biochem* 61(11): 1942-1943.
- O'Leary, K. A., Day, A. J., Needs, P. W., Mellon, F. A., O'Brien, N. M. and Williamson, G. (2003). "Metabolism of quercetin-7- and quercetin-3-glucuronides by an in vitro hepatic model: the role of human beta-glucuronidase, sulfotransferase, catechol-O-methyltransferase and multi-resistant protein 2 (MRP2) in flavonoid metabolism." *Biochem Pharmacol* 65(3): 479-491.
- Olthof, M. R., Hollman, P. C. and Katan, M. B. (2001). "Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans." *J Nutr* 131(1): 66-71.
- Olthof, M. R., Hollman, P. C., Vree, T. B. and Katan, M. B. (2000). "Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside do not differ in humans." *J Nutr* 130(5): 1200-1203.
- Peppercorn, M. A. and Goldman, P. (1971). "Caffeic acid metabolism by bacteria of the human gastrointestinal tract." *J Bacteriol* 108(3): 996-1000.
- Perez-Garcia, F., Adzet, T. and Canigual, S. (2000). "Activity of artichoke leaf extract on reactive oxygen species in human leukocytes." *Free Radic Res* 33(5): 661-665.
- Perez-Silva, G., Rodriguez, D. and Perez-Silva, J. (1966). "Dehydroxylation of caffeic acid by a bacterium isolated from rat faeces." *Nature* 212(59): 303-304.
- Perziosi, P., Loscalzo, B., Marmo, E. and Miele, E. (1960). "Effects of single or repeated treatment with several anticholesterolemic compounds on biliary excretion of cholesterol." *Biochem. Pharmacol.* 5: 251-262.

- Petrowicz, O., Gebhardt, R., Donner, M., Schwandt, P. and Kraft, K. (1997). "Effects of artichoke leaf extract (ALE) on lipoprotein metabolism in vitro and in vivo." *Artherosclerosis* 129: 147.
- Pittler, M. H., Thompson, C. O. and Ernst, E. (2002). "Artichoke leaf extract for treating hypercholesterolaemia." *Cochrane Database Syst Rev*(3): CD003335.
- Plumb, G. W., Garcia-Conesa, M. T., Kroon, P. A., Rhodes, M., Ridley, S. and Williamson, G. (1999). "Metabolism of chlorogenic acid by human plasma, liver, intestine and gut microflora." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 390-392.
- Rechner, A. R., Pannala, A. S. and Rice-Evans, C. A. (2001a). "Caffeic acid derivatives in artichoke extract are metabolised to phenolic acids in vivo." *Free Radic Res* 35(2): 195-202.
- Rechner, A. R., Spencer, J. P., Kuhnle, G., Hahn, U. and Rice-Evans, C. A. (2001b). "Novel biomarkers of the metabolism of caffeic acid derivatives in vivo." *Free Radic Biol Med* 30(11): 1213-1222.
- Ritter, U. (1988). "Motilitätsstörungen der Gallenwege." *Fortschr. Med.* 106: 176-178.
- Saenz Rodriguez, T., Garcia Gimenez, D. and de la Puerta Vazquez, R. (2002). "Choleretic activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats." *Phytomedicine* 9(8): 687-693.
- Saito, A., Sugisawa, A. and Umegaki, K. (2001). "[Comparison of photometric, electrochemical and post-column fluorescence detection for the determination of flavonoids by HPLC]." *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 42(3): 174-178.
- Scalbert, A. and Williamson, G. (2000). "Dietary intake and bioavailability of polyphenols." *J Nutr* 130(8S Suppl): 2073S-2085S.
- Scheline, R. R. (1991). *CRC Handbook of mammalian metabolism of plant compounds*. Boca Raton, CRC Press.
- Schneider, H. and Blaut, M. (2000). "Anaerobic degradation of flavonoids by *Eubacterium ramulus*." *Arch Microbiol* 173(1): 71-75.
- Sesink, A. L., Arts, I. C., Faassen-Peters, M. and Hollman, P. C. (2003). "Intestinal Uptake of Quercetin-3-Glucoside in Rats Involves Hydrolysis by Lactase Phlorizin Hydrolase." *J Nutr* 133(3): 773-776.
- Shimoda, H., Ninomiya, K., Nishida, N., Yoshino, T., Morikawa, T., Matsuda, H. and Yoshikawa, M. (2003). "Anti-Hyperlipidemic sesquiterpenes and new sesquiterpene glycosides from the leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.):

- structure requirement and mode of action." *Bioorg Med Chem Lett* 13(2): 223-228.
- Shimoi, K., Okada, H., Furugori, M., Goda, T., Takase, S., Suzuki, M., Hara, Y., Yamamoto, H. and Kinae, N. (1998). "Intestinal absorption of luteolin and luteolin 7-O-beta-glucoside in rats and humans." *FEBS Lett* 438(3): 220-224.
- Shimoi, K., Saka, N., Nozawa, R., Sato, M., Amano, I., Nakayama, T. and Kinae, N. (2001). "Deglucuronidation of a flavonoid, luteolin monoglucuronide, during inflammation." *Drug Metab Dispos* 29(12): 1521-1524.
- Shipkova, M., Strassburg, C. P., Braun, F., Streit, F., Grone, H. J., Armstrong, V. W., Tukey, R. H., Oellerich, M. and Wieland, E. (2001). "Glucuronide and glucoside conjugation of mycophenolic acid by human liver, kidney and intestinal microsomes." *Br J Pharmacol* 132(5): 1027-1034.
- Simonetti, P., Gardana, C. and Pietta, P. (2001). "Plasma levels of caffeic acid and antioxidant status after red wine intake." *J Agric Food Chem* 49(12): 5964-5968.
- Spencer, J. P., Chowrimootoo, G., Choudhury, R., Debnam, E. S., Srai, S. K. and Rice_Evans, C. (1999). "The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids." *FEBS Lett* 458(2): 224-230.
- Strassburg, C. P., Nguyen, N., Manns, M. P. and Tukey, R. H. (1999). "UDP-glucuronosyltransferase activity in human liver and colon." *Gastroenterology* 116(1): 149-160.
- Takenaka, M., Nagata, T. and Yoshida, M. (2000). "Stability and bioavailability of antioxidants in garland (*Chrysanthemum coronarium* L.)." *Biosci Biotechnol Biochem* 64(12): 2689-2691.
- Uang, Y. S., Kang, F. L. and Hsu, K. Y. (1995). "Determination of caffeic acid in rabbit plasma by high-performance liquid chromatography." *J Chromatogr B Biomed Appl* 673(1): 43-49.
- Virgili, F., Pagana, G., Bourne, L., Rimbach, G., Natella, F., Rice-Evans, C. and Packer, L. (2000). "Ferulic acid excretion as a marker of consumption of a French maritime pine (*Pinus maritima*) bark extract." *Free Radic Biol Med* 28(8): 1249-1256.
- Wagenbreth, D., Grün, M., Wagenbreth, A. and Wegener, T. (1996). "Artischocke - Qualitätsdroge aus Arzneipflanzenanbau." *Deutsche Apotheker-Zeitung* 136: 3818-3828.

- Walker, A. F., Middleton, R. W. and Petrowicz, O. (2001). "Artichoke leaf extract reduces symptoms of irritable bowel syndrome in a post-marketing surveillance study." *Phytother Res* 15(1): 58-61.
- Wegener, T. and Fintelmann, V. (1999). "[Pharmacological properties and therapeutic profile of artichoke (*Cynara scolymus* L.)]." *Wien Med Wochenschr* 149(8-10): 241-247.
- Westendorf, J. and Czok, G. (1983). "[Biliary excretion of choloretically active cinnamic acid derivatives in the rat]." *Z Ernährungswiss* 22(4): 255-270.
- Wiklund, A. (1992). "The genus *Cynara* L. (Asteraceae-Cardueae)." *Bot. J. Linn. Soc.* 109: 75-123.
- Williamson, G., Day, A. J., Plumb, G. W. and Couteau, D. (2000). "Human metabolic pathways of dietary flavonoids and cinnamates." *Biochem Soc Trans* 28(2): 16-22.
- Wittig, J. (2002). Bioverfügbarkeit und Metabolismus von Flavonoiden - Analytische und Biochemische Untersuchungen. Dissertation, Bayrische Julius-Maximilians-Universität Würzburg.
- Wolffram, S., Block, M. and Ader, P. (2002). "Quercetin-3-glucoside is transported by the glucose carrier SGLT1 across the brush border membrane of rat small intestine." *J Nutr* 132(4): 630-635.
- Wolffram, S., Weber, T., Grenacher, B. and Scharrer, E. (1995). "A Na(+)-dependent mechanism is involved in mucosal uptake of cinnamic acid across the jejunal brush border in rats." *J Nutr* 125(5): 1300-1308.
- Wone, E., Barondra-Haaby, E. and de Lauture, H. (1986). "Interet de l'integration systematique du chophytol dans le traitement ambulatoire du paludisme." *Afrique Med* 25: 233-240.
- Yamanaka, N., Oda, O. and Nagao, S. (1997). "Prooxidant activity of caffeic acid, dietary non-flavonoid phenolic acid, on Cu²⁺-induced low density lipoprotein oxidation." *FEBS Lett* 405(2): 186-190.
- Zapolska-Downar, D., Zapolski-Downar, A., Naruszewicz, M., Siennicka, A., Krasnodebska, B. and Koldziej, B. (2002). "Protective properties of artichoke (*Cynara scolymus*) against oxidative stress induced in cultured endothelial cells and monocytes." *Life Sci* 71(24): 2897-2808.

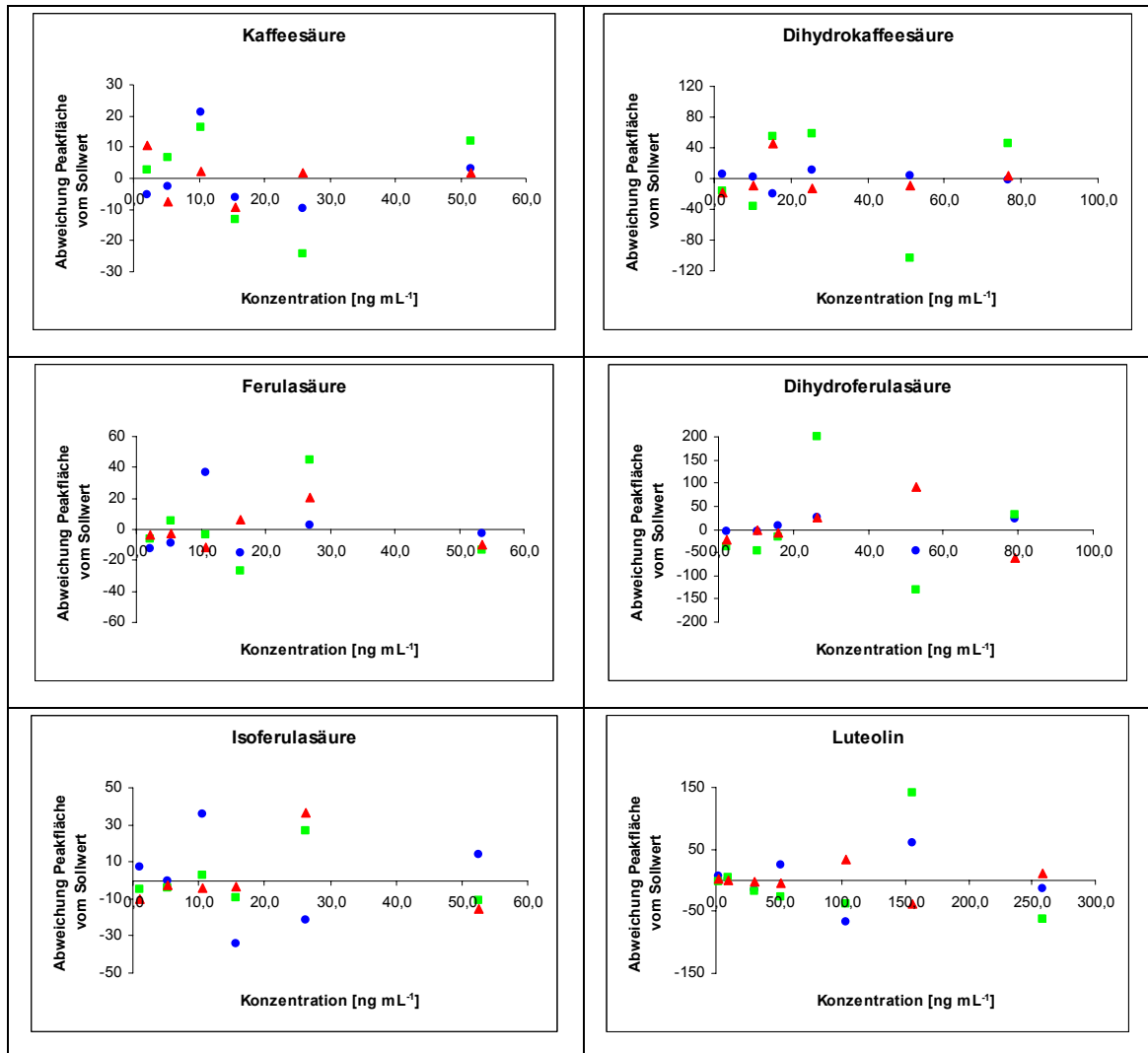
7 Anhang

Tab. 7.1 Demographische Daten der Probanden.

Probanden Nr.	Alter [Jahre]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI [kg m ⁻²]	Geschlecht	Sequenz
01	25	196	88	22,91	Männlich	RP
02	23	185	88	25,71	Männlich	PR
03	24	187	84	24,02	Männlich	PR
04	24	192	76	20,62	Männlich	RP
05	24	186	76	21,97	Männlich	PR
06	24	174	75,5	24,83	Weiblich	RP
07	24	182	69	20,83	Männlich	RP
08	24	173	68	22,72	Männlich	PR
09	24	182	67,5	20,38	Weiblich	RP
10	25	176	67	21,63	Weiblich	PR
11	25	177	66	21,07	Weiblich	RP
12	26	178	62	19,57	Weiblich	PR
13	22	170	58,5	20,24	Weiblich	RP
14	38	167	47,5	17,03	Weiblich	PR
MW	25,14	180,36	70,91	21,68		
SD	3,82	8,32	11,34	2,26		
Min	22	167	48	17,03		
Median	24	180	69	21,35		
Max	38	196	88	25,71		

Tab. 7.2 Parameter der Kalibrierfunktionen im Plasma.

	Tag	Steigung	Achsenabschnitt	R ²
Kaffeesäure	1	27,674	7,4622	0,9995
	2	31,820	3,3151	0,9993
	3	26,387	6,8630	0,9998
Dihydrokaffeesäure	1	25,413	77,7410	0,9998
	2	25,784	94,6470	0,9923
	3	31,226	83,5940	0,9993
Ferulasäure	1	31,653	4,2412	0,9990
	2	27,411	10,5940	0,9978
	3	23,436	13,0870	0,9993
Dihydroferulasäure	1	31,927	0,1505	0,9992
	2	31,262	-0,5441	0,9856
	3	34,850	1,7286	0,9973
Isoferulasäure	1	30,540	17,5580	0,9981
	2	31,061	15,6060	0,9994
	3	28,772	15,8900	0,9989
Luteolin	1	10,685	8,0960	0,9985
	2	10,997	4,1711	0,9959
	3	9,907	3,8671	0,9995

Abb. 7.1 Residual Plots der Kalibriergeraden im Plasma (● Tag 1, ■ Tag 2, ▲ Tag 3).

Tab. 7.3 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Plasma („within-day precision“).

	Wahrer Wert [ng·mL ⁻¹]	Tag	MW [ng·mL ⁻¹]	CV [%]	RE [%]	n
Kaffeensäure	2,07	1	1,71	18,36	-17,19	5
		2	1,74	8,65	-15,87	5
	15,50	1	15,33	2,88	-1,08	5
		2	15,40	1,27	-0,67	5
	51,65	1	52,43	10,39	1,51	5
		2	50,75	6,79	-1,73	5
Dihydrokaffeensäure	2,04	1	2,41	16,56	18,08	5
		2	2,36	16,25	15,58	5
	25,55	1	22,33	2,67	-12,59	5
		2	22,62	3,73	-11,48	5
	76,65	1	79,04	3,65	3,12	5
		2	80,72	3,07	5,31	5
Ferulasäure	2,15	1	1,86	14,24	-13,59	5
		2	1,86	5,07	-13,63	5
	16,10	1	17,57	6,61	9,13	5
		2	17,54	4,96	8,95	5
	53,65	1	48,75	7,77	-9,13	5
		2	52,75	6,11	-1,67	5
Dihydroferulasäure	2,11	1	2,13	9,83	0,97	5
		2	2,35	16,87	11,48	5
	26,40	1	23,76	2,36	-10,01	5
		2	23,98	5,22	-9,18	5
	78,83	1	73,43	6,22	-6,84	5
		2	75,40	11,05	-4,36	5
Isoferulasäure	1,05	1	0,98	18,11	-6,80	5
		2	0,94	11,73	-10,15	5
	15,78	1	16,89	6,68	7,04	5
		2	16,50	4,77	4,56	5
	52,60	1	52,83	9,87	0,45	5
		2	48,06	6,52	-8,64	5
Luteolin	2,07	1	2,04	4,56	-1,63	5
		2	2,07	4,65	-0,07	5
	103,45	1	105,00	10,85	1,50	5
		2	100,48	4,57	-2,87	5
	258,63	1	262,36	4,83	1,44	5
		2	263,12	5,67	1,73	5

Tab. 7.4 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Plasma („between-day precision“), berechnet aus den Mittelwerten der „within-day precision“.

