

1 Einleitung und Kenntnisstand

1.1 Phytoestrogene: Chemische Struktur, Vorkommen und biologische Funktion

Dieses Kapitel gibt eine allgemeine Übersicht über das Vorkommen, die chemische Struktur, die biologischen Aktivitäten sowie die einzelnen Gruppen der Phytoestrogene. In der vorliegenden Arbeit wird die Bezeichnung „Estrogene“ bzw. „Phytoestrogene“ verwendet und nicht „Östrogene“¹. Diese Schreibweise wird auch im klinischen Wörterbuch Pschyrembel [2004] benutzt, weshalb aus Gründen der Einheitlichkeit Ausdrücke wie „estrogene Wirkung“ oder „estrogenartig wirksam“ entsprechend angepasst wurden.

1.1.1 Definition von Phytoestrogenen

Unter der Bezeichnung „Phytoestrogene“ werden strukturell verschiedenartige, sekundäre Pflanzenstoffe zu einer Gruppe zusammengefasst, deren Gemeinsamkeit eine potentielle estrogene Wirkung im menschlichen Körper darstellt [Setchell, 1998]. Der Begriff „sekundäre Pflanzenstoffe“ ist hierbei als eine Art Sammelbezeichnung für chemisch sehr unterschiedliche Verbindungen zu verstehen, welche nicht am primären Stoffwechsel (Energiestoffwechsel) der Pflanzen beteiligt sind. Diese sekundären Pflanzenstoffe werden u.a. als Abwehrstoffe gegen Schädlinge und Krankheiten, als Farbstoffe oder als Wachstumsregulatoren in bestimmten Entwicklungsphasen der Pflanze gebildet und kommen deshalb nur in geringen Mengen vor [Watzl und Leitzmann, 1999].

Die klassische Definition von „Estrogenen“ nach Liebermann [Lieberman, 1996] weist eine gewisse Komplexität auf. Die „Britische Arbeitsgruppe über Phytoestrogene“ (British Working Group on Phytoestrogens) des „Committee of Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment“ hat den Begriff „Phytoestrogene“ näher definiert. Demnach werden Phytoestrogene als Verbindungen oder Metabolite definiert, die biologische Effekte in Wirbeltieren hervorrufen und die Wirkung von endogenen Estrogenen durch Bindung an die Estrogen-Rezeptoren nachahmen oder modulieren können [COT, 2003]. Chemisch gesehen handelt es sich bei den Phytoestrogenen um nicht-steroidale phenolische Verbindungen, die eine strukturelle Ähnlichkeit zu menschlichen Estrogenen (Steroidhormonen) aufweisen. Verdeutlicht wird dies anhand eines Vergleichs der Strukturen von 17- β -Estradiol (weibliches Follikelhormon) mit dem Coumestan Coumestrol oder dem Isoflavon Daidzein (vgl. Abbildung 1). Aufgrund dieser strukturellen Ähnlichkeit zeigen

¹ „Estrogene“ ist ebenfalls nach Roche Lexikon Medizin [2003] der internationale Freiname für Östrogene.

Phytoestrogene hormonähnliche Wirkungen, wodurch auch die Fähigkeit zur Bindung oder Modulation an die Estrogen-Rezeptoren (α und/oder β) erklärt werden kann (vgl. Kapitel 1.1.5.1). Voraussetzung für eine Bindung an einen Estrogen-Rezeptor (ER) ist das Vorhandensein eines phenolischen Ringes der Verbindung, wobei im Vergleich mit den menschlichen Estrogenen der Abstand zwischen den Hydroxylgruppen an den Enden von beiden Molekülen nahezu identisch sein muss [Setchell und Cassidy, 1999].

