

Institute of Pharmaceutical Sciences,- Pharmacognosy
University of Graz



Universitätsplatz 4
8010 Graz
Austria

Telefon 0043 (316) 380-8700
Telefax 0043 (316) 380-9860
e-mail rudolf.bauer@uni-graz.at

29.08.2019

Abschließender Verwendungsnachweis

Joint Research Project of the TCM Research Cluster Austria, together with the Sino-Austrian Collaborating Centre for Chinese Medical Sciences

Sino-Austrian TCM research on lifestyle related diseases:

PP03: Interaction of Chinese herbal medicine with the human intestinal microbiome in order to treat and prevent lifestyle related diseases

PI: Prof. Dr. Rudolf Bauer, *University of Graz, Institute of Pharmaceutical Sciences / TCM
Research Center Graz*

Project Partners in Austria:

- Dr. Eva-Maria Pferschy-Wenzig, *Karl-Franzens-Universität Graz, Institute of Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacognosy, Universitätsplatz 4/I, 8010 Graz, Austria*
- Mag. Pharm. Xuehong Nöst (geb. Gao), *Karl-Franzens-Universität Graz, Institute of Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacognosy, Universitätsplatz 4/I, 8010 Graz, Austria*
- Prof. Dr. Christine Moissl-Eichinger, *Medical University of Graz*
- Assoc. Prof. Dr. Yan Ma, *Department of Pathophysiology and Allergy Research, Center of Pathophysiology, Infectiology & Immunology, Medical University Vienna, Waehringer Guertel 18-20, 1090 Vienna, Austria*

Project Partners in China:

- Prof. Dr. TONG Xiaolin, *Endocrinology, Guang'anmen Hospital, CACMS, Room 432, Administration Building, 5 Beixiang Street, Xuanwu District, Beijing 100053, China*
- Prof. Dr. LI Min, *Endocrinology, Guang'anmen Hospital, CACMS, Administration Building, 5 Beixiang Street, Xuanwu District, Beijing 100053, China*
- Prof. Dr. TIAN Jiaying, *Endocrinology, Guang'anmen Hospital, CACMS*
- Academician Prof. Dr. HUANG Luqi, *Institute of Chinese Materia Medica, CACMS*
- Dr. BIAN Yanqin, *Institute of Basic Research in Clinical Medicine, CACMS*
- Prof. Dr. Liu Yong, *Beijing University of Chinese Medicine*

Zielsetzung des Projektes:

Das Darmmikrobiom hat großen Einfluss auf die menschliche Gesundheit. Änderungen der Darmflora können dazu führen, dass Lebensstil bedingte Krankheiten wie Allergien, Asthma, Morbus Crohn und Colitis auftreten. In diesem Kooperationsprojekt sollte die klassische TCM Mischung **Huang Qi Jian Zhong Tang** 黄芪建中汤, die bei derartigen Erkrankungen eingesetzt wird, sowie seine Einzelkomponenten Astragali radix, Huang Qi 黄芪, Paeoniae Radix, Shao Yao 芍药, Cinnamomi ramulus, Gui Zhi 桂枝, Glycyrrhizae praeparatae radix, Zhi Gang Cao 炙甘草, Zingiberis Rhizoma recens, Sheng Jiang 生姜, Jujubae fructus, Da Zao 大枣 und Zucker 饴糖 phytochemisch und pharmakologisch untersucht werden um Qualitätsprüfungsmethoden zu entwickeln und den Wirkungsmechanismus aufzuklären. Besonderes Augenmerk sollte auf die Untersuchung der Auswirkungen von Huang Qi Jian Zhong Tang auf das Darmmikrobiom gesetzt werden, sowie auf die Frage, wie Darmbakterien die Bestandteile der enthaltenen Pflanzen verstoffwechseln. Die Metabolisierung der Inhaltsstoffe und die mögliche Bildung neuer Verbindungen sollen durch einen LC-MSⁿ Metabolomics Ansatz untersucht werden. Die immunmodulatorische Wirkung der Abkochung vor und nach der Inkubation sollte von Prof. Ma Yan, Wien (Pro-inflammatorische Zytokine IL-6, IL-8 und TNF- α) und Dr. BIAN Yanqin, Beijing (IL4, IL-1 β , IL-10, IF γ expression *in-vivo*). untersucht werden. Aktivität und Inhaltsstoffe sollten durch multivariate Analyse zur Ermittlung der für die Aktivität relevanten Verbindungen korreliert werden. Für die Qualitätskontrolle sollten DC und HPLC-Methoden entwickelt werden.

Weiters sollte die TCM-Mischung **Gegen Qinlian Decoction** (GQD) untersucht werden, welche aus Gegen 葛根 (Radix Puerariae), Huangqin 黄芩 (Radix Scutellariae), Huanglian 黄连 (Rhizoma Coptidis), und Zhi Gancao 炙甘草 (Honey-fried Licorice Root) zusammengesetzt ist. Sie wurde schon im Shang Han Lun zur Behandlung von Durchfall beschrieben und sie soll in Tierversuchen sowie in einigen klinischen Beobachtungen positive Effekte bei der Behandlung von Diabetes gezeigt haben. Typ-2-Diabetes-Patienten, die mit einer hohen Dosis von GQD über 3 Monate behandelt worden waren, zeigten eine Reduktion HbA1c von 9,2 % auf 1,79 % (Tong XL, Zhao HL, Lian FM, Zhou Q, Xia L, Zhang JC et al. (2011). Darüber hinaus konnte kürzlich gezeigt werden, dass GQD Behandlung nützliche Bakterien, wie z. B. *Faecalibacterium* spp. in der Darmflora stimuliert, was mit den antidiabetischen Effekten von GQD zusammen hängen könnte (Xu, J.; Lian, F.; Zhao, L.; Zhao, Y.; Chen, X.; Zhang, X.; Guo, Y.; Zhang, C.H.; Zhou, Q.; Xue, Z.S.; et al. *ISME J.* 2014, 9, 552–562).

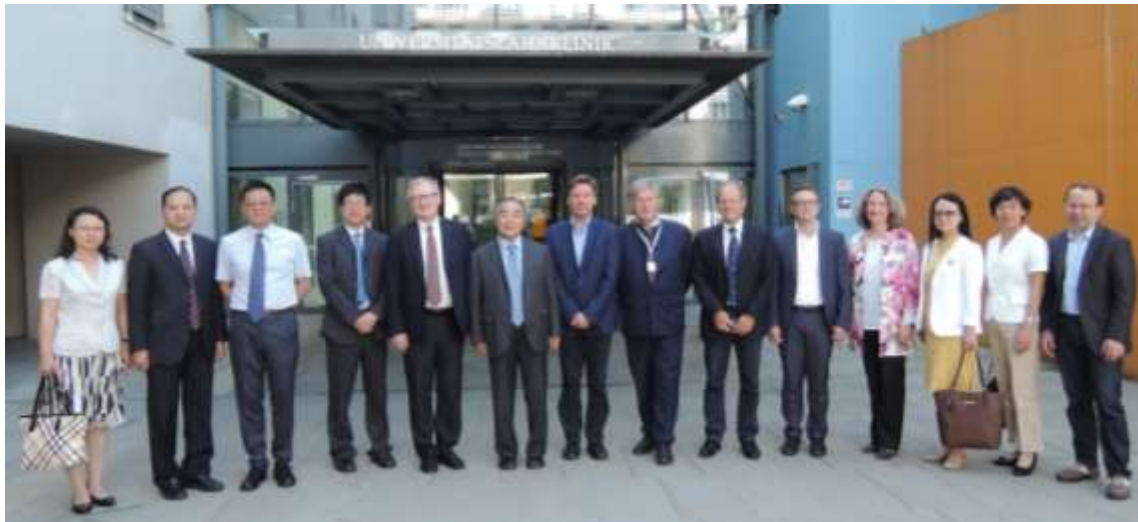
Wir wollten nun mit einem Metabolomics-Ansatz untersuchen, wie Darm Microbiota die Bestandteile dieser Kräuter verstoffwechseln und welche Bestandteile für diesen Effekt verantwortlich sind.

1. Sachbericht

1.1. Beschreibung und Ergebnisse des Projektverlaufes

Kick-Off Meeting des Gesamtprojektes in Wien

Am 5. Juli 2016 fand ein Kick-Off Meeting mit Projektpartnern und Vertretern der China Academy of Chinese Medical Sciences in Wien statt, das vom Eurasia-Pacific Uninet organisiert wurde. Dabei wurden Einzelprojekte vorgestellt und auch Grundsatzreferate gehalten (unter anderem durch den Präsidenten der CACMS, Prof. Zhang Boli und den Präsidenten des Eurasia-Pacific Uninets, Prof. Wolf Dieter Rausch). Es wurde auch ein MOU zwischen EPU und CACMS für die weitere Zusammenarbeit unterzeichnet.

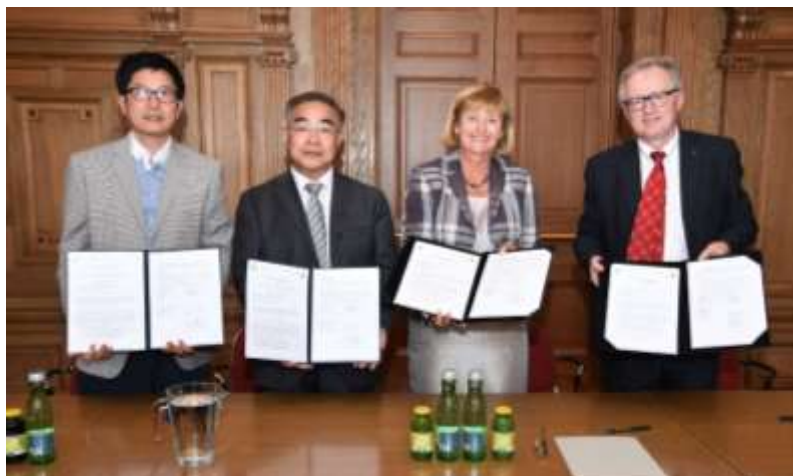


Die chinesische Delegation und österreichische Projektpartner beim Kick Off Meeting in Wien

Am 6. Juli besuchte die chinesische Delegation die Medizinische Universität und die Karl-Franzens-Universität in Graz. Es fanden Gespräche mit den Projektpartnern in Graz (Prof. Litscher, Prof. Brantner, und Prof. Bauer) und mit den Rektoraten der beiden Universitäten statt. Es wurde ein MOU zwischen der CACMS und der KFU Graz über die weitere Zusammenarbeit unterzeichnet.



Die chinesische Delegation und Grazer Projektpartner beim Besuch an der KFU in Graz



Unterzeichnung des MOU zwischen der CACMS und der KFU Graz

Projekt-Meeting 2017 in Peking

Das Projekt-Meeting 2017 wurde von der CACMS organisiert und fand von 22. -23. Mai 2017 in Peking statt. Alle KooperationspartnerInnen aus Österreich und China nahmen am Meeting teil und berichteten von ihren Fortschritten. Insgesamt wurden 18 Vorträge gehalten. Das Programm liegt dem Bericht bei.



Projekt-Meeting von 22. -23. Mai 2017 in Peking



TeilnehmerInnen am Projekt-Meeting von 22. -23. Mai 2017 in Peking

Als Gastgeber fungierten Prof. Yang Longhui, Vice President, CACMS, und Dr. Song Ping, Director, Department of International Cooperation, CACMS. Am Meeting nahmen auch Mr. Wu Zhendou, Deputy Director-General, Department of International Cooperation, SATCM, sowie in Vertretung des BMWFW Herr. Philipp Agathonos, Direktor des Office of Science and Technology, Austrian Embassy, Beijing, teil.

Von Seiten der Universität Graz hat auch Dr. Peter Riedler, Vizerektor für Finanzen, Ressourcen und Standortentwicklung am Meeting teilgenommen, um mit Vertretern des CACMS die Etablierung des TCM Co-Research Centers an der Universität Graz zu besprechen.



Besprechung von Vizerektor der KFU Graz, Dr. Peter Riedler, mit Prof. Yang Longhui, Vice President, CACMS



Prof. Yang Longhui, Vice President, CACMS, Prof. Rudolf Bauer und VR Dr. Peter Riedler beim Projekt-Meeting 2017 in Peking

Am 26.6.2017 besuchte schließlich eine hochrangige Delegation der China Academy of Chinese Medical Sciences die Universität Graz, um das Abkommen über die Errichtung eines Co-Research Centers im Bereich der Erforschung von Arzneipflanzen der traditionellen chinesischen Medizin zu unterzeichnen.

Das Co-Research Center wird in das bereits seit 10 Jahren bestehende und von Prof. Bauer initiierte interuniversitäre TCM Forschungszentrum Graz integriert werden. Es soll der Förderung der wissenschaftlichen Zusammenarbeit, dem technologischen Austausch, Training von WissenschaftlerInnen, und innovativem Team-Building zur Entwicklung traditioneller Arzneimittel in China und Österreich dienen. Als Projektleiter fungieren Prof. Adelheid Brantner, die mit Prof. Bian Baolin vom Institute of Materia Medica ein Projekt zur Qualitätskontrolle von chinesischen pflanzlichen Arzneimitteln durchführt, und Prof. Rudolf Bauer, der in Kooperation mit Prof. Li Min und Prof. Tong Xiaolin, Biology Research Office of Guang'an Men Hospital, ein Projekt zur Erforschung der Wirkstoffe und Wirkungsmechanismen von chinesischen Kräutermischungen gegen chronische, lebensstilbedingte Erkrankungen, wie Diabetes, unter Einbeziehung der Interaktion mit dem Darmmikrobiom erforscht.

In Graz wurde am 26.6.2017 vom Vizepäsidenten der CACMS Prof. Yang Longhui, von Vizerektor Peter Riedler, von Vizedekan Prof. Karl Lohner und Prof. Bauer, Leiter des Instituts für Pharmazeutische Wissenschaften, im Beisein von Prof. Wolf-Dieter Rausch, Präsident von Eurasia-Pacific UniNet, der Kooperationsvertrag unterzeichnet und feierlich die Plakette enthüllt.



Unterzeichnung des Abkommen zwischen der CACMS und der KFU Graz über die Errichtung eines Co-Research Centers im Bereich der Erforschung von Arzneipflanzen der traditionellen chinesischen Medizin

Von 2. – 5. Juli 2017 fand in Graz der XXI. International Congress "Phytopharm 2017" statt, bei dem auch das 10-jährige Jubiläum des TCM Forschungszentrums Graz gefeiert wurde.



