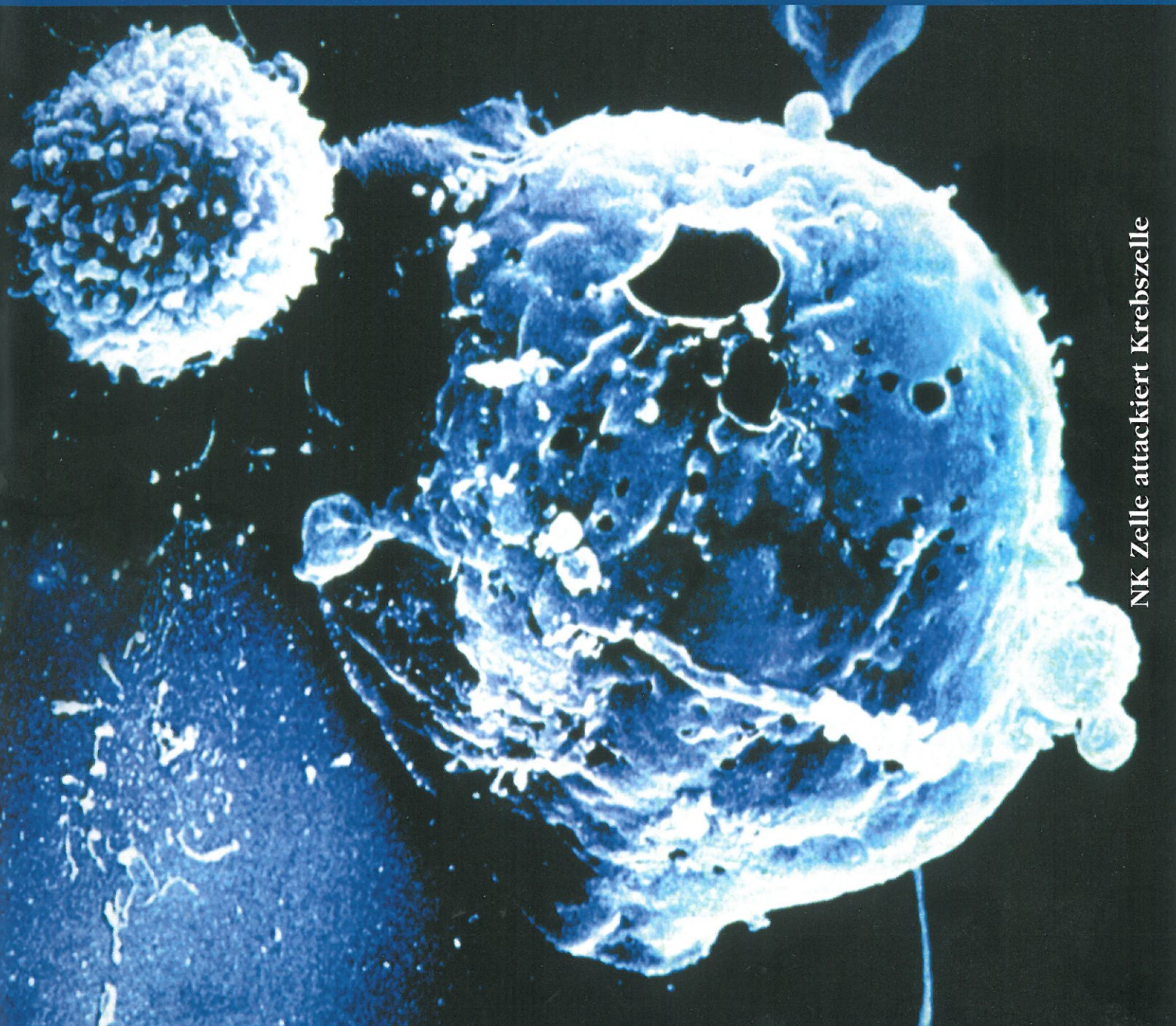


Sonderdruck aus
Heft-Nr. 2006/116

OMK & Ernährung

Gesundheitsforum für Orthomolekulare Medizin

Fachorgan für den Arzt, Therapeuten, Apotheker und Patienten



NK Zelle attackiert Krebszelle

Europäisches Journal für orthomolekulare und verwandte Medizin
European Journal of orthomolecular and related medicine
Journal Européen de la médecine orthomoléculaire et analogue

