

Slutrapport

Undersøgelse af produktionsforhold og forskelle i indholdsstoffer af medicinplanter



Lars Porskjær Christensen, DJF, Afdeling for Råvarekvalitet
Kai Grevsen, DJF, Afdeling for Havebrugsproduktion

2005

INDHOLDSFORTEGNELSE

1. Baggrund	3
2. Formål og afgrænsning	4
3. Screening af danske medicinalplanter for potentielle aktivstoffer	4
4. Resultater fra naturstoffkemisk undersøgelse af udvalgte danske medicinalplanter fra dyrkningsforsøg	12
4.1. Timian (<i>Thymus vulgaris</i>)	13
4.1.2 Indholdsstoffer i æterisk olie.....	13
4.1.3 Høsttidspunkt og genhøst.....	16
4.1.4 Tørretemperatur.....	17
4.2. Brændenælde (<i>Urtica dioica</i>)	18
4.2.1. Indholdsstoffer i ekstrakter fra overjordiske dele.....	19
4.2.2. Effekt af høsttidspunkt, genhøst og gødskning på indholdet af flavonoider/ fenoliske syrer.....	21
4.2.3. Effekt af dyrkningssystem på indholdet af flavonoider/fenoliske syrer.....	23
4.2.4. Effekt af tørring på indholdet af flavonoider/fenoliske syrer.....	23
5. Resultater fra dyrkningsforsøg med udvalgte danske medicinalplanter	24
5.1. Timian (<i>Thymus vulgaris</i>)	24
5.1.1 Dyrkning.....	24
5.1.2 Forsøg med høsttider.....	26
5.2. Brændenælde (<i>Urtica dioica</i>)	29
5.2.1 Dyrkning.....	29
5.2.2 Forsøg med høsttider, kvælstof gødskning og etablering i ukrudtsdug	31
6. Formidling af viden og resultater	34
6.1. Formidling af resultater (nationalt og internationalt)	34
6.1.1. Nationale publikationer.....	34
6.1.2. Postere præsenteret ved international konference.....	35
6.1.3. Orale indlæg ved international konference og workshops.....	35
6.1.4. Orale indlæg ved international konference og workshops.....	35
6.1.5. Internationale publikationer.....	36
6.2. Kursus- og projektaktiviteter	36
6.3. Arrangementer og seminarer	37
6.4. Formidling til pressen	38
7. Samarbejdsrelationer (nationalt og internationalt) opnået i projektet	41
8. Referencer	41

1. Baggrund

I en lang årrække har udviklingen af nye farmaceutiske produkter hovedsageligt taget udgangspunkt i screening af syntetisk fremstillede stoffer. Denne fremgangsmåde har givet nye særdeles aktive medikamenter, der med stor succes har været brugt i behandlingen af en lang række sygdomme. Det har dog i flere tilfælde vist sig at disse syntetiske stoffer trods omfattede testning alligevel efter mange års brug har alvorlige bivirkninger. Der tegner sig efterhånden et billede af at man ved systematisk at screene efter superpotente stoffer faktisk generere væsentlige problemer og at mindre aktive stoffer i mange tilfælde kunne være mere fordelagtige at bruge fordi de har ingen eller betydelig færre bivirkninger. I visse tilfælde har de mindre aktive stoffer næsten samme positive effekt som de mere potente stoffer. Mindre potente stoffer findes i vid udstrækning i medicinalplanter og et godt eksempel på dette er isoleringen af et anti-inflammatorisk galaktolipid fra hunderose hyben, der synes at være i stand til at mindske symptomerne hos patienter med slidgigt uden bivirkninger i modsætning til de konventionelle smertestillende og/eller anti-inflammatoriske medikamenter (NSAID), som f.eks. acetylsalicylsyre (aspirin) og/eller lægemidler baseret på binyrebarkhormoner (kortikosteroider) (Winther *et al.*, 1999; Winther & Kharazmi, 1999; Warholm *et al.*, 2003; Larsen *et al.*, 2003; Christensen *et al.*, 2003). Et andet godt eksempel, som senere vil blive omtalt, er salicin og salicinderivater fra pil, der har dokumenteret smertestillende og antiinflammatorisk effekt uden væsentlige bivirkninger (Schmid *et al.*, 2001; Chrubasik *et al.*, 2000) og derfor synes at være et udmærket alternativ for f.eks. aspirin som smertestillende middel.

Fordelene ved at tage udgangspunkt i traditionel medicin ved udvikling af nye lægemidler og naturmedicinpræparater indeholdende velkarakteriserede aktive forbindelser er mange. Dels er der en meget lang forhistorie, og dermed også mindre risiko for uventede negative sideeffekter, dels er der helt tydeligt en mindre psykologisk barriere i befolkningen som helhed ved at indtage stoffer, der har en ”naturlig” biologisk herkomst, hvilket kan være af afgørende markedsmæssig betydning.

Der er dog flere problemer omkring de traditionelle naturmedicin produkter, hvoraf de vigtigste ofte er mangelfuld videnskabelig dokumentation for præparaternes indhold af aktive forbindelser samt deres virkemåde. Når dette er sagt skal det også fremhæves, at der udover naturmedicinpræparater indeholdende velkarakteriserede aktivstoffer også er udviklet kendte og vigtige stoffer, på baggrund af traditionel medicin, der stadig bruges i den medicinske behandling. Tidlige eksempler er digitalispræparater til hjertepatienter, og i nyere tid er en lang række aktive stoffer udvundet fra planter og videreudviklet. Her kan som eksempler nævnes taxol til behandling af brystkræft og camptothecin, der bruges mod en række kræftformer.

Fleere EU-lande har en lang tradition for produktion af naturlægemidler. I f.eks. Tyskland, receptudskrives mange naturlægemidler hyppigt af læger til behandling af sygdomme. I Danmark forholder det sig helt anderledes selvom interessen for brugen af naturmedicinpræparater dog har været stigende i de sidste mange år, en udvikling, der også er kendetegnende for mange andre lande, der ikke har nogen lang tradition indenfor dette marked. Markedet for naturmedicinpræparater er i hastig vækst hvilket også afspejles i de mange produkter, der efterhånden udbydes. Dette har bl.a. også resulteret i at der forekommer mange useriøse naturmedicinpræparater på markedet, hvor der ikke forelægger nogen form for dokumentation for deres effekt og indhold af aktivstoffer som nævnt tidligere er et generel problem for branchen. Dette har bl.a. resulteret i skærpede kvalitetskrav fra både

myndigheder og forbrugere, hvilket igen har betydet at avlere i stigende grad møder krav om dokumentation af højere råvarekvalitet mht. potentielle aktivstoffer og virkemåde.

I Danmark har der i flere år eksisteret en gruppe af avlere, der dyrker medicinplanter, hvoraf en del er organiseret i avlerforeningen 'Krymeda'. Et af problemerne for de danske avlere har netop været at få dokumentation for kvaliteten af deres råvarer samt skaffe systemiseret viden om hvordan de kan forbedre deres råvare ved bl.a. dyrkning, selektion/forædling og forarbejdning. Nærværende projekt tager udgangspunkt i nogle af disse problemer samt de muligheder der ligger i at forbedre nuværende råvarer, herunder også udviklingen af naturmedicin-præparater med dokumenteret indhold af aktivstoffer til både det danske og udenlandske marked.

2. Formål og afgrænsning

Det overordnede formål med projektet har været, at indsamle, udbygge og systematisere viden om dyrkning af medicinplanter i Danmark, til brug i formidlingsaktiviteter, specifikt med henblik på efteruddannelse af avlere og vurdering af kommercielle muligheder for dansk produktion af råvarer og af færdigvarer fremstillet fra disse.

De konkrete overordnede formål i projektet har været:

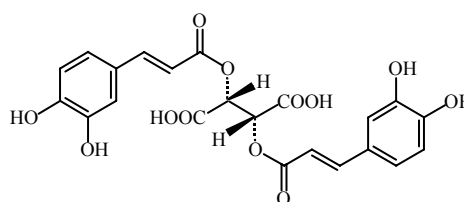
1. Screening af et relativt stort antal danske medicinplanter for potentielle bioaktive stoffer.
2. At foretage en grundig naturstoffkemisk undersøgelse af de plantearter, som udvælges på baggrund af screeningen i dialog med avlerne, for at påbegynde en optimering af produktionen, specielt med henblik på kvalitetsdokumentation, og samtidig bekræfte resultaterne fra screeningen.
3. At foretage dyrkningsforsøg på de udvalgte plantearter hos erfarne avlere eller på Forskningscenter Årslev for at optimere produktionsforholdene for eksisterende og nye kulturer samt at indhente informationer til udfærdigelse af egentlige dyrkningsvejledninger for de enkelte kulturer.
4. At inddrage yderligere aspekter omkring produktion af medicinalplanter, herunder især forarbejdning af råvarer.
5. At formidle den opnåede viden til erhvervet og implementere den i relevante uddannelser på alle niveauer.
6. At støtte uddannelsen af studerende ved videregående uddannelser som ønsker at specialisere sig til at kunne arbejde inden for området.
7. At støtte og udbygge internationalt samarbejde mellem danske og udenlandske virksomheder, herunder profilere danske avlers indsats i relation til forbedring og dokumentation af deres råvarekvalitet.

3. Screening af danske medicinalplanter for potentielle aktivstoffer

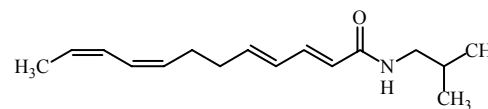
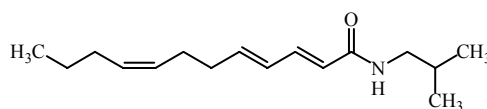
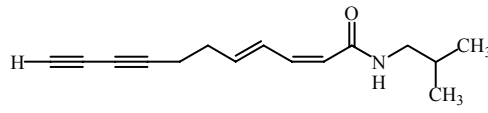
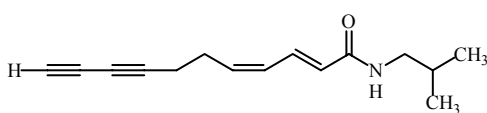
Projektet 'Undersøgelse af produktionsforhold og forskelle i indholdsstoffer af medicinalplanter' startede i 2002 med indsamling af plantemateriale hos en lang række af danske

avlere. Der blev indsamlet plantemateriale af følgende 16 plantearter (rød solhat (*Echinacea purpurea*), timian (*Thymus vulgaris*), oregano (*Origanum vulgare*), solbær (*Ribes nigrum*), pil (*Salix* spp.), brændenælde (*Urtica dioica*), hvidtjorn (*Crataegus* spp.), prikbladet perikon (*Hypericum perforatum*), hyld (*Sambucus nigra*), mynte (*Mentha × piperita*), røllike (*Achillea millefolium*), morgenfrue (*Calendula officinalis*), baldrian (*Valeriana officinalis*), eg (*Quercus* spp.), rød- og hvidkløver (*Trifolium repens* og *T. pratense*) samt birk (*Betula* spp.), der i dag bruges i større eller mindre udtrækning til naturmedicin i bl.a. Danmark. I det følgende beskrives kort resultaterne fra den naturstofkemiske screening af nogle af planterne for mulige bioaktive stoffer. For mere detaljerede resultater henvises til Christensen & Kaack (2003).

Rød solhat (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) (se **Figur 1**) stammer oprindeligt fra det mellemste vesten i USA, hvorfra den blev bragt til Europa i mellemkrigsårene i det forrige århundrede. Udover at være en populær haveplante, som hovedsageligt er udviklet i Holland, er den også meget anvendt til naturmedicin. Den folkemedicinske anvendelse af rød solhat stammer fra de nordamerikanske indianere, der benyttede planten mod forkølelse og infektioner. Videnskabelige undersøgelser har bekræftet, at rød solhat virker mod visse virus og bakterier, og at rød solhat præparater er effektive til hurtigere sårheling og til behandling af infektioner (se f.eks. Bauer, 1998). Nogle af de vigtigste aktive indholdsstoffer i rød solhat anses for at være kaffesyrederivater (f.eks. cichoriesyre) og alkamider (**Figur 1**) og det er også typisk disse stoffer der anvendes som markører når man skal bestemme kvaliteten af råvaren og det endelige naturmedicinpræparat (Bauer, 1998). Aktivstofferne i rød solhat blev bestemt ved højtryksvæskerkromatografi (HPLC) som beskrevet i bl.a. Christensen *et al.* (2000).



Cichoriesyre

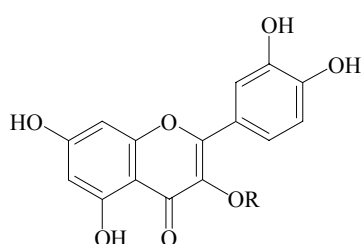


Alkamider

Figur 1. Naturstoffer i rød solhat med immunstimulerende og antibiotisk effekt og som er blevet bestemt i screeningen af rød solhat plantemateriale indsamlet hos avlere.

Resultaterne fra en screening af rød solhat fra forskellige lokaliteter i Danmark viste bl.a. at indholdet af alkamider var på niveau og i enkelte tilfælde højere end det man finder i rød solhat dyrket på andre lokaliteter i Europa (Christensen & Kaack, 2003). Dette viser at vi i Danmark er i stand til, at producere en ordentlig råvare og at vi har muligheden for at producere naturmedicin baseret på rød solhat af en meget høj kvalitet. Det samme gør sig også gældende for mange andre af de undersøgte medicinplanter i projektet, herunder også de velkendte medicinplanter som prikbladet perikon, hvidtjørn og pil.

Prikbladet perikon (*Hypericum perforatum* L.) har været anvendt som lægemiddelplante siden middelalderen, hvor ekstrakter fra de overjordiske dele af planten er blevet brugt mod betændelsestilstande og til heling af sår. I dag bruges planten også mod virus infektioner.



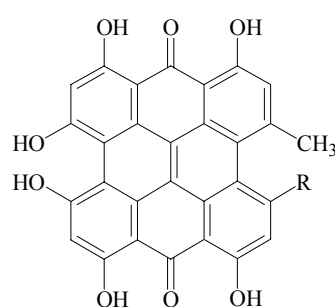
Rutin, R = β -D-Glu(6 \leftarrow 1)- α -L-Rha

Hyperosid, R = β -D-Gal

Isoquercitrin, R = β -D-Glu

Quercitrin, R = α -L-Rha

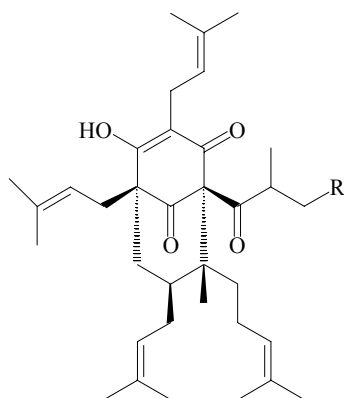
Quercetin, R = H



Hypericin, R = CH₃

Pseudohypericin, R = CH₂OH

Gal = galaktose; Glu = glukose; Rha = rhamnose

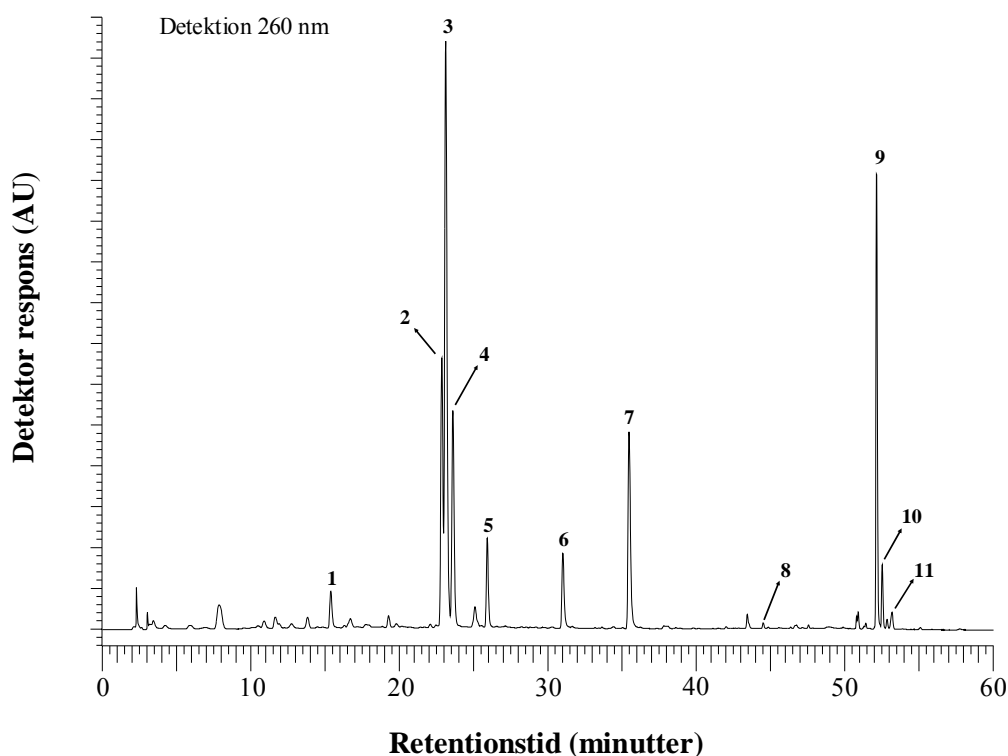


Hyperforin, R = H

Adhyperforin, R = CH₃

Figur 2. Kemiske strukturer af potentielle aktivstoffer i prikbladet perikon og som er blevet målt i screeningen af blade og blomster indsamlet hos forskellige avlere.