XXI. International Congress "PhytoPharm 2017" mit Feier des 10-jährigen Jubiläums des TCM Forschungszentrums Graz, 2.-5. Juli 2017 in Graz

Prof. Dr. Kelvin Chan, Liverpool John Moores University, UK, hielt den Eröffnungsvortrag mit dem Titel "Challenges in the integration of TCM into conventional western medicine practice".

Projekt Meeting in Wien, 10.-11. Juli 2018

Eine zwölköpfige Delegation des China Academy of Chinese Medical Sciences, inklusive Professor Yang Longhui, Vice President des CACMS, reiste nach Wien. Als Gastgeber fungierten die Universität Wien und Eurasia-Pacific Uninet. Insgesamt wurden 17 Vorträge gehalten, in denen die Wissenschaftler über ihre Forschungsfortschritte berichteten. Das Programm liegt dem Bericht bei.



Projekt Meeting in Wien, 10.-11. Juli 2018

Projekt Meeting in Peking, 15.-16. April 2019

Das abschließende Projekt Meeting 2019 fand wieder bei den Partnern in Peking statt. Die österreichische Delegation bestand aus Prof. Dr. Rudolf Bauer, Prof. Dr. Wolf-Dieter Rausch, Prof. Dr. Gerhard Litscher, Prof. Dr. Ma Yan, Prof. Dr. Christian Huck, Prof. Dr. Markus Ganzera, Mag. Xuehong

Gao und Mag. Stefanie Nagel vom BMBWF. Sowohl die österreichischen als auch die chinesischen Teilnehmer berichteten über ihre Forschungsergebnisse der letzten drei Jahre. Das Programm des Meetings ist dem Bericht beigelegt.



Abschließendes Projekt Meeting in Peking, 15.-16. April 2019

Am ersten Tag (15. April) wurden die Berichte über das auslaufende Projekt präsentiert. Sie wurden von chinesischer Seite alle akzeptiert.

Am Dienstag wurde den ganzen Tag über eine vierte Projektphase diskutiert. Prof. Bauer hat dazu ein Konzept vorgestellt, bei dem alle Arbeitsgruppen mit ihrer unterschiedlichen Expertisen in verschiedenen Work Packages zum gemeinsamen Projektthema (TCM Research in Geriatric and Metabolic Diseases) beitragen. Das Konzept gleicht dem Aufbau eines EU Projektes (inkl noch zu definierender Milestones und Deliverables). 12-14 österreichische Arbeitsgruppen wären an einer Mitarbeit interessiert, und insgesamt 27 chinesische Arbeitsgruppen hätten Interesse, mit uns zu kooperieren. Die einzelnen Arbeitsgruppen haben sich kurz vorgestellt.

Bei der Annahme eines Projektvolumens auf österreichischer Seite von 200.000 - 300.000 Euro für 3 Jahre pro Arbeitsgruppe, wird klar, dass es sich um ein sehr großes Projekt handeln würde. Vermutlich dieselbe Summe (ca. 30 Millionen RMB) würde auch die chinesische Seite benötigen. Es könnte ein "Leuchtturmprojekt" mit der Thematik "TCM for geriatric and metabolic diseases" werden.

Es wurde diskutiert, wie man das Projekt etwas fokussieren könnte, und es wurde eine thematische Einschränkung auf zwei Bereiche vorgeschlagen:

- 1) Metabolic syndrome/diabetes
- 2) Inflammation related diseases (cardiovascular disease).

Als Übergangsphase wurden Projekte im Rahmen der "Intergovernmental Science and Technology Innovation Cooperation" beantragt, welche auf österreichischer Seite über das WTZ Programm gefördert werden, wobei hauptsächlich Mobilitätskosten erstattet werden.

Project Part 03: Interaction of Chinese herbal medicine with the human intestinal microbiome in order to treat and prevent lifestyle related diseases

Bereits am 30.5.2016 wurde dem BMFWF mitgeteilt, dass ein Amendment des ursprünglichen Projektantrages von PP03 notwendig ist, da der ursprünglich vorgesehene Projektpartner, Prof. Lu Aiping, nun in Hong Kong und nicht mehr für die CACMS tätig ist. Es wurde von der CACMS ein neuer Partner vorgeschlagen, der zum Projekt passt, und mit dem am 22.3.2016 ein Meeting in Peking stattfand: Prof. Tong Xiaolin und seine Mitarbeiterin Prof. Dr. Li Min. Prof. Tong Xiaolin ist ein sehr gut ausgewiesener, international anerkannter Wissenschaftler, der bestens in unser Projekt passt, und der auch bereits einschlägig in erstklassigen internationalen Journalen publiziert hat. Daher wurde zusätzlich die Kräutermischung Gegen Qinlian Decoction (GQD) in das Projekt aufgenommen, mit der er schon klinische Voruntersuchungen gemacht hat. Der entsprechend adaptierten Forschungsplan wurde am 9.6.2016 durch Herr MR Mag. Stephan Neuhäuser genehmigt.

Das Projekt wurde am 10.6.2016 am TCM-Forschungszentrum / Institut für Pharmazeutische Wissenschaften der Universität Graz begonnen.

Als Mitarbeiterin haben bisher auf österreichischer Seite Frau Mag. pharm. *Stefanie Nikles*, Frau Mag. pharm. Dr. *Eva-Maria Pferschy-Wenzig*, Frau *Alexandra Roßmann*, BSc, MSc, sowie als technischer Assistent Herr Mag. pharm. Dr. *Volker Wolkinger* mitgewirkt. Die Arbeiten laufen derzeit als Teil der Dissertation von Frau Mag. pharm. *Xuehong Nöst*, geb. *Gao*.

Am 21. Mai 2017 fand in Peking ein weiteres Projektmeeting mit Prof. Dr. Tong Xiaolin und Prof. Dr. Li Min vom Guang'anmen Hospital der CACMS statt um die Arbeitsteilung und den weiteren Projektverlauf zu besprechen.



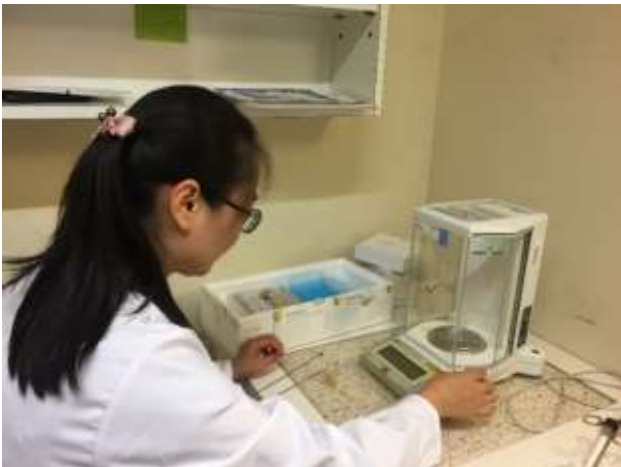
Projektmeeting mit Prof. Dr. Tong Xiaolin und Prof. Dr. Li Min

Am 11. Juli 2018 nutzte Prof. Dr. Li Min nach dem Projekt Meeting in Wien die Gelegenheit, um die Universität Graz zu besuchen. Dabei fand ebenfalls ein Meeting zwischen Prof. Dr. Rudolf Bauer und Prof. Dr. Li Min statt, um den weiteren Projektverlauf zu besprechen.



Mobilität

Im Juni bis Juli 2017 bekam Dr. Yu Xiaotong durch ein Erst-Mach Stipendium des EPU und ÖAD die Möglichkeit, einen Teil der gemeinsamen Forschungsarbeit in Graz durchzuführen. Während dieser Zeit unterstützte sie Mag. Xuehong Gao bei der Extraktion der Proben sowie bei der Durchführung der Versuche zur Vorverdauung und Inkubation von mGQD.



Oktober bis November 2018 verbrachte Mag. Xuehong Gao in Peking, um die Inkubationsversuche von vorverdaulichem mGQD mit Stuhlsuspensionen von chinesischen Spendern durchzuführen.

Während dieser Zeit arbeitete sie eng mit Wissenschaftlern der Guang'anmen Hospitals sowie Forschern der CACMS zusammen. Insgesamt wurden die Proben mit Darmmikrobiom von jeweils fünf gesunden und fünf an T2D erkrankten Spendern inkubiert und mittels LC-MS und 16S DNA Sequenzierung analysiert.

April bis September 2019: Durch ein Ernst-Mach-Stipendium des EPU und ÖAD hat derzeit Dr. Zheng Yujiao ebenfalls die Möglichkeit, Teile des gemeinsamen Forschungsprojektes in den Laboratorien von Graz durchzuführen.

1.2. Übersicht über die Projektergebnisse

1.2.1 Untersuchungen der Mischung Huangqi Jianzhong Tang

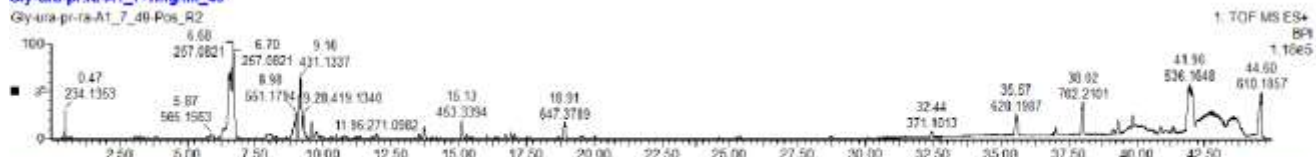


Die Extrakte der Mischung **Huangqi Jianzhong Tang** und der enthaltenen einzelnen Kräuter wurden mittels ASE und LLE hergestellt. In Kooperation mit der Firma Waters, Milford, USA, wurden die Proben mittels UPLC-QTOF MS analysiert. Zugleich wurden dieselben Proben pharmakologisch auf ihre hemmende Wirkung auf Produktion von TNF- α , IL-1 β und IFN- γ in U937 Zellen getestet. Die LC-MS Daten wurden mit dem Programm UNIFI (Waters) prozessiert und ausgewertet. Mittels der Software SIMCA wurden diese Daten dann mit den Daten aus den pharmakologischen Untersuchungen korreliert um wirkungsrelevante Substanzen aus den Kräutern zu identifizieren. Insgesamt konnten anhand dieser Vorgangsweise 16 Inhaltsstoffe („Hits“) gefunden werden, die für die anti-inflammatorische Wirkung verantwortlich sein könnten. Sieben dieser Inhaltsstoffe konnten durch Vergleich ihrer LC-MS Daten mit authentischen Referenzsubstanzen zweifelsfrei identifiziert werden.

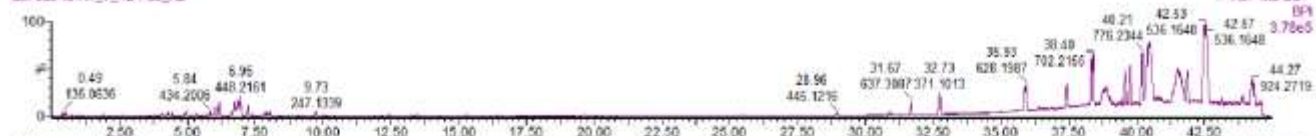
Daraufhin wurden diese sieben Reinsubstanzen demselben pharmakologischen Test unterzogen, um die Aussagekraft der statistischen Vorhersage zu unterstützen. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Substanzen, die SIMCA als wirkungsrelevant erkannt hatte, tatsächlich zu einer verringerten Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine beitragen. Ein Manuskript zur Publikation dieser Ergebnisse wurde im Fachjournal „Molecules“ publiziert (Nöst, X.; Pferschy-Wenzig, E.-M.; Nikles, S.; He, X.; Fan, D.; Lu, A.; Yuk, J.; Yu, K.; Isaac, G.; Bauer, R. Identification of Constituents Affecting the Secretion of Pro-Inflammatory Cytokines in LPS-Induced U937 Cells by UHPLC-HRMS-Based Metabolic Profiling of the Traditional Chinese Medicine Formulation Huangqi Jianzhong Tang. *Molecules* 2019, 24(17), 3116)

Base Peak UPLC-QTOF MS Chromatogramme von Huangqi Jianzhong Tang (Butanol Fraktionen der Einzelkräuter und der Mischung):

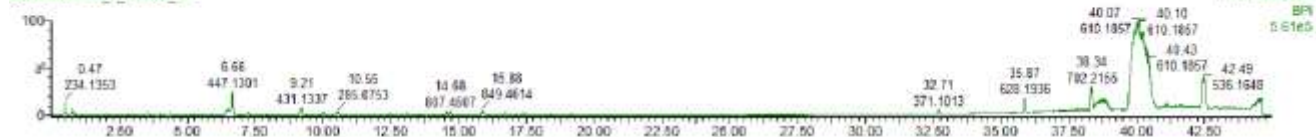
Gly-ura-pr-ra-A1_7-1mg/ml_49



Cin-cas-ra-A1_7_42-Pos_R2



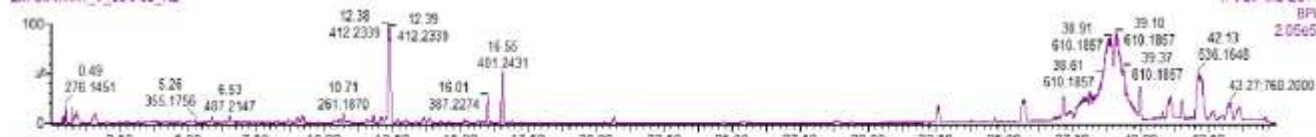
Asi-mem-ra-A1_7_14-Pos_R2



Ziz-ju-fr-A1_7-1mg/ml_70



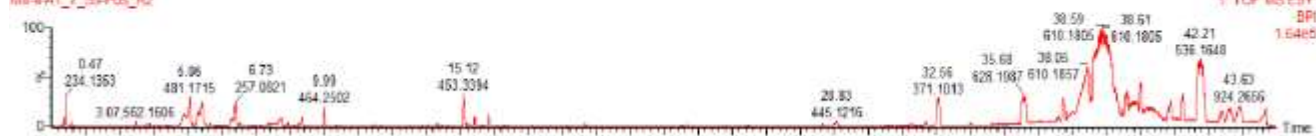
Zin-off-ra-A1_7_63-Pos_R2



Pan-ae-ra-A1_7_56-Pos_R2



Mis-8-A1_7_35-Pos_R2



Ergebnisse der pharmakologischen Untersuchungen von Huangqi Jianzhong Tang und enthaltenen Kräutern:

	<i>TNF-α</i> :	<i>IL-1β</i> :	<i>IFN-γ</i> :	<i>IL-4</i> :
class 1 (active)	70-100	60-100	70-100	40-100
class 2 (moderately active)	35-69	40-59	45-69	20-39
class 3 (inactive)	0-34	0-39	0-44	0-19

<i>Pflanze</i>	<i>Extrakt</i>	<i>TNF-α</i> <i>inhibition %</i>	<i>TNF-α</i> <i>class</i>	<i>IL-1β</i> <i>inhibition %</i>	<i>IL-1β</i> <i>class</i>	<i>IFN-γ</i> <i>inhibition %</i>	<i>IFN-γ</i> <i>class</i>	<i>IL-4</i> <i>inhibition %</i>	<i>IL-4</i> <i>class</i>
Huangqi Jianzhong Tang	ASE n-Hexane	96.25	1	72.24	1	73.07	1	-35.19	3
	Ase Dichlormethan	85.58	1	68.33	1	71.21	1	34.24	2
	ASE Methanol	87.74	1	67.45	1	59.45	2	45.27	1
	Dekokt Dichlormethan	83.92	1	59.61	1	61.43	2	29.46	3
	Dekokt Ethylacetat	92.93	1	63.06	1	77.16	1	34.59	2
	Dekokt Butanol	92.35	1	53.87	2	70.27	1	32.45	2
Radix Astragali	Dekokt Dichlormethan	95.74	1	61.37	1	77.76	1	44.56	1
	Dekokt Ethylacetat	71.51	1	45.71	2	44.33	3	13.33	3
	Dekokt Butanol	98.34	1	70.85	1	80.38	1	34.30	2
Ramulus Cinnamomi	Dekokt Dichlormethan	93.80	1	64.27	1	76.74	1	34.99	2
	Dekokt Ethylacetat	39.77	2	52.68	2	36.77	3	17.07	3
	Dekokt Butanol	92.82	1	56.01	2	69.79	3	34.31	2
Radix et Rhizoma Glycyrrhizae prae cum melle	Dekokt Dichlormethan	79.91	1	51.61	2	55.27	2	14.68	3
	Dekokt Ethylacetat	97.68	1	67.95	1	78.78	1	35.47	2
	Dekokt Butanol	-59.18	3	2.76	3	-30.71	3	-87.61	3
Radix Paeoniae alba	Dekokt Dichlormethan	-9.86	3	17.64	3	66.56	2	27.23	3
	Dekokt Ethylacetat	-74.63	3	12.30	3	63.83	2	21.79	3
	Dekokt Butanol	40.34	2	25.59	3	73.83	1	2.08	3
Rhizoma Zingiberis recens	Dekokt Dichlormethan	97.80	1	61.16	1	73.27	1	19.34	3
	Dekokt Ethylacetat	85.27	1	46.49	2	74.35	1	24.62	3
	Dekokt Butanol	-25.24	3	-32.59	3	-15.11	3	-4.31	3
Fructus Jujubae	Dekokt Dichlormethan	0.54	3	18.65	3	72.93	1	18.61	3
	Dekokt Ethylacetat	-34.79	3	23.82	3	72.79	1	18.78	3
	Dekokt Butanol	-43.63	3	15.61	3	71.86	1	4.10	3

Zusammenfassung aller tentativ identifizierten „Hits“ aus der multivariaten Datenanalyse

<i>RT (min)</i>	<i>detected m/z (ESI+)</i>	<i>(Tentative) identification</i>	<i>Origin</i>	<i>Mono-isotopic mass (g/mol)</i>	<i>molecular formula</i>	<i>MS/MS Fragment ions</i>	<i>Pharmacological activity predicted by OPLS-DA</i>	<i>p[1]</i>	<i>po[1]</i>
4.82	481.1702 3	Albiflorin *	RP	480.16 3	C23H28O1 1	197, 151, 133	IFN- γ	- 0.065006 8	- 0.011131 3
5.34	503.1522 7	Paeoniflorin * (Na-Adduct)	RP	480.16 3	C23H28O1 1	179, 151, 133	IFN- γ	- 0.071978 2	- 0.011290 9
6.48	447.1285	Calycosin-7-O-beta-D-glucoside or isomer	RA	446.12 1	C22H22O1 0	270, 253, 225, 137	TNF- α	- 0.068744 3	0.132943
8.39	503.1522	Albiflorin isomer (Na-Adduct)	RP	480.16 3	C23H28O1 1	219, 197, 133, 105	IFN- γ	- 0.056287 3	- 0.010941 3
9.82	257.0816 1	Liquiritigenin *	RRGP	256.07 4	C15H12O4	137, 147, 119, 261, 91, 81, 215, 159	TNF- α IL-1 β	- 0.053515 4	- 0.017502 7
9.98	464.2489	Pinen-10-yl- β -vicianoside (NH4-Adduct)	RP	446.21 5	C21H34O1 0	133, 127, 115	IFN- γ	- 0.043800 6	-0.005821
10.01	301.1075	3-Hydroxy-9,10-dimethoxypterocarpan or isomer	RA	300.1	C17H16O5	269, 191, 167, 152, 147, 133, 123, 105	TNF- α IL-1 β	- 0.076760 8	0.176659 0.113695
10.51	285.0765 6	Calycosin *	RA	284.06 8	C16H12O5	270, 253, 225, 229, 241, 137	TNF- α , IL-1 β	- -0.151342 -0.167255	0.247407 0.258227
10.94	315.0866	Odoratin	RA	314.07 9	C17H14O6	300, 283, 259, 255, 244, 167	IL-1 β	- 0.058303 3	0.116079

13.77	269.0816 5	Formononetin *	RA	268.07 4	C16H12O4	237, 209, 213, 225, 136	TNF- α IL-1 β	-0.135887 -0.153853	0.108774 0.218006
14.15	301.1077	3-Hydroxy-9,10- dimethoxypterocarpan or isomer	RA	300.1	C17H16O5	269, 191, 167, 152, 147, 133, 123, 105	TNF- α IL-1 β	- 0.053551	0.089137 2 0.166495
15.87	1653.943 9	Astragaloside II (dimer)	RA	798.44	C41H66O1 5	647, 629, 491, 473, 455, 437, 419	TNF- α	- 0.055883	0.154538
18.39	1737.966 3	Astragaloside I * (dimer)	RA	868.48 2	C45H72O1 6	689, 671, 653, 491, 473, 455, 437, 419, 297	TNF- α IL-1 β	- 0.083168	0.219044 0.1784
19.15	1737.963 3	Astragaloside I isomer (dimer)	RA	868.48 2	C45H72O1 6	671, 653, 491, 473, 455, 437, 419, 297	TNF- α IL-1 β	- 0.082703	0.216071 0.178967
20.22	1737.963 2	Astragaloside I isomer (dimer)	RA	868.48 2	C45H72O1 6	851, 833, 689, 671, 653, 491, 473, 455, 437, 419, 297	TNF- α	- 0.057148	0.146308
24.71	471.3464	18 β -Glycyrrhetic acid *	RRGP	470.34	C30H46O4	453, 235, 217, 189, 175, 189	TNF- α	- 0.054253	- 0.034853

Abkürzungen: RP - Radix Paeoniae Alba; RA - Radix Astragali; RRGP - Radix et Rhizoma Glycyrrhizae Preparata cum Melle;

* sicher identifiziert mittels Vergleich der Daten und Spektren mit authentischen Referenzsubstanzen.

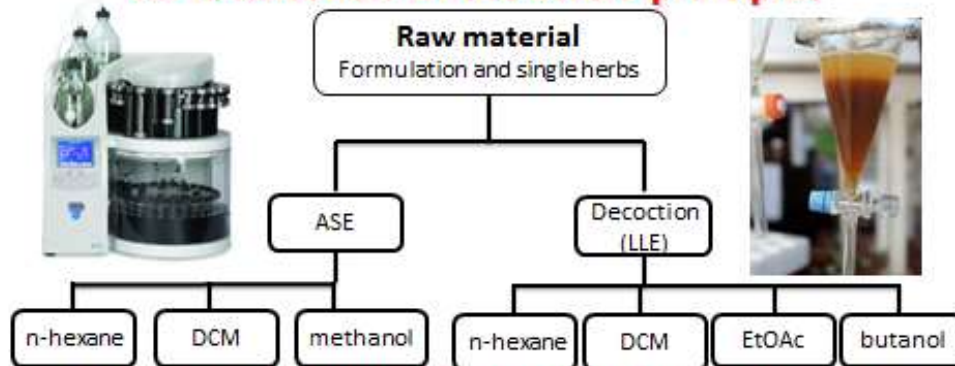
1.2.3 Untersuchungen der Mischung Gegen Qinlian Decoction (GQD)



Gegen Qinlian Decoction (GQD): 8g Gegen 葛根 (Radix Puerariae), 3g Huangqin 黄芩 (Radix Scutellariae), 3g Huanglian 黄连 (Rhizoma Coptidis), and 2g Zhi Gancào 炙甘草 (Honey-fried Licorice Root)

Zunächst wurden Extrakte von der Mischung Gegen Qinlian Decoction und den darin enthaltenen Kräutern hergestellt. Die einzelnen Kräuter wurden mittels ASE (beschleunigte Lösungsmittel-extraktion) sukzessive mit *n*-Hexan, Dichlormethan und Methanol extrahiert. Zusätzlich dazu wurden Dekokte der einzelnen Kräuter und der Mischung nach der Methode von Prof. Dr. Tong Xiaolin zubereitet und mittels Flüssig-Flüssig-Chromatographie fraktioniert. Dazu wurden die eingengten Dekokte sukzessive mit je 3x30ml *n*-Hexan, Dichlormethan, Ethylacetat und Butanol ausgeschüttelt. Alle Extrakte wurden unter Stickstoff getrocknet.

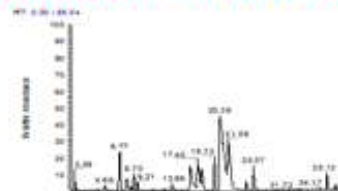
Extraction and fractionation of plant material for localization of the active principles



Chromatographic characterization of extracts



TLC Fingerprints



LC-MS

Für Radix Scutellariae (Huangqin 黄芩), Rhizoma Coptidis (Huanglian 黄连), Radix Puerariae (Gegen 葛根) und Radix Liquiritiae (Gancào 甘草) wurden DC und HPLC Methoden für die Qualitätsprüfung entwickelt (Publikation in Vorbereitung).

Ergebnisse der Untersuchung der ASE- und Dekokt-Fractionen von Gegen Qinlian Decoction mittels Dünnschichtchromatographie (DC):

Radix Coptidis:

HPTLC-Fingerprint Analyse:

Auftragemenge: 5µl

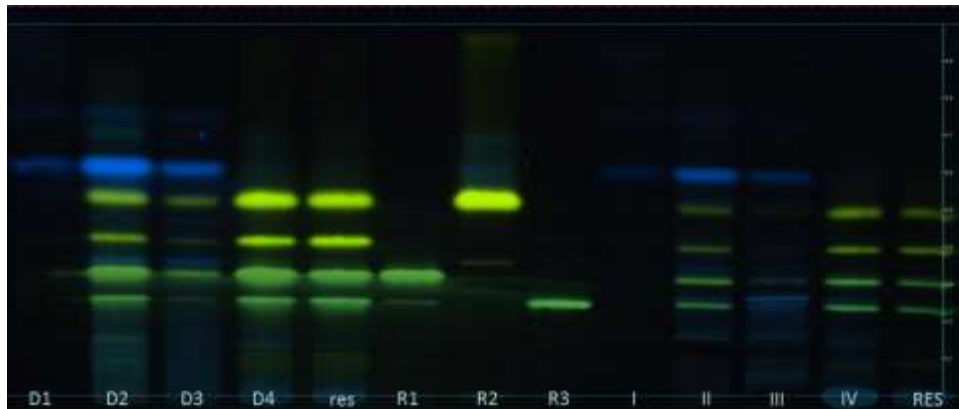
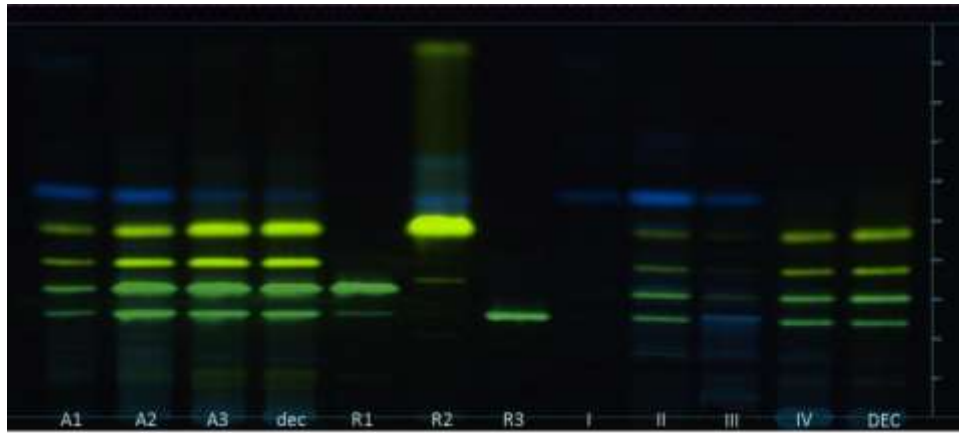
Platte: HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck

Laufmittel: Toluol-Ethylacetat-Isopropanol-Methanol-Wasser (6-3-1,5-1,5-0,3)
Kammersättigung für 15min. mit 25% Ammoniak

Laufstrecke: 85mm

Detektion: UV 366nm

Rhizoma Coptidis		GQD			
A1	ASE n-hexane	I	decoction n-hexane	R1	Berberine HCl
A2	ASE DCM	II	decoction DCM	R2	Coptisine HCl
A3	ASE butanol	III	decoction EtOAc	R3	Palmatine HCl
D1	decoction n-hexane	IV	decoction butanol		
D2	decoction DCM	DEC	decoction		
D3	decoction EtOAc	RES	decoction water residue		
D4	decoction butanol				
res	decoction water residue				



Dünnschichtchromatographie der ASE- und Dekokt-Fractionen von Radix Coptidis und Gegen Qinlian Decoction

Radix Puerariae:

HPTLC-Fingerprint Analyse:

Auftragemenge: Proben: 5µl; Referenzsubstanzen: 10µl

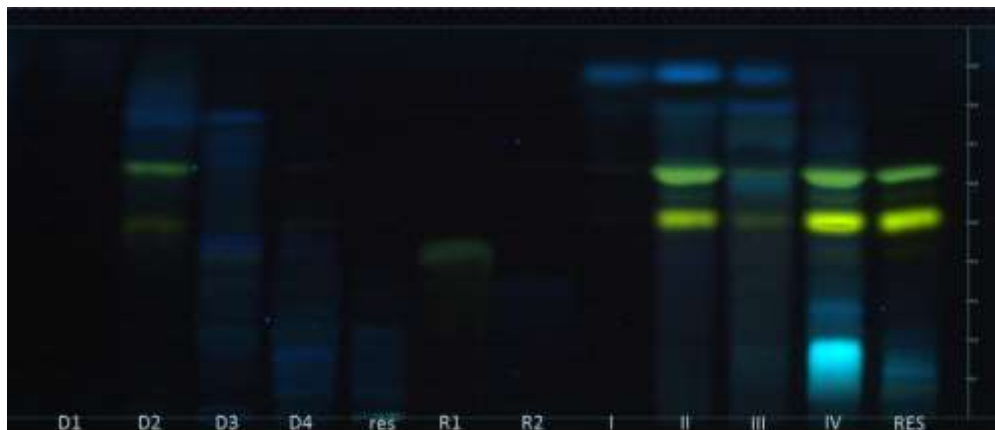
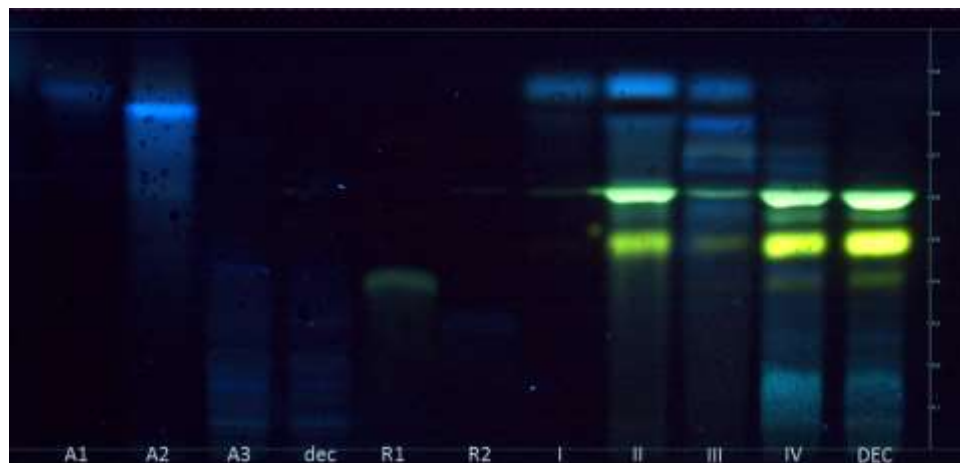
Platte: HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck

Laufmittel: Chloroform-Methanol-Ameisensäure-Wasser (70-27-1,5-1,5)

Laufstrecke: 85mm

Detektion: Besprühen mit 5% Aluminium-III-chlorid in 80%igem Ethanol, danach für 30min unter UV 366nm

Radix Puerariae		GQD			
A1	ASE n-hexane	I	decoction n-hexane	R1	Genistin
A2	ASE DCM	II	decoction DCM	R2	Puerarin
A3	ASE butanol	III	decoction EtOAc		
D1	decoction n-hexane	IV	decoction butanol		
D2	decoction DCM	DEC	decoction		
D3	decoction EtOAc	RES	decoction water residue		
D4	decoction butanol				
res	decoction water residue				



Dünnschichtchromatographie der ASE- und Dekokt-Fractionen von Radix Puerariae und Gegen Qinlian Decoction

Radix Scutellariae:

HPTLC-Fingerprint Analyse:

Auftragemenge: 5µl

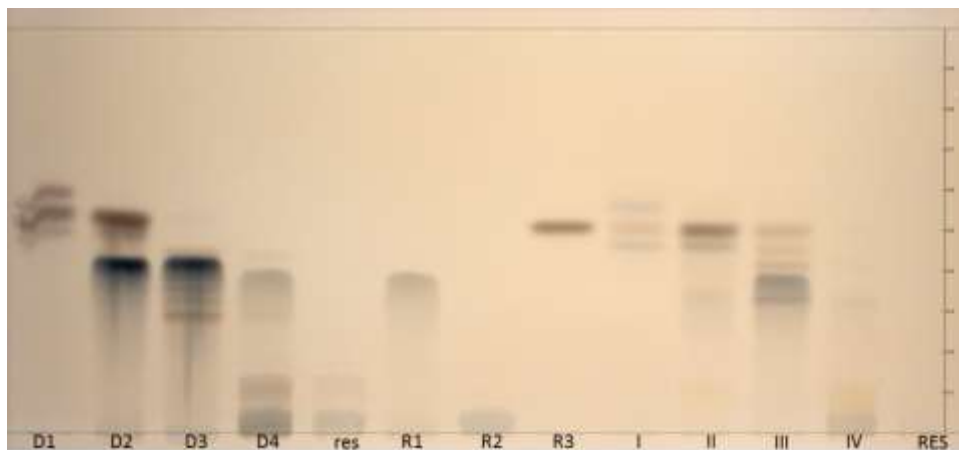
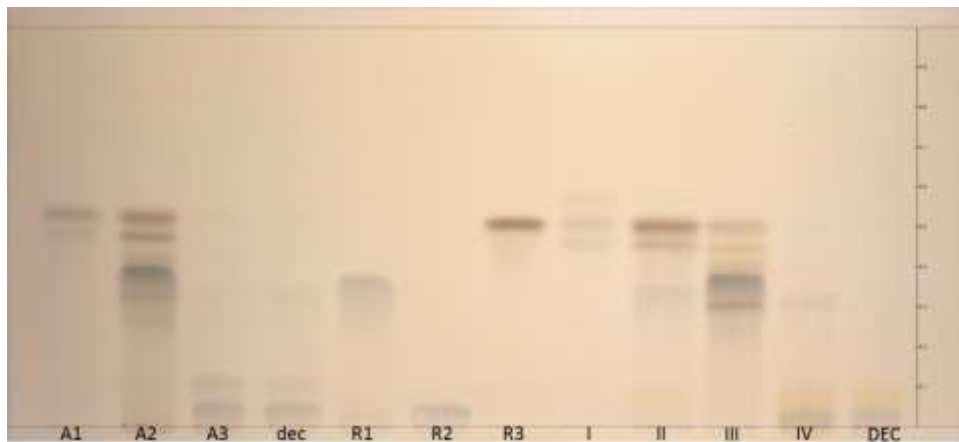
Platte: HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck

Laufmittel: Toluol-Ethylacetat-Methanol-Ameisensäure (10-3-1-2)

Laufstrecke: 85mm

Detektion: Besprühen mit 1% Eisen-III-chlorid in Wasser/VIS

Radix Scutellariae		GQD			
A1	ASE n-hexane	I	decoction n-hexane	R1	Baicalein
A2	ASE DCM	II	decoction DCM	R2	Baicalin
A3	ASE butanol	III	decoction EtOAc	R3	Wogonin
D1	decoction n-hexane	IV	decoction butanol		
D2	decoction DCM	DEC	decoction		
D3	decoction EtOAc	RES	decoction water residue		
D4	decoction butanol				
res	decoction water residue				



Dünnschichtchromatographie der ASE- und Dekokt-Fractionen von Radix Scutellariae und Gegen Qinlian Decoction

Radix et Rhizoma Glycyrrhizae praeparata cum Melle:

HPTLC-Fingerprint Analyse:

Auftragemenge: 5µl

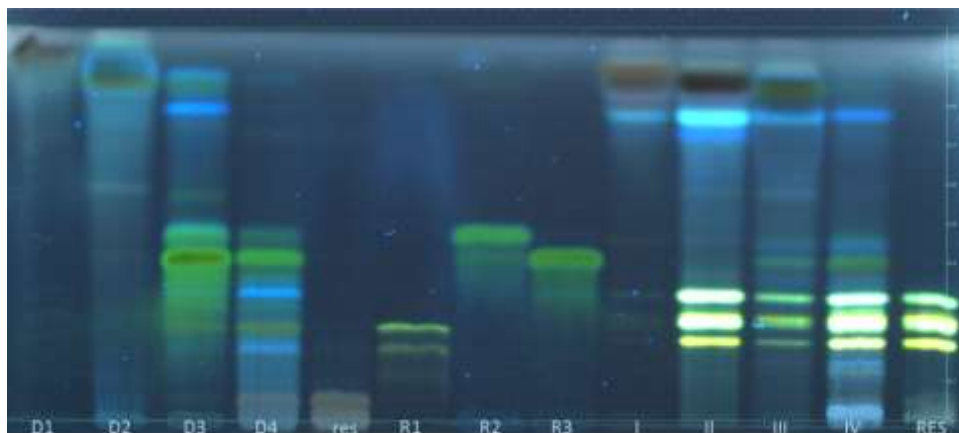
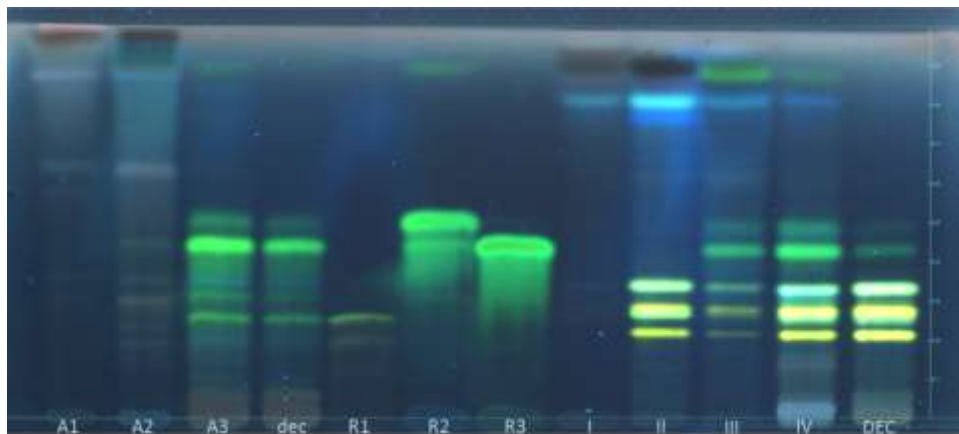
Platte: HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck

Laufmittel: Ethylacetat-Ameisensäure-Eisessig-Wasser (15-1-1-2)

Laufstrecke: 85mm

Detektion: Besprühen mit 10% ethanolischer Schwefelsäure, danach für 10min. im Trockenschrank erhitzen bei 105°C/UV 366nm

Radix Glycyrrhizae prae cum melle		GQD			
A1	ASE n-hexane	I	decoction n-hexane	R1	Ammonium glycyrrhizinate
A2	ASE DCM	II	decoction DCM	R2	Isoliquiritin
A3	ASE butanol	III	decoction EtOAc	R3	Liquiritin
D1	decoction n-hexane	IV	decoction butanol		
D2	decoction DCM	DEC	decoction		
D3	decoction EtOAc	RES	decoction water residue		
D4	decoction butanol				
res	decoction water residue				



Dünnschichtchromatographie der ASE- und Dekokt-Fractionen von Radix et Rhizoma Glycyrrhizae praeparata cum Melle und Gegen Qinlian Decoction

Radix Paeoniae rubra:

HPTLC-Fingerprint Analyse:

Auftragemenge: 5µl

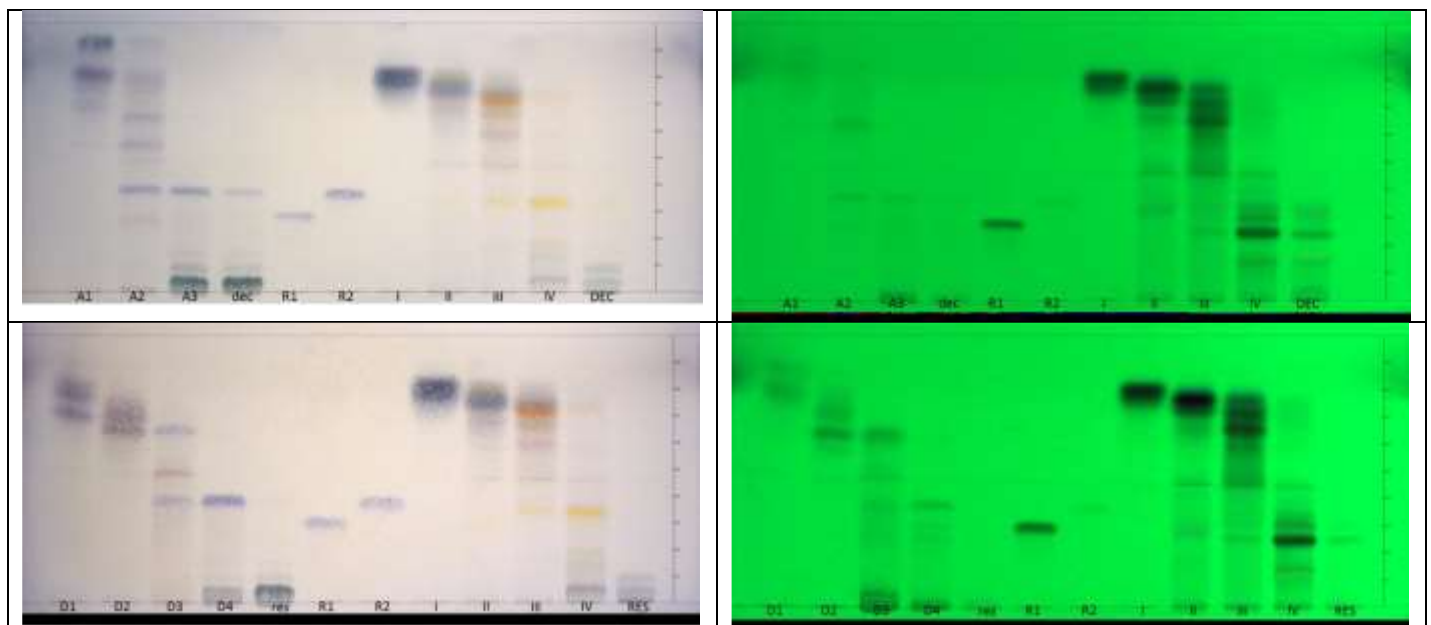
Platte: HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck

Laufmittel: Chloroform-Ethylacetat-Methanol-Ameisensäure (40:5:10:0,2)

Laufstrecke: 85mm

Detektion: Besprühen mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagens, danach für 5 min. bei 105°C im Trockenschrank erhitzen und im VIS auswerten

Radix Paeoniae rubra		GQD			
A1	ASE n-hexane	I	decoction n-hexane	R1	Oxypaeoniflorin
A2	ASE DCM	II	decoction DCM	R2	Paeoniflorin
A3	ASE butanol	III	decoction EtOAc		
D1	decoction n-hexane	IV	decoction butanol		
D2	decoction DCM	DEC	decoction		
D3	decoction EtOAc	RES	decoction water residue		
D4	decoction butanol				
res	decoction water residue				



Dünnschichtchromatographie der ASE- und Dekokt-Fractionen von Radix Scutellariae und Gegen Qinlian Decoction

Des Weiteren wurde eine von Dr. Tong Xiaolin verbesserte Version von GQD (modified GQD, mGQD) untersucht. Diese wird im Guang'anmen Krankenhaus in Peking zur Behandlung von Diabetes verwendet und setzt sich zusammen aus: Rhizoma Coptidis, Rhizoma Puerariae, Radix et Rhizoma Glycyrrhizae praeparata cum Melle, Radix Scutellariae, Rhizoma Anemarrhenae, Rhizoma Zingiberis und Fructus Schisandrae.