Unabhängig • Independent • Indépendant

Unterschiedliche antivirale Aktivität von Extrakten aus *Spirulina/Arthrospira platensis*

Prof.Dr.Dr. O. Pulz*, Dr. P. J. Mewes †

Zusammenfassung

In in-vitro-Untersuchungen wurden verschiedene Extrakte aus *Spirulina/Arthrospira platensis* auf ihre antivirale Aktivität hin untersucht. Es wurden unterschiedliche Extrakte von *Arthrospira* aus Myanmar (=Burma) mit solchen anderer Herkunft verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass Extrakte von *Spirulina* aus Myanmar (=Burma) einen zellulären Schutz von 80 bis 100 % gegenüber Herpes simplex Viren sowie von 75 bis 83 % gegenüber Influenza-Viren bieten.

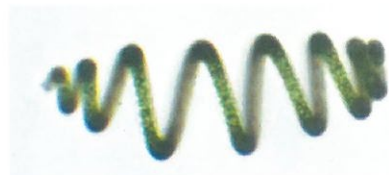


Abbildung 1: Aufnahme von *Spirulina/Arthrospira platensis* durch IGV Institut für Getreideverarbeitung, Nuthetal

Einleitung

Aus *Spirulina platensis* (Abbildung 1) wurde Anfang der 90iger Jahre von einer japanischen Arbeitsgruppe der Toyama Medical and Pharmaceutical University ein langkettiger Zucker, ein sog. Polysaccharid, das Spirulan isoliert.

Zwar ist die Stoffgruppe der zu den Energie liefernden Kohlenhydrate zählenden Polysaccharide in der Tier- und Pflanzenwelt weit verbreitet, wie z.B. als Stärke oder Zellulose, doch gibt es vielfältige Variationen in der Größe und Zusammensetzung und damit auch in den Eigenschaften der Moleküle dieser Stoffe.

Spirulan ist ein Kohlenhydrat, das sich aus verschiedenen Zuckermolekülen zusammensetzt. Zucker spielen nicht nur im Energiehaushalt eine wichtige Rolle, sondern erfüllen

auf den Oberflächen der Zellmembranen die herausragende Aufgabe der Identifikation anderer Moleküle bzw. Organismen als Freund oder Feind durch die Steuerung von biophysikalischen und immunologischen Prozessen an Membranen. Auf dieser molekularen Ebene gehen biophysikalische und biochemische Prozesse nahtlos ineinander über.

Von den Polysacchariden aus *Spirulina platensis* erwartete man vor dem Hintergrund der gut bekannten und belegten immunologischen Wirkungen von *Spirulina* als Nahrungsergänzung die Charakterisierung weiterer physiologischer Wirkungen.

Das o.a. speziell isolierte wasserlösliche Polysaccharid wurde nahe liegend Spirulan genannt und in stofflicher und medizinischer Hinsicht untersucht. Man erkannte, dass ohne Calcium im Molekül viele Wirkungen verschwanden und präziserte die Bezeichnung der wirksamen Substanz dementsprechend zu Calcium-Spirulan.

Calcium-Spirulan ist heute chemisch definiert als ein sulfatiertes Polysaccharid mit Calcium-Ionen, bei dem die wichtigsten Einfachzucker (Monosaccharide) Rhamnose und Fructose sind (CAS-Nr.: 172929-12-3, MeSH: C102617). Im Zuckeranteil überwiegt mit etwa 80 % deutlich die Rhamnose.

Wie funktioniert der antivirale Effekt? Beim Angriff der Viren auf die Zellen koppeln diese sich zuerst an die Zellmembran. In Anwesenheit von Calcium-Spirulan bleibt der Virus an oder in der Membran stecken und kann sich folglich nicht mehr replizieren. Eventuell wird dieser danach von den körpereigenen Abwehrkräften vernichtet.

In ihrer Gesamtheit belegen die Studien das enorme Potential von *Spirulina* und den wasserlöslichen Fraktionen, wie Spirulan, zur natürlichen Förderung der Gesundheit des Menschen auf ganz aktuellen Risikogebieten. Diese Studien stammen vor allem aus den Labors von wissenschaftlichen Arbeitsgruppen aus Japan, aber auch aus China und den USA. Zu den medizinischen Wirkungen haben mittlerweile das französische Institut de Phytonutrition und das deutsche Institut IGV GmbH 16 internationale Studien verschiedenster Art registriert, die neben dem antiviralen auch antitumorale, blutgerinnungshemmende und herzschützende Effekte des Spirulans beschreiben.