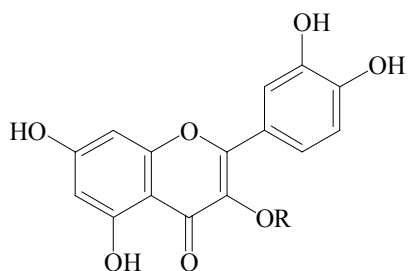
Den mest udbredte anvendelse af planten er dog mod milde depressioner såsom tristhed, nedtrykthed og modløshed. Sidstnævnte anvendelse har gjort, at perikons betydning som medicinalplante er stigende, da den bruges i de såkaldte ”grønne lykkepiller”. Dyrkningen og produktionen af denne plante bremses imidlertid af en alvorlig visnesyge, der meget hurtigt kan reducere en bestand voldsomt og begrænser, derfor flerårig dyrkning af denne plante. Desuden foregår der en stor produktion i Sydeuropa hvilket gør, at denne ellers lovende medicinplante ikke er attraktiv at dyrke herhjemme og derfor er den heller ikke blandt de udvalgte planter som man valgte at se nærmere på i projektet. Ikke desto mindre er indholdet af de undersøgte perikon planter produceret af danske avlere af en god kvalitet, idet indholdet af potentielle aktivstoffer er højere eller sammenlignelig med det man kan præstere på andre lokaliteter rundt om i Europa (Christensen & Kaack, 2003). Aktivstofferne i perikon synes at være en kombination af forskellige naturstoffer, heriblandt fenoliske syrer (f.eks. klorogensyre), flavonoider (f.eks., rutin, hyperosid, isoquercitrin, quercitrin og quercetin), biflavonoider (f.eks. I 3, II 8-biapigenin), phologlucinol derivater (f.eks. hyperforin og adhyperforin) og naphthodiantroner (hypericin og pseudohypericin) (**Figur 2**). Analysen af disse stoffer i ekstrakter af perikon er i dette projekt foregået ved analytisk HPLC (se **Figur 3**).



Figur 3. Kemisk analyse af prikbladet perikon for aktive stoffer foregår ved højtryksvæskerkromatografi (HPLC). Her ses et HPLC kromatogram fra analysen af et ekstrakt (60% ethanol) af tørrede perikon blomster. Numrene på toppe i kromatogrammet refererer til følgende forbindelser, **1** = Klorogensyre, **2** = Rutin, **3** = Hyperosid, **4** = Isoquercitrin, **5** = Quercitrin, **6** = Quercetin, **7** = I 3, II 8-Biapigenin, **8** = Pseudohypericin, **9** = Hyperforin, **10** = Adhyperforin, **11** = Hypericin.

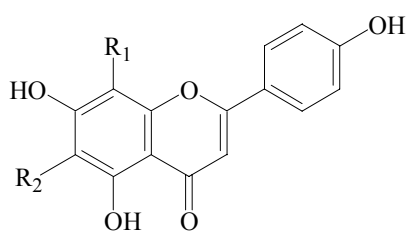
En anden velkendt medicinplante som er blevet undersøgt i projektet er almindelig hvidtjorn (*Crataegus laevigata* (Poir) DC). Hvidtjorns præparater har traditionelt været anvendt i

Europa mod nyre- og blæresten samt som vanddrivende middel helt tilbage i middelalderen. I dag anvendes hvidtjørn hovedsageligt mod hjertekramper (*agina pectoris*), forsnævring af hjertes kranspulsårer, og uregelmæssig hjerterytme. Aktivstofferne i hvidtjørn menes at være flavonoider (**Figur 4**). Det er både blade og blomster, der indgår i naturmedicinpræparater af hvidtjørn, hvor man dog især har ment at blomsterne indeholder de vigtigste aktivstoffer (Christensen *et al.*, 2001). Ikke desto mindre har undersøgelser vist at bladene indeholder den største mængde af flavonoider, som også er blevet bekræftet i nærværende projekt (Christensen & Kaack, 2003), hvilket er yderst interessant, idet bladene er meget nemme at høste i modsætning til blomster. Da flavonoid-profilen i blade og blomster ikke er helt identiske i de undersøgte hvidtjørns arter vil det derfor være interessant i anden projektsammenhæng, at undersøge om hvidtjørnspræparater baseret på hhv. blade og blomster og dermed forskelle i flavonoid-profilen har en signifikant betydning for den helbredsgavnige effekt af hvidtjørn. Hvis ikke dette er tilfældet vil der være mulighed for en rentabel dansk produktion af naturmedicinpræparater baseret på hvidtjørn af en meget høj kvalitet, idet indholdet i bladene ifølge screeningen er væsentlig højere end det man har observeret andre steder i Europa (se Christensen & Kaack, 2003).



Rutin, R = β -D-Glu(6 \leftarrow 1)- α -L-Rha

Hyperosid, R = β -D-Gal



Vitexin, R₁ = β -D-Glu, R₂ = H

Isovitexin, R₁ = H, R₂ = β -D-Glu

Vitexin-2"-O-rhamnosid, R₁ = β -D-Glu(2 \leftarrow 1)- α -L-Rha, R₂ = H

Gal = galaktose; Glu = glukose; Rha = rhamnose

Figur 4. Kemiske strukturer af potentielle aktivstoffer i hvidtjørn og som er blevet målt i screeningen af hvidtjørns blade og blomster indsamlet hos forskellige avlere.

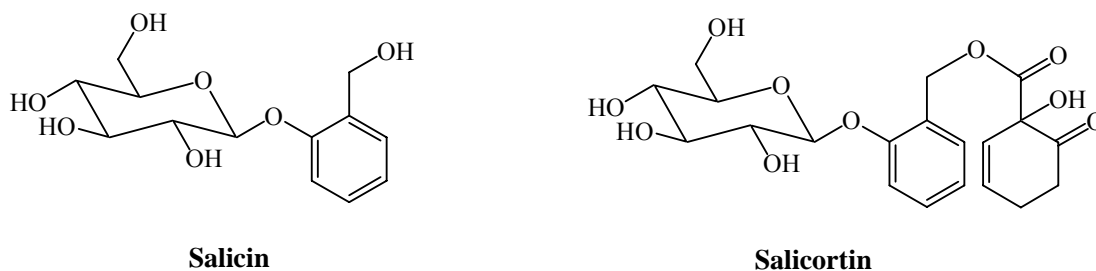
En af de mest lovende medicinplanter, der er undersøgt i projektet er imidlertid pil, herunder især arten *Salix purpurea* som hedder purpur-pil på dansk. Pilebark er kendt for at have smertelindrende og anti-inflammatorisk effekt (virker mod betændelse) hvilket er blevet dokumenteret i adskillige videnskabelige undersøgelser (se f.eks. Schmid *et al.*, 2001; Chrubasik *et al.*, 2000) og som konsekvens deraf er pilebark tæt på at blive godkendt af det Europæiske Agentur for Evaluering af Medicinal Produkter (ESCOP, 1997). Europa-kommissionen har dog allerede godkendt pilebarkpræparationer til behandling af sygdomme associeret med feber, gigtsmerter og hovedpine. Pilebark er et af de første eksempler på udvikling af moderne medicin ud fra planter. Et velkendt indholdsstof fra pilebark er salicin (**Figur 5**), som er en forløber (precursor) for salicylsyre, der er det egentlige aktivstof. Salicylsyre er til gengæld ikke særlig biotilgængelig (optages ikke særlig godt i kroppen) og derfor skal salicylsyre indtages i form af en mere biotilgængelig forbindelse, der så let kan omdannes til aktivstoffet. Salicylsyre bruges derfor bl.a. til fremstilling af acetylsalicylsyre også bedre kendt som aspirin, som fremstilles syntetisk af diverse medicinalfirmaer. Aspirin, virker smertestillende, mod betændelse, og er febernedsættende, hvilket kan tilskrives en hæmning af prostaglandin-syntesen. Aspirin har dog nogle kraftige bivirkninger som f.eks. mavesår og nyresvigt, og alternativer til aspirin i den lægelige behandling er derfor ønskelig.



Purpur-pil (*Salix purpurea*)

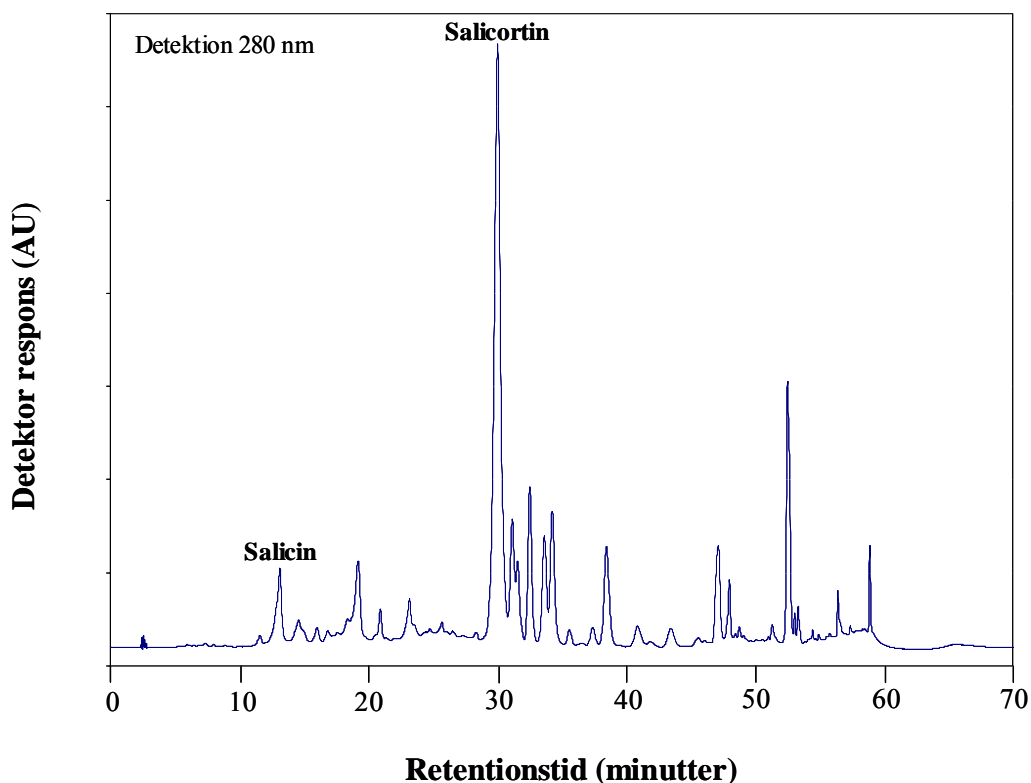
Naturlige ekstrakter fra pilebark har dog nogle potentielle fordele frem for syntetiske smertestillende og anti-inflammatoriske præparater, herunder aspirin. Udover salicin forekommer der en lang række andre naturligt forekommende salicinderivater (f.eks. salicortin, **Figur 5**) i pilebark, som ligeledes er forløbere til salicylsyre og som gradvist også frigiver det aktive stof (salicylsyre) til organismen. Dermed opnås en længerevarende virkning af salicylsyre, samtidig med at høje koncentrationer af stoffet undgås i organismen og dermed også en række bivirkninger. Herudover synes stofferne fra pilebark ikke at have samme affinitet overfor receptorerne i mave-tarm-kanalen og dermed kunne man forvente en mindre risiko for mavesår ved længerevarende smertelindring. Desuden kan den anti-inflammatoriske virkning af pilebarkestrakter ikke udelukkende tilskrives totalindhold af salicin (salicin + salicinderivater), hvilket kan skyldes en synergistisk effekt eller at andre stoffer i pilebark også har en anti-inflammatorisk effekt, herunder salicinderivater. Dette er

yderst interessant og burde være genstand for yderligere undersøgelser som ligger uden for dette projekts rammer.



Figur 5. Kemisk struktur af salicin og det salicinderivat (salicortin), der forekommer i højest koncentration i pilebark.

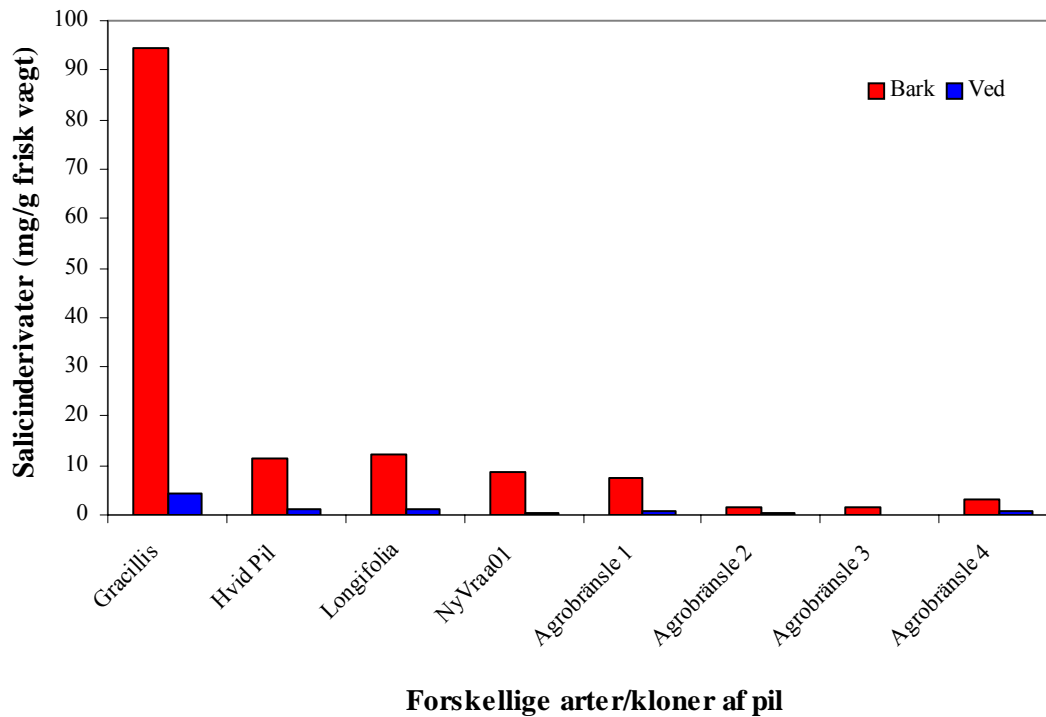
Screeningen af bark- og vedekstrakter ved analytisk HPLC fra forskellige pilearter/kloner, herunder *Salix purpurea* for salicin og salicinderivater (f.eks. salicortin) (**Figur 6**) viste, at der er stor forskel i totalkoncentrationen af salicinderivater mellem de enkelte arter/kloner og



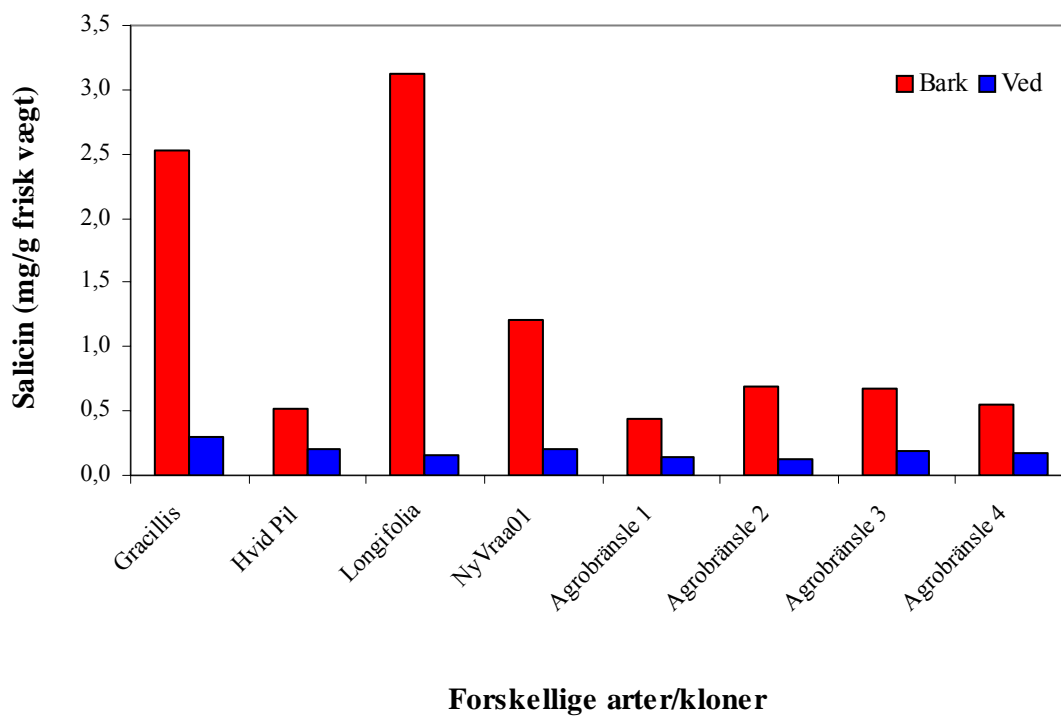
Figur 6. Typisk HPLC-kromatogram fra analysen af et methanol ekstrakt fra *Salix purpurea*.

undersøgelserne bekræftede, at *Salix purpurea* (f.eks. klon Gracillis) er den art, der indeholder mest af disse forbindelser (se **Figur 7**). Indholdet af salicinderivater i barken fra de planter der indeholdt mest er sammenlignelig med det man finder i pil dyrket andre steder

i Europa. Derimod viste undersøgelsen, at vedet ikke er egnet til naturmedicin, idet indholdet af salicin og salicinderivater er meget lavt (se **Figur 8**).



Figur 7. Udvalgte resultater fra screeningen af bark og ved fra forskellige pile arter/kloner for salicinderivater.



Figur 8. Udvalgte resultater fra screeningen af bark og ved fra forskellige pilearter/kloner for salicin.

Det indsamlede plantemateriale fra de resterende plantearter blev ligeledes screenet for dets indhold af mulige potentielle aktive naturstoffer og resultaterne herfra blev formidlet videre til de respektive avlere i en foreløbig rapport (Christensen & Kaack, 2003) eller direkte sendt til avlerne elektronisk via e-mail, hvorved de havde mulighed for at vurdere kvaliteten af deres planter. Resultaterne blev desuden kommenteret og udvalgte resultater gennemgået på et ekstraordinær indkaldt møde med Krymedas bestyrelse afholdt i foråret 2003. Resultaterne dannede bl.a. grundlaget for udvælgelsen af 6 ud af de 16 oprindelige plantearter til mere kontrollerede forsøg i 2003, herunder bl.a. undersøgelse af forskellige dyrkningsmæssige parametres indflydelse på indholdet af aktivstoffer samt bestemmelse af høstudbyttet. Udvalgte planter blev foretaget ud fra kriterier såsom økonomi, afsætningsmuligheder, dyrkningspotentiale og veletablerede arealer hos avlere. Til de kontrollerede forsøg blev udvalgt følgende plantearter: rød solhat (*Echinacea purpurea*), timian (*Thymus vulgaris*), oregano (*Origanum vulgare*), solbær (*Ribes nigrum*), pil (*Salix purpurea*) og brændenælde (*Urtica dioica*). Udvalgte planter blev foretaget af Krymedas bestyrelse i samråd med Danmarks JordbrugsForskning og 'UdviklingsCenter Årslev'. Kontrollerede dyrkningsforsøg af de første 5 blev udført ved de enkelte avlere, hvorimod dyrkningsforsøg med brændenælde fortrinsvis er lavet ved Forskningscenter Årslev. Dyrkningsforsøg med brændenælde vil også pågå i 2005 hvor det fortsætter i et nyt projekt pga. af meget lovende resultater (se **Afsnit 4** og **5**).