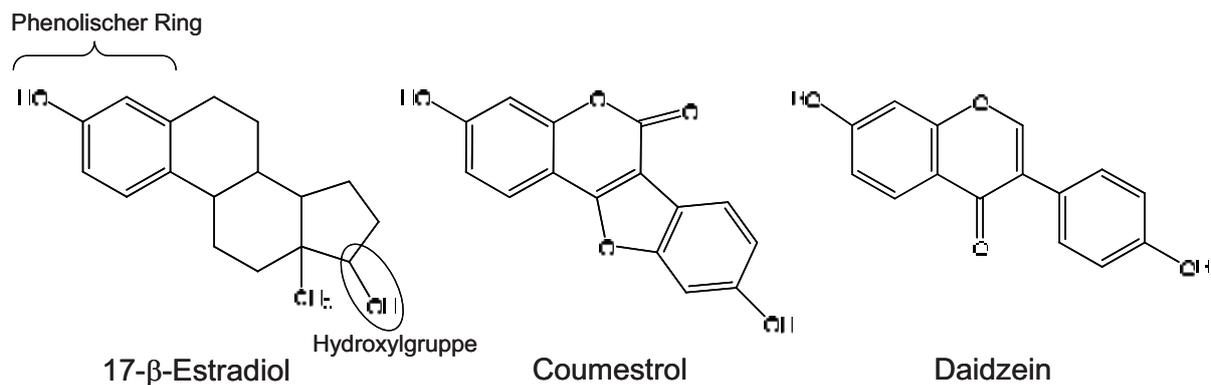


Abbildung 1: Vergleich der Strukturen des weiblichen Follikelhormons 17- β -Estradiol mit den Phytoestrogenen Coumestrol (Coumestan) und Daidzein (Isoflavon).

Die meisten Phytoestrogene gehören zur Gruppe der Flavonoide, wozu hauptsächlich Isoflavone, Coumestane, aber auch die prenylierten Flavonoide sowie Stilbene gezählt werden. Bei den „Nicht-Flavonoiden“ haben die Lignane die größte Bedeutung als Phytoestrogene erlangt [Cassidy et al., 2000]. Die einzelnen Strukturklassen sind in Abbildung 2 dargestellt. Im Wesentlichen werden drei Strukturklassen unterschieden: Isoflavone, Lignane und Coumestane [Kurzer und Xu, 1997]. Aus ernährungsphysiologischer Sicht stellen besonders Leinsamen (Lignane) und Soja (Isoflavone) reichhaltige Quellen an Phytoestrogenen dar [Adlercreutz, 1998a; Adlercreutz, 1998b].

