

**Gemeinsamer Abschlussbericht zum Verbundvorhaben**

**Verbundprojekt:**

**„Erschließung und Charakterisierung Therapeutisch neuroprotektiver und anti-inflammatorischer Wirkstoffe aus Harpagophytum procumbens (TeufelsKralle) - TheraTeK“**

**Förderkennzeichen:**

**0313746A**

**Laufzeit:**

**01.07.2006 – 31.12.2008**

**vorgelegt von:**

**Firma**

**BioPlanta GmbH  
Deutscher Platz 5  
04103 Leipzig**

**BioPlanta<sub>GmbH</sub>**

**Projektleiter:**

**Dr. Dirk Wilken**

**„Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0313746A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.“**

## Inhaltsverzeichnis

---

	<u>Seite</u>
1 Aufgabenstellung	3
2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben geführt wurde	3
3 Planung und Ablauf des Vorhabens	5
<i>3.1 Planung</i>	5
<i>3.2 Ablauf</i>	5
4 Wissenschaftlicher und technischer Stand	8
5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen	10
6 Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse	11
<i>6.1 Kurzzusammenfassung</i>	11
<i>6.2 Teilvorhaben BioPlanta</i>	12
<i>6.3 Teilvorhaben KeyNeurotek</i>	15
<i>6.4 Teilvorhaben VivaCell</i>	18
7 Darstellung der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	21
8 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	22
9 Voraussichtlicher Nutzen/Verwertbarkeit der Ergebnisse	22
<i>9.1 Beitrag der Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen</i>	22
<i>9.2 Fortschreibung des Verwertungsplans</i>	24
10 Ergebnisse Dritter	26
11 Veröffentlichung der Ergebnisse	26

### Anlagen

- Anhang (Abbildungen, Skizzen)
- Erfolgskontrollbericht
- Berichtsblatt / Document Control Sheet

# 1 Aufgabenstellung

Momentan wird *Harpagophytum procumbens* (Teufelskralle) ausschließlich aus wild wachsenden Beständen in ihrem natürlichen afrikanischen Habitat geerntet. Dies birgt die Problematik sowohl der Qualität des pflanzlichen Materials als auch die Gefährdung des natürlichen Bestandes der Teufelskralle durch Raubbau. Durch die Entwicklung einer *in vitro* Kultivierungsmethode könnten diese Probleme bewältigt werden.

Phytopharmaka auf der Basis von Teufelskralle gewinnen an Interesse und Bedeutung bei der Behandlung von inflammatorischen Erkrankungen und degenerativen Osteopathien, nicht zuletzt auf Grund ihrer, im Vergleich zu den herkömmlichen Arzneimitteln, geringen Nebenwirkungen. Trotz dessen ist bislang nur sehr wenig über die aktiven Wirkstoffe der Phytopharmaka und deren molekularen Wirkmechanismen bekannt. Eine in die Tiefe gehende Analyse der biologischen Aktivität mit Hilfe von verschiedenartigen zellulären Assays in Kombination mit einer eingehenden chemischen Analyse der Teufelskralle-Extrakte würde neue Erkenntnisse über die biologisch aktiven Komponenten liefern und den Weg für gezielte therapeutische Ansätze eröffnen.

Die in diesem Verbundvorhaben vorgesehene Integration von zwei Forschungs- und Entwicklungsansätzen, der Etablierung einer *in vitro* Kultivierungsmethode und der *in vitro* und *in vivo* Charakterisierung und Validierung der biologischen Aktivität der Extrakte, wird sowohl zu einer verlässlichen, standardisierbaren Produktionsmethode für hochaktive und sichere Phytopharmaka, als auch zu einer weit reichenden Charakterisierung des therapeutischen Potenzials der Teufelskralle führen.

Gesamtziel des Verbundvorhabens war eine umfassende Erschließung des therapeutischen Potenzials von *Hapargophytum procumbens* (Teufelskralle). Zu diesem Zweck wurde im Rahmen von TheraTeK eine innovative *in vitro* Produktionsmethode für die phytopharmazeutisch bedeutsame Teufelskralle entwickelt und hinsichtlich des Inhalts an Sekundär-Metaboliten und der biologischen Aktivität des produzierten Pflanzenmaterials validiert. Dies diente als Grundlage für parallel verlaufende Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten die zum Ziel haben, die Extrakte bzw. einzelne Wirksubstanzen zu identifizieren, charakterisieren und molekulare Wirkmechanismen aufzudecken. Der Fokus lag hierbei zunächst auf den potentiell neuro-protectiven und anti-inflammatorischen Effekten der Extrakte.