Desuden blev der i 2004 udvalgt yderligere tre danske medicinalplanter, som blev screenet for potentielle aktivstoffer. Udvalgte planter blev ligeledes foretaget af Krymedas bestyrelse i samråd med 'UdviklingsCenter Årslev'. De udvalgte forsøgsemner var mælkebøtte (*Taraxacum officinale*), læge-stregbælg (*Galega officinalis*) og salvie (*Salvia officinalis*). Resultaterne fra disse screeninger er ligeledes færdige, med undtagelse af læge-stregbælg, og er formidlet videre til de interesserede avlere. På grund af omfanget af analyser på planter fra dyrkningsforsøgene har der i projektet ikke været tid til at analysere læge-stregbælg. Denne plante vil dog blive undersøgt i anden projektsammenhæng ('Planter til Sundhed – Netværks-samarbejde om medicinplanter'. Se 'Udviklingscenter Årslevs' hjemmeside www.ucaa.dk for yderligere oplysninger om dette projekt).

4. Resultater fra naturstoffkemisk undersøgelse af udvalgte danske medicinalplanter fra dyrkningsforsøg

Som omtalt i foregående afsnit blev der udvalgt 6 plantearter til mere kontrollerede forsøg i 2003 og 2004. De plantearter, der gav de mest lovende resultater i dyrkningsforsøgene var timian og brændenælder. I dyrkningsforsøgene med timian blev både indholdet af fenoliske syrer/flavonoider samt udbytte og sammensætningen af den æteriske olie bestemt, idet disse to grupper menes at have betydning for timians sundhedsgavnige egenskaber (Grevsen & Christensen 2004; Daferera *et al.*, 2000; Haraguchi *et al.*, 1996; Miura *et al.*, 1989; Rasooli & Mirmostafa, 2003; Vandenbroucke & Lemli, 1983). I brændenælder målt primært fenoliske syrer og flavonoider ud fra den samme betragtning. Det er dog lidt mere uklart hvilke stoffer, der er de egentlige bioaktive komponenter i denne plante selvom der bl.a. er klare indikationer om at flavonoider i brændenælde har en betydning (Akbay *et al.*, 2003). Alene resultaterne fra dyrkningsforsøgene med disse to medicinplanter er meget omfattende og derfor vil kun udvalgte resultater fra disse forsøg blive omtalt her. Resultaterne er så gode og nyhedsværdien så høj at de senere vil blive beskrevet indgående i flere videnskabelige og populærvidenskabelige artikler (se også **Afsnit 6**. Formidling af viden og resultater).

4.1 Timian (*Thymus vulgaris*)

Som lægemiddelplante er timian blevet anvendt igennem tiderne mod mange forskellige lidelser og sygdomme, hvor plantedele/ekstrakter/æterisk olie fra de overjordiske dele af planten er blevet brugt mod infektioner udvortes såvel som indvortes. I dag bruges timian og dens æteriske olie til bekæmpelse af infektioner navnlig af svampe samt mod brystinfektioner som bronchitis, kighoste, hals- og lungebetændelse. Desuden anvendes planten mod astma og høfeber og til behandling af især børn mod orm. Der findes enkelte naturlægemidler på det danske marked, der er baseret på plantedele eller ekstrakter af timian. Normalt benyttes timian mod ovenfornævnte sygdomme enten i form af vandige udtræk (afkog), tinkturer (alkohol ekstrakter) eller æterisk olie i stærkt fortyndet form. For eksempel har den æteriske olie fra timian og beslægtede arter i adskillige videnskabelige undersøgelser vist sig at være svampe- og bakteriedræbende, hvilket blot bekræfter plantens egenskaber til bekæmpelse af svampe- og bakterielle infektioner indvortes såvel som udvortes. Dog mangler der egentlige farmakologiske og kliniske studier, der dokumenterer effekten på mennesker. I det følgende beskrives betydningen af høsttid, udviklingstrin og genhøst for udbytte og komposition af den æteriske olie i dansk dyrket timian, og i **Afsnit 5** beskrives hvorledes kulturen er blevet dyrket, herunder betydningen for høsttid, udviklingstrin og genhøst på friskvægt udbyttet. De komplette resultater, herunder også resultaterne fra analysen af flavonoider og fenoliske syrer i timian vil som nævnt ovenfor blive beskrevet i videnskabelige artikler samt formidlet videre via seminar, elektronisk formidling og i populærvidenskabelige artikler.

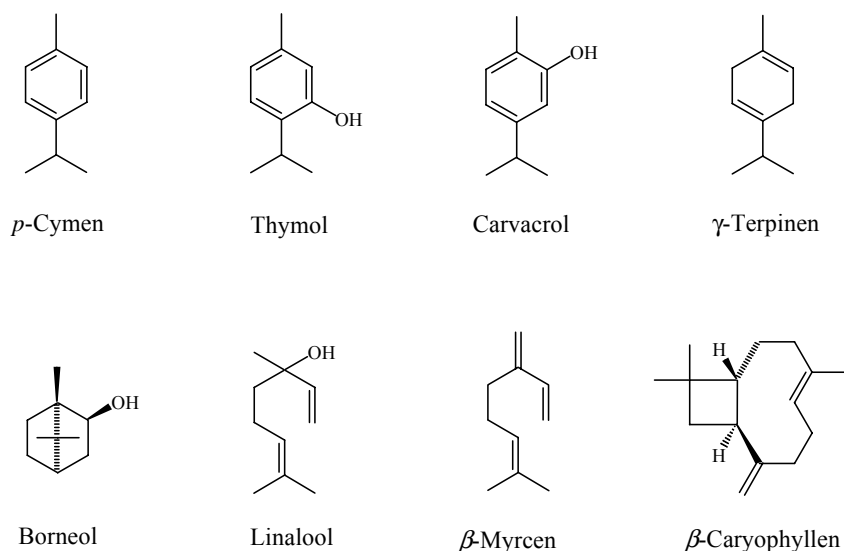


Timian ved begyndende blomstring

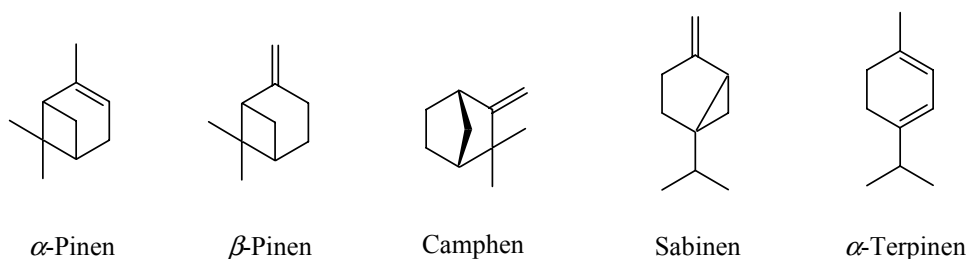
4.1.1. Indholdsstoffer i æterisk olie

De antimikrobielle egenskaber af timian og dens æteriske olie skal især henføres til plantens relativt høje indhold af thymol, som er kraftigt svampe- og bakteriehæmmende. Også andre indholdsstoffer spiller en rolle i den sammenhæng, herunder især det til thymol beslægtede indholdsstof carvacrol. Dertil kommer at timians karakteristiske duft skyldes en kombination af forskellige flygtige monoterpener (**Figur 9** og **10**), hvoraf de vigtigste udover thymol og carvacrol synes at være β -myrcen, γ -terpinen, *p*-cymen, linalool, og borneol (**Figur 9**). Fra en medicinsk synsvinkel er et højt indhold af thymol og/eller carvacrol en vigtig parameter til

bestemmelse af kvaliteten af den æteriske olie pga. deres antimikrobielle aktivitet. Dette er dog ikke nødvendigvis en optimal kvalitetsparameter hvis man skal bruge timian/æteriske olie i relation til ingrediens i fødevarer med mindre man ønsker en forlænget holdbarhed af sine produkter.



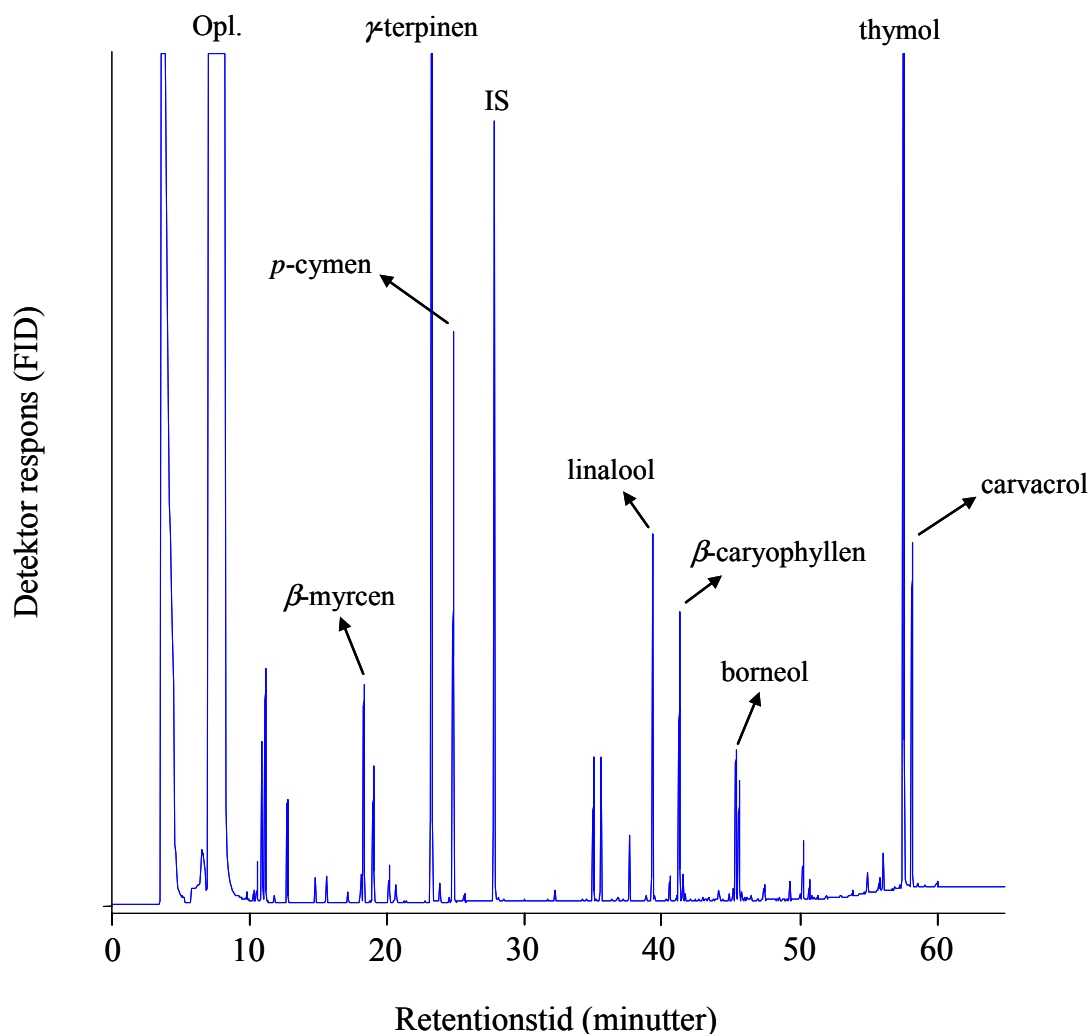
Figur 9. Kemiske strukturer af de flygtige stoffer, der anses for at være de vigtigste i timian og som forekommer i relativt høje koncentrationer i den æteriske olie fra dansk dyrket timian. Fra et medicinsk synspunkt er thymol og carvacrol de væsentligste stoffer i den æteriske olie pga. deres kraftige antimikrobielle aktivitet.



Figur 10. Kemiske strukturer af nogle flygtige stoffer, der ofte forekommer i relativ små koncentrationer i den æteriske olie fra dansk dyrket timian.

Normalt betragtes timian råvaren som værende af en god kvalitet hvis indholdet af den æteriske olie udgør over 1,2% af tørvægten og at sammensætningen af den æteriske olie for de vigtigste indholdsstoffer ligger i følgende områder: β -myrcen (1–3 %), γ terpinen (5–10%), *p*-cymen (15–28%), linalool (4–6,5%), borneol (0,2–2,5%), carvacrol (1–4%) og thymol (36–55%). Problemet med timian råvaren er, at den ikke er særlig ensartet i kvalitet mht. udbytte af den æteriske olie og kompositionen af den, hvilket hovedsagelig skyldes en stor genetisk variation indenfor arten. Desuden inddeler man timian i forskellige kemotyper dvs. planterne inddeles efter hvilken type indholdstof, der udgør den største procentdel af den æteriske olie. Den mest almindelig synes at være thymol kemotypen.

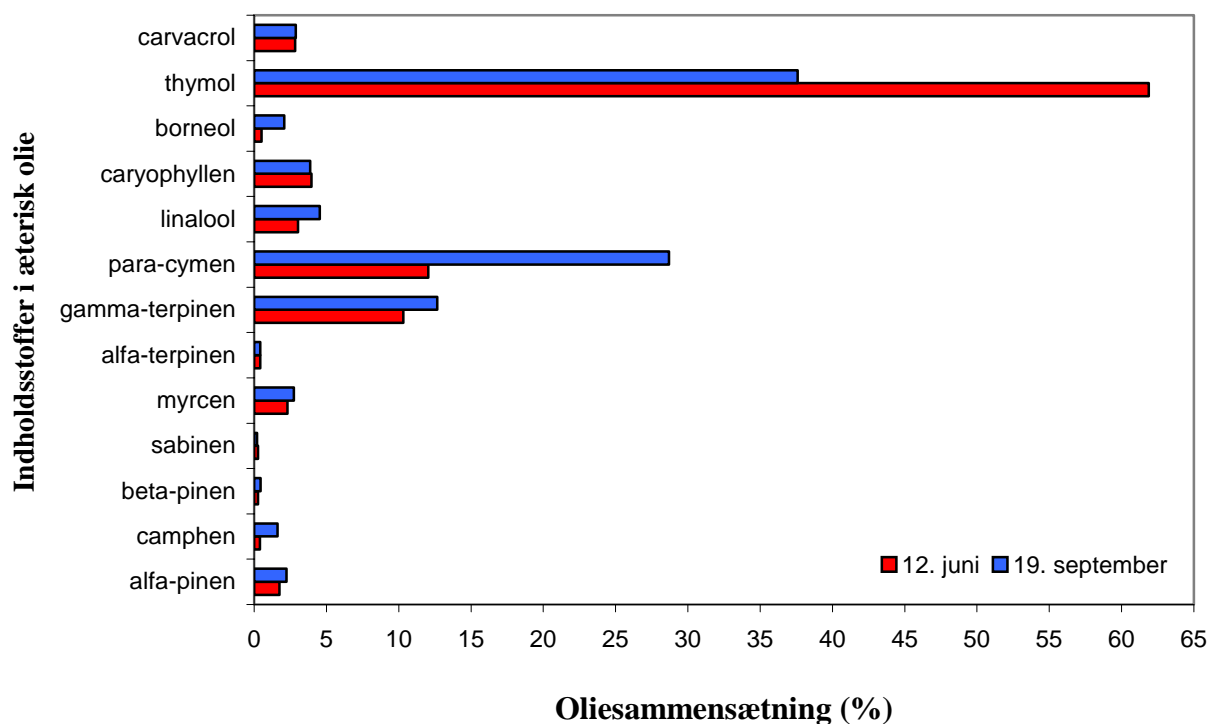
Stofferne i den æteriske olie fra de overjordiske dele af timian blev ekstraheret med et organisk opløsningsmiddel (metylenklorid) og kvantificeret ved gaskromatografi (GC) ved brug af en intern standard (4-methyl-1-pentanol). I **Figur 11** er vist et typisk gaskromatogram fra analysen af den æteriske olie fra dansk dyrket timian. Identifikationen af de flygtige stoffer i olien/ekstraktet blev foretaget ved gaskromatografi–massepektrometri (GC-MS) ved brug af autentiske standarder.



Figur 11. Indholdsstofferne i den æteriske olie af dansk dyrket timian blev kvantificeret ved gaskromatografi. De flygtige stoffer i olien blev adskilt på en Chrompack kapillarkolonne (50 m × 0.25 mm indre diameter, 0.2 µm filmtykkelse; CP-WAX 52 CB) efter kogepunkt og polaritet og detekteret vha. en flamme-ioniserings-detektor (FID). Her ses et typisk gaskromatogram fra analysen af æterisk olie fra timian. IS = intern standard (4-methyl-1-pentanol). Opl. = opløsningsmiddel (metylenklorid).

Thymol udgjorde over 60% af den æteriske olie fra timian (**Figur 12**) ved blomstring den 12 juni 2003, hvorimod carvacrol kun udgjorde ca. 3%, hvilket helt klart indikerer, at den undersøgte timian klon er en thymol kemotype. *p*-Cymen og γ -terpinen, der ud fra et

biosyntetisk synspunkt er forløberne til bl.a. thymol og carvacrol udgjorde hhv. 12 og 10% af den æteriske olie, hvilket også er i overensstemmelse med andre undersøgelser. Udover de nævnte forbindelser blev der i den æteriske olie fra timian identificeret og kvantificeret en række andre flygtige monoterpener og en enkel sesquiterpen, β -caryophyllen (**Figur 9, 10, 11 og 12**).