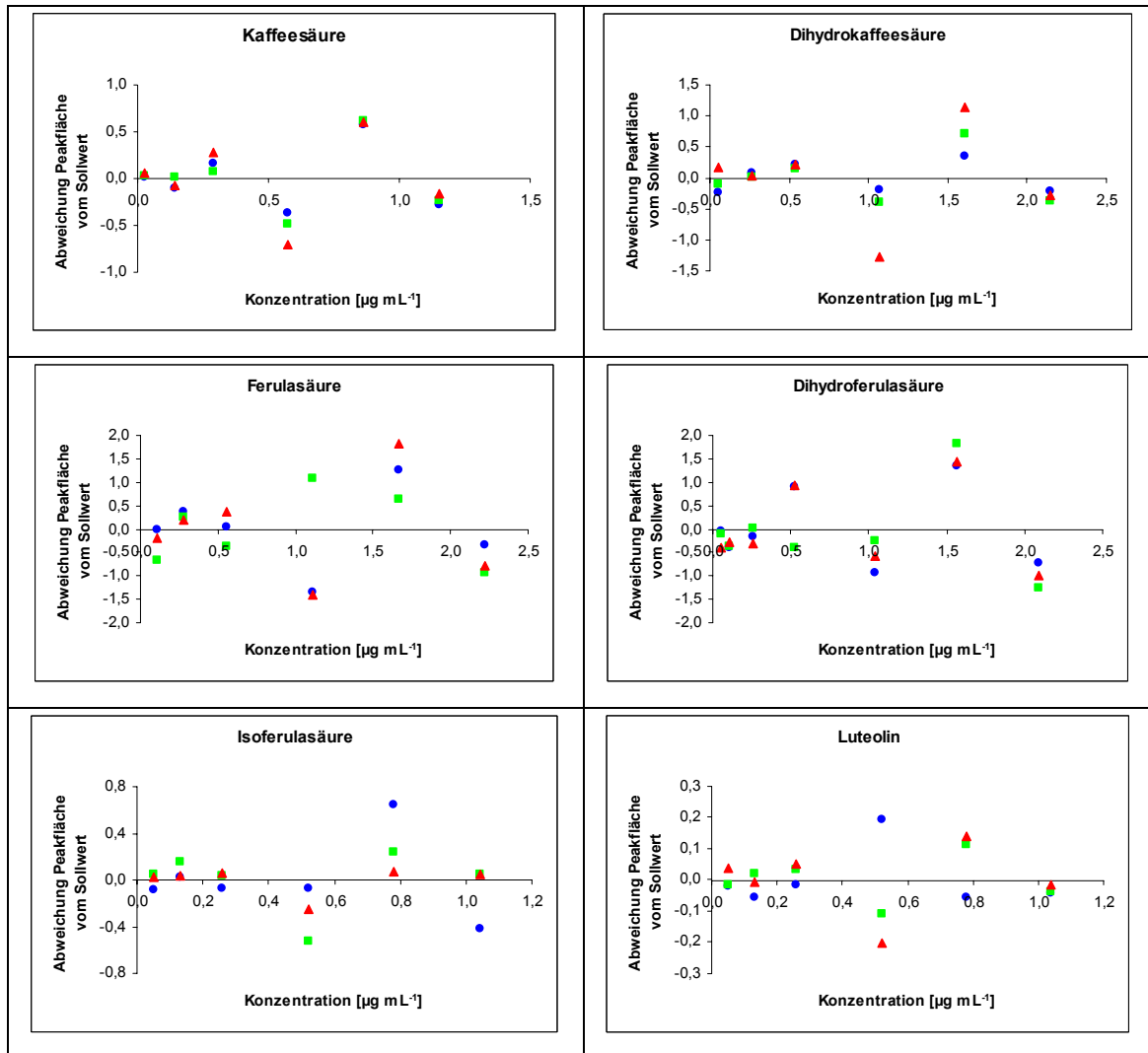
	Wahrer Wert [ng·mL ⁻¹]	MW [ng·mL ⁻¹]	CV [%]	RE [%]
Kaffeesäure	2,07	1,73	1,12	-16,53
	15,50	15,36	0,29	-0,88
	51,65	51,59	2,30	-0,11
Dihydrokaffeesäure	2,04	2,38	1,52	16,83
	25,55	22,47	0,90	-12,04
	76,65	79,88	1,49	4,22
Ferulasäure	2,15	1,86	0,03	-13,61
	16,10	17,56	0,12	9,04
	53,65	50,75	5,57	-5,40
Dihydroferulasäure	2,11	2,24	7,00	6,22
	26,40	23,87	0,65	-9,60
	78,83	74,41	1,86	-5,60
Isoferulasäure	1,05	0,96	2,59	-8,47
	15,78	16,70	1,66	5,80
	52,60	50,45	6,70	-4,10
Luteolin	2,07	2,05	1,11	-0,85
	103,45	102,74	3,11	-0,69
	258,63	262,74	0,20	1,59

Tab. 7.5 Wiederfindung an verschiedenen Konzentrationsstufen nach Extraktion der Analyten aus Humanplasma.

	Konzentration [ng·mL ⁻¹]	Wiederfindung [%]	CV [%]
Kaffeesäure	2,07	80,70±2,66	3,30
	15,50	80,82±1,01	1,25
	51,65	85,40±8,84	10,35
Dihydrokaffeesäure	2,04	86,73±5,64	6,48
	25,55	80,61±2,60	3,23
	76,65	85,60±2,52	2,94
Ferulasäure	2,15	62,20±5,13	8,24
	16,10	64,52±3,14	4,87
	53,65	66,18±4,07	6,15
Dihydroferulasäure	2,11	82,59±5,98	7,24
	26,40	70,30±1,97	2,80
	78,83	72,58±4,50	6,20
Isoferulasäure	1,05	73,34±8,71	11,88
	15,78	72,19±4,68	6,49
	52,60	67,85±3,80	5,60
Luteolin	2,07	87,88±3,76	4,28
	103,45	82,05±3,97	4,84
	258,63	84,50±1,89	2,24

Tab. 7.6 Parameter der Kalibrierfunktionen im Urin.

	Tag	Steigung	Achsenabschnitt	R ²
Kaffeesäure	1	11,175	0,0973	0,0052
	2	10,740	0,0914	0,9940
	3	10,550	0,2321	0,9909
Dihydrokaffeesäure	1	9,217	-0,8110	0,9989
	2	8,980	0,0257	0,9969
	3	8,667	0,2925	0,9880
Ferulasäure	1	14,440	0,0726	0,9949
	2	13,544	-0,6959	0,9950
	3	13,876	-0,5681	0,9908
Dihydroferulasäure	1	18,985	0,1372	0,9969
	2	18,618	-0,1692	0,9960
	3	10,065	-0,2383	0,9967
Isoferulasäure	1	7,528	-0,0670	0,9861
	2	8,562	0,1275	0,9936
	3	9,024	-0,0475	0,9988
Luteolin	1	3,519	0,0889	0,9951
	2	3,244	0,0675	0,9965
	3	3,139	0,0995	0,9914

Abb. 7.2 Residual Plots der Kalibriergeraden im Urin (● Tag 1, ■ Tag 2, ▲ Tag 3).

Tab. 7.7 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Urin („within-day precision“).

	Wahrer Wert [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	Tag	MW [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	CV [%]	RE [%]	<i>n</i>
Kaffeensäure	0,029	1	0,025	3,22	-11,80	5
		2	0,026	10,17	-10,00	5
	0,58	1	0,58	7,51	0,90	5
		2	0,52	3,76	-9,01	5
	1,15	1	1,24	3,36	7,48	5
		2	1,06	2,28	-8,40	5
Dihydrokaffeensäure	0,054	1	0,056	14,25	4,68	5
		2	0,057	6,55	5,80	5
	1,07	1	1,12	7,61	4,41	5
		2	0,97	3,19	-9,36	5
	2,14	1	2,24	2,97	4,70	5
		2	1,99	2,52	-7,28	5
Ferulasäure	0,111	1	0,109	10,74	-1,63	5
		2	0,122	8,02	9,74	5
	1,11	1	1,09	3,04	-2,03	5
		2	1,18	3,79	6,11	5
	2,22	1	2,39	1,95	7,73	5
		2	2,33	1,38	5,02	5
Dihydroferulasäure	0,052	1	0,057	10,97	9,25	5
		2	0,057	7,77	9,41	5
	1,05	1	1,00	4,69	-4,10	5
		2	0,99	4,88	-5,52	5
	2,09	1	2,20	2,65	5,24	5
		2	2,10	1,88	0,28	5
Isoferulasäure	0,052	1	0,048	1,33	-6,98	5
		2	0,054	9,73	4,25	5
	0,52	1	0,48	8,48	-7,42	5
		2	0,56	7,35	7,52	5
	1,04	1	1,11	7,72	6,71	5
		2	1,14	5,66	8,98	5
Luteolin	0,052	1	0,044	7,54	-15,85	5
		2	0,046	6,68	-12,00	5
	0,52	1	0,51	6,60	-1,49	5
		2	0,49	4,22	-6,62	5
	1,04	1	1,09	3,02	4,53	5
		2	0,95	3,65	-9,20	5

Tab. 7.8 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Urin („between-day precision“), berechnet aus den Mittelwerten der „within-day precision“.

	Wahrer Wert [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	MW [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	CV [%]	RE [%]
Kaffeesäure	0,029	0,026	1,43	-10,90
	0,58	0,55	7,31	-4,06
	1,15	1,15	11,28	-0,46
Dihydrokaffeesäure	0,054	0,056	0,76	5,24
	1,07	1,05	9,98	-2,47
	2,14	2,12	8,58	-1,29
Ferulasäure	0,111	0,115	7,73	4,05
	1,11	1,13	5,64	2,04
	2,22	2,36	1,80	6,37
Dihydroferulasäure	0,052	0,057	0,10	9,33
	1,05	0,99	1,05	-4,81
	2,09	2,15	3,42	2,76
Isoferulasäure	0,052	0,051	8,05	-1,36
	0,52	0,52	10,56	0,05
	1,04	1,12	1,49	7,84
Luteolin	0,052	0,045	3,16	-13,93
	0,52	0,50	3,78	-4,06
	1,04	1,02	9,94	-2,33

Tab. 7.9 Wiederfindung an verschiedenen Konzentrationsstufen nach Extraktion der Analyten aus humanem Urin.

	Konzentration [$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$]	Wiederfindung [%]	CV [%]
Kaffeesäure	0,029	61,15 \pm 4,15	6,78
	0,58	65,54 \pm 4,82	7,35
	1,15	64,79 \pm 2,16	3,33
Dihydrokaffeesäure	0,054	57,97 \pm 4,16	7,17
	1,07	52,16 \pm 3,94	7,56
	2,14	55,35 \pm 1,64	2,96
Ferulasäure	0,111	46,29 \pm 4,85	10,47
	1,11	51,74 \pm 1,61	3,12
	2,22	53,04 \pm 0,74	1,40
Dihydroferulasäure	0,052	68,89 \pm 5,84	8,48
	1,05	69,61 \pm 3,28	4,71
	2,09	71,23 \pm 1,89	2,66
Isoferulasäure	0,052	53,43 \pm 5,20	9,74
	0,52	58,94 \pm 4,33	7,35
	1,04	55,34 \pm 4,28	7,73
Luteolin	0,052	86,76 \pm 3,32	3,83
	0,52	81,40 \pm 5,11	6,28
	1,04	77,32 \pm 2,32	3,00

Tab. 7.10 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Kaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

01R		02R		03R		04R		05R		06R		07R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	10,49	0,00	4,34	0,00	10,46	0,00	13,39	0,00	4,72	0,00	3,43	0,00	2,12
0,27	12,87	0,27	5,74	0,28	10,28	0,25	9,23	0,30	7,17	0,33	6,19	0,35	10,00
0,50	7,31	0,50	8,74	0,55	12,38	0,55	13,08	0,50	8,39	0,63	7,66	0,58	11,12
0,75	11,71	0,75	8,85	0,78	10,42	0,75	11,09	0,77	8,32	0,88	9,83	0,72	6,40
1,00	14,62	1,00	8,88	1,03	10,63	1,05	10,32	1,03	7,97	1,15	7,83	1,05	9,06
1,50	9,90	1,50	8,08	1,53	10,56	1,50	9,69	1,60	10,63	1,65	7,55	1,62	4,58
2,00	6,93	2,00	7,21	2,05	11,40	2,00	11,75	2,05	7,55	2,13	6,54	2,07	4,06
3,00	6,61	3,00	5,77	2,97	8,57	3,00	9,90	3,03	6,79	3,13	5,14	3,08	5,39
3,98	6,47	4,00	6,51	4,07	9,20	3,98	8,95	4,08	5,98	4,07	4,58	4,08	3,88
6,00	6,54	6,00	4,62	6,08	7,17	6,00	6,89	6,10	8,53	6,08	3,81	6,10	3,95
8,00	5,28	8,00	3,88	8,08	7,41	7,78	5,88	8,05	5,49	7,75	3,67	7,80	2,56
12,02	4,41	11,80	4,72	11,50	7,14	12,00	6,61	11,45	5,04	12,00	3,33	12,00	2,64
24,18	4,27	24,55	3,53	23,67	6,37	24,42	4,76	23,75	3,53	24,00	2,94	24,12	2,37

08R		09R		10R		11R		12R		13R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	3,50	0,00	5,95	0,00	5,98	0,00	9,69	0,00	7,62	0,00	4,90	0,00	5,28
0,28	5,49	0,33	11,64	0,32	10,42	0,25	9,16	0,25	9,86	0,33	7,28	0,25	7,03
0,55	5,39	0,53	10,35	0,62	11,50	0,52	12,41	0,53	12,48	0,62	6,54	0,50	7,00
0,78	7,52	0,75	8,78	0,80	14,82	0,78	12,59	0,77	12,66	0,83	7,94	0,78	10,39
1,02	6,16	1,03	8,50	1,13	10,98	1,10	11,57	1,05	12,03	1,08	6,51	1,10	12,06
1,52	5,95	1,50	9,97	1,55	10,74	1,50	11,12	1,57	11,92	1,62	5,81	1,53	10,91
2,02	5,07	2,00	9,76	2,07	9,09	2,00	10,77	2,05	12,13	2,12	6,12	2,13	6,86
3,02	3,81	3,02	7,55	3,02	9,90	3,00	9,20	3,07	12,27	3,17	5,77	2,98	8,74
4,03	3,67	4,05	7,62	4,03	8,78	4,03	7,17	4,08	9,69	4,13	6,05	4,00	7,59
6,03	1,69	6,00	5,98	6,03	7,87	6,12	7,00	6,12	5,46	6,17	5,04	6,13	6,75
8,03	2,09	8,00	9,51	8,05	6,93	8,00	6,47	8,08	6,12	8,23	5,42	8,00	7,21
11,80	2,67	12,08	5,70	11,90	6,72	12,03	5,81	11,83	6,72	12,00	3,92	11,97	7,14
24,50	0,97	24,08	5,25	24,67	6,40	25,05	5,70	24,50	5,84	24,02	3,39	24,25	5,91

Tab. 7.11 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Kaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	12,76	0,00	14,86	0,00	5,88	0,00	7,31	0,00	2,78	0,00	6,65	0,00	4,69
0,25	9,41	0,37	8,50	0,28	7,76	0,28	7,62	0,25	13,01	0,37	5,21	0,28	5,63
0,50	12,73	0,58	11,30	0,53	11,71	0,33	10,14	0,57	10,49	0,55	8,46	0,58	11,82
0,75	10,42	1,00	11,50	0,78	11,23	0,82	8,74	0,78	8,36	0,77	8,08	0,75	13,22
1,00	15,52	1,17	12,03	1,02	11,02	1,05	9,79	1,07	8,67	1,00	5,88	1,03	
1,50	11,50	1,58	12,38	1,52	11,75	1,58	12,41	1,55	10,74	1,50	12,87	1,60	10,42
2,00	8,85	2,12	10,04	2,03	9,13	2,06	8,15	2,03	6,37	2,00	9,48	2,05	5,04
3,02	10,21	3,12	8,18	3,03	10,74	3,03	7,59	3,03	6,30	3,17	7,10	3,00	7,07
4,00	9,23	4,12	7,07	4,02	10,11	4,05	6,68	4,00	4,44	4,00	6,47	4,07	6,93
6,00	7,07	6,08	6,65	6,02	8,85	6,17	5,28	6,05	3,36	6,00	5,32	6,08	4,86
8,00	4,93	8,08	7,69	8,03	7,66	8,08	4,55	7,87	2,61	8,00	5,74	8,00	5,28
11,53	4,72	12,00	5,14	12,00	7,00	11,58	5,81	12,00	2,48	11,50	5,00	11,55	
23,00	4,09	24,00	4,20	24,08	5,53	23,67	5,11	24,08	2,27	23,75	4,93	23,50	4,48

08P		09P		10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	8,67	0,00	2,40	0,00	6,86	0,00	7,38	0,00	5,56	0,00	5,98	0,00	7,07
0,25	7,31	0,30	5,77	0,50	14,76	0,27	9,69	0,33	9,30	0,27	9,79	0,28	11,23
0,50	10,53	0,67	8,18	0,67	11,09	0,58	13,01	0,57	11,43	0,55	7,69	0,50	14,76
0,80	9,83	0,75	10,25	0,92	13,29	0,78	12,10	0,80	14,86	0,78	7,97	0,75	14,44
1,05	10,07	1,03	7,03	1,08	13,46	1,03	12,13	1,08	18,01	1,02	7,87	1,00	14,62
1,50	14,79	1,53	7,14	1,58	18,46	1,57	12,38	1,50	14,72	1,55	8,11	1,53	13,95
2,05	9,02	2,03	7,03	2,08	13,29	2,03	12,90	2,00	15,39	2,02	6,79	2,05	12,10
3,07	5,81	3,03	5,14	3,08	11,09	3,05	9,97	3,03	14,86	3,00	7,00	3,00	9,55
4,08	5,60	4,05	5,07	4,08	10,95	4,03	10,14	4,07	12,31	4,05	7,66	4,00	9,02
6,05	3,78	6,00	3,99	6,12	7,59	6,07	7,66	6,07	7,83	6,03	5,53	6,07	6,89
8,05	3,29	8,07	1,82	8,08	7,10	8,07	6,82	8,05	6,37	8,03	6,65	8,00	6,86
12,02	3,46	11,93	3,71	12,05	5,98	11,95	7,55	12,02	5,95	12,00	5,39	12,07	7,07
24,00	2,98	24,58	2,16	24,08	5,32	24,25	6,09	24,08	5,95	23,67	3,43	24,33	6,61

Tab. 7.12 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeensäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