Spirulina aus Myanmar (=Burma) enthält etwa ein Drittel mehr Kohlenhydrate bzw. Polysaccharide als sämtliche andere Provenienzen. Erstmals gelang uns der Nachweis von Spirulan in dieser einzigartigen, aus natürlichen Kraterseen (Abbildung 2), stammenden *Spirulina*, die es auf beeindruckende Gehalte von 6-8% Spirulan an der Gesamttrockenmasse der *Spirulina* bringt.

Die hier vorgestellten Daten sind das Ergebnis der Zusammenarbeit des IGV, Institut für Getreideverarbeitung



Abbildung 2: Kratersee in Myanmar (=Burma)

* IGV Institut für Getreideverarbeitung GmbH, D-14558 Nuthetal (OT: Rehbrücke), Arthur-Scheunert-Allee 40/41

† Anfragen nach Literatur bitte an: Dr.rer.nat. Peter J. Mewes, D-63607 Wächtersbach, Haitzer Str. 16

Extrakt Nr.	Code IGV	Extraktionsmedium	Herpes simplex/VERO-Zellen		Influenza/MDCK-Zellen	
			Extrakt-Konzentration [µg/ml]	Toxizität [%]	Extrakt-Konzentration [µg/ml]	Toxizität [%]
1	1.1	Methanol	6,25	20	100	0
2	1.2	H ₂ O	12,5	0	100	0
3	1.3	H ₂ O	100	0	100	0
4	2.1	Methanol	100	0	100	0
5	2.2	H ₂ O	100	0	100	0
6	2.3	Methanol	25	10	100	0
7	4	H ₂ O	100	0	100	0
8	5	H ₂ O	100	0	100	0

Tabelle 1: Ergebnisse der Untersuchungen auf Zytotoxizität

Nur die methanolischen Extrakte (1) und (6) erweisen sich gegenüber dem Herpes simplex/VERO-Zellen-Modell als toxisch. In allen anderen Versuchsanordnungen wurde kein toxischer Effekt gegenüber den Viren festgestellt.

tung (Nuthetal), mit der Universität Greifswald in Verbindung mit dem Forschungsinstitut Ganomycin GmbH. Dabei handelt es sich um die in-vitro-Untersuchung verschiedener Spirulina-Extrakte hinsichtlich ihrer antiviralen Wirkung an den beiden exemplarischen Beispielen Herpes-simplex-Virus und Influenza-Virus.

1. Methoden

Es wurden acht hinsichtlich Ausgangsmaterial (unterschiedliche Herkunft und Extraktionsverfahren) und biochemischer Charakterisierung anonymisierte Extrakte aus Spirulina/Arthrospira platensis mit der Ziel-

stellung untersucht, potentielle antivirale Aktivitäten in in-vitro-Modellsystemen zu evaluieren (Ausführung Universität Greifswald und Ganomycin GmbH).

Als methodische Untersuchungsbasis wurden ein DNA- und ein RNA-Virusmodell mit in-vitro Zellkulturen eingesetzt:

1. Herpes simplex Virus (HSV) / VERO-Zellen ds DNA, ikosaedrisch, umhüllt (in diese Gruppe gehört z.B. auch Hepatitis B Virus HBV).
2. Influenza-Virus (HxNx) / MDCK-Zellen ss RNA, ikosaedrisch/helikale, umhüllt (in diese Gruppe gehören z.B. auch Retroviren HIV).

Die Infektion der in-vitro Zellen führt zur Ausbildung eines zytopathischen Effektes, dessen Ausmaß mit einem Farbaufnahme-Assay quantifiziert wird.

Extrakte, für die im Screeningassay ein antiviraler Effekt nachgewiesen werden konnte, wurden zur Validierung der Ergebnisse in einem weiteren Verfahren untersucht. Dazu wurde der Einfluss der Extrakte auf die Virus-Nukleinsäure-Synthese geprüft. Die Quantifizierung virusspezifischer Nukleinsäure erfolgte mit einem real-time - PCR-Verfahren. Grundlage für eine Bewertung der antiviralen Aktivitäten ist es, einen zytotoxischen Einfluss der Extrakte selbst auf die Zellkulturen auszuschließen. Daher wurden Analysen zur Zytotoxizität der Extrakte vorgeschaltet.