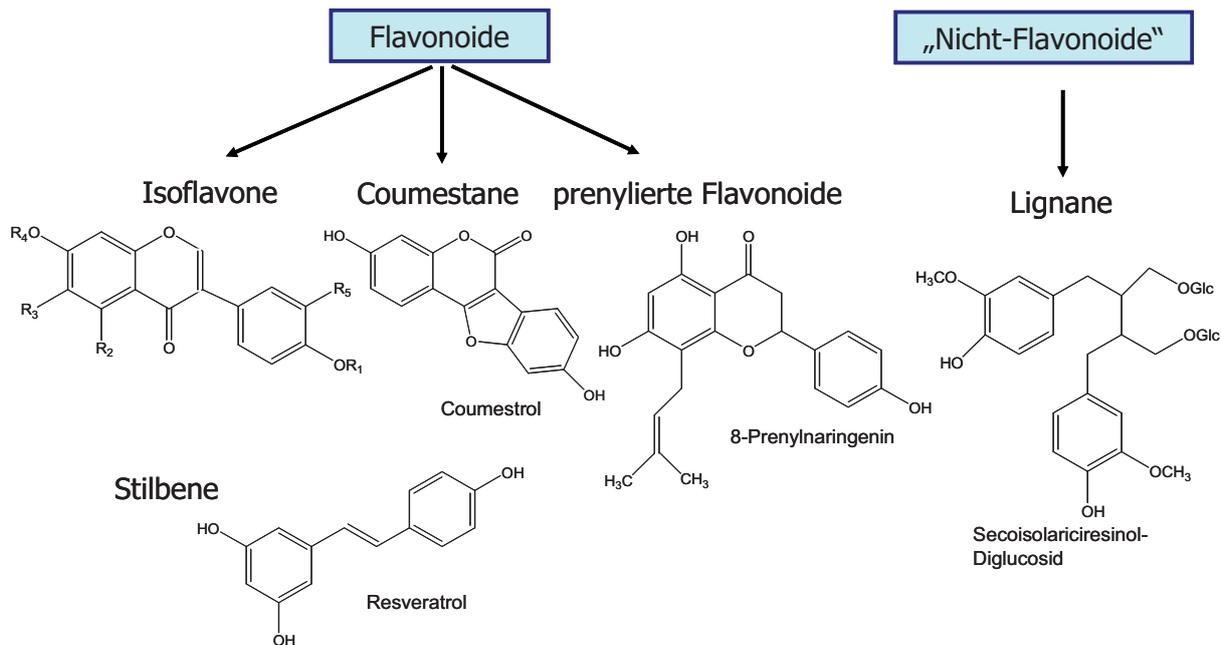


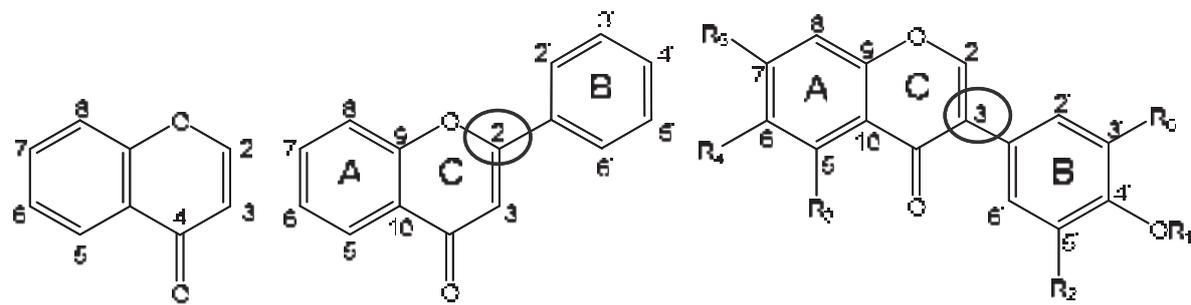
Abbildung 2: Strukturell wichtige Klassen von Phytoestrogenen.

1.1.2 Vorkommen und chemische Struktur

Flavonoide haben ein phenolisches C₆-C₃-C₆-Grundgerüst mit 15 Kohlenstoffatomen, wobei die beiden benzolischen Ringe A und B heterozyklisch über einen Ring C miteinander verknüpft sind (wie z.B. bei der Gruppe der Flavanone, Flavone, Flavonole, Flavanole sowie den Isoflavonen, vgl. Abbildung 3). Chemisch betrachtet können Flavonoide deshalb als Phenylchromonderivate angesehen werden [Franzke, 1996; Belitz und Grosch, 1992].

Die Gruppe der Isoflavonoide stellt mit bislang über 1600 verschiedenen identifizierten Verbindungen (inklusive der glykosidisch gebundenen) eine ausgeprägte Unterklasse der Flavonoide dar [Lapčík, 2007, Donnelly und Boland, 1995]. Strukturell gesehen weisen Isoflavonoide ebenfalls ein C₆-C₃-C₆-Grundgerüst auf, wobei im Gegensatz zu den Flavonoiden eine Verknüpfung des phenolischen Rings (B-Ring) mit Chromon als Strukturelement an der Position 3 erfolgt und nicht an Position 2 (s. Abbildung 3) [Akashi et al., 1999; Dixon, 2004]. Diese Verbindungen besitzen als ursprüngliches Ringsystem folglich ein 3-Phenylchromon (3-Phenyl-4*H*-1-benzopyran-4-on) und können an den Ringen A und B weitere Hydroxyl-, Methoxyl- und Prenylgruppen tragen [Harborne, 1994; Dixon und Steele, 1999]. Vermutlich entstehen Isoflavonoide durch eine 1,2-Aryl-Wanderung von der Position 2 des Chromanringes in die Position 3. Das Isoflavon Genistein (s.u.) geht auf diese Weise aus dem Flavanon Naringenin unter Beteiligung des katalytischen Cytochrom-P-450-Enzymes Isoflavon-Synthase hervor [Grisebach und Barz, 1969; Dixon und Ferreira, 2002]. Die Isoflavonoide können in verschiedene Unterklassen unterteilt werden, wie z.B. den

Isoflavonen oder Coumestanen, wobei sich die Unterscheidung primär auf deren Struktur oder Biosynthese stützt [Veitch, 2007].



Chromon als Strukturelement Grundstruktur der Flavone Isoflavon-Grundstruktur

Abbildung 3: Chromon als Strukturelement von 2-Phenylchromon (Flavone) und 3-Phenylchromon (Isoflavone).