01R		02R		03R		04R		05R		06R		07R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,27	0,00	0,27	0,00	0,28	0,00	0,25	0,00	0,30	0,00	0,33	0,00	0,35	0,00
0,50	0,00	0,50	0,00	0,55	0,00	0,55	0,00	0,50	0,00	0,63	0,00	0,58	0,00
0,75	0,00	0,75	0,00	0,78	0,00	0,75	0,00	0,77	0,00	0,88	0,00	0,72	0,00
1,00	0,00	1,00	0,00	1,03	0,00	1,05	0,00	1,03	0,00	1,15	0,00	1,05	0,00
1,50	0,00	1,50	0,00	1,53	0,00	1,50	0,00	1,60	0,00	1,65	0,00	1,62	0,00
2,00	0,00	2,00	0,00	2,05	0,00	2,00	0,00	2,05	0,00	2,13	0,00	2,07	0,00
3,00	0,00	3,00	0,00	2,97	0,00	3,00	0,00	3,03	0,00	3,13	5,28	3,08	17,26
3,98	0,00	4,00	5,14	4,07	0,00	3,98	0,00	4,08	12,73	4,07	22,60	4,08	6,93
6,00	4,00	6,00	15,14	6,08	8,39	6,00	12,19	6,10	18,21	6,08	23,98	6,10	4,77
8,00	5,21	8,00	11,60	8,08	14,82	7,78	3,68	8,05	4,63	7,75	10,91	7,80	1,05
12,02	0,90	11,80	4,74	11,50	9,92	12,00	0,00	11,45	0,00	12,00	0,00	12,00	0,32
24,18	0,00	24,55	0,00	23,67	0,00	24,42	0,00	23,75	0,00	24,00	0,00	24,12	0,00

08R		09R		10R		11R		12R		13R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,28	2,47	0,33	0,00	0,32	0,00	0,25	0,00	0,25	4,99	0,33	0,00	0,25	0,00
0,55	4,33	0,53	0,00	0,62	0,00	0,52	0,00	0,53	3,97	0,62	0,00	0,50	0,00
0,78	3,13	0,75	0,00	0,80	0,00	0,78	0,00	0,77	2,43	0,83	0,00	0,78	0,00
1,02	2,40	1,03	0,00	1,13	0,00	1,10	0,00	1,05	3,02	1,08	0,00	1,10	0,00
1,52	2,03	1,50	0,00	1,55	0,00	1,50	0,00	1,57	2,22	1,62	0,00	1,53	0,00
2,02	3,13	2,00	0,00	2,07	0,00	2,00	0,46	2,05	2,25	2,12	0,00	2,13	0,00
3,02	2,98	3,02	0,28	3,02	0,00	3,00	2,87	3,07	2,80	3,17	10,62	2,98	0,00
4,03	15,22	4,05	14,38	4,03	0,00	4,03	12,73	4,08	0,21	4,13	16,90	4,00	1,52
6,03	53,06	6,00	28,51	6,03	12,77	6,12	22,74	6,12	11,57	6,17	19,75	6,13	39,69
8,03	26,32	8,00	21,43	8,05	16,09	8,00	0,00	8,08	4,59	8,23	11,71	8,00	29,21
11,80	4,95	12,08	0,00	11,90	0,00	12,03	0,00	11,83	3,49	12,00	0,00	11,97	10,00
24,50	0,00	24,08	0,00	24,67	0,00	25,05	0,00	24,50	0,00	24,02	0,00	24,25	0,00

Tab. 7.13 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeesäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

02R		04R		06R		08R		09R		11R		12R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,27	0,00	0,25	0,00	0,33	0,00	0,28	0,00	0,33	0,00	0,25	0,00	0,25	0,00
0,50	0,00	0,55	0,00	0,63	0,00	0,55	0,00	0,53	0,00	0,52	0,00	0,53	0,00
0,75	0,00	0,75	0,00	0,88	0,00	0,78	0,00	0,75	0,00	0,78	0,00	0,77	0,00
1,00	0,00	1,05	0,00	1,15	0,00	1,02	0,00	1,03	0,00	1,10	0,00	1,05	0,00
1,50	0,00	1,50	0,00	1,65	0,00	1,52	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	1,57	0,00
2,00	0,00	2,00	0,00	2,13	0,00	2,02	0,00	2,00	0,00	2,00	0,08	2,05	0,00
3,00	0,00	3,00	0,00	3,13	1,30	3,02	0,00	3,02	0,00	3,00	0,10	3,07	0,00
4,00	1,01	3,98	0,00	4,07	6,53	4,03	1,05	4,05	0,83	4,03	5,06	4,08	0,00
6,00	7,62	6,00	1,74	6,08	2,73	6,03	17,52	6,00	2,54	6,12	2,25	6,12	13,39
8,00	3,60	7,78	0,00	7,75	0,79	8,03	7,77	8,00	1,30	8,00	0,00	8,08	5,32
11,80	0,00	12,00	0,00	12,00	0,00	11,80	0,00	12,08	0,00	12,03	0,00	11,83	0,00
24,55	0,00	24,42	0,00	24,00	0,00	24,50	0,00	24,08	0,00	25,05	0,00	24,50	0,00

13R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00
0,33	0,00	0,25	0,00
0,62	0,00	0,50	0,00
0,83	0,00	0,78	0,00
1,08	0,00	1,10	0,00
1,62	0,00	1,53	0,00
2,12	0,17	2,13	0,00
3,17	10,21	2,98	0,00
4,13	9,99	4,00	0,00
6,17	8,61	6,13	11,16
8,23	5,17	8,00	10,32
12,00	0,00	11,97	6,01
24,02	0,00	24,25	0,00

Tab. 7.14 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeensäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	4,11	0,37	0,00	0,28	0,00	0,28	0,00	0,25	0,00	0,37	0,00	0,28	0,00
0,50	6,20	0,58	0,00	0,53	0,00	0,33	0,00	0,57	0,00	0,55	0,00	0,58	0,00
0,75	6,78	1,00	0,00	0,78	0,00	0,82	0,00	0,78	0,00	0,77	0,00	0,75	0,00
1,00	7,44	1,17	0,00	1,02	0,00	1,05	0,00	1,07	0,00	1,00	0,00	1,03	0,00
1,50	8,17	1,58	0,00	1,52	0,00	1,58	0,00	1,55	0,00	1,50	0,00	1,60	0,00
2,00	8,31	2,12	0,00	2,03	0,00	2,06	0,00	2,03	0,00	2,00	1,78	2,05	0,00
3,02	7,37	3,12	4,15	3,03	0,00	3,03	0,00	3,03	0,86	3,17	27,05	3,00	0,00
4,00	9,19	4,12	20,40	4,02	0,00	4,05	0,00	4,00	11,24	4,00	37,46	4,07	7,18
6,00	19,60	6,08	22,70	6,02	0,00	6,17	17,74	6,05	20,29	6,00	26,17	6,08	11,71
8,00	8,83	8,08	9,48	8,03	14,19	8,08	0,00	7,87	6,42	8,00	0,00	8,00	2,65
11,53	5,21	12,00	0,00	12,00	10,51	11,58	0,00	12,00	0,00	11,50	0,00	11,55	1,08
23,00	0,00	24,00	0,00	24,08	0,00	23,67	0,00	24,08	0,00	23,75	0,00	23,50	0,00

08P		09P		10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	0,00	0,30	0,00	0,50	0,00	0,27	0,00	0,33	0,00	0,27	0,00	0,28	0,00
0,50	0,00	0,67	0,00	0,67	0,00	0,58	0,00	0,57	0,00	0,55	0,00	0,50	0,57
0,80	0,00	0,75	0,00	0,92	0,00	0,78	1,81	0,80	0,00	0,78	0,00	0,75	0,90
1,05	0,00	1,03	0,00	1,08	0,00	1,03	3,93	1,08	0,00	1,02	1,19	1,00	3,64
1,50	0,00	1,53	0,00	1,58	0,00	1,57	13,98	1,50	0,00	1,55	13,14	1,53	0,17
2,05	0,00	2,03	0,00	2,08	0,00	2,03	21,10	2,00	7,11	2,02	19,64	2,05	2,87
3,07	14,05	3,03	4,63	3,08	0,86	3,05	34,79	3,03	13,46	3,00	32,35	3,00	5,76
4,08	47,58	4,05	21,79	4,08	13,28	4,03	29,57	4,07	13,17	4,05	26,87	4,00	14,63
6,05	37,35	6,00	49,37	6,12	42,10	6,07	33,33	6,07	20,99	6,03	25,85	6,07	18,80
8,05	16,13	8,07	31,11	8,08	24,31	8,07	2,73	8,05	25,08	8,03	13,39	8,00	38,45
12,02	6,45	11,93	0,00	12,05	0,00	11,95	0,00	12,02	1,78	12,00	1,12	12,07	3,60
24,00	0,00	24,58	0,00	24,08	0,00	24,25	0,00	24,08	0,00	23,67	0,00	24,33	0,00

Tab. 7.15 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeesäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

02P		03P		05P		06P		10P		11P		12P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,37	0,00	0,28	0,00	0,25	0,00	0,37	0,00	0,50	0,00	0,27	0,00	0,33	0,00
0,58	0,00	0,53	0,00	0,57	0,00	0,55	0,00	0,67	0,00	0,58	0,00	0,57	0,00
1,00	0,00	0,78	0,00	0,78	0,00	0,77	0,00	0,92	0,00	0,78	0,00	0,80	0,00
1,17	0,00	1,02	0,00	1,07	0,00	1,00	0,00	1,08	0,00	1,03	0,00	1,08	0,00
1,58	0,00	1,52	0,00	1,55	0,00	1,50	0,00	1,58	0,00	1,57	4,37	1,50	0,00
2,12	0,00	2,03	0,00	2,03	0,00	2,00	0,00	2,08	0,00	2,03	9,26	2,00	3,79
3,12	2,73	3,03	0,00	3,03	0,00	3,17	12,62	3,08	0,00	3,05	13,94	3,03	6,38
4,12	3,24	4,02	0,00	4,00	4,00	4,00	20,66	4,08	8,24	4,03	12,70	4,07	3,86
6,08	0,00	6,02	0,00	6,05	4,92	6,00	8,53	6,12	23,33	6,07	2,07	6,07	10,51
8,08	0,00	8,03	2,25	7,87	0,00	8,00	0,00	8,08	10,18	8,07	0,00	8,05	9,78
12,00	0,00	12,00	0,61	12,00	0,00	11,50	0,00	12,05	0,00	11,95	0,00	12,02	0,00
24,00	0,00	24,08	0,00	24,08	0,00	23,75	0,00	24,08	0,00	24,25	0,00	24,08	0,00

13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00
0,27	0,00	0,28	0,00
0,55	0,00	0,50	0,10
0,78	0,00	0,75	0,21
1,02	0,00	1,00	0,08
1,55	9,41	1,53	0,39
2,02	15,18	2,05	1,96
3,00	20,37	3,00	4,59
4,05	13,03	4,00	4,99
6,03	11,60	6,07	7,44
8,03	3,75	8,00	8,31
12,00	0,00	12,07	2,29
23,67	0,00	24,33	0,00

Tab. 7.16 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

01R		02R		03R		04R		05R		06R		07R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,83	0,00	3,55	0,00	2,86	0,00	2,62	0,00	3,98	0,00	0,90	0,00	3,01
0,27	4,20	0,27	7,84	0,28	6,06	0,25	8,35	0,30	10,57	0,33	4,86	0,35	6,64
0,50	5,77	0,50	13,95	0,55	8,60	0,55	13,55	0,50	12,60	0,63	8,17	0,58	8,89
0,75	9,33	0,75	13,69	0,78	8,49	0,75	14,60	0,77	12,57	0,88	11,55	0,72	9,73
1,00	8,24	1,00	12,09	1,03	9,11	1,05	11,62	1,03	12,17	1,15	9,07	1,05	8,27
1,50	10,06	1,50	12,27	1,53	7,07	1,50	8,86	1,60	9,98	1,65	8,75	1,62	5,87
2,00	8,17	2,00	11,51	2,05	6,93	2,00	9,69	2,05	6,97	2,13	6,93	2,07	5,15
3,00	6,13	3,00	8,82	2,97	5,33	3,00	7,22	3,03	6,09	3,13	4,96	3,08	4,20
3,98	2,79	4,00	8,06	4,07	8,60	3,98	7,04	4,08	7,62	4,07	3,36	4,08	3,15
6,00	4,64	6,00	7,80	6,08	8,02	6,00	7,77	6,10	8,57	6,08	8,57	6,10	7,62
8,00	9,22	8,00	6,60	8,08	5,69	7,78	6,64	8,05	7,04	7,75	10,46	7,80	5,07
12,02	4,35	11,80	5,73	11,50	4,09	12,00	10,13	11,45	5,40	12,00		12,00	
24,18	0,55	24,55	3,20	23,67	2,83	24,42	2,08	23,75	3,29	24,00	0,98	24,12	3,36

08R		09R		10R		11R		12R		13R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	1,68	0,00	0,74	0,00	1,93	0,00	2,08	0,00	1,23	0,00	3,69	0,00	0,54
0,28	4,09	0,33	5,33	0,32	7,44	0,25	7,87	0,25	4,56	0,33	8,49	0,25	2,89
0,55	6,78	0,53	8,17	0,62	10,64	0,52	11,22	0,53	9,07	0,62	11,69	0,50	5,33
0,78	11,33	0,75	7,29	0,80	9,62	0,78	12,97	0,77	8,02	0,83	9,11	0,78	8,86
1,02	10,27	1,03	6,89	1,13	10,57	1,10	11,04	1,05	8,09	1,08	8,27	1,10	7,47
1,52	5,91	1,50	5,51	1,55	9,58	1,50	10,13	1,57	8,27	1,62	7,40	1,53	7,80
2,02	5,11	2,00	4,09	2,07	5,91	2,00	8,13	2,05	5,69	2,12	7,87	2,13	3,40
3,02	4,53	3,02	4,96	3,02	4,71	3,00	5,40	3,07	5,22	3,17	6,75	2,98	3,98
4,03	3,62	4,05	3,55	4,03	3,51	4,03	4,09	4,08	4,67	4,13	7,07	4,00	3,36
6,03	6,38	6,00	4,75	6,03	5,22	6,12	8,02	6,12	3,98	6,17	8,31	6,13	6,57
8,03	4,20	8,00	7,47	8,05	4,93	8,00	5,26	8,08	4,71	8,23	9,40	8,00	4,96
11,80	1,43	12,08	2,76	11,90	6,97	12,03	4,53	11,83	5,33	12,00	6,97	11,97	5,18
24,50	1,06	24,08	0,91	24,67	1,70	25,05	2,77	24,50	0,72	24,02	4,13	24,25	0,50

Tab. 7.17 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

02R		03R		04R		05R		08R		09R		10R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	1,22	0,00	3,44	0,00	1,48	0,00	0,03	0,00	0,48	0,00	0,00	0,00	0,57
0,27	1,07	0,28	1,66	0,25	4,02	0,30	0,82	0,28	3,15	0,33	0,56	0,32	0,00
0,50	1,57	0,55	2,29	0,55	2,88	0,50	1,65	0,55	2,03	0,53	0,54	0,62	0,44
0,75	1,55	0,78	1,62	0,75	6,24	0,77	1,02	0,78	3,73	0,75	0,08	0,80	0,76
1,00	1,63	1,03	3,84	1,05	2,98	1,03	0,80	1,02	1,36	1,03	0,01	1,13	1,18
1,50	0,96	1,53	0,67	1,50	2,13	1,60	0,78	1,52	2,64	1,50	0,18	1,55	1,00
2,00	1,37	2,05	3,09	2,00	3,15	2,05	0,41	2,02	2,95	2,00	0,20	2,07	0,13
3,00	2,03	2,97	3,07	3,00	1,64	3,03	0,59	3,02	2,29	3,02	0,09	3,02	0,85
4,00		4,07	6,78	3,98	0,82	4,08	1,21	4,03	0,82	4,05	0,00	4,03	0,52
6,00	0,59	6,08	11,95	6,00	6,06	6,10	0,75	6,03	5,77	6,00	0,36	6,03	1,29
8,00	0,76	8,08	9,29	7,78	2,41	8,05	0,38	8,03	0,42	8,00	0,40	8,05	2,13
11,80	1,18	11,50	3,22	12,00	6,67	11,45	0,76	11,80	3,22	12,08	0,37	11,90	0,60
24,55	0,19	23,67	3,10	24,42	3,66	23,75	0,57	24,50	2,90	24,08	0,00	24,67	0,18

11R		12R		13R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	1,91	0,00	0,00	0,00	7,73	0,00	0,93
0,25	4,53	0,25	0,00	0,33	8,24	0,25	0,25
0,52	4,82	0,53	0,25	0,62	12,02	0,50	0,31
0,78	5,44	0,77	0,30	0,83	3,80	0,78	0,47
1,10	5,44	1,05	0,17	1,08	7,80	1,10	0,33
1,50	3,06	1,57	0,00	1,62	5,44	1,53	0,60
2,00	4,89	2,05	0,00	2,12	8,35	2,13	0,32
3,00	2,32	3,07	0,00	3,17	1,99	2,98	0,00
4,03	2,11	4,08	0,00	4,13	4,06	4,00	0,00
6,12	5,00	6,12	1,05	6,17	9,07	6,13	1,02
8,00	7,00	8,08	0,71	8,23	8,67	8,00	0,94
12,03	6,49	11,83	0,65	12,00	9,00	11,97	0,22
25,05	2,63	24,50	0,54	24,02	5,66	24,25	0,00

Tab. 7.18 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,12	0,00	2,40	0,00	1,98	0,00	2,46	0,00	4,67	0,00	1,23	0,00	1,54
0,25	8,20	0,37	15,33	0,28	7,37	0,28	11,47	0,25	25,19	0,37	7,47	0,28	10,93
0,50	9,66	0,58	17,98	0,53	13,88	0,33	14,09	0,57	28,31	0,55	10,60	0,58	14,68
0,75	11,15	1,00	23,48	0,78	15,29	0,82	15,48	0,78	17,37	0,77	12,09	0,75	13,26
1,00	11,58	1,17	21,80	1,02	18,38	1,05	13,62	1,07	19,77	1,00	12,02	1,03	
1,50	10,20	1,58	20,13	1,52	19,55	1,58	14,06	1,55	14,78	1,50	15,51	1,60	10,06
2,00	7,04	2,12	15,80	2,03	13,11	2,06	10,35	2,03	13,44	2,00	12,67	2,05	7,44
3,02	4,71	3,12	12,35	3,03	10,57	3,03	7,98	3,03	7,18	3,17	10,17	3,00	4,75
4,00		4,12	10,57	4,02	10,82	4,05	12,53	4,00	7,77	4,00	10,31	4,07	8,86
6,00	3,08	6,08	10,71	6,02	13,22	6,17	7,18	6,05	9,18	6,00	7,66	6,08	4,16
8,00	2,14	8,08	13,58	8,03	10,64	8,08	5,15	7,87	7,91	8,00	13,33	8,00	4,24
11,53	2,44	12,00	5,98	12,00	8,57	11,58	4,24	12,00	6,46	11,50	1,08	11,55	2,45
23,00	0,71	24,00	2,98	24,08	2,11	23,67	3,06	24,08	4,31	23,75	0,00	23,50	1,69