## 2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben geführt wurde

### a) Allgemein

Als wichtigste Voraussetzung für den Erfolg des Projekts konnte die enge Verzahnung der Industriepartner in allen Phasen des Projekts gesehen werden. Die Gesamtkoordination des Verbundvorhabens oblag Dr. Gerth, die technische Projektleitung bei Dr. Wilken von BioPlanta. Darunter gliederte sich das Projekt in die drei Teilprojekte der Industriepartner. Jedes der Teilprojekte hatte einen verantwortlichen Teilprojektleiter, die für die inhaltliche Ausgestaltung des Teilprojekts und die Führung des zugeordneten Teilprojektteams verantwortlich zeichneten.

Eine weitere wichtige Voraussetzung für den nachhaltigen Erfolg des Projekts stellte die erhebliche finanzielle Eigenbeteiligung der beteiligten Industriepartner dar, die den Anspruch an das Projekt als ein Umsetzungsprojekt mit wirtschaftlich nachhaltig nutzbaren Ergebnissen für die Industriepartner untermauerte.

## **b) Schutzrechtsituation**

Es wurden keine Patente recherchiert, welche gegen eine Durchführung des Projektes oder eine zukünftige Verwertung der Projektergebnisse sprechen. Sollten im Rahmen des Projektes Erkenntnisse erlangt werden, die patentierbar sind, wird eine Gebrauchsmuster- bzw. Patentanmeldung angestrebt. Von den Verbundpartnern wurde und wird eine umfassende Patentierungsstrategie verfolgt: BioPlanta beabsichtigte die Patentierung der neu zu entwickelnden Module in Verbindung mit dem produktbezogenen Verfahren, VivaCell plante die neu zu identifizierenden Leitsubstanzen zum Einsatz als Qualitätskontrolle zu schützen und KeyNeurotek die Substanzen zur Anwendung bei neurodegenerativen Erkrankungen bzw. die Anwendung von entwickelten Assays zur biologischen Validierung und zur Wirkstofffindung zu patentieren.

## **c) Eigene Vorarbeiten**

Teufelskralle liegt als Organkulturen in den Labors der Verbundpartner bereits vor und es existieren einschlägige Erfahrungen. Aktuelle Untersuchungen bei BioPlanta zeigen, dass bei *in vitro* Kultur vollständig differenzierter Pflanzenorgane (im Gegensatz zur bisher üblichen Kultur von undifferenzierten Zellen in Suspensionen) grundsätzlich ein hoher und stabiler Gehalt der gewünschten Metabolite erzielt werden kann (Wilken et al., 2005). Auf Basis dieser Ergebnisse wurde eine Plattformtechnologie zur biotechnologischen Produktion pflanzlicher Wirkstoffe entwickelt, in deren Mittelpunkt das so genannte Temporary Immersion System (TIS) steht. Hierbei handelt es sich um bioreaktorähnliche Großgefäße mit automatisiertem Nährmedium- und Gasaustausch zur Kultur von ganzen Pflanzen bzw. Pflanzenorganen. Im kleinen Maßstab wird dieses Grundprinzip bereits erfolgreich in der Pflanzenzüchtung eingesetzt. Bei BioPlanta wurde anhand verschiedener Modellkulturen erstmals der Einsatz von TIS zur Biomasseproduktion mit dem Ziel der Wirkstoffgewinnung demonstriert. Der „proof of principle“ für den Einsatz derartiger *in vitro* Kultivierungs-/ Produktionsmethoden ist somit erbracht worden.

KeyNeurotek verwendet einen systembiologischen Ansatz für die Untersuchung biologischer Effekte von Wirksubstanzen in Form dreidimensional strukturierter organotypische Gewebekulturen von zerebralen und nichtzerebralen Organen im Gegensatz zu herkömmlichen Hochdurchsatzmethoden zur Wirkstofffindung die meist auf dem Einsatz von isolierten Enzymen basieren. Der Schwerpunkt liegt bei der Testung auf Neuroprotektion bei Schlaganfall, neuroinflammatorischen Prozessen und bei der Detektion von toxischen und neurotoxischen Effekten von potentiellen Wirkstoffen. Diese Untersuchungen werden im Rahmen einer Laborautomatisierung mittels TELOMICS™ Robotic durchgeführt. Der Automatisierungsansatz gewährleistet einen hohen Probendurchsatz, was zum funktionellen Screening von größeren Substanzmengen qualifiziert. Die Methoden zur Untersuchung von Neuroprotektion bei Exzitotoxizität, transienter Ischämie und Neuroinflammation sind biologisch validiert und standardisiert. Verschiedene Referenzsubstanzen stellen die Validität der biologischen Verfahren sicher. Darüber hinaus sichert die GLP-Zertifizierung die Einhaltung hoher Qualitätsstandards.