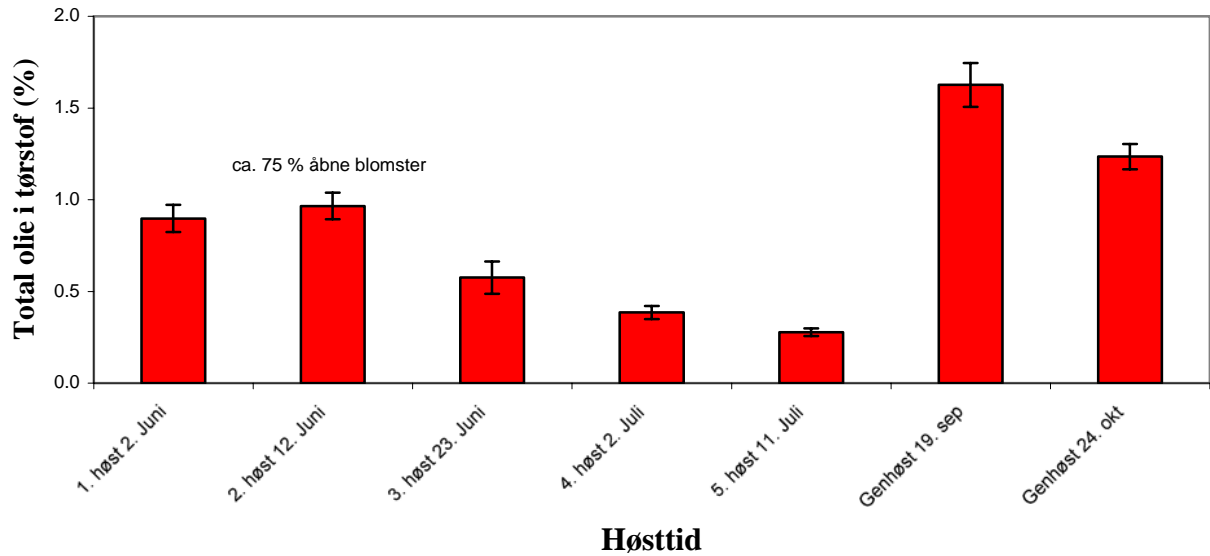


Figur 12. Fordeling af de forskellige indholdsstoffer i den æteriske olie fra timian høstet ved næsten fuld blomstring d. 12. juni 2003 og ved genhøst d. 19. september. Gentagelsen af forsøget i 2004 gav stort set samme fordeling af indholdsstofferne i den æteriske olie.

4.1.2. Høsttidspunkt og genhøst

Produktionen af planteindholdsstoffer afhænger desuden meget af dyrkningsbetingelser (vanding, jordbund, gødsning) og høsttidspunkt. Det er derfor interessant at vide om man kan ændre kvaliteten af timian råvaren ved at høste den på forskellige tidspunkter af året og om genhøstning af timian påvirker kvaliteten dvs. udbytte af den æteriske olie og sammensætningen.

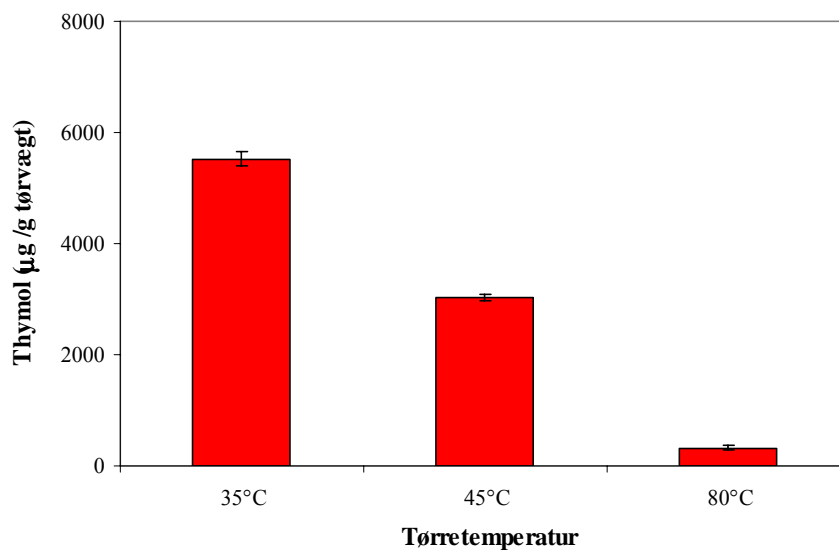
Ved forsøget med genhøst i september var det især koncentrationen af *p*-cymen og γ -terpinen, der var høje i forhold til første høst i juni (**Figur 12**) og det passer med at disse to er forstadier til thymol, hvor koncentrationen var mindre ved genhøst (ca. 38%). Generelt lå alle olierne lidt højere i koncentration ved genhøst det første dyrkningsår i 2003 (**Figur 13**), hvor den totale koncentration af æteriske olier nåede op på 1,6 % mod kun ca. 1% ved første høst (**Figur 13**). Det samme var også tilfældet det andet dyrkningsår i 2004 med undtagelse af resultaterne fra genhøst (se **Afsnit 5.1.2**). Selvom det procentiske indhold af æterisk olie ved første høst ikke helt lever op til de normer, der er opgivet for høj kvalitets timian på over 1,2% må det totale udbytte af den æteriske olie siges at være tilfredsstillende.



Figur 13. Indhold af æterisk olie i timian afhængig af høsttidspunkt. Resultaterne er fra 2003.

4.1.3. Tørretemperatur

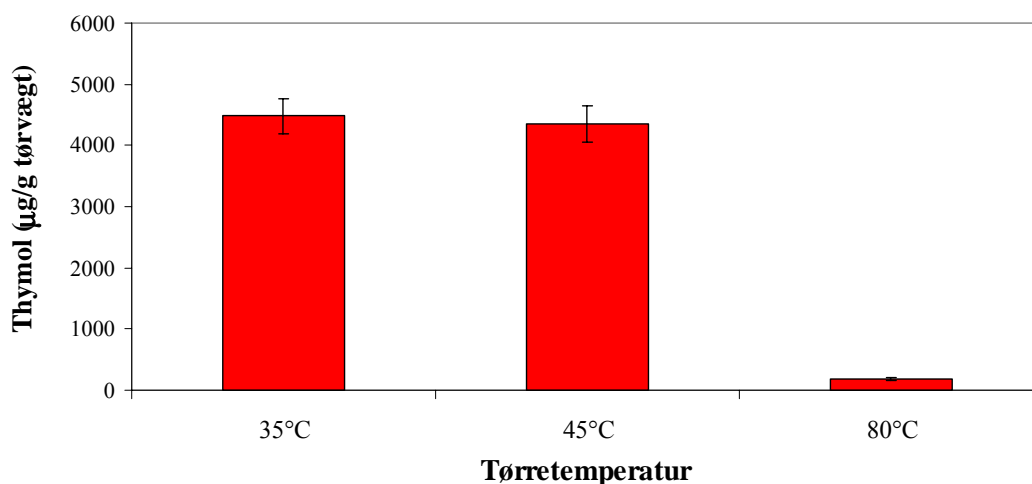
Tørring af timian benyttes til at stabiliser råvaren både som krydderurt og medicinplante og når man ikke skal bruge den til direkte udvinding af æterisk olie ved f.eks. dampdestilation. I timian fra 2. høst 2003 blev der lavet et forsøg med indvirkning af tørretemperatur på indholdet af æteriske olier. Timian blev tørret i ovn ved hhv. 35, 45 og 80 °C i hhv. 40, 20 og 20 timer til de opnåede stabil vægt. Herefter blev indholdet af æteriske olier målt. Tørring ved 45 °C i forhold til 35 °C reducerede indholdet af thymol med næsten 50% og tørring ved 80 °C reducerede indholdet af thymol med hele 95% (**Figur 14**). Materialet til denne undersøgelse havde været frosset ned inden tørring, og da det kan have indvirket på tendensen til at afgive olie pga. f.eks. sprængning af celler under frysning kan undersøgelsen



Figur 14. Indholdet af thymol i timian som følge af tørring af ved forskellige temperaturer. Råvaren til tørringsforsøget var nedfrosset materiale fra 2. høst i 2003.

derfor ikke helt sammenlignes med at tørre frisk materiale. Et tilsvarende tørringsforsøg blev derfor udført i 2004 på frisk plantemateriale fra 3. høst. Som det fremgår af **Figur 15** vist dette forsøg at tørring ved 35 og 45 °C i hhv. 40 og 20 timer ikke har den store betydning for indholdet af æterisk olie i råvaren, hvorimod tørring ved 80 °C i 20 timer ikke overraskende viste en kraftig reduktion i indholdet af æterisk olie i råvaren. Derimod viste disse simple forarbejdningsforsøg at indholdet af andre væsentlige indholdsstoffer i timian (fenoliske syrer og flavonoider) er relativt stabile under denne type forarbejdning med kun et relativt lille fald i indholdet af disse stoffer ved 80 °C i forhold til tørring ved 35 og 45 °C (data ikke vist). Desuden viste tørringsforsøgene, at indholdet af f.eks. æterisk olie faldt med ca. 25% ved tørring ved 35 °C i forhold til udgangsmaterialet, hvilket må siges at være acceptabelt.

De beskrevne forarbejdningsforsøg viser, at det er vigtigt at tørre ved relativt lav temperatur for at bevare indholdet af mulige aktivstoffer i råvaren. Mere indgående forarbejdningsforsøg med timian og andre medicinalplanter udføres i øjeblikket i andet projektregi under 'Planter til Sundhed'. Disse undersøgelser skulle gerne resultere i udfærdigelsen af nogle generelle retningslinier for forarbejdning af råvare for at bevare indholdet af aktivstoffer bedst muligt i det forarbejdede produkt.



Figur 15. Indholdet af thymol i timian som følge af tørring af friskt timian råvare ved forskellige temperaturer. Råvaren til tørringsforsøget var frisk materiale fra 3. høst i 2004.

4.2. Brændenælde (*Stor nælde*) (*Urtica dioica*)

Brændenælde er en meget gammel medicinplante hvis kendte anvendelse går helt tilbage til år 2 årh. e. kr. Planten skulle bl.a. have anti-inflammatorisk effekt, herunder effekt mod forskellige gigttilidelser samt være smertestillende, modvirke mavesår, hjerte-kar-sygdomme og have anti-allergiske egenskaber. Nogle af disse effekter er bl.a. blevet verificeret i videnskabelige undersøgelser (se f.eks. Akbay *et al.*, 2003; Bnouham *et al.*, 2003; Gulcin *et al.*, 2004; Legssyer *et al.*, 2002), hvilket dog ikke kan tages som et bevis for at planten har disse egenskaber, idet mange af undersøgelserne ikke er grundige undersøgelser af plantens egenskaber på mennesker. Nogle af undersøgelserne bekræfter dog at brændenælde højst sandsynlig har nogle af disse egenskaber.

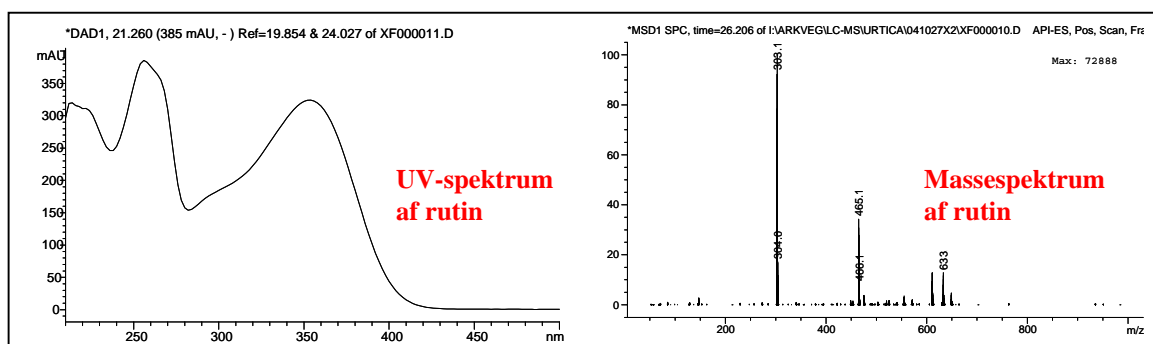
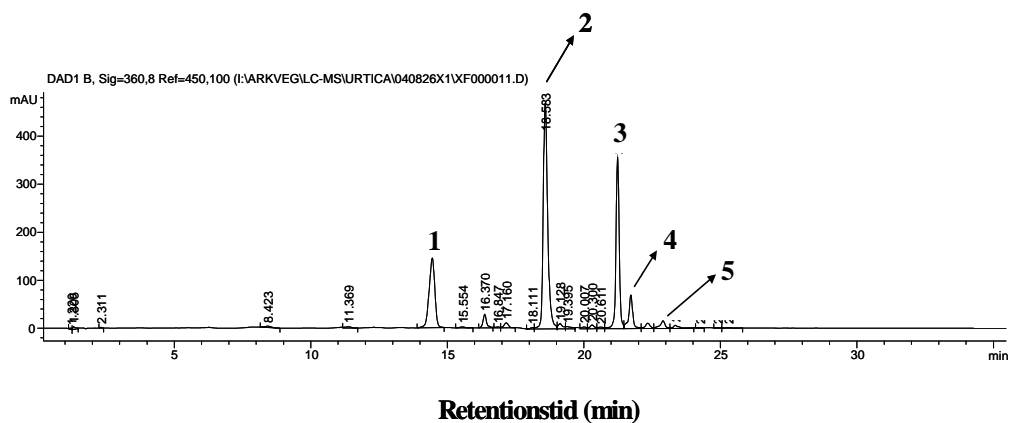


Brændenælde (stor nælde) klar til 1. høst den 26. maj 2004

4.2.1. Indholdsstoffer i ekstrakter fra overjordiske dele

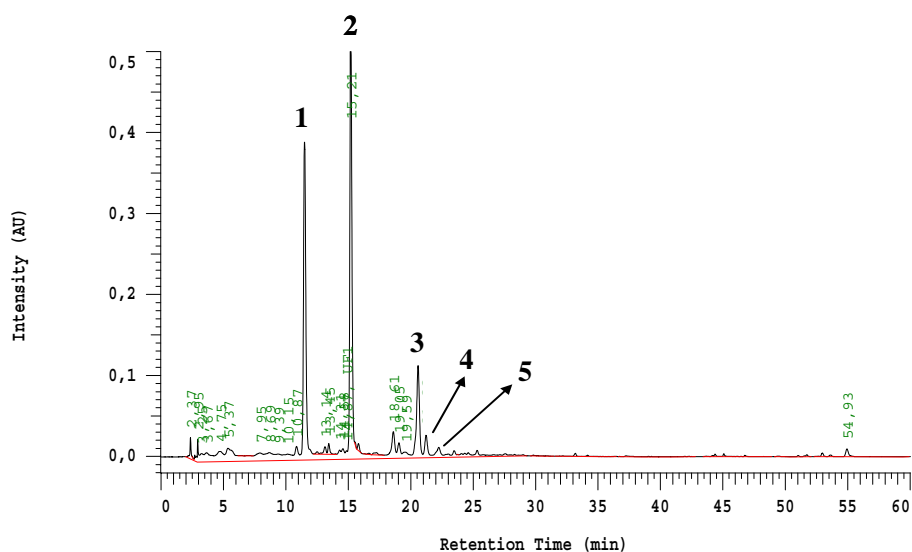
Når man taler om mulige bioaktive stoffer i de overjordiske dele af brændenælde har man især været fokuseret på fenoliske syrer, flavonoider, coumariner (især scopoletin) og triterpenoider (Koll *et al.*, 2003), hvoraf de førstnævnte udgør hovedparten af mulige bioaktive sekundære metabolitter i denne del af planten. Flavonoiderne har bl.a. vist anti-inflammatorisk aktivitet, der måske kan forklare plantens effekt overfor forskellige gigtlidelser (Akabay *et al.*, 2003). Vi har derfor i vores analyse ligesom det er blevet gjort i mange andre videnskabelige arbejder på brændenælde fokuseret på at identificere og kvantificere fenoliske syrer og flavonoider i brændenælde samt bestemme indflydelsen af gødskning, høsttid, udviklingstrin og genhøst på indholdet og udbyttet af disse sekundære metabolitter.

Fenoliske syrer og flavonoider blev identificeret i methanol ekstrakter af brændenælde vha. væskechromatografi-massepektrometri (LC-MS). I **Figur 16** er vist et typisk LC-MS kromatogram, herunder et eksempel på et UV-spektrum og massespektrum af rutin (quercetin-3-*O*-rutinosid, **3**), som er en af de identificerede flavonoider i brændenælde. De andre forbindelser identificeret i de overjordiske dele af brændenælde ekstrakterne ved LC-MS var klorogensyre (**1**), kaffeoyl hydroxybutandisyre (**2**), isoquercitrin (quercetin-3-*O*-glucosid, **4**), og kaempferol-3-*O*-rutinoside (**5**). De fleste af disse forbindelser er tidligere identificeret i brændenælde. Derudover forekommer, der mindre mængder af andre sekundære metabolitter i brændenælde ekstrakterne, der kvantitativt dog kun udgør under 5% i forhold til de identificerede sekundære metabolitter. Identifikationen af disse ukendte sekundære metabolitter vil blive udført i anden projektsammenhæng.



Figur 16. LC-MS kromatogram fra analysen af brændenælde ekstrakt (øverst) og et eksempel på et massespektrum og UV-spektrum på en af de identificerede flavonoider rutin (3).

De sekundære metabolitter blev kvantificeret ved analytisk HPLC (UV-detektion) ved brug af en ekstern standard kurve for hhv. klorogensyre og rutin. I **Figur 17** er vist et typisk analytisk HPLC kromatogram fra et brændenælde ekstrakt.

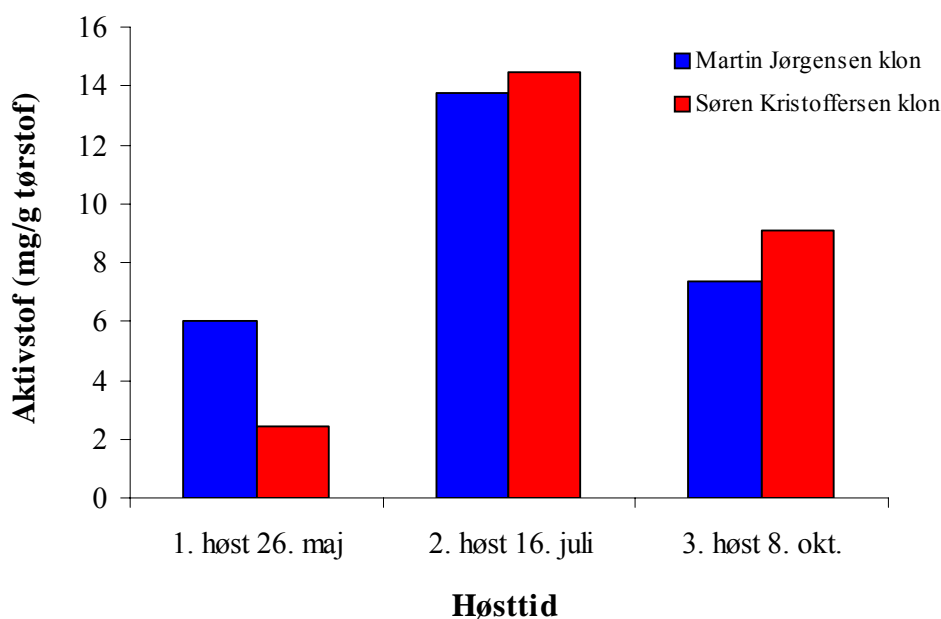


Figur 17. Repræsentativ analytisk HPLC-kromatogram fra analysen af et brændenælde ekstrakt.