08P		09P		10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	4,20	0,00	4,09	0,00	3,36	0,00	3,95	0,00	0,70	0,00	0,34	0,00	3,01
0,25	13,37	0,30	12,35	0,50	17,88	0,27	8,89	0,33	7,15	0,27	6,27	0,28	13,29
0,50	17,73	0,67	13,73	0,67	14,13	0,58	15,58	0,57	9,04	0,55	7,26	0,50	21,29
0,80	21,22	0,75	14,38	0,92	18,46	0,78	15,33	0,80	12,31	0,78	7,80	0,75	18,53
1,05	19,51	1,03	13,11	1,08	16,86	1,03	16,06	1,08	16,28	1,02	11,87	1,00	19,33
1,50	19,33	1,53	13,44	1,58	18,89	1,57	15,62	1,50	15,98	1,55	11,22	1,53	19,66
2,05	17,18	2,03	12,57	2,08	16,78	2,03	12,86	2,00	14,57	2,02	5,18	2,05	13,91
3,07	11,77	3,03	11,07	3,08	13,66	3,05	8,64	3,03	10,46	3,00	5,77	3,00	11,04
4,08	8,78	4,05	9,33	4,08	10,93	4,03	7,26	4,07	8,53	4,05	6,20	4,00	7,84
6,05	8,38	6,00	9,77	6,12	11,95	6,07	8,75	6,07	7,40	6,03	4,27	6,07	12,82
8,05	6,49	8,07	7,73	8,08	11,87	8,07	4,16	8,05	6,93	8,03	5,33	8,00	12,17
12,02	8,57	11,93	4,89	12,05	9,77	11,95	4,02	12,02	3,47	12,00	2,84	12,07	10,02
24,00	2,68	24,58	3,62	24,08	0,71	24,25	2,75	24,08	1,24	23,67	0,06	24,33	3,55

Tab. 7.19 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	5,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,19	0,00	0,53	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	8,57	0,37	1,44	0,28	7,62	0,28	2,16	0,25	5,55	0,37	0,00	0,28	0,26
0,50	7,66	0,58	1,71	0,53	1,62	0,33	3,84	0,57	3,23	0,55	3,84	0,58	0,16
0,75	6,31	1,00	1,79	0,78	1,83	0,82	2,46	0,78	4,02	0,77	1,43	0,75	0,36
1,00	2,81	1,17	1,39	1,02	1,69	1,05	2,68	1,07	5,58	1,00	0,73	1,03	0,35
1,50	8,93	1,58	1,27	1,52	2,29	1,58	2,81	1,55	3,33	1,50	0,77	1,60	0,16
2,00	7,18	2,12	0,83	2,03	2,89	2,06	1,83	2,03	1,72	2,00	0,48	2,05	0,07
3,02	7,15	3,12	1,01	3,03	0,55	3,03	1,34	3,03	3,33	3,17	0,00	3,00	0,00
4,00	8,64	4,12	0,76	4,02	1,50	4,05	1,61	4,00	3,00	4,00	1,18	4,07	0,00
6,00	6,78	6,08	0,88	6,02	1,46	6,17	3,36	6,05	7,51	6,00	1,50	6,08	0,00
8,00	5,84	8,08	0,00	8,03	0,91	8,08	3,10	7,87	5,47	8,00	0,88	8,00	0,00
11,53	8,97	12,00	0,00	12,00	0,53	11,58	0,55	12,00	6,42	11,50	1,18	11,55	0,00
23,00	7,33	24,00	0,00	24,08	0,00	23,67	1,55	24,08	3,98	23,75	0,00	23,50	0,00

10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	1,16	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	1,97
0,50	2,16	0,27	1,62	0,33	0,80	0,27	2,22	0,28	2,72
0,67	2,29	0,58	1,74	0,57	1,23	0,55	2,15	0,50	3,33
0,92	1,45	0,78	0,00	0,80	0,43	0,78	1,00	0,75	4,38
1,08	1,61	1,03	0,82	1,08	1,94	1,02	1,63	1,00	2,92
1,58	1,48	1,57	2,48	1,50	1,74	1,55	0,95	1,53	4,71
2,08	1,87	2,03	1,00	2,00	1,29	2,02	0,38	2,05	3,69
3,08	0,92	3,05	0,11	3,03	0,21	3,00	0,34	3,00	1,64
4,08	1,87	4,03	0,22	4,07	0,38	4,05	2,12	4,00	1,92
6,12	3,51	6,07	1,67	6,07	0,79	6,03	3,33	6,07	5,77
8,08	2,37	8,07	0,74	8,05	2,45	8,03	2,93	8,00	8,02
12,05	2,62	11,95	0,29	12,02	2,56	12,00	1,72	12,07	3,40
24,08	0,78	24,25	0,28	24,08	0,84	23,67	0,01	24,33	0,00

Tab. 7.20 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

01R		02R		03R		04R		05R		06R		07R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	4,88	0,00	35,91	0,00	29,57	0,00	9,51	0,00	34,84	0,00	6,29	0,00	18,63
0,27	7,12	0,27	44,27	0,28	32,39	0,25	11,65	0,30	31,32	0,33	6,75	0,35	22,46
0,50	5,68	0,50	42,13	0,55	32,42	0,55	9,54	0,50	29,33	0,63	4,94	0,58	23,38
0,75	5,49	0,75	46,42	0,78	28,59	0,75	9,94	0,77	26,72	0,88	5,98	0,72	20,56
1,00	4,42	1,00	41,09	1,03	29,42	1,05	6,93	1,03	23,93	1,15	4,91	1,05	18,42
1,50	4,21	1,50	35,64	1,53	25,40	1,50	6,57	1,60	16,52	1,65	6,26	1,62	16,49
2,00	3,04	2,00	32,33	2,05	24,98	2,00	5,59	2,05	14,10	2,13	6,69	2,07	12,63
3,00	1,21	3,00	22,46	2,97	17,90	3,00	3,47	3,03	11,13	3,13	9,17	3,08	15,85
3,98	2,15	4,00	23,14	4,07	21,18	3,98	3,07	4,08	43,69	4,07	24,82	4,08	20,99
6,00	12,81	6,00	47,95	6,08	25,56	6,00	27,40	6,10	39,86	6,08	28,07	6,10	24,91
8,00	13,21	8,00	39,04	8,08	33,46	7,78	14,74	8,05	25,01	7,75	19,86	7,80	16,89
12,02	1,65	11,80	15,79	11,50	27,79	12,00	7,12	11,45	24,36	12,00	6,29	12,00	32,88
24,18	1,27	24,55	7,36	23,67	20,99	24,42	4,97	23,75	16,06	24,00	3,78	24,12	18,27

08R		09R		10R		011R		12R		013R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	20,78	0,00	8,56	0,00	6,41	0,00	22,16	0,00	12,36	0,00	6,81	0,00	8,22
0,28	24,64	0,33	9,11	0,32	11,90	0,25	26,78	0,25	11,77	0,33	9,60	0,25	9,26
0,55	25,28	0,53	7,82	0,62	12,42	0,52	31,04	0,53	12,94	0,62	9,97	0,50	7,06
0,78	22,77	0,75	6,72	0,80	10,79	0,78	28,10	0,77	11,62	0,83	8,83	0,78	10,43
1,02	21,21	1,03	5,52	1,13	9,29	1,10	24,91	1,05	9,81	1,08	8,22	1,10	9,29
1,52	23,02	1,50	3,93	1,55	7,24	1,50	21,33	1,57	8,28	1,62	8,28	1,53	6,87
2,02	21,94	2,00	4,08	2,07	3,59	2,00	17,13	2,05	6,54	2,12	8,10	2,13	3,35
3,02	13,64	3,02	3,38	3,02	3,81	3,00	15,79	3,07	5,03	3,17	25,16	2,98	2,89
4,03	26,42	4,05	17,96	4,03	2,89	4,03	29,78	4,08	3,63	4,13	36,55	4,00	3,07
6,03	77,05	6,00	42,07	6,03	19,65	6,12	39,00	6,12	23,26	6,17	37,47	6,13	41,06
8,03	43,84	8,00	36,55	8,05	19,06	8,00	8,10	8,08	15,17	8,23	26,17	8,00	45,53
11,80	17,35	12,08	19,34	11,90	7,18	12,03	8,10	11,83	7,61	12,00	9,75	11,97	30,80
24,50	15,36	24,08	5,40	24,67	2,89	24,05		24,50		24,02	2,29	24,25	4,21

Tab. 7.21 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

01R		02R		03R		04R		05R		06R		07R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	2,30	0,00	26,84	0,00	23,63	0,00	6,01	0,00	27,49	0,00	2,24	0,00	8,47
0,27	3,23	0,27	33,22	0,28	25,07	0,25	6,78	0,30	23,05	0,33	2,27	0,35	15,76
0,50	3,07	0,50	35,45	0,55	25,68	0,55	6,20	0,50	21,97	0,63	1,33	0,58	14,59
0,75	3,14	0,75	32,88	0,78	22,77	0,75	5,25	0,77	20,11	0,88	1,28	0,72	12,48
1,00	2,20	1,00	31,25	1,03	23,66	1,05	4,51	1,03	14,41	1,15	1,13	1,05	9,48
1,50	1,51	1,50	26,94	1,53	20,41	1,50	3,50	1,60	11,16	1,65	0,48	1,62	9,84
2,00	1,25	2,00	22,77	2,05	18,42	2,00	3,04	2,05	9,69	2,13	0,72	2,07	8,77
3,00	0,35	3,00	14,84	2,97	14,04	3,00	1,31	3,03	7,48	3,13	5,59	3,08	10,06
3,98	1,30	4,00	15,33	4,07	17,38	3,98	0,32	4,08	34,47	4,07	16,89	4,08	13,61
6,00	9,63	6,00	35,91	6,08	16,83	6,00	20,29	6,10	31,75	6,08	16,28	6,10	16,43
8,00	7,52	8,00	26,11	8,08	24,21	7,78	9,78	8,05	18,02	7,75	10,52	7,80	9,94
12,02	2,57	11,80	12,08	11,50	24,45	12,00	5,19	11,45	18,48	12,00	2,25	12,00	19,19
24,18	0,38	24,55	5,10	23,67	16,21	24,42	2,76	23,75	11,53	24,00	0,71	24,12	13,55

08R		09R		10R		011R		12R		013R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	14,74	0,00	5,77	0,00	5,52	0,00	16,46	0,00	6,90	0,00	3,50	0,00	7,85
0,28	17,99	0,33	5,86	0,32	6,90	0,25	23,08	0,25	7,42	0,33	5,59	0,25	8,10
0,55	13,58	0,53	4,91	0,62	8,83	0,52	21,30	0,53	8,10	0,62	5,56	0,50	9,23
0,78	16,98	0,75	4,64	0,80	8,07	0,78	19,16	0,77	7,33	0,83	5,10	0,78	7,30
1,02	9,66	1,03	2,95	1,13	6,41	1,10	16,77	1,05	6,14	1,08	5,19	1,10	5,13
1,52	11,31	1,50	1,83	1,55	4,61	1,50	15,66	1,57	4,42	1,62	4,57	1,53	3,96
2,02	10,55	2,00	0,82	2,07	3,01	2,00	10,52	2,05	3,63	2,12	4,91	2,13	2,76
3,02	8,92	3,02	1,82	3,02	2,48	3,00	10,24	3,07	2,48	3,17	18,14	2,98	1,29
4,03	12,69	4,05	11,96	4,03	1,48	4,03	18,67	4,08	1,81	4,13	24,85	4,00	2,06
6,03	54,63	6,00	29,33	6,03	15,20	6,12	25,43	6,12	24,03	6,17	22,89	6,13	31,07
8,03	30,43	8,00	16,95	8,05	14,47	8,00	4,21	8,08	10,24	8,23	16,61	8,00	32,85
11,80	14,13	12,08	15,51	11,90	5,65	12,03	5,98	11,83	5,22	12,00	5,06	11,97	22,10
24,50	11,13	24,08	2,05	24,67	1,03	24,05		24,50		24,02	1,20	24,25	2,29

Tab. 7.22 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,68	0,00	36,86	0,00	19,74	0,00	8,77	0,00	32,27	0,00	0,66	0,00	11,62
0,25	1,96	0,37	43,29	0,28	33,49	0,28	13,86	0,25	36,25	0,37	1,49	0,28	12,42
0,50	2,53	0,58	38,70	0,53	31,96	0,33	12,60	0,57	34,10	0,55	3,29	0,58	14,16
0,75	3,50	1,00	36,25	0,78	30,73	0,82	12,48	0,78	26,60	0,77	3,66	0,75	13,79
1,00	4,05	1,17	35,33	1,02	32,88	1,05	12,11	1,07	28,01	1,00	3,66	1,03	n.d.
1,50	3,81	1,58	32,27	1,52	32,57	1,58	11,25	1,55	21,54	1,50	4,36	1,60	9,72
2,00	3,41	2,12	27,67	2,03	22,98	2,06	8,25	2,03	19,16	2,00	4,88	2,05	8,59
3,02	1,97	3,12	39,62	3,03	23,72	3,03	5,06	3,03	21,82	3,17	29,11	3,00	6,75
4,00	7,79	4,12	58,00	4,02	21,85	4,05	15,79	4,00	30,40	4,00	45,28	4,07	20,75
6,00	20,38	6,08	81,58	6,02	19,55	6,17	31,99	6,05	60,75	6,00	33,58	6,08	23,32
8,00	4,70	8,08	49,11	8,03	39,62	8,08	9,63	7,87	30,43	8,00	4,33	8,00	14,07
11,53	2,89	12,00	26,72	12,00	37,17	11,58	8,83	12,00	8,16	11,50	2,37	11,55	9,05
23,00	1,35	24,00	19,74	24,08	21,76	23,67		24,08		23,75		23,50	8,37

08P		09P		10P		11P*		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	12,85	0,00	13,61	0,00	5,62	0,00		0,00	12,17	0,00	0,68	0,00	10,09
0,25	16,86	0,30	12,45	0,50	6,01	0,27		0,33	10,49	0,27	4,08	0,28	9,14
0,50	16,03	0,67	11,41	0,67	3,04	0,58		0,57	9,60	0,55	4,54	0,50	9,48
0,80	16,77	0,75	10,49	0,92	6,05	0,78		0,80	9,72	0,78	4,45	0,75	8,10
1,05	11,65	1,03	8,65	1,08	6,26	1,03		1,08	8,86	1,02	7,48	1,00	7,36
1,50	11,01	1,53	7,67	1,58	5,43	1,57		1,50	9,29	1,55	17,29	1,53	7,30
2,05	14,01	2,03	5,86	2,08	4,88	2,03		2,00	16,03	2,02	22,59	2,05	9,35
3,07	31,65	3,03	9,57	3,08	6,17	3,05		3,03	25,19	3,00	32,76	3,00	11,10
4,08	61,06	4,05	28,01	4,08	17,96	4,03		4,07	18,97	4,05	37,87	4,00	19,43
6,05	66,88	6,00	66,24	6,12	57,38	6,07		6,07	42,68	6,03	32,85	6,07	38,70
8,05	38,09	8,07	44,79	8,08	39,92	8,07		8,05	44,21	8,03	19,00	8,00	59,53
12,02	34,10	11,93	6,84	12,05	12,36	11,95		12,02	19,83	12,00	7,61	12,07	35,02
24,00	23,02	24,58	5,13	24,08	2,03	24,25		24,08	18,30	23,67	1,41	24,33	4,42

* Dihydroferulasäure wurde hier von einem Plasmapeak überlagert.

Tab. 7.23 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,69	0,00	22,71	0,00	21,48	0,00	5,98	0,00	21,12	0,00	-0,20	0,00	8,16
0,25	1,44	0,37	26,26	0,28	25,83	0,28	10,12	0,25	27,36	0,37	2,02	0,28	9,08
0,50	1,90	0,58	27,43	0,53	22,95	0,33	10,30	0,57	25,86	0,55	1,92	0,58	6,41
0,75	2,15	1,00	24,70	0,78	23,72	0,82	7,82	0,78	25,56	0,77	1,81	0,75	8,04
1,00	2,89	1,17	25,77	1,02	26,29	1,05	8,56	1,07	21,48	1,00	2,60	1,03	7,61
1,50	2,57	1,58	20,60	1,52	23,78	1,58	8,01	1,55	14,74	1,50	2,52	1,60	6,26
2,00	1,78	2,12	20,17	2,03	19,22	2,06	5,71	2,03	14,01	2,00	3,75	2,05	5,00
3,02	1,35	3,12	29,33	3,03	17,01	3,03	2,28	3,03	14,99	3,17	19,49	3,00	3,90
4,00	5,62	4,12	43,72	4,02	15,02	4,05	12,88	4,00	24,49	4,00	31,65	4,07	15,20
6,00	15,05	6,08	54,29	6,02	16,77	6,17	23,57	6,05	50,98	6,00	21,15	6,08	16,12
8,00	2,84	8,08	28,22	8,03	32,88	8,08	5,65	7,87	20,72	8,00	9,48	8,00	8,68
11,53	2,06	12,00	18,70	12,00	28,96	11,58	7,88	12,00	5,13	11,50	2,18	11,55	7,67
23,00	1,01	24,00	12,66	24,08	18,39	23,67		24,08		23,75		23,50	5,06

08P		09P		10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	6,29	0,00	6,75	0,00	2,57	0,00	25,68	0,00	5,49	0,00	0,52	0,00	6,93
0,25	7,24	0,30	6,01	0,50	3,20	0,27	24,49	0,33	5,28	0,27	3,20	0,28	6,60
0,50	7,12	0,67	5,03	0,67	2,71	0,58	23,05	0,57	4,73	0,55	3,20	0,50	6,60
0,80	5,86	0,75	4,64	0,92	2,55	0,78		0,80	4,36	0,78	3,20	0,75	5,68
1,05	6,57	1,03	4,94	1,08	2,29	1,03	23,20	1,08	3,69	1,02	6,14	1,00	4,57
1,50	3,87	1,53	3,81	1,58	2,67	1,57	28,71	1,50	5,65	1,55	13,70	1,53	5,13
2,05	4,94	2,03	3,50	2,08	2,37	2,03	33,22	2,00	9,87	2,02	19,58	2,05	5,77
3,07	14,29	3,03	4,91	3,08	4,39	3,05	31,47	3,03	14,01	3,00	29,42	3,00	9,05
4,08	28,74	4,05	n.b.	4,08	13,58	4,03	28,01	4,07	13,52	4,05	27,49	4,00	13,98
6,05	30,00	6,00	34,99	6,12	47,77	6,07	44,00	6,07	29,05	6,03	22,83	6,07	29,17
8,05	17,84	8,07	25,19	8,08	30,61	8,07	8,65	8,05	25,74	8,03	11,68	8,00	42,96
12,02	10,95	11,93	2,98	12,05	9,23	11,95	9,97	12,02	13,37	12,00	5,19	12,07	24,58
24,00	10,67	24,58	2,15	24,08	1,60	24,25		24,08	9,23	23,67	1,08	24,33	2,37