Es wurde eine schnelle und einfache DC Methode für die Identifizierung von mGQD entwickelt. Mittels dieser Methode konnte anhand der Verwendung von nur zwei Fließmittelsystemen mindestens eine Referenzsubstanz für jede in mGQD enthaltene Droge detektiert werden.

Ergebnisse der Untersuchung der ASE und Dekokt Fraktionen von modified Gegen Qinlian Decoction mittels Dünnschichtchromatographie (DC):

Platte: HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck

Auftragemenge: 5µl

Laufmittel für polare Fraktionen: Ethylacetat:Ameisensäure:Eisessig:Wasser (15:1:1:2)

Laufmittel für apolare Fraktionen: Toluol:Ethylacetat:Ameisensäure Wasser (20:10:1:1)

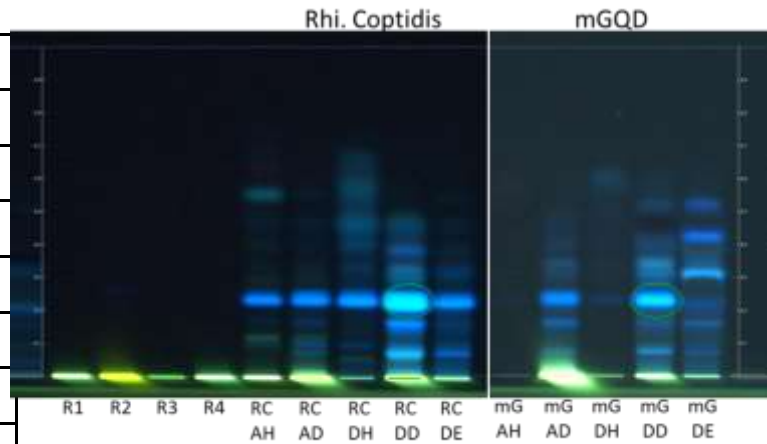
Laufstrecke: 85mm

Rhizoma Coptidis

Detektion: UV 366 nm

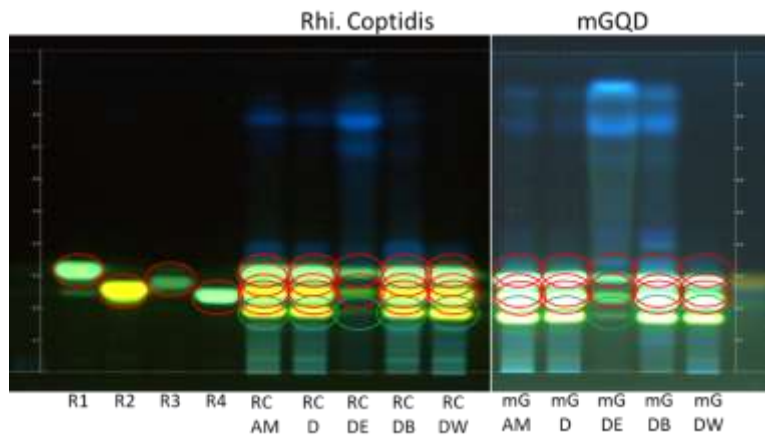
Apolare Fraktionen

R1	Berberine
R2	Coptisin
R3	Jatrorrhizine
R4	Palmatine
AH	ASE hexane fraction
AD	ASE dichloromethane fraction
DH	Decoction hexane fraction
DD	Decoction dichloromethane fraction
DE	Decoction ethyl acetate fraction



Polare Fraktionen

R1	Berberine
R2	Coptisin
R3	Jatrorrhizine
R4	Palmatine
AM	ASE methanol fraction
D	Decoction
DE	Decoction ethyl acetate fraction
DB	Decoction butanol fraction
DW	Decoction water residue

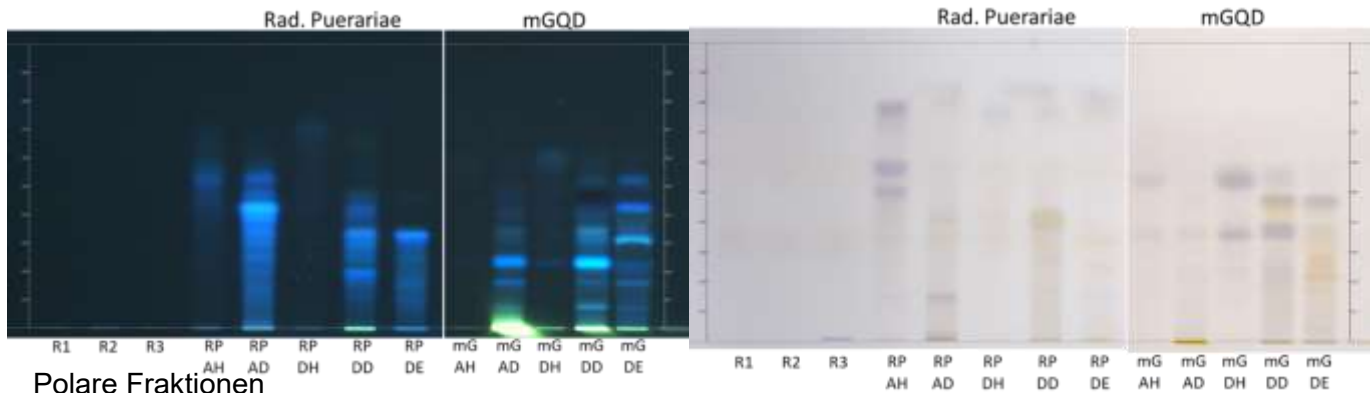


Radix Puerariae

Detektion: UV 366 nm und Besprühen mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagenz, anschließend 5 min. erhitzen bei 105 °C, VIS

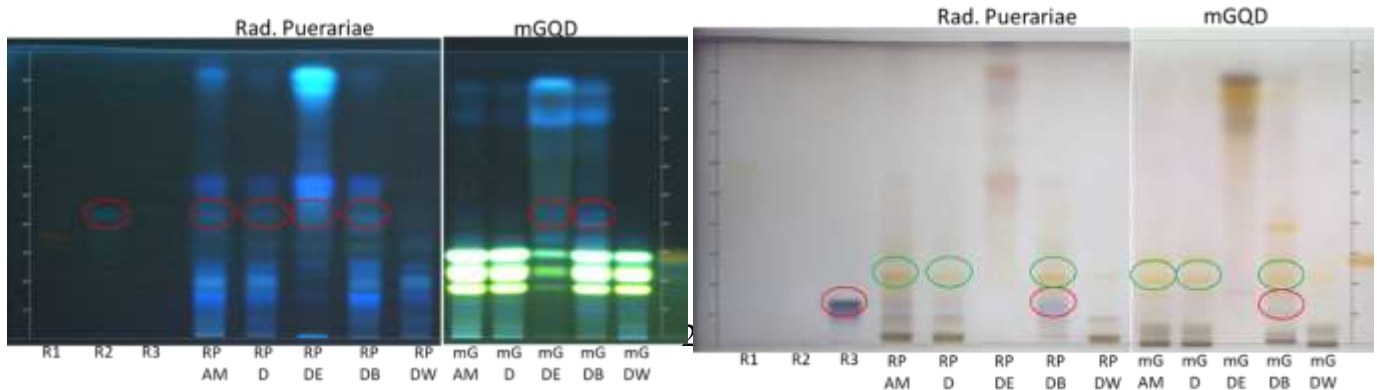
Apolare Fraktionen

R1	Genistin
R2	Puerarin
R3	Soyasaponin
AH	ASE hexane fraction
AD	ASE dichloromethane fraction
DH	Decoction hexane fraction
DD	Decoction dichloromethane fraction
DE	Decoction ethyl acetate fraction



Polare Fraktionen

R1	Genistin
R2	Puerarin
R3	Soyasaponin
AM	ASE methanol fraction
D	Decoction
DE	Decoction ethyl acetate fraction
DB	Decoction butanol fraction
DW	Decoction water residue

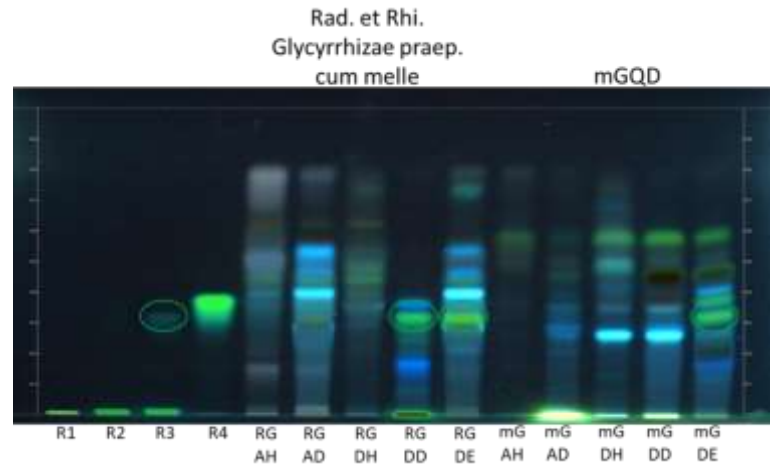


Radix et Rhizoma Glycyrrhizae praeparata cum Melle

Detektion: Besprühen mit Schwefelsäure Reagens, anschließend 5 min erhitzen bei 105°C, UV 366 nm

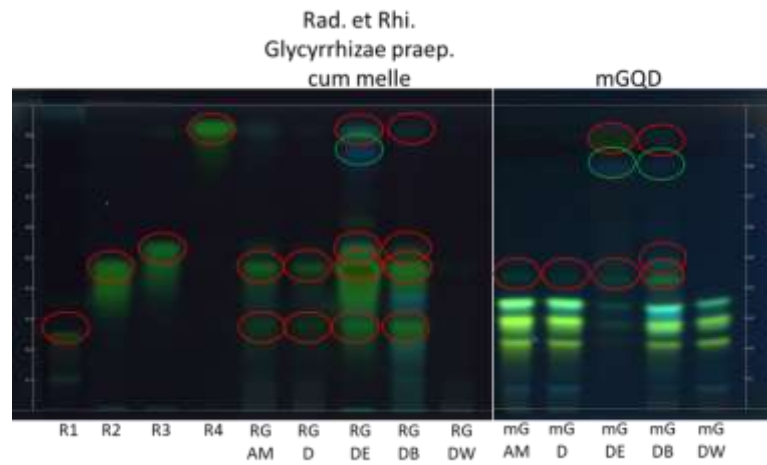
Apolare Fraktionen

R1	Ammonium glycyrrhizinate
R2	Liquiritin
R3	Isoliquiritin
R4	Isoliquiritigenin
AH	ASE hexane fraction
AD	ASE dichloromethane fraction
DH	Decoction hexane fraction
DD	Decoction dichloromethane fraction
DE	Decoction ethyl acetate fraction



Polare Fraktionen

R1	Ammonium glycyrrhizinate
R2	Liquiritin
R3	Isoliquiritin
R4	Isoliquiritigenin
AM	ASE methanol fraction
D	Decoction
DE	Decoction ethyl acetate fraction
DB	Decoction butanol fraction
DW	Decoction water residue

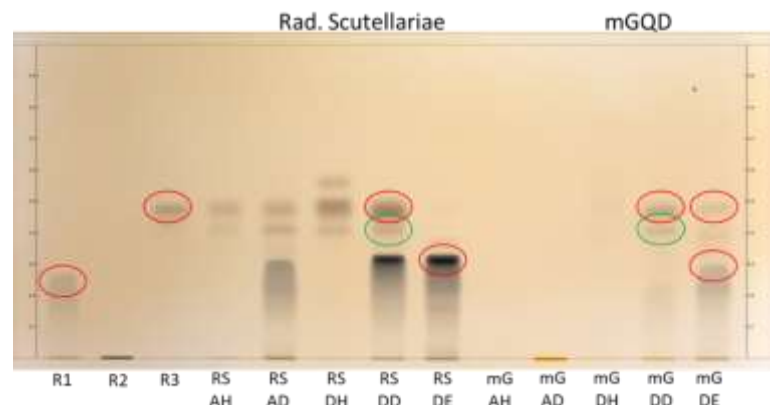


Radix Scutellariae

Detektion: Besprühen mit Eisen-III-sulfat, anschließend 5 min. erhitzen bei 105 °C, VIS

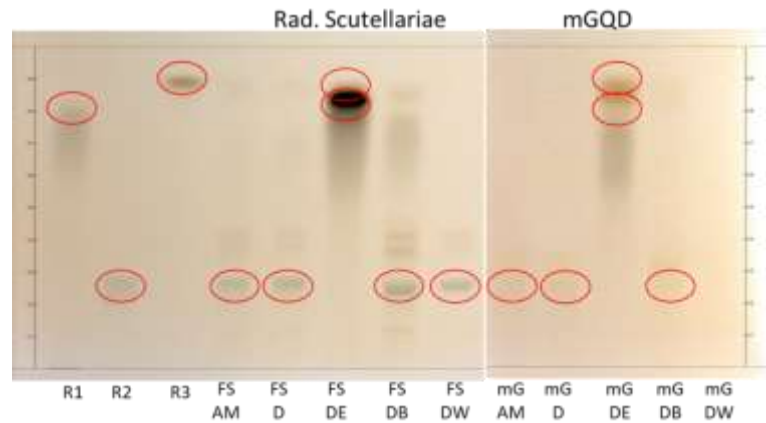
Apolare Fraktionen

R1	Baicalein
R2	Baicalin
R3	Wogonin
AH	ASE hexane fraction
AD	ASE dichloromethane fraction
DH	Decoction hexane fraction
DD	Decoction dichloromethane fraction
DE	Decoction ethyl acetate fraction