4.2.2. Effekt af høsttidspunkt, genhøst og gødskning på indholdet af flavonoider/fenoliske syrer

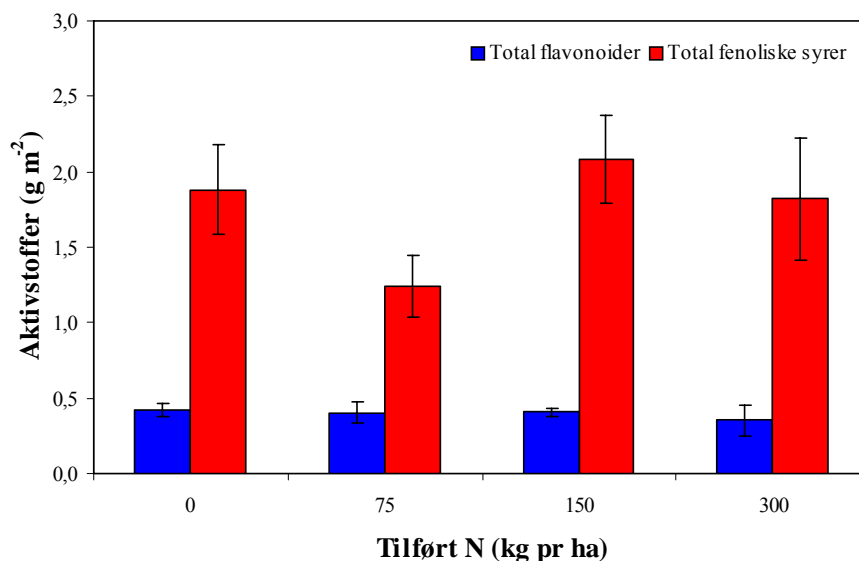
Indholdet af sekundære metabolitter kan bl.a. variere meget under forskellige dyrkningsbetingelser og dermed kan dyrkningen have en stor betydning på kvaliteten af råvaren. For at undersøge hvorledes indholdet af sekundære metabolitter, herunder især flavonoider og fenoliske syrer, afhænger af forskellige dyrknings- og høstparametre blev forskellige dyrkningsforsøg udført i 2003 og 2004 på veletablerede arealer i Årslev (for yderligere oplysninger se **Afsnit 5.2**). I det følgende beskrives kort nogle af hovedresultaterne fra 2003 dyrknings- og høstforsøgene fra Årslev Det skal dog understreges, at resultaterne for de tilsvarende dyrknings- og høstforsøg i 2004 stort set viser samme resultat. Forsøgene vil blive fortsat i 2005 (3. dyrkningsår) i andet projekt-regi, hvor vi også vil se på dyrkningens indflydelse på indholdet af sekundære metabolitter i rødderne, som ligeledes bruges til plantemedicin.

Som det fremgår af forsøgene med tre høsttider (slæt) dvs. genhøst på samme planter (**Figur 18**) var det optimale indhold af potentielle aktivstoffer ved anden høst i midten af juli. I forsøget indgik to kloner fra to forskellige avlere, men der var ikke sikker forskel på koncentrationen af aktivstoffer.

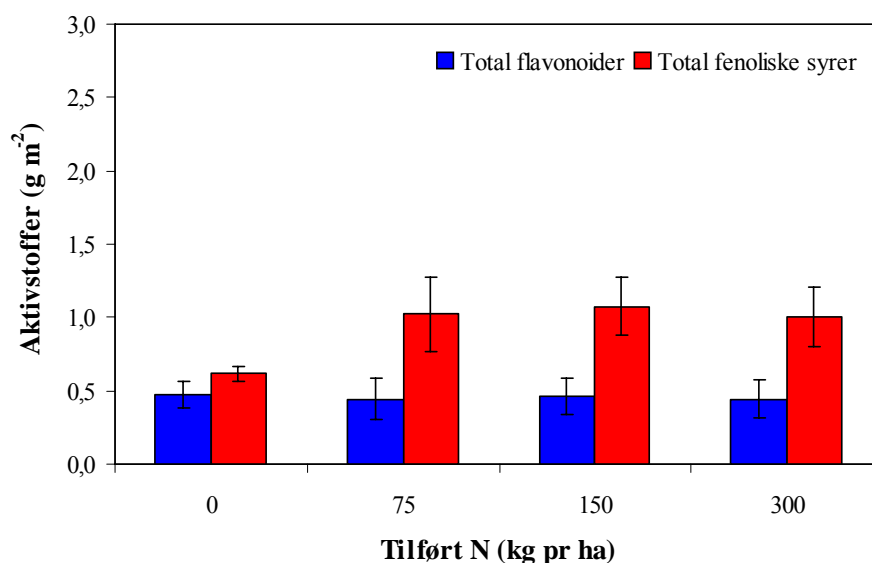


Figur 18. Virkning af klon ved 3 høsttider i 2004 (gødskning 100 kg N per ha) mht. til koncentration aktivstof (total indhold af flavonoider). De 3 høsttider er her genhøst (slæt) på samme planter efter at de er vokset frem igen.

Kvælstof(N)-gødskningen havde stor indflydelse på produktionen af plantemateriale (blade og stængler) [se **Afsnit 5.2**], men ikke den store indflydelse på udbyttet af flavonoider og fenoliske syrer målt pr arealenhed som vist på **Figur 19** og **20**. Det skyldes, at selvom indholdsstofproduktionen går op ved høj N-gødskning så går koncentrationen af aktivstoffer ned og resultatet i udbytte pr arealenhed bliver nær det samme (**Figur 19** og **20**). Et resultat som også blev observeret i 2004 dyrkningsforsøgene (data ikke vist)



Figur 19. Kvælstof(N)-virkning (1. høst, 7. juli 2003) på udbyttet af flavonoider og fenoliske syrer i brændenælde.



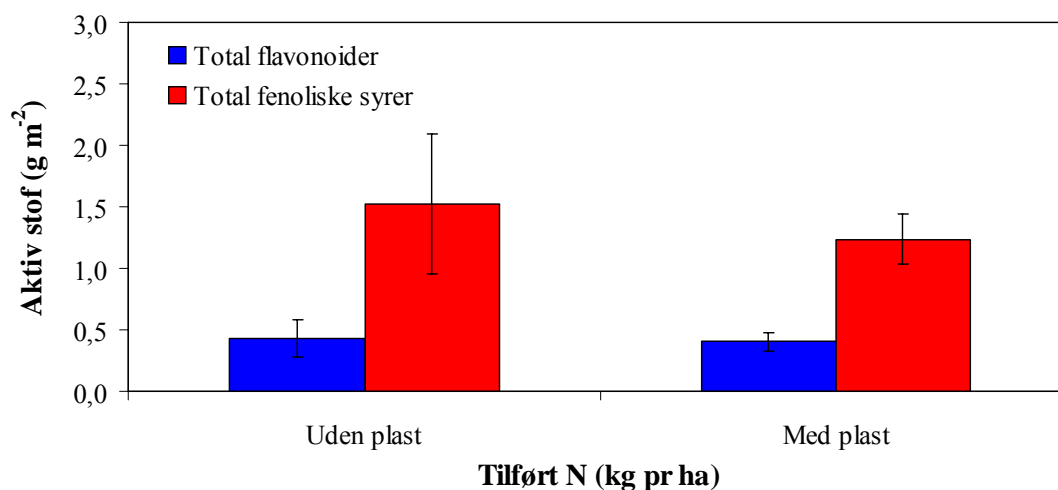
Figur 20. Kvælstof(N)-virkning (2. høst, 2. september 2003) på udbyttet af flavonoider og fenoliske syrer i brændenælde.

Genhøst giver dog så høje udbytter af aktivstoffer, at i hvert fald én genhøst af brændenælde til naturmedicin giver mening og bør overvejes. Det skal desuden understreges, at indholdet af flavonoider og fenoliske syrer i brændenælde er i overensstemmelse med det man finder på andre lokaliteter i Europa. Det må derfor konkluderes, at det er muligt at dyrke brændenælde i Danmark af en god råvarekvalitet til brug i naturmedicinpræparater. I denne sammenhæng skal det også understreges, at det ikke kun er vigtigt at kunne producere brændenælde af en god råvarekvalitet, hvis forarbejdningen af produktet f.eks. tørringen ikke er optimal. Indledende forsøg har vist at indholdsstofferne i brændenælde er meget følsom overfor en

ordentlig forarbejdning muligvis pga. en meget høj enzymatisk aktivitet i plantematerialet. Derfor er det meget vigtigt ved produktion af brændenælde til naturmedicin, at man har styr på forarbejdningssiden. Forarbejdningssproblematikken omkring brændenælde og andre medicinplanter undersøges p.t. i flere specialeprojekter startet i dette projekt (se **Afsnit 6.2**) samt som tidligere nævnt i andre igangværende projekter under Udviklingscentrets projekt portefølje (f.eks. i Planter til Sundhed – Netværkssamarbejde om medicinplanter). Indledende forsøg med tørring af frisk høstet brændenælde er kort beskrevet i **Afsnit 4.2.4**.

4.2.3. Effekt af dyrkningssystem på indholdet af flavonoider/fenoliske syrer

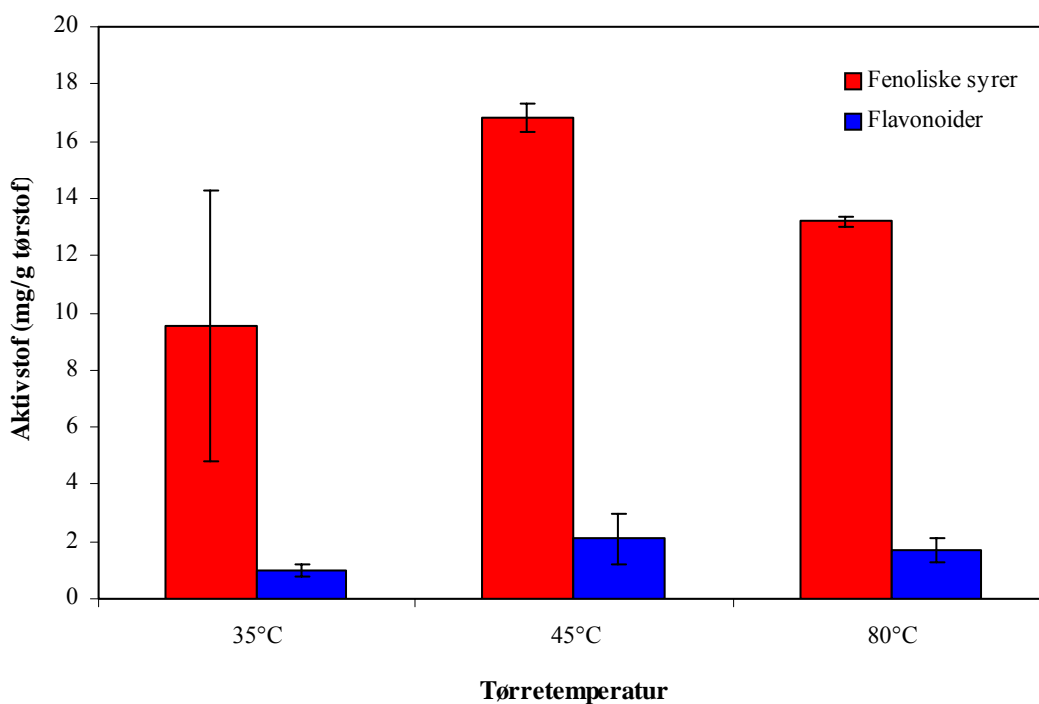
Effekten af dyrkningssystem på udbyttet af flavonoider og fenoliske syrer blev ligeledes undersøgt. Dyrkningssystemerne bestod af dyrkning med og uden plastikdug mod ukrudt og i andet år hhv. at fjerne eller ikke fjerne plastikdug. Dyrkningssystemerne er nærmere beskrevet i **Afsnit 5.2.** og har størst betydning for selve produktionen af plantemateriale. Som det fremgår af **Figur 21** så var der ikke den store forskel på udbyttet af flavonoider og fenoliske syrer pr arealenhed mellem de to dyrkningssystemer – en tendens der også blev observeret ved 2. høst og i 2004 forsøgene (data ikke vist). Den store indflydelse af dyrkningssystem er på udbytte af stof og især på vækst af ukrudt der forurener råvaren (se **Afsnit 5.2.**).



Figur 21. Virkning af dyrkningssystem ved 1. høst, 7. juli 2003 på udbyttet af flavonoider og fenoliske syrer i brændenælde.

4.2.4. Effekt af tørring på indholdet af flavonoider/fenoliske syrer

Som nævnt i **Afsnit 4.2.2** kan forarbejdning af brændenælde være problematisk. Der blev derfor lavet et simpelt tørringsforsøg med friskt høstet brændenælde for at undersøge effekten af tørring ved hhv. 35, 45 og 80 °C i hhv. 40, 20 og 20 timer til de var 'rasletørre'. Som vist i **Figur 22** påvirkedes indholdet af aktivstoffer ikke væsentligt ved de forskellige tørringstemperaturer selvom der er en klar tendens til at tørring ved 35 °C giver et lavere indhold af aktivstoffer. Det lavere indhold ved 35°C kan igen skyldes den længere tid (40 t) der var nødvendig for at tørre materialet til en stabil råvare. Forarbejdningssforsøget viser dog at aktivstofferne trods alt er relativt stabile under forarbejdningen hvilket indikerer at enzymatisk nedbrydning er en mindre væsentlig faktor ved tørring af friskt plantemateriale i modsætning til tørring af frossent materiale (data ikke vist).



Figur 22. Virkning af forskellige tørretemperatur på koncentrationen af aktivstoffer (fenoliske syrer og flavonoider) i friskt høstet brændenælde.

5. Resultater fra dyrkningsforsøg med udvalgte danske medicinalplanter

Som nævnt i **Afsnit 4** vil kun udvalgte resultater af dyrkningen af timian og brændenælde blive beskrevet, idet dyrkningsforsøgene generelt er meget omfattende. Resultaterne fra disse og de andre dyrkningsforsøg vil blive beskrevet mere indgående i videnskabelige publikationer, i en større DJF rapport og/eller lagt ud på Udviklingscentrets hjemmeside (www.ucaa.dk) således at alle resultater fra projektet vil blive tilgængelig for alle.

5.1. Timian (*Thymus vulgaris*)

5.1.1. Dyrkning

Timian blomstrer fra sidst i maj til helt hen i oktober. Timian foretrækker tør og kalkrig jord i god gødningsstand og masser af sollys. Marken skal helst ligge et sted hvor der ikke er risiko for stærk frost om vinteren. For at sikre god overvintring må der ikke skæres for dybt om efteråret og ikke høstes senere end midt i oktober.

Timian kan dyrkes i rækkekultur eller i bede og kan enten sås direkte eller plantes ud. De flerårige planter giver ofte problemer med ukrudt og især når man, som det er tilfældet i Danmark, ønsker at dyrke uden brug af pesticider. Derfor anbefales udplantning gennem ukrudtsdug, selvom det er en relativt stor investering ved etablering. Direkte såning kræver et meget godt såbed, og man sår i en dybde af 0,5–1,0 cm. Såmængden er ca. 3–8 kg/ha alt efter rækkeafstand og spiringsforhold. Timianfrøene er små med en tusindkornsvægt (TKV) på ca. 0,3 gram, og de er følsomme for skorpedannelse ved tilslemning af jorden.

Småplanter til udplantning sås i marts/april i potter (f.eks. Vefi- 45 × 45 × 60 mm eller anden form for aflang 'potte') med 5–7 frø i hver potte. Potterne skal helst være aflange for at

kunne plantes maskinelt gennem ukrudtsdug. Planterne tiltrækkes i væksthuse ved 20–25 °C indtil fremspiring, hvorefter temperaturen kan sænkes til ca. 16–18 °C om dagen og 12–14 °C om natten. Planterne skal afhærdes frostfrit i 7–14 dage før de i slutningen af maj er klar til at blive plantet ud på friland. Planterne skal nu helst være ca. 5–7 cm høje. Plantning kan foregå i bede f.eks. i 120 cm brede bede med en gang med græs på ca. 60–110 cm imellem afhængig af hvilken slåmaskine man har til gangene. Plantning i ukrudtsdug (f.eks. sort MyPex-dug med udstandsede og randsvejsede huller) anbefales som sagt pga. ukrudtsproblemer. En plantetæthed på ca. 16 planter/potter pr m² i 30 × 20–25 cm i fordeling vil være passende (**Figur 23**).



Figur 23. Timian dyrket i bede og høst af forsøg ved begyndende blomstring d. 2. juni 2003.

Timian kræver ca. 80 kg N, 20 kg P og 100 kg K pr ha efter tyske angivelser. Fra andet dyrkningsår kan man give 60 kg N/ha før sæson start og derefter ca. 20 kg N/ha efter hver høst for at hjælpe på genvæksten.

I anlægsåret kan der kun anbefales at høste en gang lige før fuld blomstring og ikke senere end i overgang mellem august/september, ellers kan der ikke udvikles nok vinterfasthed i skuddene. I andet år og senere kan der tages to slæt. Første slæt i juni og andet slæt i start af september. De øverste ca. 10 cm af planten høstes ned til hvor den forvedede del af stænglen starter (**Figur 24**). Der skal stadig være lidt af grønne blade tilbage på 'stubben' for at sikre god genvækst af nye skud. For lav skærehøjde giver også for mange veddele i produktet. Høsten kan ske med maskine, blot den har en knivbjælke, en vinde med børster, et transportbånd og en opsamlereenhed. Egnede høstmaskiner kan købes eller man anvender ombyggede variationer af små mejetærskere eller f. eks maskiner til at høste græsparceller. Om foråret i marts måned er det en god idé at 'trimme' kulturen til ensartet højde for at få så rent og ensartet et høstprodukt som muligt.



Figur 24. Klippehøjde ved første høst i juni

Udbyttet angives i tyske kilder at ligge på ca. 18–37 t/ha friskmasse i andet høstår. Det giver ca. 9-17 t/ha friskvare som blomster og blade efter sortering og det vil igen sige 1,5–4,5 t/ha tørret droge af blomster og blade. Udbyttet af æteriske olier er i samme kilde opgivet til ca. 25 kg/ha.