Tab. 7.24 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Isoferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

01R		02R		03R		04R		05R		06R		07R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,27	4,20	0,27	7,28	0,28	6,29	0,25	5,89	0,30	7,25	0,33	2,36	0,35	4,23
0,50	5,36	0,50	10,27	0,55	7,71	0,55	8,54	0,50	7,85	0,63	3,93	0,58	4,50
0,75	5,66	0,75	11,80	0,78	7,45	0,75	8,68	0,77	9,07	0,88	6,25	0,72	7,52
1,00	5,36	1,00	13,65	1,03	7,71	1,05	9,24	1,03	8,01	1,15	3,27	1,05	5,06
1,50	4,63	1,50	11,99	1,53	6,52	1,50	6,25	1,60	6,92	1,65	3,20	1,62	4,73
2,00	3,80	2,00	10,50	2,05	6,49	2,00	5,82	2,05	6,12	2,13	2,27	2,07	2,67
3,00	2,46	3,00	9,77	2,97	4,56	3,00	5,79	3,03	5,69	3,13	3,37	3,08	2,66
3,98	2,25	4,00	7,15	4,07	4,70	3,98	5,46	4,08	4,76	4,07	2,64	4,08	2,79
6,00	1,63	6,00	6,52	6,08	4,40	6,00	3,14	6,10	3,73	6,08		6,10	2,27
8,00	0,50	8,00	4,80	8,08	3,63	7,78	1,61	8,05	1,75	7,75	0,84	7,80	2,45
12,02	0,00	11,80	2,87	11,50	2,57	12,00	0,94	11,45	1,03	12,00	0,50	12,00	0,93
24,18	0,00	24,55	0,00	23,67	0,00	24,42	0,00	23,75	0,00	24,00	0,00	24,12	0,00

08R		09R		10R		11R		12R		13R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,28	3,97	0,33	3,67	0,32	7,18	0,25	5,33	0,25	2,90	0,33	5,86	0,25	2,34
0,55	4,46	0,53	5,56	0,62	9,31	0,52	9,57	0,53	5,79	0,62	6,39	0,50	3,24
0,78	6,95	0,75	5,49	0,80	8,74	0,78	8,44	0,77	6,02	0,83	6,12	0,78	5,99
1,02	5,99	1,03	4,93	1,13	8,58	1,10	8,28	1,05	5,89	1,08	4,86	1,10	6,25
1,52	4,43	1,50	4,53	1,55	8,48	1,50	6,65	1,57	5,19	1,62	3,87	1,53	7,42
2,02	3,60	2,00	3,43	2,07	4,36	2,00	5,72	2,05	4,56	2,12	4,23	2,13	3,37
3,02	2,32	3,02	3,60	3,02	3,97	3,00	3,87	3,07	3,30	3,17	3,14	2,98	3,14
4,03	2,10	4,05	3,34	4,03	3,47	4,03	2,10	4,08	2,24	4,13	3,63	4,00	2,21
6,03	3,10	6,00	1,57	6,03	2,23	6,12	3,17	6,12	0,27	6,17	1,86	6,13	0,88
8,03	1,91	8,00	1,35	8,05	1,46	8,00	2,16	8,08	0,04	8,23	1,22	8,00	0,19
11,80	0,27	12,08	0,00	11,90	0,39	12,03	0,00	11,83	0,00	12,00	0,42	11,97	0,00
24,50	0,00	24,08	0,00	24,67	0,00	25,05	0,00	24,50	0,00	24,02	0,00	24,25	0,00

Tab. 7.25 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Isoferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

02R		03R		04R		05R		06R		09R		10R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,27	1,06	0,28	0,68	0,25	6,32	0,30	0,75	0,33	1,29	0,33	0,89	0,32	0,32
0,50	1,14	0,55	0,54	0,55	5,16	0,50	0,40	0,63	0,09	0,53	1,88	0,62	0,36
0,75	0,65	0,78	0,39	0,75	2,06	0,77	0,36	0,88	0,70	0,75	0,00	0,80	0,36
1,00	0,61	1,03	0,42	1,05	0,94	1,03	0,11	1,15	0,67	1,03	0,00	1,13	0,20
1,50	0,61	1,53	0,35	1,50	0,53	1,60	0,00	1,65	0,00	1,50	0,00	1,55	0,00
2,00	0,45	2,05	0,06	2,00	0,92	2,05	0,00	2,13	0,00	2,00	0,00	2,07	0,00
3,00	0,00	2,97	0,00	3,00	0,36	3,03	0,00	3,13	0,00	3,02	0,00	3,02	0,00
4,00	0,00	4,07	0,00	3,98	0,21	4,08	0,00	4,07	0,00	4,05	0,00	4,03	0,00
6,00	0,00	6,08	0,00	6,00	0,00	6,10	0,00	6,08	0,00	6,00	0,00	6,03	0,00
8,00	0,00	8,08	0,00	7,78	0,00	8,05	0,00	7,75	0,00	8,00	0,00	8,05	0,00
11,80	0,00	11,50	0,00	12,00	0,00	11,45	0,00	12,00	0,00	12,08	0,00	11,90	0,00
24,55	0,00	23,67	0,00	24,42	0,00	23,75	0,00	24,00	0,00	24,08	0,00	24,67	0,00

12R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	1,41	0,25	0,80
0,53	0,62	0,50	1,21
0,77	0,27	0,78	
1,05	0,08	1,10	0,17
1,57	0,00	1,53	0,03
2,05	0,00	2,13	0,00
3,07	0,00	2,98	0,00
4,08	0,00	4,00	0,00
6,12	0,00	6,13	0,00
8,08	0,00	8,00	0,00
11,83	0,00	11,97	0,00
24,50	0,00	24,25	0,00

Tab. 7.26 Plasmakonzentrationen [ng mL^{-1}] von Isoferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P*		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00
0,25	5,69	0,37	9,84	0,28	2,51	0,28	6,89	0,25	10,70	0,37		0,28	9,31
0,50	8,25	0,58	11,83	0,53	6,19	0,33	7,02	0,57	11,96	0,55		0,58	7,28
0,75	8,68	1,00	14,28	0,78	6,89	0,82	9,27	0,78	7,28	0,77		0,75	6,39
1,00	10,10	1,17	14,55	1,02	8,05	1,05	9,27	1,07	8,01	1,00		1,03	
1,50	8,28	1,58	12,06	1,52	8,54	1,58	8,64	1,55	5,92	1,50		1,60	6,92
2,00	6,89	2,12	9,80	2,03	5,56	2,06	6,25	2,03	4,40	2,00		2,05	5,86
3,02	5,79	3,12	7,85	3,03	5,33	3,03	4,96	3,03	2,90	3,17		3,00	5,29
4,00	2,71	4,12	5,76	4,02	5,56	4,05	3,70	4,00	2,94	4,00		4,07	2,87
6,00	2,48	6,08	3,17	6,02	4,43	6,17	1,47	6,05	1,86	6,00		6,08	1,10
8,00	0,33	8,08	1,33	8,03	3,34	8,08	0,38	7,87	0,47	8,00		8,00	0,81
11,53	0,77	12,00	0,28	12,00	2,66	11,58	0,00	12,00	0,00	11,50		11,55	0,05
23,00	0,00	24,00	0,00	24,08	0,00	23,67	0,00	24,08	0,00	23,75		23,50	0,00

08P		09P		10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	7,25	0,30	7,85	0,50	10,67	0,27	1,39	0,33	0,80	0,27	4,60	0,28	8,41
0,50	11,33	0,67	8,41	0,67	11,86	0,58	8,68	0,57	2,97	0,55	4,33	0,50	12,13
0,80	11,66	0,75	7,98	0,92	12,19	0,78	8,78	0,80	4,66	0,78	3,24	0,75	13,19
1,05	12,86	1,03	6,79	1,08	11,43	1,03	9,11	1,08	9,24	1,02	5,62	1,00	12,89
1,50	13,45	1,53	7,78	1,58	12,69	1,57	9,57	1,50	6,85	1,55	6,29	1,53	11,99
2,05	11,36	2,03	6,69	2,08	11,40	2,03	9,24	2,00	5,36	2,02	4,43	2,05	9,34
3,07	8,48	3,03	4,56	3,08	9,24	3,05	5,49	3,03	5,26	3,00	4,00	3,00	5,56
4,08	8,21	4,05	2,90	4,08	6,49	4,03		4,07	3,70	4,05	3,63	4,00	4,80
6,05	6,25	6,00	3,04	6,12	4,26	6,07	2,90	6,07	0,82	6,03	1,49	6,07	1,98
8,05	2,90	8,07	0,56	8,08	4,76	8,07	0,82	8,05	0,00	8,03	0,20	8,00	1,24
12,02	3,53	11,93	0,00	12,05	1,15	11,95	0,27	12,02	0,00	12,00	0,00	12,07	0,06
24,00	0,00	24,58	0,00	24,08	0,00	24,25	0,00	24,08	0,00	23,67	0,00	24,33	0,00

* Isoferulasäure wurde hier von einem Plasmapeak überlagert.

Tab. 7.27 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Isoferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	2,50	0,37	3,73	0,28	1,82	0,28	2,23	0,25	7,22	0,37	0,53	0,28	1,26
0,50	2,22	0,58	3,70	0,53	3,20	0,33	3,57	0,57	6,02	0,55	0,33	0,58	0,56
0,75	1,36	1,00	4,16	0,78	2,94	0,82	2,38	0,78	3,73	0,77	3,60	0,75	0,46
1,00	4,26	1,17	4,13	1,02	3,14	1,05	2,03	1,07	2,72	1,00	0,55	1,03	0,61
1,50	0,49	1,58	2,05	1,52	2,70	1,58	1,16	1,55	1,28	1,50	0,51	1,60	0,00
2,00	0,13	2,12	1,92	2,03	1,23	2,06	0,38	2,03	1,20	2,00	0,00	2,05	0,00
3,02	0,00	3,12	0,82	3,03	0,37	3,03	0,00	3,03	1,48	3,17	0,00	3,00	0,00
4,00	0,00	4,12	0,53	4,02	0,76	4,05	0,00	4,00	0,79	4,00	0,00	4,07	0,00
6,00	0,00	6,08	0,00	6,02	0,60	6,17	0,00	6,05	0,45	6,00	0,00	6,08	0,00
8,00	0,00	8,08	0,00	8,03	0,30	8,08	0,00	7,87	0,00	8,00	0,00	8,00	0,00
11,53	0,00	12,00	0,00	12,00	0,67	11,58	0,00	12,00	0,00	11,50	0,00	11,55	0,00
23,00	0,00	24,00	0,00	24,08	0,00	23,67	0,00	24,08	0,00	23,75	0,00	23,50	0,00

08P		09P		10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,25	2,45	0,30	0,74	0,50	2,50	0,27	1,73	0,33	1,48	0,27	0,43	0,28	6,85
0,50	1,97	0,67	0,66	0,67	1,55	0,58	2,27	0,57	2,29	0,55	0,51	0,50	7,65
0,80	3,73	0,75	0,39	0,92	1,46	0,78		0,80	2,24	0,78	0,69	0,75	6,79
1,05	5,36	1,03	0,58	1,08	1,44	1,03	2,18	1,08	4,50	1,02	1,46	1,00	5,79
1,50	3,77	1,53	0,30	1,58	1,82	1,57	1,99	1,50	3,40	1,55	1,38	1,53	6,32
2,05	0,89	2,03	0,15	2,08	1,41	2,03	1,62	2,00	2,13	2,02	0,80	2,05	4,36
3,07	2,46	3,03	0,00	3,08	0,60	3,05	1,43	3,03	2,18	3,00	0,25	3,00	3,10
4,08	1,74	4,05	0,00	4,08	0,40	4,03	0,77	4,07	0,61	4,05	0,10	4,00	3,57
6,05	1,11	6,00	0,00	6,12	0,40	6,07	0,85	6,07	0,51	6,03	0,05	6,07	1,91
8,05	1,43	8,07	0,00	8,08	0,52	8,07	0,00	8,05	0,00	8,03	0,00	8,00	1,09
12,02	0,97	11,93	0,00	12,05	0,00	11,95	0,00	12,02	0,00	12,00	0,00	12,07	0,21
24,00	0,00	24,58	0,00	24,08	0,00	24,25	0,00	24,08	0,00	23,67	0,00	24,33	0,00

Tab. 7.28 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.

01R		02R		03R		04R		05R		06R		07R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	6,82	0,00	6,76	0,00	5,36	0,00	8,81	0,00	5,36	0,00	7,32	0,00	6,39
0,27	66,06	0,27	41,08	0,28	40,51	0,25	129,59	0,30	26,17	0,33	42,22	0,35	45,12
0,50	41,37	0,50	31,21	0,55	39,47	0,55	88,38	0,50	23,71	0,63	30,26	0,58	39,41
0,75	38,71	0,75	29,59	0,78	27,60	0,75	69,76	0,77	19,72	0,88	38,43	0,72	35,99
1,00	34,91	1,00	25,23	1,03	25,13	1,05	52,86	1,03	17,06	1,15	23,04	1,05	27,04
1,50	24,66	1,50	17,91	1,53	27,88	1,50	45,45	1,60	18,77	1,65	22,66	1,62	27,21
2,00	21,14	2,00	15,73	2,05	21,24	2,00	42,03	2,05	14,49	2,13	18,20	2,07	17,31
3,00	17,53	3,00	12,78	2,97	11,74	3,00	25,80	3,03	10,51	3,13	17,63	3,08	28,28
3,98	14,68	4,00	13,64	4,07	14,40	3,98	22,38	4,08	15,73	4,07	16,49	4,08	15,69
6,00	18,48	6,00	26,27	6,08	13,73	6,00	24,75	6,10	17,34	6,08	12,12	6,10	20,15
8,00	11,74	8,00	13,26	8,08	13,07	7,78	16,58	8,05	8,45	7,75	11,17	7,80	12,66
12,02	8,70	11,80	6,75	11,50	7,99	12,00	13,54	11,45	6,35	12,00	8,04	12,00	11,89
24,18	8,17	24,55	5,20	23,67	5,28	24,42	8,91	23,75	5,07	24,00	7,12	24,12	7,55

08R		09R		10R		11R		12R		13R		14R	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	3,61	0,00	5,40	0,00	2,97	0,00	10,89	0,00	4,61	0,00	5,34	0,00	2,76
0,28	59,32	0,33	53,72	0,32	64,35	0,25	56,37	0,25	142,51	0,33	71,00	0,25	50,49
0,55	43,55	0,53	37,67	0,62	58,46	0,52	51,15	0,53	97,40	0,62	46,59	0,50	28,07
0,78	31,21	0,75	28,64	0,80	69,67	0,78	65,87	0,77	69,86	0,83	39,00	0,78	35,10
1,02	24,75	1,03	23,90	1,13	41,08	1,10	40,70	1,05	54,10	1,08	30,07	1,10	31,97
1,52	19,81	1,50	22,28	1,55	33,68	1,50	32,92	1,57	39,66	1,62	24,56	1,53	26,17
2,02	14,21	2,00	18,67	2,07	17,63	2,00	24,28	2,05	33,30	2,12	23,61	2,13	13,54
3,02	11,08	3,02	13,16	3,02	15,73	3,00	28,64	3,07	19,34	3,17	40,89	2,98	14,49
4,03	19,62	4,05	14,21	4,03	13,35	4,03	56,56	4,08	12,59	4,13	47,26	4,00	14,87
6,03	7,39	6,00	8,50	6,03	20,29	6,12	60,74	6,12	11,93	6,17	30,64	6,13	19,53
8,03	4,78	8,00	11,36	8,05	11,17	8,00	37,86	8,08	8,06	8,23	17,53	8,00	11,36
11,80	3,69	12,08	6,59	11,90	7,61	12,03	12,69	11,83	6,19	12,00	8,39	11,97	6,82
24,50	3,67	24,08	5,33	24,67	5,09	25,05	6,11	24,50	3,23	24,02	5,09	24,25	4,90

Tab. 7.29 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.