Polare Fraktionen

R1	Baicalein
R2	Baicalin
R3	Wogonin
AM	ASE methanol fraction
D	Decoction
DE	Decoction ethyl acetate fraction
DB	Decoction butanol fraction
DW	Decoction water residue

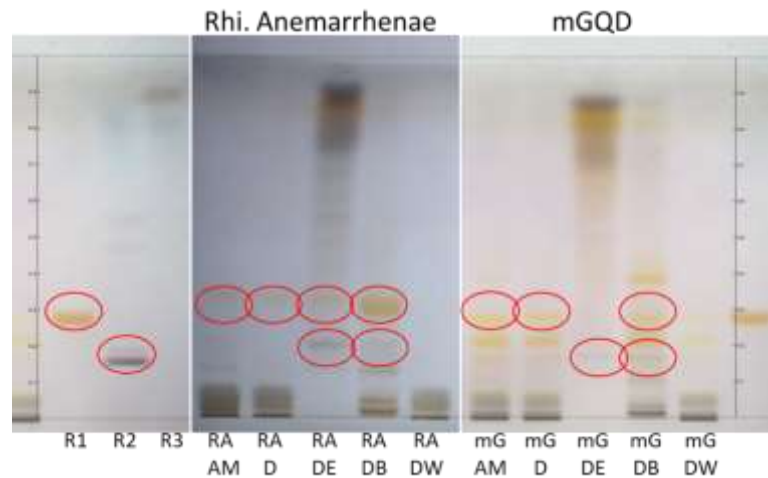


Rhizoma Anemarrhenae

Detektion: Besprühen mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagens, anschließend 5 min. erhitzen bei 105 °C, VIS

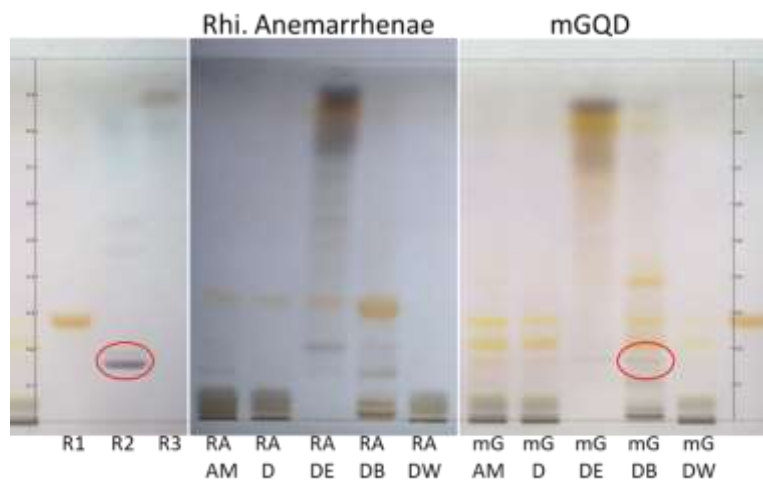
Apolare Fraktionen

R1	Mangiferin
R2	Timosaponin AIII
R3	Sarsasapogenin
AH	ASE hexane fraction
AD	ASE dichloromethane fraction
DH	Decoction hexane fraction
DD	Decoction dichloromethane fraction
DE	Decoction ethyl acetate fraction



Polare Fraktionen

R1	Mangiferin
R2	Timosaponin AIII
R3	Sarsasapogenin
AM	ASE methanol fraction
D	Decoction
DE	Decoction ethyl acetate fraction
DB	Decoction butanol fraction
DW	Decoction water residue

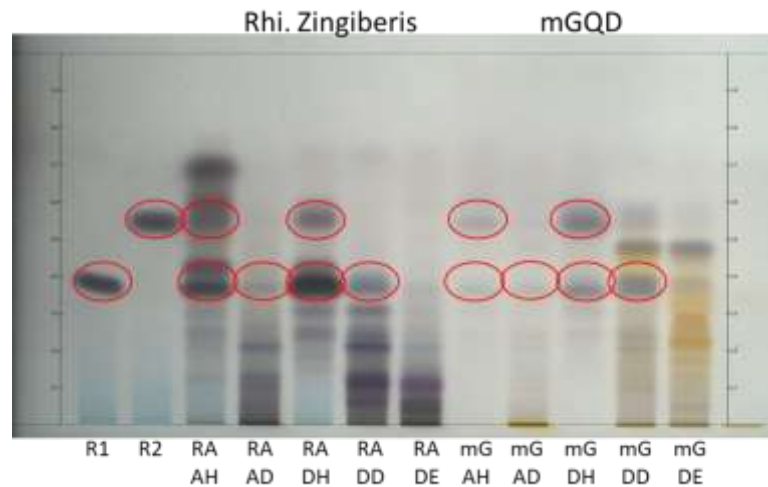


Rhizoma Zingiberis

Detektion: Besprühen mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagens, anschließend 5 min. erhitzen bei 105 °C, VIS

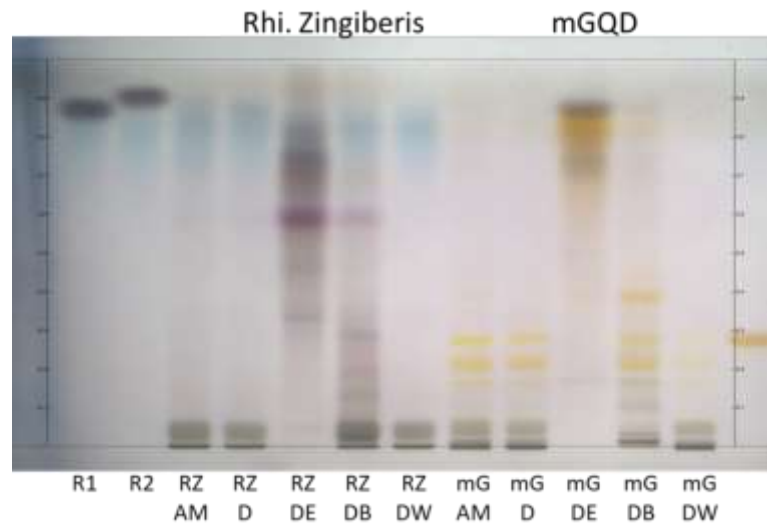
Apolare Fraktionen

R1	6-gingerol
R2	6-shogaol
AH	ASE hexane fraction
AD	ASE dichloromethane fraction
DH	Decoction hexane fraction
DD	Decoction dichloromethane fraction
DE	Decoction ethyl acetate fraction



Polare Fraktionen

R1	6-gingerol
R2	6-shogaol
AM	ASE methanol fraction
D	Decoction
DE	Decoction ethyl acetate fraction
DB	Decoction butanol fraction
DW	Decoction water residue

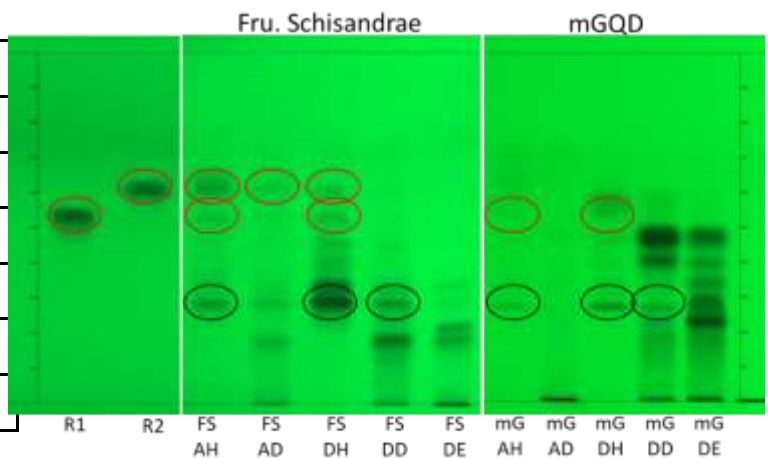


Fructus Schisandrae

Detektion: UV 254 nm

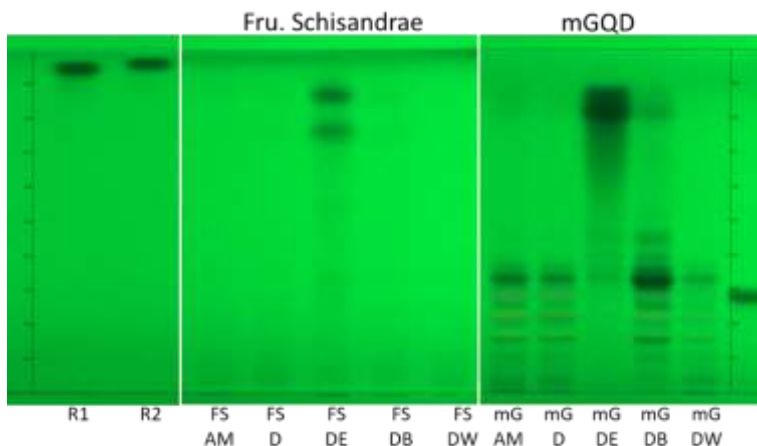
Apolare Fraktionen

R1	Deoxyschisandrin
R2	Schizandrin B
AH	ASE hexane fraction
AD	ASE dichloromethane fraction
DH	Decoction hexane fraction
DD	Decoction dichloromethane fraction
DE	Decoction ethyl acetate fraction



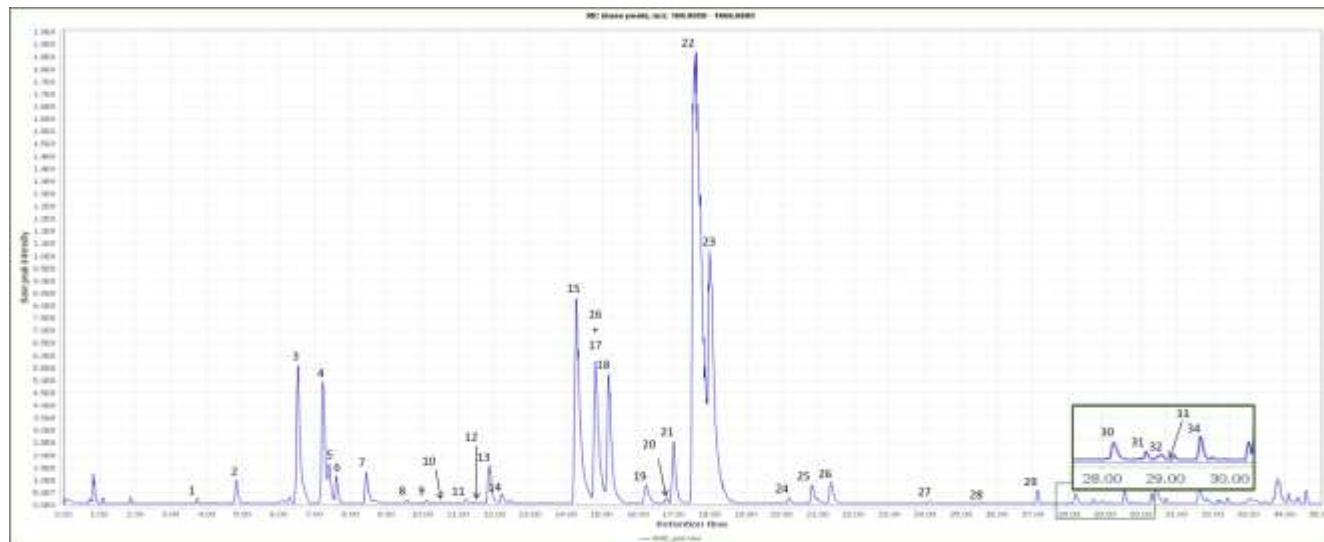
Polare Fraktionen

R1	Schizandrin A
R2	Schizandrin B
AM	ASE methanol fraction
D	Decoction
DE	Decoction ethyl acetate fraction
DB	Decoction butanol fraction
DW	Decoction water residue



Eine Methode für Metabolic Profiling von mGQD mittels UHPLC-DAD-ESI-MS/MS wurde etabliert. Die Mischung mGQD und alle Einzelfractionen wurden untersucht. Die Daten wurden mit der Software Compound Discoverer 2.1 (Thermo Fisher) prozessiert. Insgesamt konnten 91 Inhaltsstoffe aus mGQD zu ihren Ursprungspflanzen zugeordnet werden: 22 Inhaltsstoffe entstammen Rhizoma Coptidis, 21 sind aus Radix Puerariae, 16 aus Rhizoma Anemarrhenae, 12 aus Radix Scutellariae, 11 aus Radix et Rhizome Glycyrrhizae praeparata cum Melle, 8 aus Fructus Schisandrae und einer aus Rhizoma Zingiberis. Von diesen 91 Substanzen wurden 81 identifiziert, wobei 18 sicher durch Vergleich mit authentischen Referenzsubstanzen und die anderen 63 durch Vergleich der UV und MS Spektren mit bekannten Daten identifiziert wurden.