2. Ergebnisse

2.1 Zytotoxizität

Die Ergebnisse der Analysen zur Zytotoxizität der Extrakte sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Bei fünf wasserlöslichen Extrakten (2), (3), (5), (7), (8) und einem methanollöslichen Extrakt (4) wurde gegenüber VERO-Zellen bis zu einer Konzentration von 100 µg/ml keine zytotoxische Wirkung beobachtet.

Extrakt Nr.	Code IGV	Extraktionsmedium	Herpes simplex/VERO-Zellen		Influenza/MDCK-Zellen	
			Extrakt-Konzentration [µg/ml]	Antivirale Aktivität Schutz [%]	Extrakt-Konzentration [µg/ml]	Antivirale Aktivität Schutz [%]
1	1.1	Methanol	6,25 - 100	0	6,25 - 100	0
2	1.2	H ₂ O	6,25	80	6,25 - 100	0
3	1.3	H ₂ O	1,56	100	12,5	75
4	2.1	Methanol	6,25 -100	0	6,25 - 100	0
5	2.2	H ₂ O	12,5	100	0,390 - 100	0
6	2.3	Methanol	1,56	84	6,25	83
7	4	H ₂ O	6,25 -100	0	6,25 - 100	0
8	5	H ₂ O	6,25 -100	0	6,25 - 100	0

Tabelle 2: Ergebnisse der Untersuchungen der Extrakte auf antivirale Aktivität.

Die Extrakte (3) und (6) weisen sowohl eine hohe antivirale Wirkung gegenüber Herpes- als auch gegenüber den Influenza-Viren auf. Die Extrakte (2) und (5) erweisen sich allein als gegen Herpes-Viren wirksam. Für die Extrakte (1), (4), (7) und (8) kann in diesem Untersuchungssystem keine antivirale Wirkung nachgewiesen werden. Für die Extrakte mit fett gesetzten laufenden Nummern sind in Tabelle 3 die Werte für die Hemmung der viralen Nucleinsäuresynthese dargestellt.

Extrakt Nr.	Code IGV	Herpes simplex/VERO-Zellen		Influenza/MDCK-Zellen	
		Extrakt-konzentration [$\mu\text{g/ml}$]	Faktor 10^x	Extrakt-konzentration [$\mu\text{g/ml}$]	Faktor 10^x
2	1.2	25	3		
3	1.3	10	3	25	3
5	2.2	100	komplette Hemmung		
		10	1,5		
6	2.3	1	2	25	3

Tabelle 3: Einfluss von im Screeningassay wirksamen Extrakten auf die Virusnukleinsäuresynthese

Bei den Herpes simplex/VERO-Zellen wird die Nukleinsäuresynthese durch die antiviral aktiven Extrakte in unterschiedlichem Ausmaß gehemmt - bis zur vollständigen Hemmung bei 100 $\mu\text{g/ml}$. Bei den Influenza/MDCK-Zellen ergibt sich eine vergleichbare Hemmung bei den Extrakten (3) und (6).

Bei den methanollöslichen Extrakten (1) und (6) lag geringfügige Zytotoxizität für VERO-Zellen in Konzentrationen von 6,25 und 25 $\mu\text{g/ml}$ vor. Gegenüber MDCK-Zellen zeigten alle Extrakte bis zur höchsten getesteten Substanzkonzentration von 100 $\mu\text{g/ml}$ keinen zytotoxischen Hemmeffekt auf die Zellproliferation.

2.2. Antivirale Aktivität

Die Ergebnisse der Analysen zur antiviralen Aktivität sind in Tabelle 2 dargestellt.

Gegenüber Herpes-simplex-Virus (HSV) zeigten im Screeningassay vier Extrakte (2), (3), (5) und (6) klares antivirales Potential mit Schutzwirkungen über 80 %.

Die höchste Aktivität wurde für den wasserlöslichen Extrakt (3) bestimmt, bei dem bei einer Konzentration von 1,56 $\mu\text{g/ml}$ ein 100%iger Schutz ermittelt wurde.

Gegenüber Influenza-Virus zeigten zwei Extrakte (2) und (6) ein deutliches antivirales Potential. Bei Konzentrationen von 12,5 bzw. 6,25 $\mu\text{g/ml}$ wurde ein Schutz von 75 bzw. 83% nachgewiesen.