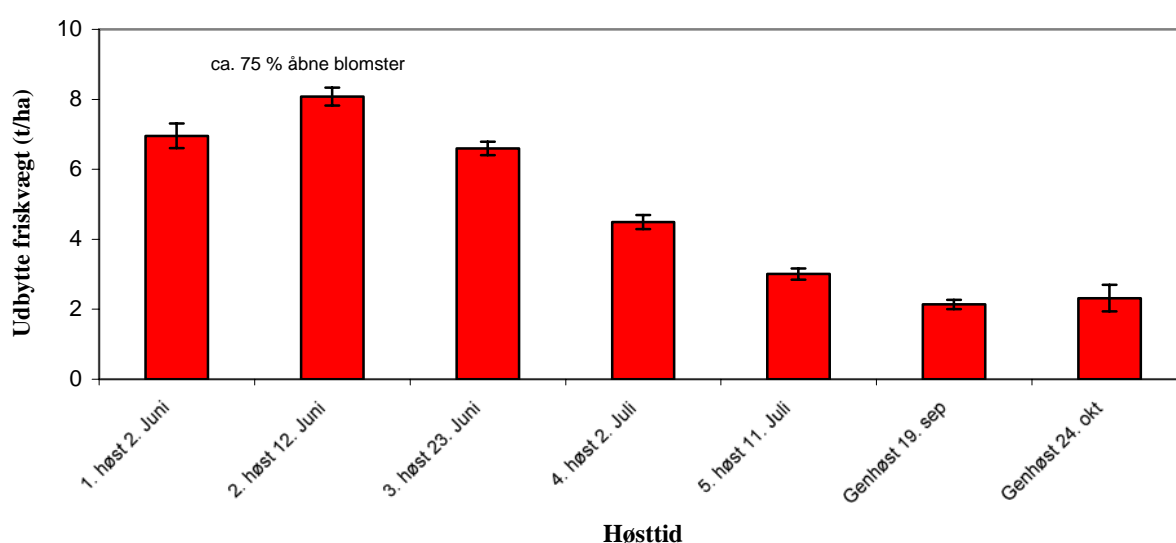
5.1.2. Forsøg med høsttider

I 2003 og 2004 blev der af Danmarks JordbrugsForskning, Årslev udført et forsøg med fem forskellige høsttidspunkter i en etableret timiankultur på Fyn hos avler Lars Sørensen. Formålet var at finde det optimale udviklingstrin mht. indhold af æteriske olier og andre indholdsstoffer (fenoliske syrer og flavonoider), der er vigtige i plantemedicinsk henseende. Timianmarken var anlagt i 1999 og plantet i Mypex-ukrudtsdug med ca. 16 planter placeret pr m² dug og i bede á 120 cm's bredde og med gange på 110 cm mellem bedene. Plantetætheden over hele arealet bliver herved ca. 70.000 planter pr ha. I gangene er der græs (grønne planter), der bliver holdt kort ved klipning med en græsslåmaskine (**Figur 23**). Jorden, der er en god lerblandet sandjord (JB3-4), bliver dyrket økologisk, og der gødes med Binadan (hønsemøgpiller).

Forsøgspareceller på brutto 4,6 m² (2 m bed) blev høstet på fem forskellige tidspunkter (ny parcel hver gang) med start ved begyndende blomstring (f.eks. 2. juni i 2003) og herefter med ca. 10 dages mellemrum. I efteråret blev der genhøstet på de samme parceller, som var høstet ved 1. og 2. høsttidspunkt. Forsøgsdesignet var i randomiserede blokke med 3 gentagelser. Udbyttet af friskvægt blev bestemt ved vejning af hele den høstede plantemasse fra en parcel. Der blev udtaget 2 prøver på ca. 300 g til analyser for tørstof, æterisk olie, fenoliske syrer og flavonoider. Desuden blev der udtaget en prøve på ca. 30 g i lufttætte glasflasker til analyse af kompositionen af de æteriske olier. Prøverne blev holdt nedkølede indtil de samme dag

blev pakket i gastætte folieposer og nedfrosset ved $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Datoerne for de 5 høsttider i 2003 fremgår af **Figur 13** og **25** og udviklingstrinnet ved høst kan beskrives som:

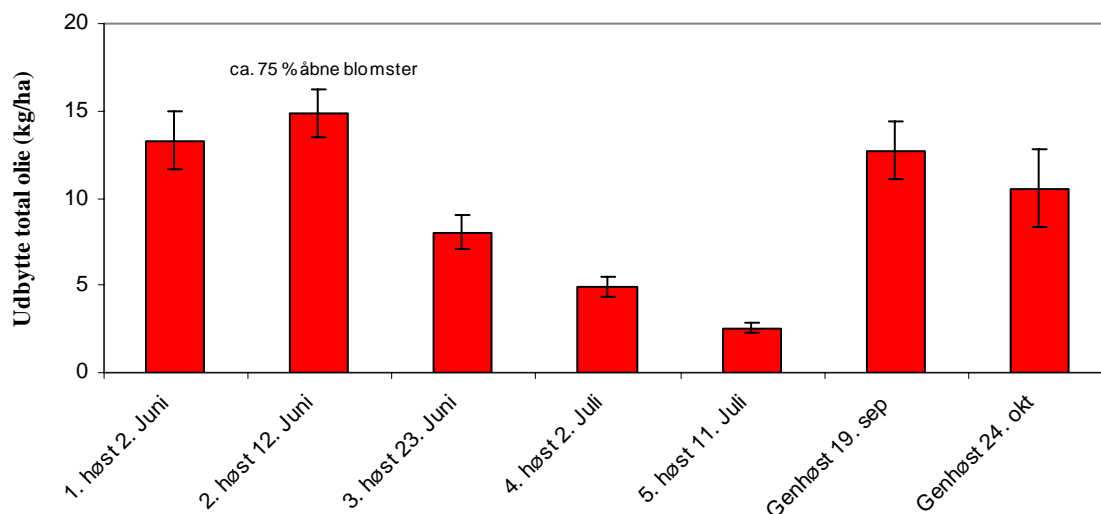
1. høst: Ved begyndende blomstring (ca. 20% åbne blomster).
2. høst: Ved ca. 75% åbne blomster (næsten fuld blomstring).
3. høst: Lige efter fuld blomstring (ca. 20% visne blomster).
4. høst: Ved ca. 80% visne blomster.
5. høst: Ved helt afblomstret timian.



Figur 25. Friskvægt udbytte af timian høstet ved fem tidspunkter og genhøst i efteråret ved to tidspunkter. Genhøst på parceller høstet første gang hhv. 12 juni og 23 juni 2003. Tilsvarende udbytte forsøg for 2004 gav et lignende resultat dog med mindre udbytte i 2004 for genhøst.

Friskvægtudbyttet af timian høstet i 2003 steg indtil den anden høst d. 12. juni (**Figur 25**) hvor kulturen var tæt på fuld blomstring. Udbyttet af friskmasse var da omkring 8 t/ha ved denne dyrkningsform (Udbytte udregnet på hele arealet dvs. med gange mellem bede) og tørstof udbyttet bliver så ca. 1,5 t/ha (ved 2. høst var der 19% tørstof i det høstede materiale). Koncentrationen af æteriske olier var ved 2. høst på ca. 1% af tørstof som tidlige beskrevet (**Figur 13**) og udbyttet af total æteriske olier per areal blev derfor på ca. 15 kg/ha (**Figur 26**). Disse tal er lavere end de udbytter, der er opgivet i tyske undersøgelser (nævnt ovenfor) og det beror på det specielle beds system, hvor kun næsten halvdelen af arealet er dækket med planter. Udregnes udbyttet af æteriske olier for et areal med kun 60 cm gange bliver udbyttet på 19 kg pr ha hvilket er mere lig de tyske opgivelser. Desuden kan forskelle i udbytte også henføres til en genetisk variation som er udpræget for timian. Resultaterne for dyrkningsforsøgene udført i 2004 gav stort set det samme resultat som 2003 høsten, med undtagelse af genhøst, der gav mindre udbytte i 2004, hvilket blot bekræfter rigtigheden af de opnåede resultater. De mindre forskelle, der er mellem 2003 og 2004 resultaterne skal

sandsynligvis henføres til forskelle i vækstsæsonen (f.eks. lys/indstråling, varme, nedbør etc.).



Figur 26. Udbyttet af æterisk olie i kg per ha ved fem høsttider og genhøst i efteråret 2003. Tilsvarende udbytte forsøg for 2004 gav et lignende resultat.

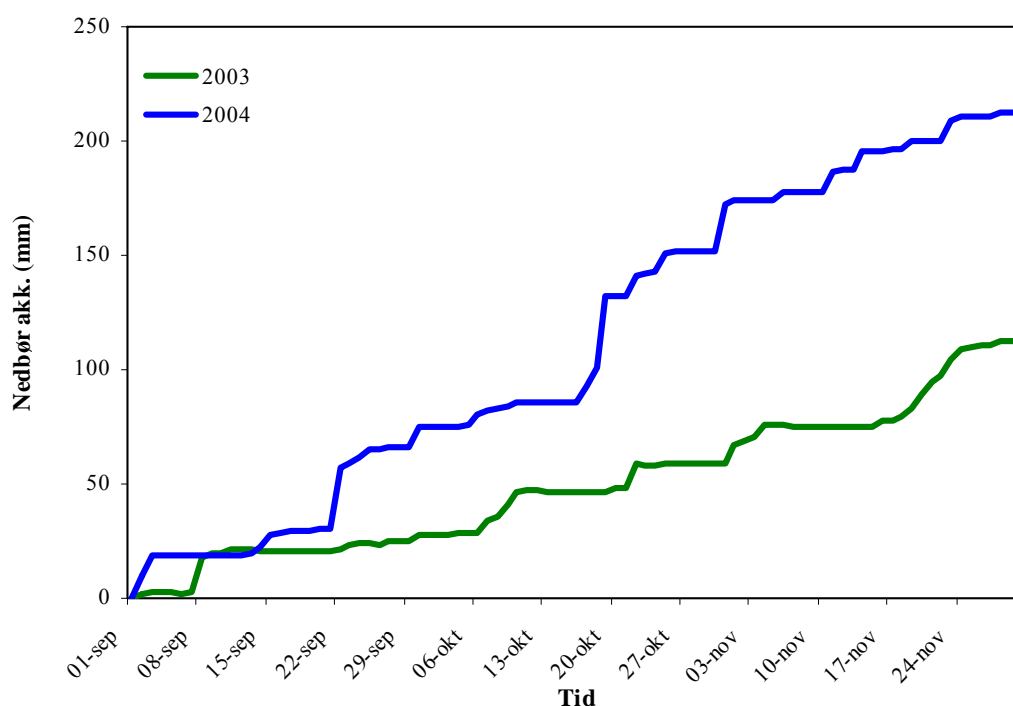
Genhøst i september og oktober på de parceller der var høstet hhv. 2. juni og 12. juni 2003 gav et lille udbytte mht. friskvægt, men til gengæld havde det høstede produkt en meget høj koncentration af æteriske olier (**Figur 13, 25 og 26**) olieindholdet nåede op på 1,6% af tørstof. Ved genhøst havde timiankulturen ikke åbne blomster (**Figur 27**) og høstproduktet



Figur 27. Timian d. 19 september 2003, hvor der blev genhøstet på de parceller, der var høstet første gang d. 2 juni.

bestod af blade og skud. Genhøst i 2004 gav dog betydelig mindre udbytter mht. til friskvægt og olieindhold og dermed også udbytte af total olie/ha. Som vist i **Figur 26** var udbyttet af

total olie per ha over 10 kg i 2003 ved 1. og 2. genhøst, hvorimod udbyttet var faldet til under 4 kg per ha i 2004 ved 1. og 2. genhøst (data ikke vist). Forklaringen på det dårligere resultat ved genhøst i 2004 skal muligvis findes i nedbørsmængden, som var betydelig højere i 2004 sammenlignet med 2003 som det fremgår af **Figur 28**. Andre vigtige vækstfaktorer (indstråling og temperatur), der kunne have betydning for udbytteforskellen mellem 2003/2004 var derimod rimelig ens begge år også omkring høsttidspunkterne. På trods af de noget forskellige udbytter ved genhøst viser resultaterne, at genhøst bør overvejes ved dyrkning af timian. Dog skal man være opmærksom på genhøsten ikke bliver for sent idet det så kan gå ud over overvintring og dermed næste års høst. Høsttidsforsøget i 2004 viste, at eftervirkningen fra det foregående års genhøst ikke påvirker udbytte og kvalitet af råvaren det efterfølgende år, hvilket betyder at timian er en velegnet plante at dyrke i Danmark til brug i naturmedicinpræparater og i fødevarer.



Figur 28. Nedbør akkumuleret fra september til december i 2003 og 2004. Forskelle i nedbørsmængde ved 1. og 2. genhøst af timian i 2003/2004 kan muligvis forklare de store forskelle man ser i udbyttet af total olie per ha ved genhøste i hhv. 2003 og 2004.

5.2. Brændenælde (*Urtica dioica*) (Stor nælde)

5.2.1 Dyrkning

Stor nælde eller brændenælde hører til Nældefamilien (*Urticácea*), er flerårig med rødder der danner rhizomer, har firkantet opret stængel, brændhår og modsatte savtakkede blade. Blomsterne er nøgler i grenede stande og stor nælde er tvebo (*dioica*) dvs. han- og hunblomster udvikles på forskellige planter. Stor nælde foretrækker næringsrig, ler- og humusrig ikke for sur jord, der ikke bliver for tør. Brændenælde stiller ikke de store krav til klima og er fuldt vinterfast herhjemme.

Brændenælde kan sås direkte, men det kan ikke anbefales, idet fremspiringen kan blive meget dårlig. Brændenælde har meget små frø (tusindkornsvægt på 0,14 g) og skal sås meget øverligt. Herved får man let udtørring idet frøet tillige er meget langsom til at spire frem.

Brændenælde kan også dyrkes i rækkekultur eller i bede og kan enten plantes ud eller der lægges stykker af rødder (rhisomer). De flerårige planter giver ofte problemer med ukrudt og især når man, som det er tilfældet i Danmark, ønsker at dyrke uden brug af pesticider. Derfor anbefales udplantning gennem ukrudtsdug, selvom det er en relativt stor investering ved etablering. Småplanter til udplantning kan enten laves ud fra frø eller fra små stykker af rødderne. Der sås eller lægges rodstykker i april i potter (f.eks. Vefi- 45 × 45 × 60 mm eller anden form for stor aflang 'potte'). Potterne skal helst være aflange for at kunne plantes maskinelt gennem ukrudtsdug. Planterne tiltrækkes i væksthuse ved ca. 20 °C indtil fremspiring og ved sået frø dækkes med hvid perforeret folie for at sikre mod fordampning. Efter fremspiring kan temperaturen sænkes til ca. 16–18 °C om dagen og 12–14 °C om natten. Planterne skal afhærdes frostfrit i 7–14 dage før de i slutningen af maj er klar til at blive plantet ud på friland. Plantning kan foregå



Figur 29. Udplantning af brændenælde i ukrudtsdug. Plantetætheden er her 30 × 20 cm. Planterne er fremstillet ud fra rodstiklinger på ca. 3 cm. I forsøget plantes med hånd, hvor der ved kommerciel produktion ville blive plantet med maskine.

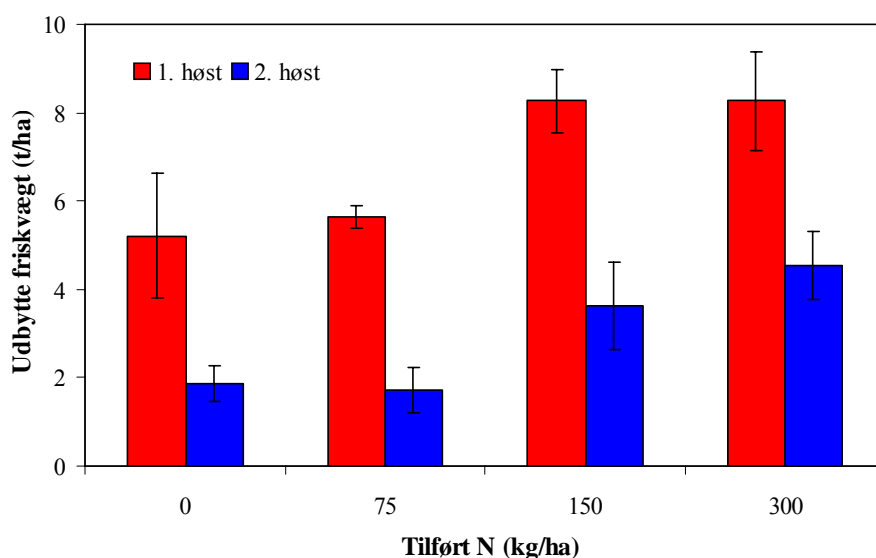
i bede f.eks. i 120 cm brede bede med en gang med græs på ca. 60–110 cm imellem afhængig af hvilken slåmaskine man har til gangene. Etablering i ukrudtsdug (f.eks. sort plastfolie som til jordbær) anbefales som sagt pga. ukrudtsproblemer (**Figur 29**). Plastfolien kan evt. fjernes næste forår, når der sikres tilstrækkelig tilførsel af næringsstoffer til at brændenælderne kan klare ukrudtstrykket. En plantetæthed på ca. 16 planter/potter pr m² i 30 × 20–25 cm i fordeling vil være passende.

5.2.2 Forsøg med høsttider, kvælstof gødsning og etablering i ukrudtsdug

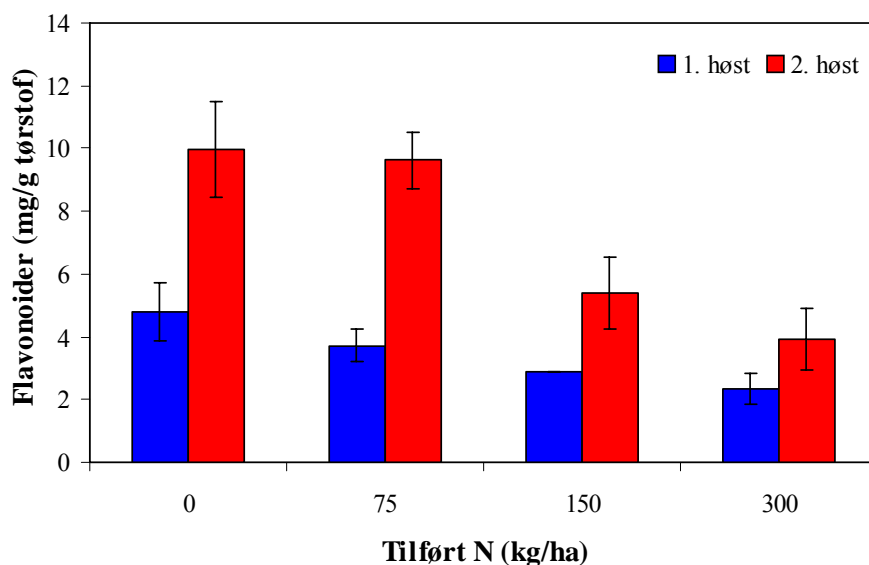
I brændenælder savnede man stadig oplysninger om hvordan høsttid og kvælstofgødskning påvirker indholdet af aktivstoffer (**Figur 19** og **20**) (fenoliske syrer og flavonoider) og samlet udbytte af aktivstoffer i forskellige dyrkningssystemer og ved genhøst på samme planter.