Ergebnisse der UHPLC-DAD-ESI-MS/MS Analyse von mGQD



Base Peak UHPLC-MS Chromatogramm von mGQD in ESI+ mode

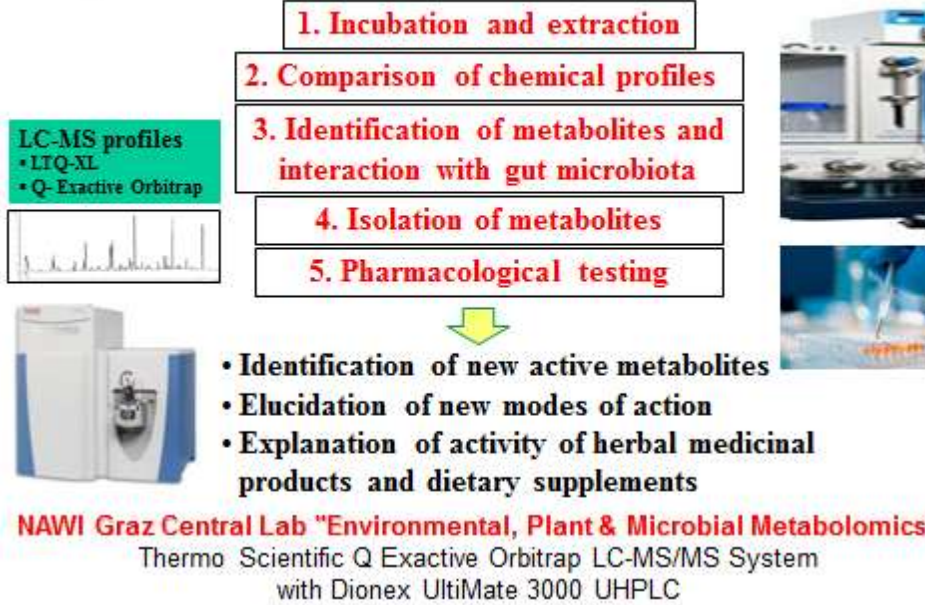
Peak no.	Compound	MW (g/mol)	RT (min)	Origin
1	Puerarin-4-O'-glucoside	578.52	3.72	PL
2	3'-Hydroxypuerarin	432.38	4.83	PL
3	Puerarin *	416.38	6.54	PL
4	Magnoflorine	342.41	7.22	CC
5	3'-Methoxypuerarin	446.40	7.41	PL
6	Mirificin	548.49	7.60	PL

7	Daidzin	416.38	8.43	PL
8	3'-Methoxydaidzin	446.40	9.56	PL
9	Puerarin isomer	416.38	10.08	PL
10	Liquiritin *	418.39	10.51	GU
11	Puerarin isomer	416.38	11.22	PL
12	Chrysin-6-C-arabinoside-8-C-glucoside or isomer	548.49	11.48	SB
13	Tetrahydroscoulerine	322.34	11.87	CC
14	Demethyleneberberine	324.35	12.24	CC
15	Coptisine *	320.32	14.28	CC
16	Epiberberine	336.36	14.81	CC
17	Columbamine	338.38	14.92	CC
18	Jatrorrhizine *	338.38	15.19	CC
19	Daidzein	254.24	16.25	PL
20	Ononin	430.40	16.84	GU/PL
21	Baicalin *	446.36	16.99	SB
22	Berberine *	336.36	17.63	CC
23	Palmatine *	352.41	17.99	CC
24	Oroxylin-A-glucoronide	460.39	20.21	SB
25	Timosaponin BII	921.08	20.85	AA
26	Wogonoside	460.39	21.37	SB
27	Baicalein *	270.24	24.15	SB
28	Formononetin *	268.26	25.53	PL
29	Timosaponin BIII	903.06	27.13	AA
30	Wogonin *	284.26	28.17	SB
31	Glycyrrhizinic acid *	822.94	28.69	GU
32	Scullcapflavone II or isomer	374.34	28.92	SB
33	6-Gingerol *	294.31	29.05	ZO
34	Schisandrin	432.51	29.56	SC

Auszug aus den identifizierten Inhaltsstoffen von mGQD

Zur Untersuchung der Wechselwirkungen von Darmmikrobiom und Pflanzenextrakten wurde in Kooperation mit Prof. Dr. Christine Moissl-Eichinger von der Medizinischen Universität Graz mittels eines Weidenrindenextraktes eine Test- und Metabolomics-Plattform etabliert (siehe Poster), die nun auch für chinesische Pflanzen verwendet werden kann.

Metabolomics Platform for investigation of impact of microbiome on plant constituents



Unserem Kooperationspartner von der CACMS (Prof. Dr, Tong Xiaolin und Prof. Dr. LI Min) ist es gelungen für das Projekt sowohl eine Förderung durch die CACMS als auch durch MOST zu erreichen.

中国中医科学院中医药“一带一路”合作专项立项课题清单

广安门医院

编号	课题名称	负责人	拟拨经费 (万元)	研究期限
GH2017-03-06	从人类肠道微生物与中草药互动角度探讨中药治疗生活方式相关疾病(糖尿病)的作用机制	李敏	20	2年
GH2017-04-03	中药通过调控树突状细胞抑制恶性肿瘤的机理研究	侯炜	20	2年



Zusätzlich liegen bereits einige klinische Ergebnisse vor:

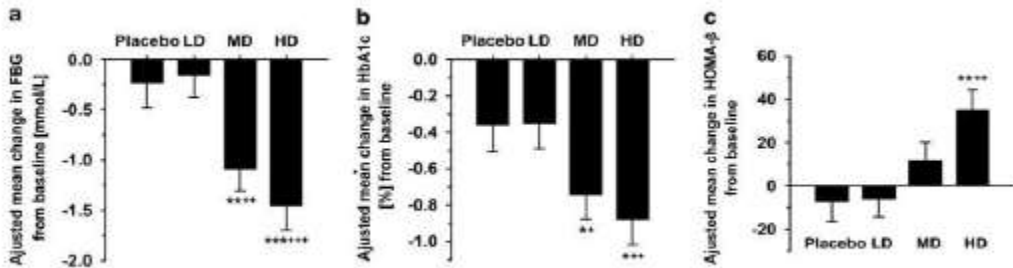
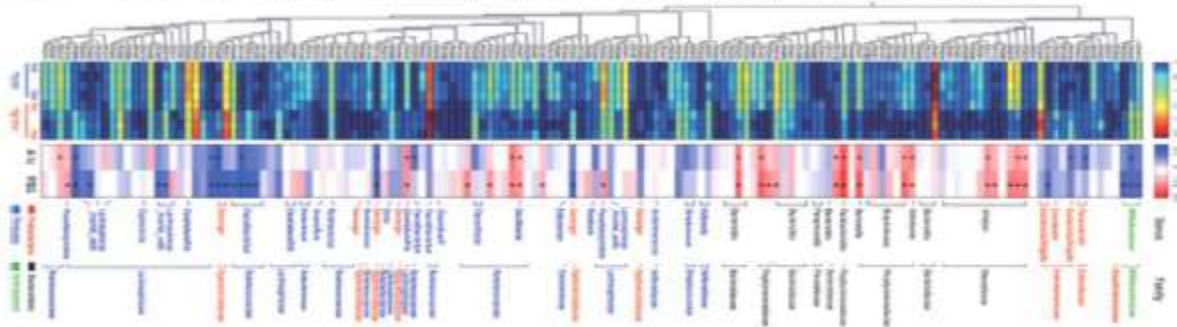
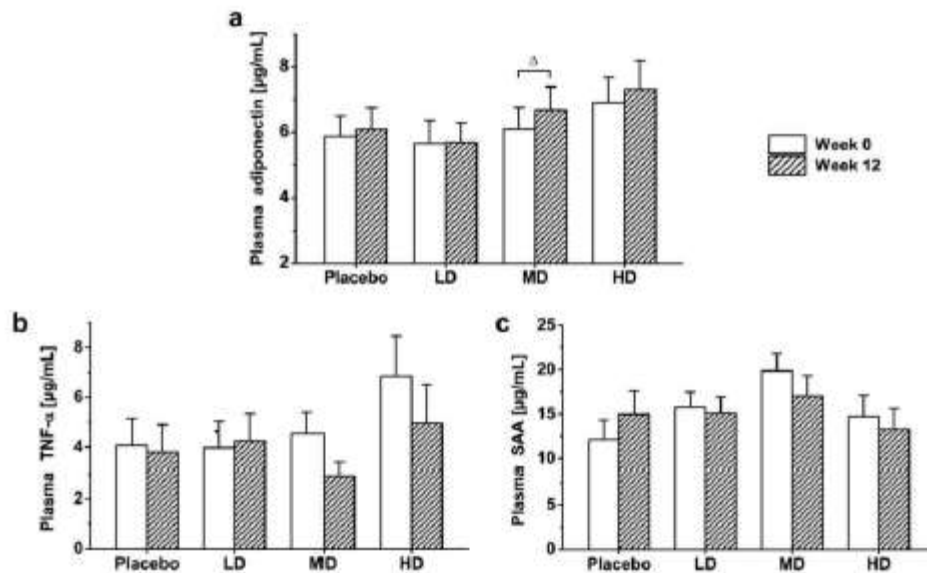


Figure 1 GQD significantly improved glycaemic control and HOMA-β in T2D patients. (a) Change in FBG, (b) change in HbA1c and (c) change in HOMA-β. Placebo (n=41), LD (n=50), MD (n=52) and HD (n=44). Data are presented as mean ± S.E.M. *P<0.05.



GQD reduzierte signifikant und dosisabhängig HbA1C, ein Hämoglobin, an das Glucose gebunden ist. Mit real-time PCR wurde bestätigt, dass GQD *Faecalibacterium prausnitzii* stimuliert und *Pseudobutyrvibrio* deutlich senkt, was einem positiven Effekt bei Diabetes T2 entspricht.



Supplementary Figure 5. Impact of GQD on plasma adiponectin, TNF-α and SAA. (a) Plasma adiponectin. (b) Plasma TNF-α. (c) Plasma SAA. Placebo(n=40), LD(n=47), MD(n=50), HD(n=41). Data are means ± S.E.M.. ΔP<0.05 vs. before treatment using Wilcoxon signed-rank test.

Plasmaadiponecin wurde erhöht und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) sowie Serum amyloid A protein (SAA) tendenziell gesenkt.

Seit September 2017 werden von der Arbeitsgruppe um Professor Tong Xiaolin 60 Blut- und Stuhlproben (je 30 gesunden Probanden und 30 Proben von Diabetes Mellitus II Patienten) gesammelt, welche nun untersucht werden sollen.

Type 2 diabetes mellitus group

Inclusion criteria:

- 1) Patients were diagnosed with T2D, according to 1999 World Health Organization criteria (OGTT test, FPG ≥ 7 mmol/L or 2h-PG ≥ 11.1 mmol/L), after a screening period;
- 2) Patients with the syndrome of damp-heat in the intestine of TCM;
- 3) Patients were between of 18 and 70 years of age;
- 4) Informed consent was signed.

Healthy control group

Inclusion criteria:

- 1) Persons were diagnosed with healthy people, according to gentle constitution of TCM;
- 2) Blood glucose within the normal range;
- 3) Patients were between of 18 and 70 years of age;
- 4) Informed consent was signed.

Exclusion criteria:

- 1) Patients with diabetic complications; serious heart, lung, liver, kidney or brain complications or patients with diabetes accompanied by other serious primary diseases;
- 2) Patients that had diabetic ketosis, diabetic ketoacidosis or severe infections within the previous month;
- 3) Patients who were pregnant, planned to become pregnant, or who were breast-feeding;
- 4) Patients with psychiatric disease;
- 5) Alcohol abuse and/or use of psychoactive substances, or drug abuse and dependency within the past 5 years.

mGQD wurde mit dem InfoGest Digestion Model vorverdaut, um die physiologische Magen-Darm-Passage zu simulieren. Diese Proben wurden mittels UPLC-QTOF-ESI-HRMS/MS gemessen, um die durch Verdauungsenzyme und -säfte bedingte Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung von mGQD zu analysieren. Die am Ende übrigbleibenden Proben wurden von Mag. Xuehong Gao nach Peking gebracht, wo sie zwischen Oktober und November 2018 zusammen mit Professor Li Min, Dr. Zheng Yujiao und Gou Xiaowen an der CACMS arbeitete. Während dieser Zeit wurden die vorverdauten Proben mit Stuhlsuspensionen von jeweils fünf Gesunden und fünf T2D-Patienten inkubiert und mittels UPLC-QTOF-ESI-HRMS/MS analysiert. Gleichzeitig wurden die Mikrobiom-Proben mittels 16S-DNA Sequenzierung analysiert. Die Auswertung der Ergebnisse findet derzeit noch statt.

1.3. Publikationen, Poster und Vorträge

1.3.1. Publikationen

1. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 145: 219-229 (2017) doi.org/10.1016/j.jpba.2017.03.049.**

Nikles Stefanie, Monschein Marlene, Zou Huiqin, Liu Yong, He Xiaojuan, Fan Danping, Lu Aiping, Yu Kate, Isaac Giorgis, Rudolf Bauer

Metabolic profiling of the traditional Chinese medicine formulation Yu Ping Feng San for the identification of constituents relevant for effects on expression of TNF- α , IFN- γ , IL-1 β and IL-4 in U937 cells



2. **LC-GC North America. 34(10): 10-17 (2017)**

Nikles Stefanie, Zou Huiqin, Liu Yong, He Xiaojuan, Fan Danping, Lu Aiping, Yu Kate, Isaac Giorgis, Bauer Rudolf

Advancing Metabolic Profiling of Herbal Medicines with LC-HRMS



3. **Molecules 2019, 24, 3116; doi:10.3390/molecules24173116**

Xuehong Nöst, Eva-Maria Pferschy-Wenzig, Stefanie Nikles, Xiaojuan He, Danping Fan, Aiping Lu, Jimmy Yuk, Kate Yu, Giorgis Isaac and Rudolf Bauer

Identification of Constituents Affecting the Secretion of Pro-Inflammatory Cytokines in LPS-Induced U937 Cells by UHPLC-HRMS-Based Metabolic Profiling of the Traditional Chinese Medicine Formulation Huangqi Jianzhong Tang



1.3.2. Posterpräsentationen

1. 9th Joint Natural Products Conference 2016 in Kopenhagen, Dänemark, 24.-27. Juli 2016

Eva-Maria Pferschy-Wenzig, Kaisa Koskinen, Christine Moissl-Eichinger, Rudolf Bauer

In vitro study of the interaction between human gut microbiota and herbal extracts using willow bark extract as an example

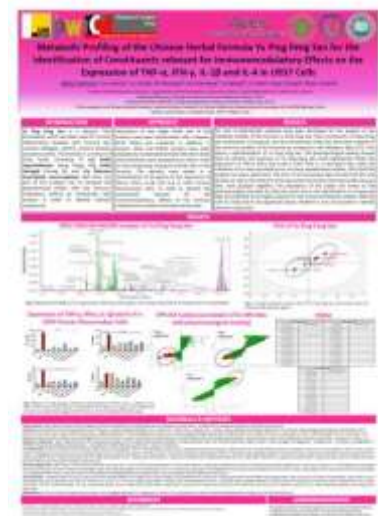
Planta Medica 82(S01): (2016) DOI: 10.1055/s-006-33063



2. 15th Meeting of Consortium for Globalization of Chinese Medicine (CGCM), Taipei, Taiwan, 22. – 25. August 2016

Danping Fan, Xuemei Qiu, Yanqin Bian, Nikles Stefanie, Bauer Rudolf, Xiaojuan He, Aiping Lu

Yu Ping Feng San might downregulate IL-1 β production through NLRP3 inflammasome in LPS-stimulated U937 cells