Phytoestrogene kommen ubiquitär im Pflanzenreich vor. Beträchtliche Mengen an Phytoestrogenen, insbesondere an Isoflavonoiden, wurden in Pflanzen der Familie Leguminosae, Subfamilie *Fabaceae*, Ordnung Fabales nachgewiesen [Harborne, 1994; Reynaud et al., 2005]. Die reifen Samen von Pflanzen aus der Familie der Fabaceae (Schmetterlingsblütler; früher Papilionaceae) werden unter der Bezeichnung Leguminosen oder Hülsenfrüchte (wie z.B. Erbsen, Linsen, Bohnen) zusammengefasst und bilden einen wertvollen Beitrag zur menschlichen Ernährung [Belitz und Grosch, 1992; und Franzke, 1996]. Für die Biosynthese von Isoflavonoiden wird ein bestimmtes Enzymsystem (Isoflavon-Synthasen) benötigt, welches nur wenige Pflanzenarten bilden können [Tahara und Ibrahim 1995]. In den letzten Jahren wurden immer mehr Isoflavonoide in Pflanzen, welche nicht zur Familie der Fabaceae gehören, nachgewiesen. Deren Anzahl wurde nach neuen Berichten auf 59 Pflanzenfamilien höherer taxonomischer Ordnung geschätzt, wobei insbesondere die Iridaceae (*Iris germanica* L.) sowie die Rosaceae (Prunus-Arten) zu erwähnen sind. In anderen Pflanzenfamilien (Chenopodiaceae, Astaraceae, Moraceae, Myristicaceae) wurden ebenfalls unterschiedliche Isoflavonoide gefunden. Vereinzelt konnten Isoflavonoide in Brassicaceae (Brokkoli, Rotkohl), Lauraceae (Avocado), Juglandaceae (Walnuss), Pedaliceae (Sesam), Rubiaceae (Kaffee), Theaceae (Tee) und Apiaceae (Kümmelkörner) nachgewiesen werden [Mackova et al., 2006; Whiting, 2001; Lapcik, 2006].

Isoflavone bilden die größte und ernährungsphysiologisch bedeutendste Gruppe der Phytoestrogene [Harborne, 1994; Dixon, 2004]. Rund 95% aller natürlich vorkommenden Isoflavon-Aglykone werden von Pflanzen aus der Leguminosen-Familie produziert [Hegnauer und Grayer-Barkmeijer, 1993]. Isoflavone besitzen die Fähigkeit über Etherbindungen verschiedene Zuckerreste (v.a. Glucose) glykosidisch an Hydroxylgruppen des Grundgerüsts

zu binden, was die Variation der natürlich vorkommenden Isoflavone vergrößert. In vielen Pflanzen liegen Isoflavone deshalb als Zuckerkonjugate vor, wie z.B. in Soja [Wisemann et al., 2002]. Wichtige und quantitativ dominierende Isoflavone im gesamten Pflanzenreich sowie für die menschliche Ernährung sind die beiden 7-O- β -D-Glucoside Genistin und Daidzin aus Soja (vgl. Kapitel 1.2.2), sowie die beiden Aglykone Formononetin und Biochanin A aus Rotklee (vgl. Kapitel 1.3.2), deren Strukturen in Abbildung 4 aufgeführt sind.

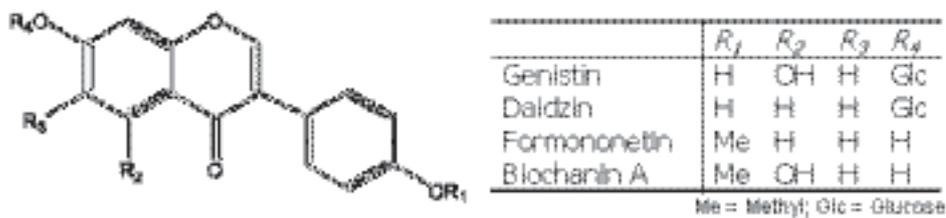


Abbildung 4: Überblick über die Strukturen der wichtigsten Isoflavone.

Coumestane sind strukturell mit den Isoflavonen verwandt. Als wichtigster Vertreter der Coumestane hat Coumestrol (s. Abbildung 1) nur eine untergeordnete Rolle in der menschlichen Ernährung. Nur sehr wenige pflanzliche Lebensmittel wie Alfalfa- oder Kleesprossen erhalten dieses Coumestan in nennenswerter Konzentration [Humpfrey, 1998; Harborne, 1994; Moravcová et al., 2004]. Coumestrol hat eine sehr hohe Bindungsaffinität zu den beiden verschiedenen Estrogen-Rezeptoren (ER; α und β), weshalb es u.a. eines der stärksten Phytoestrogene ist [vgl. Dixon, 2004].