I 2003 og 2004 blev der derfor, som tidligere nævnt, etableret forsøg med brændenælde ved Danmarks Jordbrugsforskning i Årslev. Udplantningsplanter blev fremstillet ud af rodstiklinger. Rodstiklinger blev taget fra planter leveret af Søren Kristoffersen, SCICOM ved Vejen. Planterne blev etableret i sort plastfolie (ukrudtsdug) med 16 planter m² (**Figur 29**). I forsøget indgik 4 N- niveauer (I 2003 ved etablering: 0, 75, 150, 300; og i 2004: 0, 100, 200, 400 tilført N) og 2–3 høsttidspunkter (genhøst på samme planter efter tilvækst). Ved N-niveau 75/100 sammenlignes udbyttet ved dyrkning i ukrudtsdug med dyrkning i uden ukrudtsdug (**Figur 21**). Derudover blev to forskellige kloner hhv. fra SCICOM og fra Biosynergy, Skarø afprøvet i et pilotforsøg. Gødning blev tilført i form af urea, der første år nedharves før udlægning af dug. Andet og følgende år tilføres gødning ved udstrøning i parceller uden plast og i parceller med plastfolie tildeles den afmålte mængde gødning gennem plantehullerne i plasten. Høst af blade og stængler ca. 10 cm over jorden foregik med hækkeklipper og med hånd. Ved hver høst blev friskvægtudbytte, tørstofindhold og koncentration af indholdsstoffer bestemt. Desuden blev der ved en af høsttiderne lavet forsøg med forskellige tørretemperaturer.

I 2003 blev der høstet 2 gange og i 2004 3 gange (høsttider: **2003**: 7. juli og 2. september; **2004**: 26. maj, 16. juli og 8. oktober). I **Figur 30** og **31** ses udvalgte resultater af høsttidsforsøg i 2003. Friskvægtudbyttet af brændenælde blade steg med stigende kvælstof (**Figur 30** og **32**) ved begge høsttider, medens indholdet af flavonoider faldt med stigende kvælstof (**Figur 31**, se også **Figur 19** og **20**). Koncentrationen af flavonoider var højest i efteråret ved 2. høst i 2003 (**Figur 31**). I 2004 var koncentrationen af flavonoider også højest ved 2. høst, men denne var nu midt i juli. Når det i fremtiden er flavonoider i råvaren, der afregnes efter, må tilførsel af gødning afvejes mellem udbytte og indhold af aktivstoffer. Koncentrationen af fenoliske syrer viste ikke nogen klar tendens mht. kvælstof virkning og høsttid (data ikke vist).



Figur 30. Friskvægt udbytte af brændenælde blade og stængler ved høst i 2003. 1. høsttid d. 7. juli og 2. høst på samme planter d. 2. september



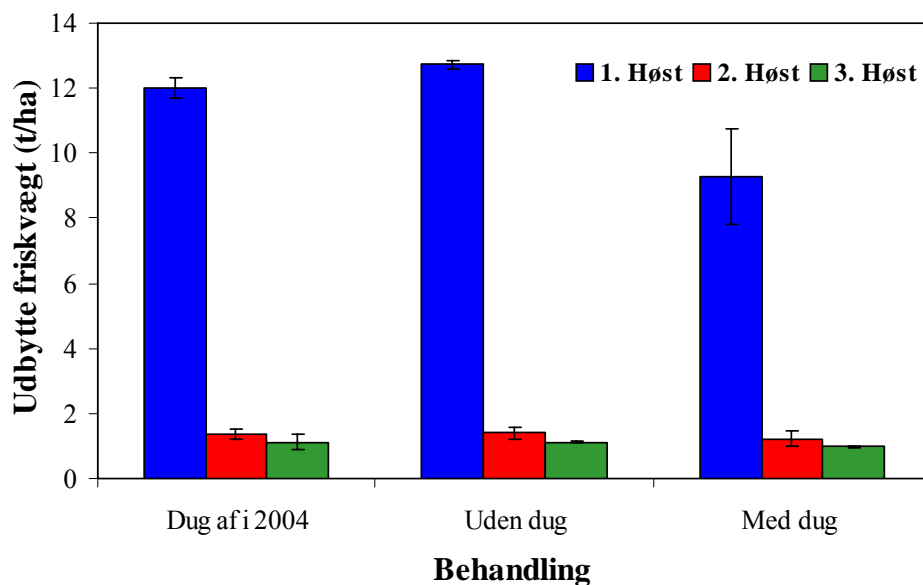
Figur 31. Koncentration af flavonoider i brændenælde blade og stængler ved høst i 2003. 1. høsttid d. 7. juli og 2. høst på samme planter d. 2. september.



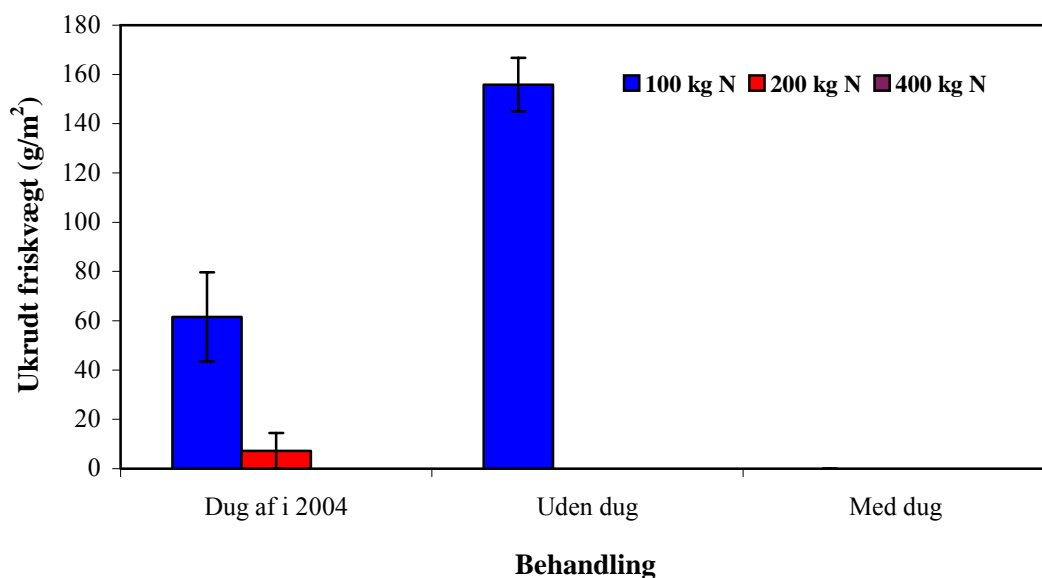
Figur 32. Brændenælde, hvor der høstes flere gange på samme planter over sæsonen er meget afhængig af tilførsel af kvælstofgødning. I midten en parcel med lav kvælstof og i baggrunden høj kvælstoftilførsel. På billedet vises parceller fra et gødningsforsøg og gangene mellem bedene er derfor bredere end de ville være i kommerciel produktion.

Undersøgelserne af dyrkningssystemer, hvor der var etableret planter med hhv. med og uden ukrudtsdug, gav ikke sikre forskelle i indholdsstoffer (**Figur 18**), men havde en effekt på udbyttet af plantemateriale. **Figur 33** viser udbyttet af frisk materiale ved hhv. med og uden

dug og dug fjernet i foråret følgende år. Resultatet er at dugen hæmmer væksten af planterne i andet år, men brændenælde der høstes flere gange i en sæson kan kun klare ukrudtstrykket (her andre planter end brændenælde) når der tilføres store mængder N-gødning (**Figur 34 se også 32**).



Figur 33. Virkning af dyrkningssystem på udbytte af brændenælde ved 3 høsttider i 2004. **Fejl!**



Figur 34. Virkning af dyrkningssystem på konkurrence overfor ukrudt (andre planter end brændenælde) ved 3. høst i 2004 og ved hhv. 100, 200 og 400 Kg N/ha.

6. Formidling af viden og resultater

6.1 Formidling af resultater (nationalt og internationalt)

Resultaterne fra de forskellige dyrkningsforsøg og udvalgte resultater fra screeningen af danske medicinalplanter vil blive offentliggjort i 2005 i en større DJF rapport. Desuden vil resultaterne fra de flerårige dyrkningsforsøg med timian, oregano og brændenælde blive offentliggjort ved konferencer og i internationale tidsskrifter i løbet af 2005 og 2006. Første års resultater fra timian og oregano er allerede blevet offentliggjort i to Grøn Viden (se nationale publikationer nedenfor). Disse resultater vil desuden sammen med resultaterne fra 2004 forsøgene blive præsenteret ved en international konference (*11th Weurman Flavour Research Symposium*, June 21-24, Comwell, Roskilde, www.weurman2005.kvl.dk), der afholdes i Danmark i juni måned (se også **Afsnit 6.1.2**) samt ved et internationalt symposium i Ungarn i september måned (ISEO, Budapest, 4–7 September 2005, www.diamond@diamon-congess.hu). Dyrkningsforsøgsresultaterne med brændenælde fra første og andet år vil blive præsenteret ved en konference i Italien i august måned (53rd Annual Congress Society for Medicinal Plant Research, Florence, 21–25 August 2005, www.farmacia.unifi.it/ga).

Derudover er nogle udvalgte resultater fra projektet blevet præsenteret ved en international konference ('51st Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research'), der blev afholdt i Kiel fra den 31. august til den 4. september, 2003, hvor projektet bidrog med 2 poster og 2 orale indlæg (se nedenfor). Det skal dog påpeges, at selvom de orale indlæg ikke direkte baserede sig på viden fra projektet så viser disse indlæg, at der pågår en aktivitet indenfor bioaktive naturstoffer i nær tilknytning til projektet. Lignende indlæg (orale og poster) er efterfølgende blevet holdt ved andre konferencer/workshops from det fremgår af den foreløbige publikationsliste nedenfor). Ligeledes vil der blive publiceret en videnskabelig artikel i det internationale ansete tidsskrift *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, i marts måned, som ligeledes har nær tilknytning til projektet (se internationale publikationer nedenfor og pressemeddelelse på www.ucaa.dk).

Endelig er projektet tilgængelig på UdviklingsCenter Årslev's hjemmeside (www.ucaa.dk), hvor projektets formål og indhold kort er skitseret. Projektets hjemmeside vil dog blive opdateret i 2005 med en beskrivelse af de vigtigste resultater opnået i projektet, herunder denne slutrapport. Desuden vil resultaterne løbende blive lagt ud på Udviklingscentrets hjemmeside således at resultaterne bliver tilgængelige via Internettet. Endelig står forfatterne af denne rapport Lars Porskjær Christensen (larsp.christensen@agrsci.dk) og Kai Grevsen (kai.grevsen@agrsci.dk) til rådighed for uddybende spørgsmål i forbindelse med projektets resultater.

6.1.1. Nationale publikationer

Christensen, L. P. & Kaack, K. (2003). Undersøgelse af udvalgte medicinplanter og krydderurter for indhold af vigtige naturstoffer dyrket på forskellige lokaliteter I Danmark og i andre europæiske lande. Foreløbig rapport over delprojektresultater udarbejdet under Udviklingscenter Årslev, som dog ikke er offentlig tilgængelig. Kopi eller dele heraf kan fås hos Lars P. Christensen, DJF, Forskningscenter Årslev.

Christensen, L. P. & Grevsen, K. (2004). Oregano (Vild Merian). Dyrkning af oregano og betydning af høsttid og udviklingstrin for udbytte og sammensætning af æterisk olie i en forædlet klon af *Origanum vulgare*. *Grøn Viden* (Havebrug), Nr. **162**, 12 pp.

Grevsen, K. & Christensen, L. P. (2004). Almindelig Timian. Dyrkning af almindelig timian og betydning af høsttid, udviklingstrin og genhøst for udbytte og sammensætning af æterisk olie i dansk dyrket *Thymus vulgaris*. *Grøn Viden* (Havebrug), Nr. **161**, 12 pp.

6.1.2. Postere præsenteret ved international conference

Brandt, K., Rosenqvist, E., Kaack, K., Christensen, L. P. & Jørgensen, M. (2003). Accumulation of volatile compounds in genotypes of thyme, oregano and spearmint grown in greenhouse with different climate control strategies. Poster præsenteret ved den 51st Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, 31. august–4. september, 2003, Kiel, Tyskland. Poster abstract P004, side 84. www.pharmazie.uni-kiel.de/ga/.

Estrup, V., Grevsen, K. & Brandt, K. (2003). Seasonal effect of seeding rate, manure level and harvest method on petal yield and content of carotenoids and flavonoids in organic grown *Calendula officinalis* L. Poster præsenteret ved den 51st Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, 31. august–4. september, 2003, Kiel, Tyskland. Poster abstract P007, side 85. www.pharmazie.uni-kiel.de/ga/.

Larsen, E., Kharazmi, A., Christensen, L. P. & Christensen, S. B. (2003). An anti-inflammatory galactolipid from rose hip (*Rosa canina* L.) inhibits chemotaxis of human peripheral blood neutrophils *in vitro*. Poster presented at the Phys Pharm 2003 Scandinavian Congress of Physiology and Pharmacology, 11–14 October 2003, Odense, Denmark. Poster abstract no. P01-2, p 44. www.phys-pharm.sdu.dk/php/abstractList.php.

Christensen, L. P. & Grevsen, K. (2005). Effect of development stage at harvest on the composition and yield of essential oils from thyme and oregano. Poster at the 11th Weurman Flavour Research Symposium, June 21-24, Comwell Roskilde, Denmark. Abstrakt accepteret.

6.1.3. Orale indlæg ved nationale konferencer og workshops

Christensen, L. P. (2003). From medical plants to herbal remedies and medicaments. Lecture at the Danish German Business Event 2003. September 34, 2003, Odense, Denmark. Lecture abstract on http://fec.dynamicweb.dk/Files/Filer/FEC%20PDF/Lars_P._Christensen-oplæg.pdf.

Christensen, L. P. (2004). Medicinplanter – en mulig nicheafgrøde i Danmark. Økologi-Kongres 2004, 16-17 November, Odense Congress Center, p. 151-152.

6.1.4. Orale indlæg ved international conference og workshops

Brandt, K., Christensen, L. P., Hansen, S. L., Haraldsdóttir, J., Jespersen, L., Hansen-Møller, J., Purup, S., Kharazmi, A., Barkholdt V., Frøkiær, H. & Kobæk-Larsen, M. (2003). Health promoting compounds in plant food. Indlæg ved den 51st Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, 31. august–4. september, 2003, Kiel, Tyskland. Abstract SL 28, side 69. www.pharmazie.uni-kiel.de/ga/.

Larsen, E., Kharazmi, A., Christensen, L. P. & Christensen, S. B. (2003). An anti-inflammatory galactolipid from rose hip (*Rosa canina* L.) inhibits chemotaxis of human peripheral blood neutrophils *in vitro*. Indlæg ved den 51st Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, 31. august–4. september, 2003, Kiel, Tyskland. Abstract SL 24, side 67. www.pharmazie.uni-kiel.de/ga/.

Kobæk-Larsen, M., Christensen, L. P., Ritskes-Hoitinga, J. & Brandt, K. (2004). The natural pesticide falcarinol appears to be responsible for the anticancer effect of carrots. Lecture at the 2004 Food Congress: Life Style Challenges to Food Science & Technology, March 17–18 2004, DTU, Lyngby, Denmark. Lecture abstract, p. 63.

Christensen, L. P. & Brandt, K. (2004). Concentration level of naturally occurring toxicants in food crops an important aspect in the development of healthier and safer fortified foods. Lecture at the COST Action 859 “*Phytotechnologies to promote sustanial land use and improve food safety*”. Working group 3 “*Improving nutritional quality and safety food crops*”. 11-13 November 2004, Greenwich, UK, Lecture abstract no. 28. <http://www.gre.ac.uk/~hp08/>.

Brandt, K. & Christensen, L. P. (2004). Health promoting compounds in vegetables. Lecture at *The BCPC Seminar – Crop Science & Technology 2004 under the Seminar Theme “Food – Joining up to the Links in the Food Chain – Health and Well-Being*. 1-3 November, Glasgow, UK. http://www.bcpc.org/Seminars2004/BCPC_Seminars_2004/index.asp.

6.1.5. Internationale publikationer

Kobæk-Larsen, M., Christensen, L. P., Vach, W., Ritskes-Hoitinga, J. & Brandt, K. (2005). Inhibitory effects of feeding with carrots or (–)-falcarinol on development of azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the rat colon. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, in press.

Der vil desuden blive udfærdiget mindst 5 videnskabelige artikler baseret på resultaterne opnået i nærværende projekt. De videnskabelige artikler fordeler sig således: 2 artikler, der beskriver resultaterne fra forsøgene med timian, 1 artikel omkring forsøgene med oregano og endelig 2 artikler omkring dyrkningsforsøgene med brændenælde. Dertil kommer artikler som er relateret til bachelor- og speciale projekter.

6.2 Kursus- og projektaktiviteter

Efteruddannelseskursus for avlere blev afholdt i 2003 i samarbejde mellem DJF og Gartnerskolen Søhus over to omgange i hhv. en 1. og en 2. del, hvor 1. del af kurset, omhandlede dyrkning af medicinalplanter og 2. del. høstning og forarbejdning af medicinalplanter.