01P		02P		03P		04P		05P		06P		07P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	11,55	0,00	21,14	0,00	6,83	0,00	9,08	0,00	5,08	0,00	8,06	0,00	4,55
0,25	103,57	0,27	87,33	0,28	66,73	0,28	259,51	0,25	178,03	0,37	54,66	0,28	65,11
0,50	118,20	0,58	83,82	0,53	73,85	0,33	192,56	0,57	137,19	0,55	62,36	0,58	67,39
0,75	109,27	1,00	73,18	0,78	66,44	0,82	149,16	0,78	73,18	0,77	99,30	0,75	60,17
1,00	110,13	1,17	72,99	1,02	72,71	1,05	127,22	1,07	71,76	1,00	92,94	1,03	47,26
1,50	91,89	1,58	53,53	1,52	64,16	1,58	105,47	1,55	61,31	1,50	80,12	1,60	38,43
2,00	73,28	2,12	42,70	2,03	41,75	2,06	78,50	2,03	48,02	2,00	75,08	2,05	33,68
3,02	50,58	3,12	71,66	3,03	35,58	3,03	54,76	3,03	80,21	3,17	81,45	3,00	21,43
4,00	70,52	4,12	87,33	4,02	27,31	4,05	91,61	4,00	63,50	4,00	67,01	4,07	27,50
6,00	30,26	6,08	69,67	6,02	28,36	6,17	32,54	6,05	42,51	6,00	37,48	6,08	12,59
8,00	14,40	8,08	39,85	8,03	38,71	8,08	8,94	7,87	20,00	8,00	13,16	8,00	9,65
11,53	10,13	12,00	15,25	12,00	19,91	11,58	18,48	12,00	20,38	11,50	24,56	11,55	8,26
23,00	6,54	24,00	9,46	24,08	9,18	23,67	6,08	24,08	6,34	23,75	6,64	23,50	4,28

08P		09P		10P		11P		12P		13P		14P	
t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp	t [h]	Cp
0,00	9,56	0,00	5,90	0,00	5,44	0,00	6,18	0,00	3,53	0,00	7,20	0,00	5,43
0,25	73,18	0,30	147,64	0,50	149,54	0,27	143,36	0,33	232,16	0,27	391,32	0,28	228,36
0,50	64,16	0,67	101,58	0,67	103,95	0,58	169,10	0,57	165,68	0,55	188,47	0,50	240,70
0,80	84,00	0,75	95,69	0,92	122,95	0,78	148,40	0,80	187,52	0,78	131,21	0,75	170,43
1,05	73,94	1,03	75,84	1,08	112,50	1,03	162,55	1,08	173,28	1,02	132,35	1,00	147,64
1,50	83,44	1,53	61,03	1,58	110,60	1,57	128,83	1,50	163,78	1,55	133,77	1,53	126,74
2,05	74,51	2,03	51,34	2,08	87,24	2,03	161,22	2,00	157,13	2,02	96,36	2,05	90,28
3,07	68,72	3,03	46,69	3,08	70,52	3,05	124,09	3,03	87,90	3,00	69,29	3,00	66,06
4,08	44,50	4,05	29,50	4,08	53,15	4,03	119,91	4,07	42,13	4,05	60,08	4,00	43,93
6,05	20,10	6,00	14,78	6,12	28,55	6,07	140,61	6,07	85,43	6,03	45,74	6,07	49,73
8,05	12,97	8,07	11,46	8,08	17,72	8,07	80,12	8,05	35,10	8,03	26,84	8,00	18,86
12,02	10,51	11,93	8,28	12,05	9,46	11,95	34,25	12,02	12,69	12,00	19,62	12,07	11,65
24,00	7,94	24,58	6,62	24,08	4,32	24,25	10,60	24,08	6,25	23,67	5,80	24,33	3,18

Tab. 7.30 Urindaten für Kaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	0,00	0,00	153,47
02	0,00	0,39	0,00	228,64
03	0,00	1,82	50,27	268,30
04	0,00	0,00	6,90	98,57
05	0,00	0,94	109,38	306,00
06	0,00	3,01	39,17	286,98
07	0,00	1,26	0,00	138,59
08	0,00	2,69	78,33	240,97
09	0,00	0,27	0,00	171,19
10	0,00	1,43	17,13	158,54
11	0,00	0,51	37,51	93,54
12	0,00	3,41	0,00	492,64
13	0,00	0,38	80,65	319,20
14	0,00	0,29	14,99	165,77
MW	0,00	1,17	31,02	223,03
SD	0,00	1,15	36,33	107,30
Min	0,00	0,00	0,00	93,54
Median	0,00	0,72	16,06	199,91
Max	0,00	3,41	109,38	492,64

Tab. 7.31 Urindaten für Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Artischockeblätter Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	1,57	36,92	877,34
02	0,00	0,00	178,55	1484,66
03	0,87	11,39	315,93	1963,59
04	0,00	2,45	147,75	384,72
05	0,00	3,91	199,17	1300,81
06	0,00	1,71	163,63	1949,03
07	0,00	1,73	85,12	713,39
08	1,60	7,88	556,63	2556,41
09	0,00	1,00	106,00	1637,34
10	1,26	9,50	86,70	354,80
11	0,00	3,88	166,89	1028,31
12	0,99	3,84	177,68	1623,33
13	0,72	3,03	77,58	4418,34
14	0,27	6,20	301,84	3785,12
MW	0,41	4,15	185,74	1719,80
SD	0,56	3,39	133,22	1191,41
Min	0,00	0,00	36,92	354,80
Median	0,00	3,43	165,26	1554,00
Max	1,60	11,39	556,63	4418,34

Tab. 7.32 Urindaten für Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	2,73	27,81	107,89	893,11
02	6,63	34,38	213,94	1430,22
03	7,18	32,48	215,23	1201,15
04	2,83	34,10	80,71	909,99
05	6,92	20,49	330,02	1312,04
06	3,96	20,81	189,70	1634,60
07	7,44	22,66	326,84	1697,14
08	11,92	46,22	373,41	1468,16
09	4,91	18,51	150,61	798,83
10	3,80	17,26	65,81	547,94
11	7,91	34,28	247,36	1306,91
12	5,83	12,10	163,50	1563,55
13	2,77	6,87	269,32	1016,83
14	2,59	15,29	144,14	1277,76
MW	5,53	24,52	205,61	1218,45
SD	2,68	10,75	95,20	341,53
Min	2,59	6,87	65,81	547,94
Median	5,37	21,74	201,82	1292,34
Max	11,92	46,22	373,41	1697,14

Tab. 7.33 Urindaten für Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	9,12	15,71	211,57	962,74
02	3,79	57,94	373,25	2425,74
03	18,77	76,21	907,23	2103,82
04	1,91	12,17	303,82	615,89
05	10,31	56,95	651,38	2078,67
06	0,90	22,30	58,13	893,06
07	2,21	60,67	580,38	2897,14
08	6,14	83,88	949,22	2710,79
09	2,19	26,22	132,52	948,72
10	1,56	36,24	74,69	391,32
11	36,82	94,10	904,36	2057,05
12	6,54	38,09	360,81	2093,10
13	5,66	19,98	1006,47	2309,24
14	1,45	28,83	292,84	1840,22
MW	7,67	44,95	486,19	1737,68
SD	9,69	26,70	342,57	812,78
Min	0,90	12,17	58,13	391,32
Median	4,72	37,16	367,03	2067,86
Max	36,82	94,10	1006,47	2897,14

Tab. 7.34 Urindaten für Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	0,00	0,00	58,02
02	0,00	0,00	0,00	114,51
03	0,00	0,00	0,00	252,58
04	0,00	0,00	0,00	65,49
05	0,00	0,00	0,00	161,80
06	0,00	0,00	0,00	100,21
07	0,00	0,00	0,00	93,77
08	0,00	0,00	0,00	370,46
09	0,00	0,00	0,00	95,58
10	0,00	0,00	0,00	243,31
11	0,00	0,00	0,00	123,31
12	0,00	0,00	0,00	308,13
13	0,00	0,00	0,00	97,46
14	0,00	0,00	0,00	236,43
MW	0,00	0,00	0,00	165,79
SD	0,00	0,00	0,00	98,41
Min	0,00	0,00	0,00	58,02
Median	0,00	0,00	0,00	118,91
Max	0,00	0,00	0,00	370,46

Tab. 7.35 Urindaten für Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	0,00	0,00	246,41
02	0,00	1,79	0,00	430,52
03	0,00	0,00	0,00	155,18
04	0,00	0,37	0,00	66,18
05	0,00	1,28	0,00	347,13
06	0,00	0,00	0,00	94,93
07	0,00	0,00	0,00	135,89
08	0,00	3,05	0,00	114,94
09	0,00	0,00	0,00	163,63
10	0,00	5,13	0,00	217,35
11	0,00	0,00	0,00	541,77
12	0,00	0,00	0,00	449,81
13	0,00	0,00	0,00	343,13
14	0,00	1,90	0,00	162,24
MW	0,00	0,97	0,00	247,79
SD	0,00	1,55	0,00	149,36
Min	0,00	0,00	0,00	66,18
Median	0,00	0,00	0,00	190,49
Max	0,00	5,13	0,00	541,77

Tab. 7.36 Urindaten für Kaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	0,00	0,00	316,78
02	0,00	0,00	17,91	215,61
03	0,00	0,00	40,60	285,33
04	0,00	1,15	65,98	253,27
05	0,00	2,52	37,90	383,86
06	0,00	0,46	41,51	506,31
07	0,00	3,27	3,70	225,89
08	0,00	1,30	126,33	499,73
09	0,00	1,83	27,83	296,07
10	0,00	0,62	124,18	381,24
11	0,00	1,51	37,92	300,31
12	0,00	0,00	85,64	782,83
13	0,00	0,36	77,60	363,83
14	0,00	0,81	9,55	235,85
MW	0,00	0,99	49,76	360,49
SD	0,00	1,01	41,01	152,28
Min	0,00	0,00	0,00	215,61
Median	0,00	0,72	39,26	308,55
Max	0,00	3,27	126,33	782,83

Tab. 7.37 Urindaten für Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	0,69	40,10	977,24
02	0,00	1,34	328,58	1623,09
03	0,00	0,74	277,98	1503,74
04	0,00	5,25	268,76	938,95
05	0,00	3,07	356,13	1956,89
06	0,00	0,41	186,78	485,79
07	1,17	4,96	105,87	961,70
08	0,00	2,07	168,52	543,58
09	1,12	2,77	374,22	3679,21
10	0,00	1,56	616,55	2343,48
11	0,27	4,17	348,44	2491,45
12	0,00	2,05	468,48	3785,81
13	0,11	1,07	975,62	4083,56
14	0,00	5,48	184,87	2394,46
MW	0,19	2,54	335,78	1983,49
SD	0,41	1,78	236,81	1206,25
Min	0,00	0,41	40,10	485,79
Median	0,00	2,06	303,28	1789,99
Max	1,17	5,48	975,62	4083,56

Tab. 7.38 Urindaten für Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	2,31	14,04	206,49	1315,28
02	4,36	31,42	128,04	1126,07
03	3,06	36,33	166,29	1702,96
04	3,84	40,93	166,56	1079,01
05	12,89	36,22	401,23	2256,96
06	1,33	2,25	178,29	542,37
07	5,76	29,41	150,09	1311,23
08	9,27	39,74	545,93	2570,87
09	2,86	8,70	147,27	968,24
10	6,25	19,27	262,45	1079,83
11	23,46	87,07	246,81	2163,71
12	4,11	5,22	282,57	1640,70
13	0,88	2,11	181,02	1175,78
14	6,08	28,91	148,31	1410,37
MW	6,18	27,26	229,38	1453,10
SD	5,91	22,25	116,76	559,31
Min	0,88	2,11	128,04	542,37
Median	4,24	29,16	179,66	1313,26
Max	23,46	87,07	545,93	2570,87

Tab. 7.39 Urindaten für Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,47	6,95	255,58	773,85
02	18,85	46,95	770,93	2559,43
03	10,63	43,84	446,30	1840,17
04	4,16	22,19	595,66	1254,10
05	6,38	56,23	830,46	2897,10
06	0,00	0,84	190,19	453,43
07	8,81	66,68	401,01	1650,88
08	7,09	63,70	1048,35	5082,71
09	2,73	18,62	346,96	1480,71
10	0,74	22,36	387,42	1170,70
11	27,77	151,91	673,46	3414,43
12	0,62	23,90	635,40	2873,76
13	0,27	3,17	1169,31	2526,11
14	1,07	14,78	219,01	1688,60
MW	6,40	38,72	569,29	2119,00
SD	8,14	39,28	304,46	1212,66
Min	0,00	0,84	190,19	453,43
Median	3,45	23,13	520,98	1764,38
Max	27,77	151,91	1169,31	5082,71

Tab. 7.40 Urindaten für Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	0,00	0,00	139,43
02	0,00	0,00	0,00	228,09
03	0,00	0,00	0,00	446,09
04	0,00	0,00	0,00	97,25
05	0,00	0,00	0,00	205,06
06	0,00	0,00	0,00	370,23
07	0,00	0,00	0,00	222,14
08	0,00	0,00	0,00	284,92
09	0,00	0,00	0,00	244,16
10	0,00	0,00	0,00	288,96
11	0,00	0,00	0,00	394,04
12	0,00	0,00	0,00	210,87
13	0,00	0,00	0,00	365,20
14	0,00	0,00	0,00	87,26
MW	0,00	0,00	0,00	255,98
SD	0,00	0,00	0,00	109,56
Min	0,00	0,00	0,00	87,26
Median	0,00	0,00	0,00	236,12
Max	0,00	0,00	0,00	446,09

Tab. 7.41 Urindaten für Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.

Proband	NW	NW	SU	SU
	Ut frei [μg]	Ut total [μg]	Ut frei [μg]	Ut total [μg]
01	0,00	0,49	0,00	463,42
02	0,00	0,66	0,00	704,37
03	0,00	0,00	0,00	120,79
04	0,00	0,00	0,00	211,31
05	0,00	0,28	0,00	379,45
06	0,00	0,00	0,00	620,76
07	0,00	0,15	0,00	297,45
08	0,00	2,51	0,00	827,64
09	0,00	2,46	0,00	414,96
10	0,00	1,76	0,00	966,80
11	0,00	1,67	0,00	1682,20
12	0,00	0,00	0,00	1947,27
13	0,00	1,70	0,00	649,60
14	0,00	9,99	0,00	542,22
MW	0,00	1,55	0,00	702,02
SD	0,00	2,60	0,00	527,54
Min	0,00	0,00	0,00	120,79
Median	0,00	0,57	0,00	581,49
Max	0,00	9,99	0,00	1947,27

Tab. 7.42 Renale Elimination der Analyten in Prozent der applizierten Dosis nach Applikation von Artischockeblätter-Gesamtextrakt. LUT=Luteolin, KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, HZ=Hydroxyzimtsäuren.

Proband	LUT	KS	DHKS	FS	DHFS	IFS	Summe HZ
01	1,71	0,14	0,82	0,84	0,90	0,05	2,75
02	2,99	0,21	1,39	1,34	2,27	0,11	5,31
03	1,08	0,25	1,84	1,12	1,97	0,24	5,41
04	0,46	0,09	0,36	0,85	0,58	0,06	1,94
05	2,41	0,29	1,22	1,23	1,94	0,15	4,82
06	0,66	0,27	1,82	1,53	0,84	0,09	4,55
07	0,94	0,13	0,67	1,59	2,71	0,09	5,18
08	0,80	0,23	2,39	1,37	2,53	0,35	6,87
09	1,14	0,16	1,53	0,75	0,89	0,09	3,41
10	1,51	0,15	0,33	0,51	0,37	0,23	1,59
11	3,76	0,09	0,96	1,22	1,92	0,12	4,31
12	3,12	0,46	1,52	1,46	1,96	0,29	5,69
13	2,38	0,30	4,13	0,95	2,16	0,09	7,63
14	1,13	0,15	3,54	1,19	1,72	0,22	6,83
MW	1,72	0,21	1,61	1,14	1,62	0,16	4,74
SD	1,04	0,10	1,11	0,32	0,76	0,09	1,82
Min	0,46	0,09	0,33	0,51	0,37	0,05	1,59
Median	1,32	0,19	1,45	1,21	1,93	0,11	5,00
Max	3,76	0,46	4,13	1,59	2,71	0,35	7,63

Tab. 7.43 Renale Elimination der Analyten in Prozent der applizierten Dosis nach Applikation von Artischockeblätter-Spezialextrakt LUT=Luteolin, KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, HZ=Hydroxyzimtsäuren.

Proband	LUT	KS	DHKS	FS	DHFS	IFS	Summe HZ
01	1,32	0,21	0,64	0,85	0,50	0,09	2,29
02	2,00	0,14	1,06	0,73	1,66	0,15	3,74
03	0,34	0,19	0,98	1,11	1,20	0,29	3,76
04	0,60	0,16	0,61	0,70	0,82	0,06	2,35
05	1,08	0,25	1,27	1,47	1,88	0,13	5,01
06	1,76	0,33	0,32	0,35	0,29	0,24	1,53
07	0,84	0,15	0,63	0,85	1,07	0,14	2,84
08	2,35	0,32	0,35	1,67	3,30	0,19	5,84
09	1,18	0,19	2,39	0,63	0,96	0,16	4,33
10	2,74	0,25	1,52	0,70	0,76	0,19	3,42
11	4,77	0,20	1,62	1,41	2,22	0,26	5,70
12	5,53	0,51	2,46	1,07	1,87	0,14	6,04
13	1,84	0,24	2,65	0,76	1,64	0,24	5,53
14	1,54	0,15	1,56	0,92	1,10	0,06	3,78
MW	1,99	0,23	1,29	0,94	1,38	0,17	4,01
SD	1,50	0,10	0,78	0,36	0,79	0,07	1,45
Min	0,34	0,14	0,32	0,35	0,29	0,06	1,53
Median	1,65	0,20	1,16	0,85	1,15	0,15	3,77
Max	5,53	0,51	2,65	1,67	3,30	0,29	6,04

Tab. 7.44 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Kaffeesäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.

Präparat	Proband	C_{max} [ng·mL ⁻¹]	t_{max} [h]	$AUC_{0 \rightarrow last}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	AUC_{tot} [ng mL ⁻¹ ·h]	k_{el} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	
P	1	5,10	0,75	16,11	32,99	0,17	4,04	
	2	3,10	1,00	9,17	13,83	0,14	4,94	
	3	6,80	1,02	25,58	34,37	0,12	5,76	
	4	7,90	1,58	18,68	20,20	0,47	1,47	
	5	10,20	0,25	21,52	22,79	0,53	1,32	
	6	7,70	1,50	13,08	13,62	0,46	1,52	
	7	8,50	0,75	15,94	16,76	0,37	1,86	
	8	11,30	1,50	21,95	22,40	0,74	0,93	
	9	7,90	0,75	20,02	27,13	0,23	2,95	
	10	11,70	1,58	30,97	32,63	0,41	1,71	
	11	5,80	0,58	21,01	21,51	0,59	1,18	
	12	12,40	1,08	45,99	46,37	0,44	1,57	
	13	6,40	0,27	35,05	45,59	0,12	5,78	
	14	7,70	0,50	18,30	18,30	n.b.	n.b.	
		MW	8,04	0,94	22,38	26,32	0,37	2,69
		SD	2,64	0,47	9,54	10,69	0,20	1,80
	Min	3,10	0,25	9,17	13,62	0,12	0,93	
	Median	7,80	0,88	20,51	22,59	0,41	1,71	
	Max	12,40	1,58	45,99	46,37	0,74	5,78	
R	1	10,30	1,00	25,00	25,20	0,52	1,34	
	2	4,60	1,00	17,48	19,59	0,20	3,50	
	3	5,60	0,55	16,23	17,72	0,31	2,21	
	4	7,30	0,55	25,00	25,29	0,40	1,72	
	5	6,00	1,60	25,65	33,09	0,13	5,39	
	6	6,40	0,88	13,84	14,36	0,46	1,52	
	7	9,00	0,58	21,20	22,22	0,26	2,65	
	8	5,70	0,78	15,43	16,05	0,42	1,64	
	9	5,70	0,33	16,16	16,16	n.b.	n.b.	
	10	8,80	0,80	25,74	27,76	0,22	3,13	
	11	6,80	0,78	21,32	23,24	0,32	2,14	
	12	5,10	0,77	16,40	33,38	0,17	4,07	
	13	3,10	0,83	9,22	13,89	0,14	5,00	
	14	6,80	1,10	25,71	34,34	0,12	5,69	
		MW	6,51	0,83	19,60	23,02	0,28	3,08
		SD	1,89	0,30	5,35	7,15	0,13	1,53
	Min	3,10	0,33	9,22	13,89	0,12	1,34	
	Median	6,20	0,79	19,34	22,73	0,26	2,65	
	Max	10,30	1,60	25,74	34,34	0,52	5,69	

Tab. 7.45 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Dihydrokaffeesäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.