Die Extrakte (7) und (8) sind aus nicht aus Burma stammender Spirulina nach demselben Verfahren gewonnen worden wie die anderen Extrakte. Bei ihnen konnte keine antivirale Aktivität nachgewiesen werden.

2.3 Virale Replikationshemmung

Bei Extrakten, die ein antivirales Potential im Screeningassay gezeigt hatten, wurde der Einfluss auf die viruspezifische Nukleinsäuresynthese geprüft (Tabelle 3).

Bei allen aktiven Extrakten war die Virusnukleinsäure-Synthese signifikant reduziert. Für den Extrakt (5) wurde bei 100 $\mu\text{g/ml}$ eine vollständige Hemmung der Herpes-simplex-Virus-Replikation nachgewiesen.

Bei den Extrakten (2) und (3) ist bei einer Konzentration von 25 bzw. 10 $\mu\text{g/ml}$ eine Reduktion der Virusmenge um den Faktor 1.000 bezogen auf Herpes-simplex-Virus und Influenza-Virus bestimmt worden.

Für die beiden gegen Influenza wirksamen Extrakte (3) und (6) wurden die Ergebnisse des Screeningassays ebenfalls bestätigt. Der Reduktionsfaktor beträgt auch hier 1000.

Insgesamt zeigten von den acht evaluierten Extrakten zwei (3) und (6) sowohl gegen Herpes-simplex-Virus als auch gegen Influenza-Virus antivirale Aktivität.

Für die beiden Extrakte (2) und (5) konnte ein antivirales Potential gegen Herpes-simplex-Virus bestimmt werden. Gegen Influenza sind sie nicht wirksam.

3. Diskussion

Naturprodukte sind in Abhängigkeit z.B. von der Herkunft verschieden, wie auch diese hier vorgestellten Ergebnisse zeigen. Sie unterscheiden sich z.B. in den bedeutenden Kriterien Gehalt an Spirulan und in dem Ausmaß der antiviralen Wirkung. Spirulina ist nicht gleich Spirulina.

Die Daten zeigen, dass es Spirulina-Stämme gibt, aus denen sich mit wässrigen bzw. methanolischen Medien kein antiviral wirksamer Extrakt gewinnen lässt, wohingegen die aus

den Kraterseen Burmas stammende Spirulina in Abhängigkeit vom Extraktionsverfahren hoch wirksame Extrakte liefert.

Die Ergebnisse zeigen, dass Burma-Spirulina-Extrakte in-vitro einen zellulären Schutz von 80 bis 100 % bei Herpes simplex Viren sowie von 75 bis 83 % bei Influenza-Viren bieten. Andere geprüfte Extrakte gewähren in beiden Modellen keinen Schutz.

Die antivirale Wirkung geht mit einer Hemmung der viralen Nukleinsäuresynthese einher. Alle als antiviral identifizierten Extrakte reduzieren signifikant die Vermehrungsfähigkeit der Viren bis zur vollkommenen Hemmung. Das spricht für einen Wirkungsmechanismus, der in der Hemmung der viralen Nukleinsäuresynthese zu suchen ist. Ganz offensichtlich gibt es bei dem Mechanismus der Hemmung des Eindringens der Viren in die Wirtszellen durch die Extrakte bei den beiden Virentypen deutliche Unterschiede. Das ist bei den Extrakten (2) und (5) offensichtlich. Bisher gibt es dafür keine Erklärung.

Bei dem Extrakt (3) bedarf es vermutlich der ca. 10-fachen Konzentration, um im Influenza-System vergleichbare Hemmung zu erreichen wie im Herpes-System. Beim Extrakt (6) handelt es sich schätzungsweise um den Faktor 4. Es ist denkbar, dass die beiden Extrakte (2) und (5) bei noch höheren Konzentrationen doch noch eine Hemmung eintreten lassen.

Die Ergebnisse unterstützen die Sicht, dass Spirulina ein ganz besonderes Lebensmittel ist, das Inhaltsstoffe mit für die Gesundheit äußerst bedeutsamen Wirkungen enthält. Spirulina aus Burma nimmt hierbei eine herausragende Stellung ein.

Keywords: Spirulina platensis; Arthrospira platensis; Burma; Myanmar; Hemmung; antivirale Aktivität; wässrige Extrakte; methanolische Extrakte; Spirulan; Calcium-Spirulan; Ca-Sp; Herpes; Influenza; in-vitro.

Literatur beim Autor anfordern.