En del af den viden, der er opnået i projektet er bl.a. formidlet videre i kurset naturstofkemi (KO72/KOP72), der blevet udbudt i foråret 2004 på Syddansk Universitet (SDU). Kurset startede i februar 2004 med 24 tilmeldte deltager og blev afsluttet sommeren 2004. I alt gennemførte 20 deltagere hele kursusforløbet, hvilket må siges at være en succes udover det sædvanlige for et kandidat- og ph.d. kursus, der normalt ligger langt under 10 deltagere. Derfor har man besluttet at gennemføre kurset i 2005 også og muligvis flere år frem også set i lyset af at Syddansk Universitet satser på forskning indenfor området farmakognosi og ’Traditional Complementary Medicine’ (TCM) i samarbejde med Danmarks Jordbrugs-Forskning (DJF), Odense Universitets Hospital og mange andre aktører. Udover at kurset har været med til at udbrede kendskabet til naturstofkemi og plantemedicin har kurset haft en afsmittende effekt på dette og andre relaterede projekter ved DJF og Udviklingscenter Årslev, idet 3 af kursusdeltagerne er startet på specialeprojekter indenfor plantemedicin i Årslev i august/september 2004 i samarbejde med SDU og Ingeniørhøjskolen Odense Teknikum (IOT). De 3 specialeprojekter omhandler følgende emner: **Projekt 1:** Undersøgelse af ekstraktions- og forarbejdningsmetoders betydning for indhold af potentielle bioaktive stoffer

i pilebark og brændenælde. **Projekt 2:** Undersøgelse af ekstraktions- og forarbejdningsmetoders betydning for indhold og kompositionen af æterisk olie i timian og salvie og **Projekt 3:** Isolering af potentielle bioaktive polyacetylen- og sesquiterpenlaktoner i modne og umodne artiskokker (*Cynara scolymus*). Udover disse specialeprojekter er der tidligere i projektet startet to specialeprojekter omkring indholdsstoffer i pil ved Jakob Østerberg Eriksen Meibom (**Projekt titel:** Isolation og identifikation af salicinderivater fra pil og deres smertelindrende effekt) og isoflavonoider i rødkløver ved Pascal Lüstig (**Projekt titel:** Isolation og identifikation af isoflavonoider i rødkløver og deres biologiske aktivitet), hvoraf førstnævnte projekt er ved at blive afsluttet. Endelig så er der for nylig truffet aftale om endnu et specialeprojekt omkring 'Undersøgelse af den kemiske sammensætning af flygtige stoffer i ekstrakter fra *Origanum vulgare*' som er et samarbejdsprojekt mellem SDU, DJF og en avler (Martin Jørgensen) og ved at blive truffet aftale om et specialeprojekt omkring de toksikologiske aspekter af bioaktive komponenter med henblik på specifik undersøgelse af bioaktive polyacetylens toksikologiske effekter som bliver i samarbejde med SDU og DJF.

Desuden har 2 bachelor studerende (Anne Nygaard Weisbach & Anne Samsøe-Petersen) fra Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole (KVL), i sommeren 2004 arbejdet med bestemmelse af aktivstoffer i 5 årige amerikansk ginseng (*Panax quinquefolium*) rødder dyrket i Danmark, med henblik på at undersøge om koncentrationen af aktivstoffer i disse ginsengrødder afhænger af størrelsen af rødderne og hvor stor variationen er indenfor de enkelte rodstørrelser. Resultaterne fra dette bachelorprojekt viste at koncentrationen af aktivstoffer ikke var signifikant forskellig fra koncentrationen i de små rødder, hvilket har lovende perspektiver i relation til selektion og dyrkning af ginseng herhjemme samt er helt ny viden i ginsengforskningen. Resultaterne er indtil videre offentliggjort i deres bachelorprojekt opgave (**Projekt titel:** Kvantificering af bioaktive polyacetylen- og saponiner i femårige rødder af Amerikansk Ginseng (*Panax quinquefolium* L.)) og det er meningen at udvalgte resultater herfra skal publiceres i et internationalt tidsskrift.

Endelig så er endnu en bachelorstuderende (Morten A. Larsen) i samarbejde med DJF og Roskilde Universitets Center (RUC) arbejdet med undersøgelse af galaktolipiders effekt mod kræft og deres udbredelse i planteriget. Galaktolipider er som omtalt i introduktionen omkring hyben kendt for at have anti-inflammatorisk aktivitet, herunder effekt mod slidgigt. Desuden har nye undersøgelser vist, at bl.a. at det aktive stof i hyben har effekt mod kræft. Resultaterne fra bachelorprojektet viser at det aktive stof i hyben findes i flere andre planter end hyben og at det har en effekt på cellevækst (celleproliferation). Dog viste det sig at galaktolipider er meget mere stabile i hyben end i andet plantemateriale, hvilket bl.a. kan tilskrives hybens høje indhold af antioxidanter (C-vitamin og karotenoider), som beskytter mod oxidation, samt tyder på betydelig mindre nedbrydende enzymatisk aktivitet i hyben i forhold til mange andre planter. Resultaterne er beskrevet i bachelorprojekt opgaven (**Projekt titel:** Lægeplanter og kræft. Galaktolipider).

Projektet har desuden haft flere gymnasieelever i korte projektperioder og har desuden genereret et forskerspireprojekt, hvor gymnasieeleven Karen Jespersen fra Herlufsholm i sommeren 2005 skal lave en naturstøfkemisk undersøgelse omkring flygtige indholdsstoffer i mælkebøtte.

6.3 Arrangementer og seminarer

I projektregi er der blevet afholdt åbent hus arrangementer, hvor vi ved det ene arrangement havde besøg af Fyns amtsborgmester Jan Boye og amtets udviklingsafdeling hvor bl.a.

projektet 'Undersøgelse af produktionsforhold og forskelle i indholdsstoffer' blev præsenteret og hvor avlerne præsenterede nogle af deres egne medicinalplante produkter. Derudover har vi afholdt seminar for avlere i 2003 og 2004 og endelig er der blevet afholdt et afsluttende seminar d. 9. februar 2005, hvor de vigtigste resultater fra projektet blev formidlet videre og diskuteret.

6.4 Formidling til pressen

Viden fra projektet er blevet formidlet til pressen i flere avisartikler og TV interviews på lokal og landsdækkende TV. Eksempler på dette er givet nedenfor:

Pressemeddelelse

Dansk forskning i medicinplanter kan redde en række plantearter fra udryddelse

Pressemeddelelse udsendt af UdviklingsCenter Aarslev d. 13/1 2005

<http://www.ucaa.dk/filer/Pressemeddelelse1.pdf>

Aviser

Lægeplanter skal redde landbruget og folkesundheden/Medicinmændene på Langeland

Dagbladenes Bureau

<http://www.ucaa.dk/filer/dagbladenes.pdf>

Lægeurter kan hjælpe landmænd

Politiken, torsdag d. 1/7-04

<http://politiken.dk/VisArtikel.iasp?PageID=325924>

Fyn i front på plantemedicin

Fyens Stiftstidende, mandag d. 7/6-04

Medicinplanter skal hives ud af glemslen

Politiken, søndag d. 16/1 2005

<http://politiken.dk/VisArtikel.iasp?PageID=355220>

Plantemedicin skal skabe nye fynske arbejdspladser

Fyens Stiftstidende, fredag d. 17/9 2004

Landbrugets fremtid?

Politiken, søndag d. 5/9 2004

<http://www.ucaa.dk/filer/politiken.pdf>

Pharmaskinke

Politiken, mandag d. 6/9 2004

<http://politiken.dk/VisArtikel.iasp?PageID=334455>

Mælkebøtte som medicinalplante?

Politiken, mandag d. 5/9 2004

Nu er det medicinalindustriens tur.

Viborg Stifts Folkeblad d. 6/5 maj 2003.

Fynske job i medicinplanter.

Fyens Stiftstidende d 23/6 2003)

Fagblade o.lign.

Sundhed som nicheafgrøde

Månedsmagasinet Mark, december 2004

<http://www.ucaa.dk/filer/artikel.pdf>

Brugbare planter

moMentum 2/2004

<http://www.ucaa.dk/filer/momentum2.pdf>

Planter til Sundhed præsenteret på nordisk urtekonference

Grønn Kunnskap Vol.8 Nr. 120B – 2004:

(http://www.planteforsk.no/dokumenter/gronn_kunnskap_e/GKe_vol8_120B_Planter.pdf og <http://www.planteforsk.no/ViewNews.aspx?id=1090&view=1>)

En stædig kamp for hyben

moMentum 2/2004

<http://193.89.230.8/jord/bruger/vis.asp?which=12520>

Et skridt på vejen

Gartnertidende 10/2004

<http://www.ucaa.dk/filer/seminar.pdf>

Danmark skal på banen, når det gælder produktion af medicinplanter

Gartnertidende 4/2004

http://www.ucaa.dk/filer/prod_1.pdf

Interesse for medicinplanter

Gartnertidende 51-52/2004

<http://www.ucaa.dk/filer/seminar.pdf>

Skal – skal ikke

Gartnertidende 14/2003

<http://www.ucaa.dk/filer/Skalikke.pdf>

Viden om medicinplanter

Gartnertidende 42/2002

<http://www.ucaa.dk/filer/KirstenBrandt.pdf>

TV-indslag:

11-02-2005

Apropos behandling

Siden 1800-tallet har udviklingen af ny medicin taget udgangspunkt i screening af syntetisk fremstillede stoffer. Men ifølge flere eksperter har vi helt glemt, at der i den natur, der omgiver os, ligger enorme muligheder til at bekæmpe og forebygge sygdomme (...) *Apropos, P1, 10/2 2005*

[Hør indslaget her...](#)

03-12-2004

Plantemedicin i Lægens Bord

Kineserne samarbejder med danske forskere om at isolere og beskrive de aktive og

virksomme stoffer i nogle af de mange kinesiske plante-mediciner (...) *Lægens Bord, DR1, 2/12 2004*

[Se indslaget her...](#)

01-11-2004

Fynsk pille mod tømmermænd

Den gamle lægeurt marietidsel kan afhjælpe hovedpine og træthed (...) *TV2/Fyn, 31/10 2004*

[Se indslaget her...](#)

30-09-2004

Fyn i front!

Fyn er helt i front, når det gælder udvikling af naturmedicin (...) *TV2/Fyn, 28/9 2004*

[Se indslaget her...](#)

09-05-2004

Forskning skal vise, om mælkebøtten har gavnlig effekt mod de store folkesygdomme

Rasmus Mathiassen lever af at sælge mælkebøtter på dunke (...) Saften fra mælkebøtte bruges til udrensningsskure, ikke mindst lever og nyre skulle have godt af den dyre juice, forklarer Rasmus Mathiassen. Forskere har dog aldrig påvist anden effekt, end at mælkebøtten er vanddrivende. Men nu vil Danmarks JordbrugsForskning i samarbejde med Syddansk Universitet undersøge, om blandt andre mælkebøtten har gavnlig effekt på store folkesygdomme (...) *TV2/Nyhederne, 9/5 2004*

[Se indslaget her...](#)

02-05-2004

Forskning kan hjælpe plantemedicin væk fra urtekramhylderne og ind på apotekerne

Hvis plantemedicin skal væk fra urtekramhylderne og ind på apotekerne, er der kun én vej, og det er forskning. Forskning, der fører videnskabelig dokumentation for, at plantemedicinen kan bruges i forbindelse med eksempelvis de store velfærdssygdomme (...) *TV2/Fyn, 2/5 2004*

[Se indslaget her...](#)

16-01-2004

Helseurter på markerne kan skåne truede arter

Urtemedicin og kosttilskud fremstillet af vilde planter går som varmt brød i helsekostbutikker og supermarkeder. I følge dagbladet Politiken truer den ekspanderende helseindustri vilde planter verden over (...) Men det er muligt at dæmme op over for denne triste udvikling. For mange af planterne kan dyrkes landbrugsmæssigt, også her i Danmark. Det er der faktisk store perspektiver i, mener John Henriksen, UdviklingsCenter Aarslev (...) *DR P1 Miljømagasinet. Indslaget er desværre ikke længere i arkiv*

14-01-2004

Fynboer bevarer truede planter

På Nordfyn er gartner Lars Sørensen i samarbejde med fynske forskere med til at sikre verdens truede lægemiddelurter. Sammen med UdviklingsCenter Aarslev skal de dokumentere dansk dyrkede lægemiddelurters indhold af aktivstoffer. Det kan resultere i en produktion med store internationale muligheder (...) *TV2/Fyn. Indslaget er desværre ikke længere i arkiv*

23-06-2003

Plantemedicin skal testes efter alle videnskabens regler.

TV indslag på TV DR1. Indslaget er desværre ikke længere i arkiv

16-06-2003

Medicin til fynske gartnere

I juni blev der holdt åbent hus på UdviklingsCenter Aarslev, hvor der var mulighed for at få indblik i udviklingscentrets igangværende projekter. Er der f.eks. mulighed for at skabe en plantemedicin-industri på Fyn? Centerleder John Henriksen, seniorforsker Kai Grevsen fra DJF samt avleren Martin Jørgensen fra Krymeda giver svar på tiltale (...) TV2/Fyn

Indslaget er desværre ikke længere i arkiv

11-03-2003

700 millioner kroner at spare på hyben vital.

TV indslaget bragt på TV2/Fyn og på landsdækkende TV2.

7. Samarbejdsrelationer (nationalt og internationalt) opnået i projektet

Udover etablering af kontakter til flere danske avlere af medicinplanter er der skabt kontakter til en lang række danske og udenlandske virksomheder. Eksempler på kontakt til danske virksomheder kan nævnes Christian Hansen A/S, Pharma Nord ApS, Nor-Feed A/S og Viva Medica ApS. Som eksempel på kontakt til udenlandske virksomheder kan nævnes Pharmaplant A/S (Tyskland). Desuden er der skabt kontakter til udenlandske Universiteter og andre forskningsinstitutioner såsom Christian-Albrechts-Universität Kiel (Tyskland), University of Newcastle upon Tyne (England) og Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants, Institute for Plant Analysis, Quedlinburg (Tyskland).

8. Referencer

Akbay, P., Basaran, A. A., Undeger, U. & Basaran, N. (2003). In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytotherapy Research* **17**, 34–37.

Bauer, R. (1998). The *Echinacea* story – the scientific development of an herbal immunostimulant. I *Plants for food and medicine* (Prendergast, H. D. V., Etkin, N. L., Harris, D. R. & Houghton, P. J. (Eds.)), 317–332. Royal Botanical Gardens, Kew.

Bnouham, M., Merhfour, F. Z., Ziyyat, A., Mekhfi, H., Aziz, M. & Legssyer, A. (2003). Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Fitoterapia* **74**, 677–681.

Christensen, L. P. & Kaack, K. (2003). Undersøgelse af udvalgte medicinplanter og krydderurter for indhold af vigtige naturstoffer dyrket på forskellige lokaliteter i Danmark og i andre europæiske lande. Foreløbig rapport over delprojektresultater udarbejdet under Udviklingscenter Årslev.

Christensen, L. P., Larsen, E. & Knudsen, B. (2001). Hvidtjørn. En efterspurgt og værdifuld medicinplante. *Grøn Viden* **140**, 1–6.

Christensen, L. P., Larsen, E. & Knudsen, B. (2000). Rød Solhat. Dyrkning af lægemiddelplanter i Danmark. *Grøn Viden* **133**, 1–6.

- Christensen, L. P., Larsen, E. & Brandt, K. (2003). Hyben fra hunderose. Lægemeddelplante med dokumenteret anti-inflammatorisk effekt. *Grøn Viden* **155**, 1–8.
- Chrubasik, S., Eisenberg, E., Balan, E., Weinberger, T., Lozzati, R. & Conradt, C. (2000). Treatment of low back pain exacerbations with willow bark extract: a randomized double-blind study. *American Journal of Medicine* **109**, 9–14.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 2576–2581.
- ESCOP (1997). Salicis cortex – Willow Bark. I *ESCOP Monographs; Fascicule 4*. European Scientific Cooperative on Phytotherapy: Exeter.
- Grevsen, K. & Christensen, L. P. (2004). Almindelig Timian. Dyrkning af almindelig timian og betydning af høsttid, udviklingstrin og genhøst for udbytte og sammensætning af æterisk olie i dansk dyrket *Thymus vulgaris*. *Grøn Viden* (Havebrug), Nr. **161**, 12 pp.
- Gulcin, I., Kufrevioglu, O. I., Oktay, M. & Buyukokuroglu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology* **90**, 205–215.
- Haraguchi, H., Saito, T., Ishikawa, H., Date, H., Kataoka, S., Tamura, Y. & Mizutani, K. (1996). Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*. *Planta Medica* **62**, 217–221.
- Koll, K., Reich, E., Blatter, A. & Veit, M. (2003). Eine neue Dünnschichtchromatographische Methode Zur Identifizierung der Droge *Urticae folium*. *Z. Arzn. Gew. Pfl.* **8**(4), 175–180.
- Larsen, E., Kharazmi, A., Christensen, L. P. & Brøgger, S. B. (2003). An antiinflammatory galactolipid from rose hip (*Rosa canina*) that inhibits chemotaxis of human peripheral blood neutrophils *in vitro*. *Journal of Natural Products* **66**, 994–995.
- Legssyer, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Bnouham, M., Tahri, A., Serhrouchni, M., Hoerter, J. & Fischmeister, R. (2002). Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. *Phytotherapy Research* **16**, 503–507.
- Miura, K. & Nakatani, N. (1989). Antioxidative activity of flavonoids from thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Agricultural and Biological Chemistry* **53**, 3043–3045.
- Rasooli, I. & Mirmostafa, S. A. (2003). Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 2200–2205.
- Schmid, B., Lüdtkke, R., Selbmann, H.-K., Kötter, I., Tschirdewahn, B., Schaffner, W. & Heide, L. (2001). Efficacy and tolerability of a standardized willow bark extract in patients with osteoarthritis: randomized placebo-controlled, double blind clinical trial. *Phytotherapy Research* **15**, 344–350.

Vandenbroucke, C. O. & Lemli, J. A. (1983). Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris*. *Pharmaceutisch Weekblad-Scientific Edition* **5**, 9–14.

Warholm, O., Skaar, S., Hedman, E., Mølmen, H. M. & Eik, L. (2003). The effects of a standardized herbal remedy made from a subtype of *Rosa canina* in patients with osteoarthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Current Therapeutic Research* **64**, 21–31.

Winther, K. & Kharazmi, A. (1999). Rose hip inhibits chemotaxis and chemiluminescence of human peripheral blood neutrophils in vitro and reduces certain inflammatory parameters *in vivo*. *Inflammopharmacology* **7**, 377–386.

Winther, K., Rein, E. & Kharazmi, A. (1999). The anti-inflammatory properties of rose-hip. *Inflammopharmacology* **7**, 63–68.