Präparat	Proband	C_{max} [ng·mL ⁻¹]	t_{max} [h]	$AUC_{0 \rightarrow last}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	AUC_{tot} [ng mL ⁻¹ ·h]	k_{el} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]
P	1	19,60	6,00	109,29	130,30	0,23	3,02
	2	22,70	6,08	86,95	144,47	0,19	3,58
	3	14,20	8,03	62,93	201,02	0,08	9,12
	4	17,70	6,17	18,76	18,76	n.b.	n.b.
	5	20,30	6,05	73,35	75,80	0,46	1,50
	6	37,50	4,00	127,87	133,52	0,66	1,05
	7	11,70	6,08	34,63	50,01	0,25	2,82
	8	47,60	4,08	214,13	238,51	0,26	2,64
	9	49,40	6,00	215,35	223,45	0,47	1,48
	10	42,10	6,12	158,03	160,23	0,62	1,11
	11	34,80	3,05	162,31	172,86	0,46	1,50
	12	25,10	8,05	141,21	146,17	0,45	1,54
	13	32,30	3,00	177,73	179,94	0,54	1,28
	14	38,40	8,00	164,79	179,20	0,32	2,15
	MW	29,53	5,77	124,81	146,73	0,38	2,52
	SD	12,40	1,69	62,57	62,93	0,18	2,14
	Min	11,70	3,00	18,76	18,76	0,08	1,05
Median	28,70	6,07	134,54	153,20	0,45	1,54	
Max	49,40	8,05	215,35	238,51	0,66	9,12	
R	1	5,20	8,00	23,10	26,94	0,27	2,52
	2	15,10	6,00	78,32	101,85	0,21	3,36
	3	14,80	8,08	73,32	73,32	n.b.	n.b.
	4	12,20	6,00	25,00	30,52	0,67	1,03
	5	18,20	6,10	57,16	81,62	0,25	2,74
	6	24,00	6,08	90,31	157,89	0,19	3,64
	7	17,30	3,08	38,30	38,86	0,45	1,54
	8	53,10	6,03	210,34	222,75	0,41	1,68
	9	28,50	6,00	161,57	225,48	0,17	4,18
	10	16,10	8,05	70,10	79,86	0,31	2,27
	11	22,70	6,12	46,85	46,85	n.b.	n.b.
	12	11,60	6,12	51,37	67,67	0,19	3,62
	13	19,70	6,17	87,73	233,14	0,09	7,71
	14	39,70	6,13	179,69	222,28	0,24	2,87
	MW	21,30	6,28	85,23	114,93	0,29	3,10
	SD	12,35	1,24	58,15	79,88	0,16	1,73
	Min	5,20	3,08	23,10	26,94	0,09	1,03
Median	17,75	6,11	71,71	80,74	0,25	2,80	
Max	53,10	8,08	210,34	233,14	0,67	7,71	

Tab. 7.46 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Ferulasäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.

Präparat	Proband	C_{max} [ng·mL ⁻¹]	t_{max} [h]	$AUC_{0 \rightarrow last}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	AUC_{tot} [ng mL ⁻¹ ·h]	k_{el} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]	
P	1	11,50	1,00	47,38	56,45	0,17	4,13	
	2	21,00	1,00	113,14	142,71	0,13	5,23	
	3	17,60	1,52	113,30	185,77	0,09	7,87	
	4	13,00	0,82	63,64	68,87	0,25	2,78	
	5	23,60	0,57	61,85	76,21	0,14	5,02	
	6	14,80	1,50	88,45	94,24	0,25	2,80	
	7	13,10	0,58	41,48	50,65	0,22	3,20	
	8	17,10	0,80	76,18	95,51	0,14	4,96	
	9	10,30	0,75	59,81	63,26	0,30	2,29	
	10	15,70	1,58	112,59	184,63	0,08	8,64	
	11	12,20	1,03	46,11	47,82	0,28	2,44	
	12	15,50	1,08	86,19	102,72	0,16	4,36	
	13	11,50	1,02	60,58	96,05	0,08	8,56	
	14	18,30	0,50	108,31	215,05	0,06	10,94	
		MW	15,37	0,98	77,07	105,71	0,17	5,23
		SD	3,85	0,35	26,54	54,87	0,08	2,73
	Min	10,30	0,50	41,48	47,82	0,06	2,29	
	Median	15,15	1,00	69,91	94,88	0,15	4,66	
	Max	23,60	1,58	113,30	215,05	0,30	10,94	
R	1	9,20	1,50	61,66	100,90	0,08	9,08	
	2	10,40	0,50	53,89	78,39	0,09	7,36	
	3	6,20	1,03	41,79	46,19	0,27	2,59	
	4	12,00	0,75	58,59	85,17	0,10	6,63	
	5	8,60	0,77	43,56	53,37	0,18	3,79	
	6	10,50	0,88	46,69	46,69	n.b.	n.b.	
	7	6,70	0,72	23,93	33,25	0,22	3,19	
	8	9,70	0,78	36,93	41,14	0,26	2,71	
	9	7,40	0,53	50,08	85,32	0,07	9,84	
	10	8,70	0,62	47,74	81,32	0,07	9,28	
	11	10,90	0,78	48,57	60,93	0,16	4,37	
	12	7,90	0,53	48,49	90,86	0,07	10,29	
	13	7,90	0,62	50,72	95,14	0,08	9,13	
	14	8,30	0,78	50,09	65,35	0,16	4,36	
		MW	8,89	0,77	47,34	68,86	0,14	6,35
		SD	1,66	0,26	9,22	22,09	0,07	2,95
	Min	6,20	0,50	23,93	33,25	0,07	2,59	
	Median	8,65	0,76	48,53	71,87	0,10	6,63	
	Max	12,00	1,50	61,66	100,90	0,27	10,29	

Tab. 7.47 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Dihydroferulasäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.

Präparat	Proband	C_{max} [ng·mL ⁻¹]	t_{max} [h]	$AUC_{0 \rightarrow last}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	AUC_{tot} [ng mL ⁻¹ ·h]	k_{el} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]
P	1	18,60	6,00	44,69	76,14	0,16	4,31
	2	55,30	6,08	224,30	229,47	0,52	1,33
	3	19,80	8,03	79,09	151,59	0,15	4,61
	4	26,90	6,17	84,09	93,26	0,32	2,14
	5	46,00	6,05	164,17	174,74	0,39	1,78
	6	44,00	4,00	152,17	157,22	0,72	0,97
	7	16,30	6,08	71,66	75,40	0,42	1,64
	8	53,40	6,05	301,35	414,84	0,15	4,71
	9	60,50	6,00	240,04	242,39	0,68	1,02
	10	53,00	6,12	237,99	267,60	0,31	2,23
	11	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	12	32,50	8,05	194,19	219,69	0,29	2,42
	13	37,10	4,05	243,78	268,66	0,26	2,64
	14	53,00	8,00	301,86	301,86	n.b.	n.b.
	MW	39,72	6,21	179,95	205,61	0,36	2,48
	SD	15,51	1,28	88,14	98,12	0,19	1,35
	Min	16,30	4,00	44,69	75,40	0,15	0,97
Median	44,00	6,08	194,19	219,69	0,32	2,19	
Max	60,50	8,05	301,86	414,84	0,72	4,71	
R	1	11,99	8,00	60,76	70,48	0,28	2,47
	2	30,60	6,00	89,83	89,83	n.b.	n.b.
	3	14,80	8,08	73,15	73,15	n.b.	n.b.
	4	24,13	6,00	81,95	91,81	0,32	2,14
	5	32,31	4,08	156,08	219,68	0,16	4,39
	6	23,40	6,08	118,59	123,16	0,44	1,59
	7	12,30	6,10	63,47	88,67	0,16	4,44
	8	62,90	6,03	191,82	192,08	1,04	0,67
	9	38,40	6,00	222,93	321,00	0,16	4,36
	10	16,80	6,03	84,67	103,83	0,25	2,81
	11	25,90	6,12	50,31	50,31	n.b.	n.b.
	12	19,60	6,12	76,40	90,79	0,28	2,49
	13	30,40	6,17	180,85	194,11	0,34	2,02
	14	42,33	8,00	226,90	352,86	0,15	4,68
	MW	27,56	6,34	119,84	147,27	0,32	2,91
	SD	13,79	1,05	62,91	95,33	0,25	1,35
	Min	11,99	4,08	50,31	50,31	0,15	0,67
Median	25,02	6,09	87,25	97,82	0,28	2,49	
Max	62,90	8,08	226,90	352,86	1,04	4,68	

Tab. 7.48 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Isoferulasäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.

Präparat	Proband	C_{max} [ng·mL ⁻¹]	t_{max} [h]	$AUC_{0 \rightarrow last}$ [ng·mL ⁻¹ ·h]	AUC_{tot} [ng·mL ⁻¹ ·h]	k_{el} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]
P	1	10,10	1,00	34,94	36,27	0,29	2,39
	2	14,50	1,17	54,31	55,10	0,38	1,81
	3	8,50	1,52	52,88	85,59	0,08	8,61
	4	9,30	1,05	32,35	33,56	0,43	1,61
	5	12,00	0,57	28,11	29,84	0,37	1,90
	6	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	7	9,30	0,28	28,58	30,50	0,36	1,90
	8	13,50	1,50	76,71	96,81	0,13	5,14
	9	8,40	0,67	32,34	35,22	0,31	2,22
	10	12,70	1,58	69,32	76,15	0,20	3,40
	11	9,60	1,57	39,96	40,78	0,34	2,01
	12	9,20	1,08	23,76	25,09	0,64	1,08
	13	6,30	1,55	23,56	23,89	0,73	0,95
	14	13,20	0,75	43,72	46,96	0,35	1,99
	MW	10,51	1,10	41,58	47,37	0,36	2,69
	SD	2,43	0,43	17,10	24,04	0,18	2,07
	Min	6,30	0,28	23,56	23,89	0,08	0,95
	Median	9,60	1,08	34,94	36,27	0,35	1,99
	Max	14,50	1,58	76,71	96,81	0,73	8,61
R	1	5,70	0,75	20,28	22,39	0,30	2,31
	2	13,70	1,00	102,48	113,66	0,09	7,44
	3	7,70	1,03	51,11	77,91	0,10	7,16
	4	9,20	1,05	42,73	46,87	0,21	3,37
	5	9,10	0,77	43,58	48,58	0,20	3,44
	6	6,30	0,88	20,79	22,71	0,22	3,12
	7	7,50	0,72	23,74	39,47	0,12	5,55
	8	7,00	0,78	27,65	28,43	0,42	1,67
	9	5,60	0,53	23,08	29,94	0,19	3,63
	10	9,30	0,62	35,19	36,78	0,28	2,52
	11	9,60	0,52	32,06	41,07	0,20	3,48
	12	6,00	0,77	18,57	18,97	0,81	0,85
	13	6,40	0,62	28,16	29,63	0,28	2,52
	14	7,40	1,53	19,67	20,22	0,48	1,44
	MW	7,89	0,83	34,94	41,19	0,28	3,46
	SD	2,17	0,26	21,92	25,96	0,19	1,99
	Min	5,60	0,52	18,57	18,97	0,09	0,85
	Median	7,45	0,77	27,91	33,36	0,21	3,25
	Max	13,70	1,53	102,48	113,66	0,81	7,44

Tab. 7.49 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Luteolin im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.

Präparat	Proband	C_{max} [ng mL ⁻¹]	t_{max} [h]	$AUC_{0 \rightarrow last}$ [ng mL ⁻¹ ·h]	AUC_{tot} [ng mL ⁻¹ ·h]	k_{el} [h ⁻¹]	$t_{1/2}$ [h]
P	1	106,80	0,50	368,92	370,68	0,54	1,29
	2	68,20	0,27	360,37	471,84	0,23	3,03
	3	67,00	0,53	336,66	420,85	0,14	5,09
	4	250,43	0,28	506,55	506,64	1,12	0,62
	5	172,93	0,25	486,23	543,33	0,20	3,54
	6	91,60	0,77	396,67	411,68	0,51	1,37
	7	62,80	0,58	186,45	196,18	0,27	2,60
	8	75,00	0,80	304,61	308,05	0,39	1,78
	9	141,70	0,30	281,69	289,77	0,25	2,79
	10	144,10	0,50	466,05	480,42	0,30	2,33
	11	162,63	0,58	779,03	857,66	0,36	1,90
	12	228,59	0,33	788,49	807,83	0,39	1,79
	13	384,10	0,27	655,27	715,76	0,19	3,60
	14	235,32	0,50	590,39	613,32	0,27	2,55
	MW	156,51	0,46	464,81	499,57	0,37	2,45
	SD	92,25	0,18	183,05	194,01	0,24	1,14
	Min	62,80	0,25	186,45	196,18	0,14	0,62
Median	142,90	0,50	431,36	476,13	0,28	2,44	
Max	384,10	0,80	788,49	857,66	1,12	5,09	
R	1	60,21	0,27	127,67	132,83	0,32	2,18
	2	38,29	0,27	148,51	156,18	0,36	1,94
	3	35,16	0,28	114,38	127,43	0,22	3,12
	4	121,78	0,25	233,62	257,08	0,19	3,65
	5	20,82	0,30	84,49	86,86	0,43	1,62
	6	34,90	0,33	90,29	93,50	0,29	2,42
	7	38,20	0,35	132,05	152,33	0,17	4,01
	8	55,70	0,28	92,10	93,69	0,67	1,04
	9	48,30	0,33	94,60	99,44	0,25	2,78
	10	66,60	0,80	175,36	188,74	0,25	2,74
	11	55,75	0,78	336,04	345,89	0,44	1,59
	12	137,90	0,25	192,31	202,97	0,20	3,45
	13	65,70	0,33	257,91	266,92	0,36	1,95
	14	47,70	0,25	146,37	156,63	0,28	2,46
	MW	59,07	0,36	158,98	168,61	0,32	2,50
	SD	32,82	0,18	73,87	76,85	0,13	0,85
	Min	20,82	0,25	84,49	86,86	0,17	1,04
Median	52,00	0,29	139,21	154,26	0,28	2,44	
Max	137,90	0,80	336,04	345,89	0,67	4,01	

Tab. 7.50 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und $Cl_{\text{ren.}}$ von Kaffeesäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).

C_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	3,16589	0,117255		
	Treatment	1	0,205434	0,205434	2,12039	0,16907 NS
	way 2	13	1,70095	0,130842	1,35049	0,29792 NS
	Error	13	1,25951	0,0968852		
t_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	6,64472	0,246101		
	Treatment	1	0,013087	0,013087	0,037816	0,84882 NS
	way 2	13	2,13273	0,164056	0,474056	0,90413 NS
	Error	13	4,4989	0,34607		
AUC_{tot}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	3,79097	0,140406		
	Treatment	1	0,466481	0,466481	3,96134	0,068009 NS
	way 2	13	1,79363	0,137972	1,17165	0,38974 NS
	Error	13	1,53086	0,117759		
$t_{1/2}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	25	8,17759	0,327104		
	Treatment	1	0,29129	0,29129	1,10879	0,31493 NS
	way 2	13	4,99651	0,384347	1,46302	0,26706 NS
	Error	11	2,88979	0,262709		
U_t	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	4,75259	0,176022		
	Treatment	1	0,163458	0,163458	2,58086	0,13217 NS
	way 2	13	3,76578	0,289675	4,57373	0,0049978 ***
	Error	13	0,82335	0,0633346		
$Cl_{\text{ren.}}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	6,43327	0,247434		
	Treatment	1	0,760411	0,760411	3,14368	0,10158 NS
	way 2	13	2,77024	0,213095	0,880975	0,58985 NS
	Error	13	2,90262	0,241885		

Tab. 7.51 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Dihydrokaffeensäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).

C_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	6,82254	0,252687		
	Treatment	1	0,0014762	0,0014762	0,014342	0,90651 NS
	way 2	13	5,48299	0,421768	4,09766	0,0081323 ***
	Error	13	1,33808	0,102929		
t_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	2,18498	0,0809251		
	Treatment	1	0,084863	0,084863	1,14285	0,3045 NS
	way 2	13	1,13479	0,0872914	1,17555	0,38749 NS
	Error	13	0,965326	0,0742559		
AUC_{tot}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	13,7728	0,510103		
	Treatment	1	0,0026224	0,0026224	0,013120	0,91056 NS
	way 2	13	11,1719	0,859376	4,29972	0,0065868 ***
	Error	13	2,59828	0,199868		
$t_{1/2}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	24	7,77788	0,324078		
	Treatment	1	0,49345	0,49345	1,38284	0,26685 NS
	way 2	13	3,71606	0,285851	0,801069	0,65261 NS
	Error	10	3,56837	0,356837		
U_t	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	13,733	0,508628		
	Treatment	1	0,242792	0,242792	0,575895	0,46146 NS
	way 2	13	8,00948	0,616114	1,4614	0,25175 NS
	Error	13	5,48069	0,421591		
Cl_{ren}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	12,3537	0,457544		
	Treatment	1	0,193786	0,193786	0,417331	0,52951 NS
	way 2	13	6,12341	0,471032	1,0144	0,48991 NS
	Error	13	6,03648	0,464345		

Tab. 7.52 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und $CI_{\text{ren.}}$ von Ferulasäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).

	C_{\max}					
	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	1,43504	0,0531496		
	Treatment	1	0,21033	0,21033	4,57725	0,051947 NS
	way 2	13	0,627344	0,0482572	1,05018	0,4655 NS
	Error	13	0,597365	0,0459512		
	t_{\max}					
	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	3,17376	0,117547		
	Treatment	1	0,350644	0,350644	3,57456	0,081168 NS
	way 2	13	1,54789	0,119069	1,21382	0,36602 NS
	Error	13	1,27523	0,0980944		
	AUC_{tot}					
	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	4,79404	0,177557		
	Treatment	1	3,105e-005	3,105e-005	0,000176	0,98959 NS
	way 2	13	2,51129	0,193176	1,10013	0,433 NS
	Error	13	2,28272	0,175594		
	$t_{1/2}$					
	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	6,8931	0,265119		
	Treatment	1	0,272207	0,272207	0,976886	0,34248 NS
	way 2	13	3,27712	0,252086	0,904679	0,57188 NS
	Error	12	3,34377	0,278647		
	U_t					
	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	3,75105	0,138928		
	Treatment	1	0,324422	0,324422	3,09785	0,10189 NS
	way 2	13	2,0652	0,158862	1,51694	0,23137 NS
	Error	13	1,36143	0,104725		
	$CI_{\text{ren.}}$					
	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	10,701	0,396332		
	Treatment	1	0,32999	0,32999	1,07008	0,31979 NS
	way 2	13	6,36206	0,489389	1,58698	0,20805 NS
	Error	13	4,00891	0,308378		

Tab. 7.53 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und $CI_{\text{ren.}}$ von Dihydroferulasäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).