3. 15th Meeting of Consortium for Globalization of Chinese Medicine (CGCM), Taipei, Taiwan, 22.– 25. August 2016

Nikles Stefanie, Zou Huiqin, Liu Yong, He Xiaojuan, Fan Danping, Lu Aiping, Yu Kate, Isaac Giorgis, Bauer Rudolf

Metabolic Profiling of the Chinese Herbal Formula Yu Ping Feng San for the Identification of Constituents relevant for Immunomodulatory Effects on the Expression of TNF- α , IFN- γ , IL-1 β and IL-4 in U937 Cells

4. 16th Meeting of Consortium for Globalization of Chinese Medicine (CGCM), Guangzhou, China, 22. – 25. August 2016

Rudolf Bauer, Eva-Maria Pferschy-Wenzig, Xuehong Gao, Christine Moissl-Eichinger, Li Min, Xiaolin Tong

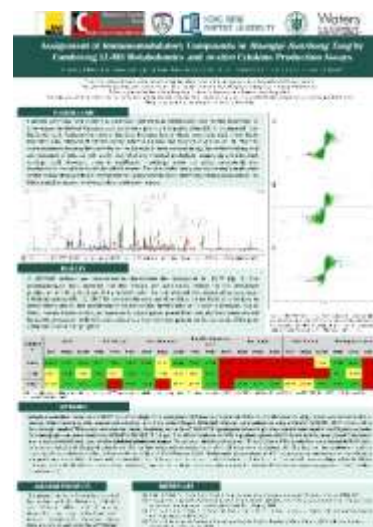
The impact of gut microbiota to the activity of Chinese medicine



5. **66th Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research in Shanghai, China, 26.-29. August 2018**

X. Gao, S. Nikles, E.-M. Pferschy-Wenzig, M. Monschein, H. Zou, Y. Liu, X. He, D. Fan, A. Lu, K. Yu, J. Yuk, G. Isaac, R. Bauer

Assignment of Immunomodulatory Compounds in *Huangqi Jianzhong Tang* by Combining LC-MS Metabolomics and *in-vitro* Cytokine Production Assays



6. **66th Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research in Shanghai, China, 26.-29. August 2018**

X. Gao, E.-M. Pferschy-Wenzig, X. Yu, M. Li, X. Tong, R. Bauer

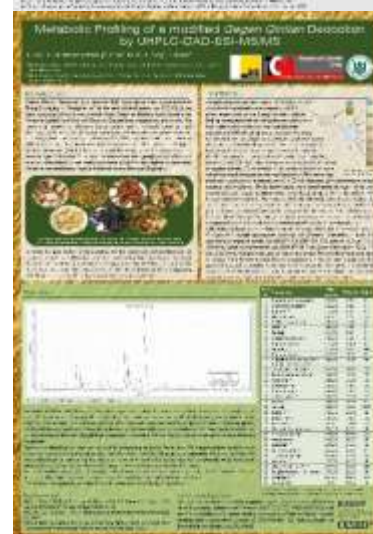
Metabolic Profiling of *Gegen Qinlian Decoction* by UHPLC-DAD-ESI-MS/MS and HPTLC



7. **26. Wissenschaftlichen Tagung der Österreichischen Pharmazeutischen Gesellschaft (ÖPhG) in Graz, Österreich, 25.-27. April 2019**

X. Gao, E.-M. Pferschy-Wenzig, X. Yu, M, Li, X. Tong, R. Bauer

Metabolic profiling of a modified *Gegen Qinlian Decoction* by UHPLC-DAD-ESI-MS/MS

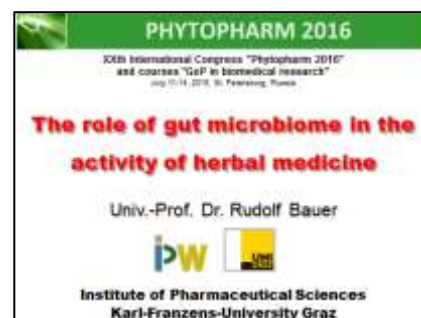


1.3.3. Vorträge

1. **XXth International Congress "Phytopharm 2016", July 11-14, 2016, St. Petersburg, Russia**

Rudolf Bauer

The role of gut microbiome in the activity of herbal medicine



2. **9th Joint Natural Products Conference 2016 in Copenhagen, Denmark, July 24-27, 2016**

Rudolf Bauer

Application of plant metabolomics within the field of herbal medicinal products

3. **Vortrag auf der 2016 Shanghai International Conference on Traditional Chinese Medicine and Natural Medicine (S-TCM) in Shanghai, 19.-21. October 2016**

Rudolf Bauer

What are the major challenges of Chinese medicine in the West, and how can they be overcome



4. **Vorträge auf der 5th International Conference on the Modernization of Traditional Chinese Medicine in Chengdu (Sichuan, CN), October 24-27, 2016**

5. Foreign Chairman of the Academic Committee, Plenarvortrag:

Rudolf Bauer

Major challenges in the integration of Chinese medicine into the Western health care system

6. Vortrag in Panel 3, Sustainable Development of Chinese Materia Medica Resources

Rudolf Bauer

Cultivation of Chinese herbs - a possibility of sustainable production of high quality raw materials



7. Vortrag in Panel 4, Quality Assurance and Improvement of Chinese Materia Medi

Rudolf Bauer

New Technology and Methods in the Standard Investigation of Herbal Medicine

8. **Annual Meeting of the German Pharmaceutical Society - DPhG: Pharmaceutical Sciences - We live interdisciplinarity; Munich, Germany, October 4 - 7, 2016**

Rudolf Bauer

Application of plant metabolomics in herbal drug research



9. **Vortrag auf dem 4th International Congress of the Society for Ethnopharmacology, Healthcare in 21st Century: Perspectives of Ethnopharmacology & Medicinal Plant Research, Surat, Gujarat, India, February 21-25, 2017**

Rudolf Bauer

Application of plant metabolomics in ethnopharmacological research



10. **Vortrag auf der Jahrestagung der China Association of Chinese Medicine, Lianyungang, China, 14. April 2017**

Rudolf Bauer

The current status and future perspectives of TCM in Europe



11. **Vortrag auf dem 17th International Congress of the International Society for Ethnopharmacology in Kaslik, Lebanon, April 24-28, 2017**

Rudolf Bauer

The role of the European Pharmacopoeia in the quality control of traditional medicine



12. **Vortrag auf dem Consensus Camp des Ministry of Health and Welfare (MOHW) in Taipei, Taiwan, 5. Mai 2017**

Rudolf Bauer

Quality control of TCM in Europe and related regulations in the European Pharmacopoeia



13. **Workshop on GACP certified production of Licorice root and other medicinal plants of Inner Mongolia, Baotou City, Inner Mongolia, China, May 25 - 28 2017**

Rudolf Bauer

Metabolomics based quality concepts for materia medica



14. **XXIst International Congress "Phytopharm 2017" and 10th Anniversary of the TCM Research Center Graz, July 2 - 5, 2017, Graz, Austria**

Rudolf Bauer

Activities and Achievements in Herbal Medicine Research



15. **Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Ho Chi Minh City, Vietnam, July 17, 2017**

Rudolf Bauer

Scientific evaluation of traditional medicine at TCM Research Center Graz



16. **Faculty of Pharmacy, Buon Ma Thuot University, Buon Ma Thuot, Vietnam, July 19, 2017**

Rudolf Bauer

Quality control as the basis of rational phytotherapy - The European perspective



17. **The 2018 Li Shizhen International Summit Forum on Traditional Chinese Medicine & Comprehensive Health, 25-28 May in Qichun, Hubei, China**

Rudolf Bauer

General Perspectives of TCM in Europe



19. **The 9th Annual Meeting of The Specialty Committee of TCM Pharmaceutical Analysis (2018-Nanchang & International Conference on TCM Pharmaceutical Analysis, June 13th – 15th, 2018, Beijing, China**

Rudolf Bauer
Most urgent issues in the quality control of Chinese herbs in Europe



20. **17th Meeting of Consortium for Globalization of Chinese Medicine (CGCM), August 8.-10 2018, Kuching - Sarawak, Malaysia**

Rudolf Bauer
Experiences from cultivation and breeding of Chinese Medicinal Plants in Bavaria



21. **Traditional Chinese Medicine Internationalization and Translational Medicine"(TCM) Summit, Sep. 10-12, 2018, Shanghai, China**

Rudolf Bauer
Standard of Chinese Medicine in the European Pharmacopoeia



22. **6th Forum on China-ASEAN technology transfer and collaborative innovation, Nanning, Nanning, Guangxi, China, Sept 11, 2018**

Rudolf Bauer
The Standards for Herbal Medicinal Products in the European Union



23. **XXIIIrd International Congress "Phytopharm 2019", July 1 - 3, 2019, St. Petersburg, Russia**

Rudolf Bauer
Strategies for a more holistic approach in the quality control of herbal medicinal products



Diplomarbeit

Mag. Sandra Pillinger, KFU Graz, Juni 2016

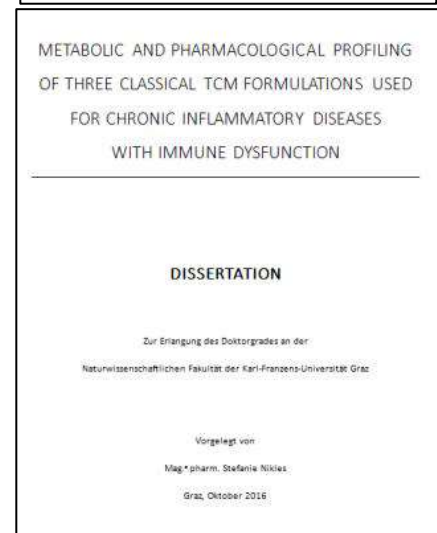
„Qualitätsprüfung von Süßholzwurzeln nach dem Europäischen und Chinesischen Arzneibuch“.



Dissertation

Mag. Stefanie Nikles, KFU Graz, November 2016

“Metabolic and pharmacological profiling of three classical TCM formulations used for chronic inflammatory diseases with immune dysfunction”



1.4 Preise und Auszeichnungen

Qihuang International Prize of China Association of Chinese Medicine, Lianyungang, April 14th, 2017



"Outstanding Contribution Award" der Shanghai International Conference on TCM and Natural Medicine, Shanghai 31.10.2017



Award for Outstanding Contribution in TCM Analysis & Quality Standards of the TCM Pharmaceutical Analysis Specialty Group of the World Federation of Chinese Medicine Societies, Shanghai 28. Juni 2019



Ehrendoktorat der University Helsinki, 24.5.2019



1.4 Zusammenfassung

- Es wurden DC- und HPLC-Systeme für die Qualitätsprüfung von Huangqi Jianzhong Tang entwickelt.
- Mittels HPLC-DAD-ESI-MS/MS konnten in den ASE Extrakten und im Dekokt der Mischung von Huangqi Jianzhong Tang insgesamt 326 Verbindungen detektiert werden.
- 59 Verbindungen der Mischung von Huangqi Jianzhong Tang konnten durch Vergleich mit Referenzsubstanzen und Literaturdaten identifiziert werden.
- Die antiinflammatorische Wirkung von Huangqi Jianzhong Tang und der darin enthaltenen Arzneidrogen konnte in U937 Zellen gezeigt werden.
- 16 Verbindungen der Mischung Huangqi Jianzhong Tang wurden mittels multivariater Datenanalyse (MVDA) als „Hits“ (eventuell für den antiinflammatorischen Effekt verantwortliche Substanzen) detektiert. Sieben der 16 Substanzen konnten zweifellos mittels Vergleiche der LC-MS Daten mit Referenzsubstanzen identifiziert werden. Ihre Wirkung und somit die Vorhersage der MVDA konnten im pharmakologischen Test bestätigt werden.
- Für Extrakte von Radix Scutellariae, Rhizoma Coptidis, Radix Puerariae, Radix Liquiritiae und Radix Paeoniae wurden bereits DC und HPLC Methoden zur Analyse entwickelt.
- Eine einfache und schnelle Methode zur qualitativen Analyse von mGQD mittels DC und HPLC wurde entwickelt.
- Eine UHPLC-DAD-ESI-MS/MS Methode für Metabolic Profiling von mGQD wurde etabliert. Insgesamt 91 Substanzen aus mGQD wurden ihren ursprünglichen Ausgangsdrogen zugeordnet. Davon wurden 81 Inhaltsstoffe identifiziert. 18 davon wurden zweifelsfrei mit Referenzsubstanzen identifiziert.
- Zur Untersuchung der Wechselwirkungen von Darmmikrobiom und Pflanzenextrakten wurde eine Test- und Metabolomics-Plattform etabliert.
- mGQD wurde mittels InfoGest Model vorverdaut und mit Stuhlsuspensionen von jeweils fünf Gesunden und fünf T2D Patienten inkubiert. Die Datenanalyse findet derzeit statt.

1.5 Summary

- TLC and HPLC systems were developed for the quality control of Huangqi Jianzhong Tang.
- A total of 326 compounds could be detected in the ASE extracts and in the decoction of Huangqi Jianzhong Tang mixture by using HPLC-DAD-ESI-MS / MS.
- 59 compounds of the Huangqi Jianzhong Tang mixture were identified by comparison with reference substances and literature data.
- The anti-inflammatory activity of Huangqi Jianzhong Tang and its contained individual herbs were studied in U937 cells.
- 16 constituents from Huangqi Jianzhong Tang were detected as “hits” (compounds possibly responsible for anti-inflammatory effect) by multivariate data analysis (MVDA). From these 16 constituents, seven were unambiguously identified by comparing LC-MS data with authentic references. Their anti-inflammatory effect was shown in the same pharmacological assay.

The predictions from the MVDA could be verified.

- For extracts from Radix Scutellariae, Rhizoma Coptidis, Radix Puerariae and Radix Liquiritiae DC TLC and HPLC methods have already been developed for analysis.
- A fast and simple method for qualitative analysis of mGQD with TLC and HPLC was established.
- A UHPLC-DAD-ESI-MS/MS method for Metabolic Profiling of mGQD was established. A total of 91 compounds contained in mGQD were assigned to their originating herb, of which 18 substances were unambiguously identified by comparison with authentic references and 63 were tentatively identified by comparing their UV and MS spectra with existing data.
- A test and metabolomics platform has been established to study the interactions of gut microbiome and plant extracts
- mGQD was pre-digested using the InfoGest digestion model and incubated with stool suspensions of five healthy and five patients suffering from T2D. Data processing and analysis are in progress.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'R. Bauer', written in a cursive style.

Prof. Dr. Rudolf Bauer