VivaCell ist seit Jahren als Dienstleister vor allem für Hersteller von pflanzlichen Arzneimitteln tätig. Insbesondere Untersuchungen zur Wirkung und Sicherheit von Teufelskrallenextrakten gehören zu den Schwerpunkten von VivaCell. So war VivaCell die Erste die zeigen konnten, dass einer der Wirkmechanismen die Hemmung der Zytokinsynthese (z.B. Tumor-Nekrosefaktor-alpha) ist. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Harpagosid und Harpagid diese Wirkung nicht zeigen. Diese Substanzen werden

momentan als Leitsubstanzen für die Qualitätskontrolle von Teufelskrallenextrakten verwendet (Fiebich et al. 2001). Für Harpagosid, ein iridoides Glykosid konnte ein therapeutischer Effekt bei der Behandlung von rheumatoiden Arthritis, Osteoarthritis, Nierenentzündungen und Herzerkrankungen nachgewiesen werden.

Vor diesem Hintergrund hatte sich das überregionale Konsortium bestehend aus BioPlanta aus Sachsen, KeyNeurotek aus Sachsen-Anhalt und VivaCell aus Baden-Württemberg entschieden dieses ehrgeizige und risikoreiche Vorhaben durchzuführen. Ziel des Vorhabens war, die wissenschaftlichen, technischen und finanziellen Stärken und Ressourcen der Unternehmen in einem Entwicklungsnetzwerk zu bündeln und den notwendigen Innovationsprozess mit einer klaren Produktorientierung zu beschleunigen. Durch die ideale Ergänzung der Kooperationspartner mit ihren jeweiligen Kernkompetenzen stellte dieses Vorhaben auch eine strategische Allianz für zukünftige Entwicklungs- und Vermarktungsvorhaben sowie eine Stärkung sowohl der regionalen als auch der überregionalen Verflechtung dar.

### **3 Planung und Ablauf des Vorhabens**

#### **3.1 Planung**

Innerhalb des Verbundvorhabens wurde zur Erreichung der gegebenen Projektziele durchgehend ein iteratives Prozessmodell mit drei Phasen verfolgt. Die Phasen beinhalteten dabei folgende Schwerpunkte:

- Phase 1: Konzeption und Entwicklung der Grundlagen
- Phase 2: Methodenetablierungs & -validierungsphase basierend auf den Grundlagenentwicklungen
- Phase 3: Anwendungs- & Optimierungsphase unter Berücksichtigung der gewonnenen Erfahrungen und Evaluationsergebnisse bei der Methodenetablierung

In Abbildung 1 sind die Schwerpunkte der einzelnen Verbundpartner und die ursprüngliche geplante Grundstruktur des TheraTeK-Vorhabens veranschaulicht.

Die nach Phasen gestaffelte Vorgehensweise hatte den Vorteil, dass durch die Entwicklung sämtlicher Grundlagen bereits in der ersten Phase eine breite Basis für die weitere Entwicklung in allen Teilvorhaben geschaffen wurde, und in der zweiten Phase die Testung und Adaptation wichtige Hinweise für eine Optimierung und finale Validierung der erzielten Ergebnisse innerhalb der nachfolgenden Phase gab.

Die phasenbezogene inhaltliche Ausgestaltung für die drei Teilvorhaben sowie das detaillierte Arbeitsprogramm aller Teilprojekte sind Abbildung 2 zu entnehmen.

#### **3.2 Ablauf**

Es konnte fristgerecht mit den ursprünglich geplanten Tätigkeiten am Vorhaben begonnen und ein überwiegender Teil der Arbeitspakete konnte wie geplant realisiert werden (siehe Abbildung 2 und Darstellung in 6.2, 6.3 und 6.4). Während des Projektverlaufs ergaben sich leichte Verzögerungen gegenüber der ursprünglichen Planung bei der Durchführung einzelner Arbeitspakete die eine kostenneutrale Verlängerung der Projektlaufzeit um 6 Monate notwendig machten (s. Abbildungen 2 und 3).