C_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	5,52635	0,212552		
	Treatment	1	0,0036461	0,0036461	0,074747	0,7892 NS
	way 2	13	4,93734	0,379796	7,78591	0,00055581 ***
	Error	12	0,585358	0,0487798		
t_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	0,958135	0,0368513		
	Treatment	1	0,0059679	0,0059679	0,218689	0,64842 NS
	way 2	13	0,624694	0,0480533	1,76088	0,16798 NS
	Error	12	0,327473	0,0272895		
AUC_{tot}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	8,01558	0,308291		
	Treatment	1	0,003072	0,003072	0,026685	0,87296 NS
	way 2	13	6,63106	0,510081	4,43085	0,0072541 ***
	Error	12	1,38145	0,11512		
$t_{1/2}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	22	6,80766	0,309439		
	Treatment	1	0,15784	0,15784	0,351013	0,56813 NS
	way 2	12	2,60277	0,216898	0,482347	0,88079 NS
	Error	9	4,04704	0,449671		
U_t	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	10,3339	0,382738		
	Treatment	1	0,23916	0,23916	1,95682	0,18526 NS
	way 2	13	8,50591	0,654301	5,35354	0,0024076 ***
	Error	13	1,58884	0,122218		
$CI_{\text{ren.}}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	13,2948	0,511338		
	Treatment	1	0,444486	0,444486	3,08687	0,10439 NS
	way 2	13	11,1224	0,855569	5,94175	0,0019988 ***
	Error	12	1,72791	0,143993		

Tab. 7.54 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Isoferulasäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).

C_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	1,5392	0,0592002		
	Treatment	1	0,0337227	0,0337227	1,08847	0,31737 NS
	way 2	13	1,1337	0,0872077	2,8148	0,041279 ***
	Error	12	0,371782	0,0309818		
t_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	4,6245	0,177865		
	Treatment	1	0,348122	0,348122	1,8218	0,20201 NS
	way 2	13	1,98333	0,152564	0,798397	0,65455 NS
	Error	12	2,29305	0,191087		
AUC_{tot}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	6,16057	0,236945		
	Treatment	1	0,199002	0,199002	1,29755	0,27689 NS
	way 2	13	4,12116	0,317012	2,06701	0,10922 NS
	Error	12	1,84041	0,153367		
$t_{1/2}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	9,36413	0,360159		
	Treatment	1	0,537805	0,537805	2,14754	0,1685 NS
	way 2	13	5,82118	0,447783	1,78807	0,16158 NS
	Error	12	3,00515	0,250429		
U_t	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	7,81739	0,289533		
	Treatment	1	0,117865	0,117865	0,507397	0,48886 NS
	way 2	13	4,67972	0,359979	1,54968	0,22016 NS
	Error	13	3,01981	0,232293		
Cl_{ren}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	26	13,0301	0,501158		
	Treatment	1	0,543115	0,543115	0,917443	0,35705 NS
	way 2	13	5,38314	0,414088	0,699488	0,73444 NS
	Error	12	7,10385	0,591988		

Tab. 7.55 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und $CI_{\text{ren.}}$ von Luteolin (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).

C_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	7,44435	0,275717		
	Treatment	1	0,0152366	0,0152366	0,105349	0,75067 NS
	way 2	13	5,54894	0,426841	2,95128	0,030678 ***
	Error	13	1,88018	0,144629		
t_{\max}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	4,46394	0,165331		
	Treatment	1	0,436507	0,436507	3,84635	0,071634 NS
	way 2	13	2,55212	0,196317	1,72988	0,16768 NS
	Error	13	1,47532	0,113486		
AUC_{tot}	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	4,89623	0,181342		
	Treatment	1	0,296896	0,296896	4,21844	0,06067 NS
	way 2	13	3,68439	0,283415	4,0269	0,0087684 ***
	Error	13	0,914945	0,0703804		
$t_{1/2}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	5,60527	0,207603		
	Treatment	1	0,618768	0,618768	3,74913	0,074881 NS
	way 2	13	2,84094	0,218534	1,3241	0,31006 NS
	Error	13	2,14556	0,165043		
U_t	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	12,5629	0,465293		
	Treatment	1	0,0430874	0,0430874	0,214364	0,65102 NS
	way 2	13	9,90682	0,762063	3,79133	0,011334 ***
	Error	13	2,61302	0,201001		
$CI_{\text{ren.}}$	Source	df	SS	MS	F	p
	Total	27	10,7126	0,396764		
	Treatment	1	0,115801	0,115801	0,416487	0,52992 NS
	way 2	13	6,98226	0,537097	1,9317	0,12419 NS
	Error	13	3,61456	0,278043		

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1 Artischocke (Foto Kruse).....	8
Abb. 1.2 Inhaltsstoffe aus Artischockenblättern, <i>Cynarae folium</i>	9
Abb. 1.3 Hypothetische Metabolisierung von Kaffeesäure in isolierten Hepatozyten der Ratte (Moridani et al. 2002).....	22
Abb. 1.4 Abbau von Kaffeesäure durch Bakterien der intestinalen Mikroflora.....	23
Abb. 1.5 Hypothetischer Resorptionsmechanismus und Metabolisierung von Luteolin-7-O-glucosid vom Darmlumen und Kolon bis zum systemischen Kreislauf. Modifiziert nach (Williamson et al. 2000).	26
Abb. 1.6 Abbau von Luteolin durch <i>Eubacterium ramulus</i>	27
Abb. 2.1 Kalibriergeraden und Kalibrierfunktionen zur Quantifizierung der Analyten im Plasma.....	49
Abb. 2.2 Kalibriergeraden und Kalibrierfunktionen zur Quantifizierung der Analyten im Urin.	53
Abb. 3.1 Vergleich der Chromatogramme: Plasmaprobe zum Zeitpunkt t=0 (blau), t=1,5 h vor enzymatischer Spaltung (gelb) und t=1,5 h nach enzymatischer Spaltung (grün) mit einer Standardlösung genuiner Extraktbestandteile (rot).	57
Abb. 3.2 Identifizierung von Dihydrokaffeesäure, Dihydroferulasäure, Ferulasäure, Isoferulasäure und Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt.	57
Abb. 3.3 Individuelle „Peakflächen“-Zeit-Verläufe (● Proband 1, ▲ Proband 2, ■ Proband 3) für im Plasma identifizierte Substanzen (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt.	58
Abb. 3.4 Chromatogramme von blank Plasma und blank Plasma versetzt mit Analyten.	61
Abb. 3.5 Chromatogramme von blank Urin und blank Urin versetzt mit Analyten.	65
Abb. 3.6 Vergleich der Chromatogramme von einer blank Plasmaprobe versetzt mit Luteolin-7-O-glucuronid (rot) und einer Plasmaprobe zum Zeitpunkt t=0,5 h aufgearbeitet ohne Zusatz von β -Glucuronidase (grün), @ 300 mV.	68
Abb. 3.7 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Kaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.....	70

Abb. 3.8 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.....	73
Abb. 3.9 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydrokaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.....	73
Abb. 3.10 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.....	76
Abb. 3.11 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Ferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.....	76
Abb. 3.12 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.....	79
Abb. 3.13 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Dihydroferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.....	79
Abb. 3.14 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt: Gesamtgehalt, freie Form, Gesamtgehalt minus freie Form.....	82
Abb. 3.15 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Isoferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.....	82
Abb. 3.16 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen von Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.....	84
Abb. 3.17 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen (berechnet als Dihydroferulasäure) von der unbekannte Substanz (nach	

- enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.85
- Abb. 3.18 Graphische Darstellung der mittleren Plasmakonzentrationen (berechnet als Dihydroferulasäure) von der unbekannte Substanz vor und nach enzymatischer Spaltung nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar.....86
- Abb. 3.19 Unkonjugierter Anteil der Analyten ($MW \pm SD$) im 24 h-Urin nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure.....87
- Abb. 3.20 Nach enzymatischer Spaltung im 24 h-Urin nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt bestimmte Mengen ($MW \pm SD$). KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.....88
- Abb. 3.21 Prozentuale Zusammensetzung der Hydroxyzimtsäuren (nach enzymatischer Spaltung) im 24 h-Urin nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure.88
- Abb. 3.22 Renale Elimination der Hydroxyzimtsäuren (HZ) und Luteolin (LUT) (nach enzymatischer Spaltung) in Prozent der den Extraktinhaltsstoffen äquivalenten Mengen Kaffeensäure bzw. Luteolin ($MW \pm SD$) nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt.....89
- Abb. 3.23 Renale Clearance ($MW \pm SD$) der nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt im Plasma detektierten Analyten (nach enzymatischer Spaltung). KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.....94
- Abb. 3.24 Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von Kaffeensäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.....95
- Abb. 3.25 Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von Dihydrokaffeensäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.....96

- Abb. 3.26 Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.....96
- Abb. 3.27 Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.....97
- Abb. 3.28 Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.....97
- Abb. 3.29 Vergleich von C_{\max} , t_{\max} , AUC_{tot} und $t_{1/2}$ von Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamt- bzw. Spezialextrakt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen.98
- Abb. 4.1 Metabolisierung von Caffeoylchinasäuren im menschlichen Körper. CCS=Caffeoylchinasäuren, KS=Kaffeoesäure, FS=Ferulasäure; IFS=Isoferulasäure, DHKS=Dihydrokaffeoesäure, DHFS=Dihydroferulasäure, Konj.=Glucuronide/Sulfate..... 110
- Abb. 7.1 Residual Plots der Kalibriergeraden im Plasma (● Tag 1, ■ Tag 2, ▲ Tag 3). 138
- Abb. 7.2 Residual Plots der Kalibriergeraden im Urin (● Tag 1, ■ Tag 2, ▲ Tag 3).143

9 Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1 Übersicht über die bislang publizierten Studien zur Bioverfügbarkeit und Resorption von Caffeoylchinasäuren (CCS) aus verschiedenen Prüfpräparationen. CHS=Chlorogensäure; n=Probenzahl; *=detektiert nach Hydrolyse der Konjugate; C _{max} =maximale Plasmakonzentration; t _{max} =Zeit bis C _{max} ; Angaben als MW.	19
Tab. 2.1 Gradient zur Analyse der Plasmaproben aus der Pilotstudie.	35
Tab. 2.2 Gradient zur Extraktanalytik.	41
Tab. 2.3 Gradient zur Analyse der Plasmaproben aus der Hauptstudie.	45
Tab. 2.4 Gradient zur Analyse der Urinproben aus der Hauptstudie.	50
Tab. 3.1 Präzision nach Aufarbeitung mit Enzymassay. Konzentration 20 ng·mL ⁻¹ . Die Werte entsprechen den Peakflächen in µC; KS=Kaffeesäure, DHKS=Dihydrokaffeesäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.	63
Tab. 3.2 Stabilität der Plasmaproben im Autosampler (15°C). Die angegebenen Werte entsprechen den Mittelwerten aus je zwei Proben, Gehalt in [%].	63
Tab. 3.3 Stabilität der Urinproben im Autosampler. Die angegebenen Werte entsprechen den Mittelwerten aus je zwei Proben, Gehalt in [%].	67
Tab. 3.4 Kaffeesäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	69
Tab. 3.5 Kaffeesäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	70
Tab. 3.6 Dihydrokaffeesäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	72
Tab. 3.7 Dihydrokaffeesäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-	

Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	72
Tab. 3.8 Ferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	75
Tab. 3.9 Ferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	75
Tab. 3.10 Dihydroferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	78
Tab. 3.11 Dihydroferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	78
Tab. 3.12 Isoferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	81
Tab. 3.13 Isoferulasäure-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	81
Tab. 3.14 Luteolin-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	83
Tab. 3.15 Luteolin-Plasmakonzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) aller Probanden nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	84

Tab. 3.16 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von Kaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	91
Tab. 3.17 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	91
Tab. 3.18 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	92
Tab. 3.19 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	92
Tab. 3.20 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	93
Tab. 3.21 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartiment-Analyse von Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, Min=Minimalwert, Max=Maximalwert.	93
Tab. 3.22 Bestimmung der renalen Clearance in $L \cdot h^{-1}$ durch jeweilige Division von U_t durch AUC_{tot} . KS=Kaffeesäure, DHKS=Dihydrokaffeesäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, LUT=Luteolin.	94
Tab. 4.1 Vergleich der maximalen Kaffeesäure-Konzentrationen (nach enzymatischer Spaltung) nach oraler Applikation von Caffeoylechinensäuren in Form verschiedener Nahrungsmittel/Extrakte.	108
Tab. 7.1 Demographische Daten der Probanden.	136
Tab. 7.2 Parameter der Kalibrierfunktionen im Plasma.	137
Tab. 7.3 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Plasma („within-day precision“).	139

Tab. 7.4 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Plasma („between-day precision“), berechnet aus den Mittelwerten der „within-day precision“	140
Tab. 7.5 Wiederfindung an verschiedenen Konzentrationsstufen nach Extraktion der Analyten aus Humanplasma.	141
Tab. 7.6 Parameter der Kalibrierfunktionen im Urin.....	142
Tab. 7.7 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Urin („within-day precision“).	144
Tab. 7.8 Präzision und Richtigkeit während der Validierung im Urin („between-day precision“), berechnet aus den Mittelwerten der „within-day precision“	145
Tab. 7.9 Wiederfindung an verschiedenen Konzentrationsstufen nach Extraktion der Analyten aus humanem Urin.	146
Tab. 7.10 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Kaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	147
Tab. 7.11 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Kaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.	148
Tab. 7.12 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	149
Tab. 7.13 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeesäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	150
Tab. 7.14 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeesäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	151
Tab. 7.15 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydrokaffeesäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	152
Tab. 7.16 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	153

Tab. 7.17 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	154
Tab. 7.18 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	155
Tab. 7.19 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Ferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	156
Tab. 7.20 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	157
Tab. 7.21 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	158
Tab. 7.22 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	159
Tab. 7.23 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Dihydroferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	160
Tab. 7.24 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Isoferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	161
Tab. 7.25 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Isoferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	162
Tab. 7.26 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Isoferulasäure (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	163
Tab. 7.27 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Isoferulasäure (vor enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	164

Tab. 7.28 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt, R=Referenzpräparat.....	165
Tab. 7.29 Plasmakonzentrationen [$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$] von Luteolin (nach enzymatischer Spaltung) nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt, P=Prüfpräparat.....	166
Tab. 7.30 Urindaten für Kaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	167
Tab. 7.31 Urindaten für Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Artischockeblätter Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	167
Tab. 7.32 Urindaten für Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	168
Tab. 7.33 Urindaten für Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	168
Tab. 7.34 Urindaten für Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	169
Tab. 7.35 Urindaten für Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Gesamtextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	169
Tab. 7.36 Urindaten für Kaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	170
Tab. 7.37 Urindaten für Dihydrokaffeesäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	170
Tab. 7.38 Urindaten für Ferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	171
Tab. 7.39 Urindaten für Dihydroferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	171
Tab. 7.40 Urindaten für Isoferulasäure nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	172
Tab. 7.41 Urindaten für Luteolin nach Applikation von Artischockenblätter-Spezialextrakt. NW=Nullwert, SU=Sammelurin.....	172
Tab. 7.42 Renale Elimination der Analyten in Prozent der applizierten Dosis nach Applikation von Artischockeblätter-Gesamtextrakt. LUT=Luteolin, KS=Kaffeesäure, DHKS=Dihydrokaffeesäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, HZ=Hydroxyzimtsäuren.....	173

Tab. 7.43 Renale Elimination der Analyten in Prozent der applizierten Dosis nach Applikation von Artischockeblätter-Spezialextrakt LUT=Luteolin, KS=Kaffeensäure, DHKS=Dihydrokaffeensäure, FS=Ferulasäure, DHFS=Dihydroferulasäure, IFS=Isoferulasäure, HZ=Hydroxyzimtsäuren.....	173
Tab. 7.44 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Kaffeensäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.	174
Tab. 7.45 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Dihydrokaffeensäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.	175
Tab. 7.46 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Ferulasäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.	176
Tab. 7.47 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Dihydroferulasäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.	177
Tab. 7.48 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Isoferulasäure im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.	178
Tab. 7.49 Pharmakokinetische Parameter der Nichtkompartimentellen-Analyse von Luteolin im Plasma nach Applikation von Artischockenblätter-Extrakt. P=Prüfpräparat, R=Referenzpräparat.	179
Tab. 7.50 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Kaffeensäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).....	180
Tab. 7.51 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Dihydrokaffeensäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).	181
Tab. 7.52 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Ferulasäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).	182
Tab. 7.53 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Dihydroferulasäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).....	183
Tab. 7.54 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Isoferulasäure (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).	184
Tab. 7.55 ANOVA Tabellen für den Vergleich von C_{max} , t_{max} , AUC_{tot} , $t_{1/2}$, U_t und Cl_{ren} von Luteolin (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$).....	185

10 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ANOVA	Analysis of Variance
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CAD	Coulometrische Array Detektion
CV	Variationskoeffizient
DEV	Droge-Extrakt-Verhältnis
DHFS	Dihydroferulasäure
DHKS	Dihydrokaffeesäure
ECD	Elektrochemische Detektion
ES	Elektronenspray
FDA	Food and Drug Administration
FS	Ferulasäure
GC	Gaschromatographie
HDV	Hydrodynamisches Voltammogramm
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
i.p.	intraperitoneal
IFS	Isoferulasäure
KS	Kaffeesäure
LC	Liquid Chromatography
LDL	Low Density Lipoproteins
Lsg.	Lösung
LUT	Luteolin
MS	Massenspektrometrie
MW	Mittelwert
n	Anzahl
n.b.	nicht bestimmbar
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
o.g.	oben genannt

PDA	Photodioden Array Detektion
Ph.Eur.	Pharmakopoeia Europea, Europäisches Arzneibuch
R ²	Korrelationskoeffizient
RE	Relativer Fehler
SD	Standardabweichung
SPE	Solid Phase Extraction
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
UV	Ultraviolett
v. Chr.	vor Christi Geburt
z.B.	zum Beispiel