Prenylierte Polyphenole sind weit verbreitet in Pflanzenfamilien höherer Ordnung, wie unter anderem in Berberidaceae, Leguminosae, Compositae, Moraceae, Boraginaceae, Rutaceae, Umbeliferaceae und Guttiferaceae [Yamamoto et al., 1997]. Für die Isoprenylierung von Flavonoiden ist bei der Biosynthese in der Pflanze das Schlüsselenzym Prenyltransferase besonders wichtig, welches streng spezifisch in Hinblick auf den Isoprenyl-Donor ist [Vitali et al., 2004; Laflamme et al., 1993]. Bekannte prenylierte Flavonoide sind Xanthohumol, Isoxanthohumol, 6-Prenylnaringenin sowie 8-Prenylnaringenin. Das Flavonoid 8-Prenylnaringenin (s. Abbildung 2) ist ein besonders potentes Phytoestrogen im Vergleich mit der Gruppe der Isoflavone [Milligan et al., 1999]. In geringen Konzentrationen enthalten ist es in den weiblichen Blüten des Hopfens (*Humulus lupulus*), welche zur Geschmacksverbesserung und Haltbarmachung des Bieres durch Bitterstoffe verwendet werden [Tahara und Ibrahim, 1995].

Stilbene sind 1,2-Diarylethene, welche aus Hydroxy-Zimtsäuren synthetisiert werden [Schröder, 1997]. Eine weite Reihe von Pflanzenfamilien (bsp. Pinaceen, Moraceen, Liliaceen oder Vitaceen) enthält Stilbene, wobei sie zumeist in der Rinde, den Wurzeln oder den Blättern nachgewiesen wurden. Es handelt sich dabei jedoch fast ausschließlich um Pflanzen oder Pflanzenteile, welche nicht zum menschlichen Verzehr geeignet sind. Am A-Ring tragen Stilbene normalerweise zwei Hydroxylgruppen in meta-Position (s. Abbildung 5), wohingegen der B-Ring in ortho-, meta- und/oder para-Stellung mit Hydroxyl- oder Methoxyl-Gruppen substituiert ist. Das am häufigsten vorkommende Stilben ist das monomere Resveratrol (3,5,4'-Trihydroxystilben), welches zum Teil in Pflanzen glykosidisch gebunden vorliegt (z.B. als das 3- β -D-Glucosid; Piceid) und erstmals 1963 in einer japanischen Knöterich-Pflanze (*Polygonum cuspidatum*) isoliert und identifiziert wurde [Nonomura et al., 1963]. Nur sehr wenige Pflanzen enthalten dieses Stilben, wobei insbesondere Weintrauben und Erdnüsse zu erwähnen sind. Deshalb ist es ebenfalls in Produkten aus Weintrauben, wie Saft oder Wein enthalten. Stilbene kommen ebenso in dimerer, trimerer oder oligomerer Form (Viniferine) vor [Cassidy et al., 2000].

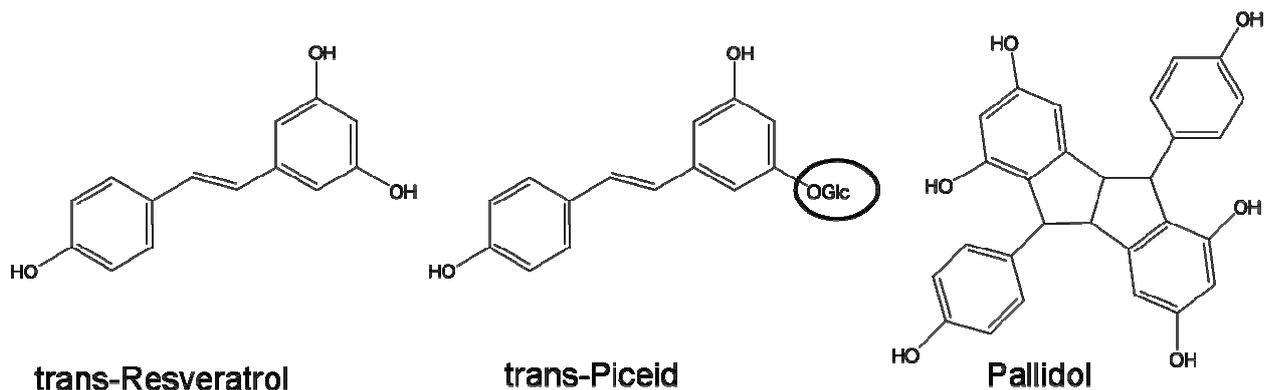


Abbildung 5: Strukturen der Stilbene Resveratrol, dessen Glucosid Piceid sowie als Pallidol in dimerer Form.

Eine Reihe von gesundheitlich positiven Effekten konnten auf die physiologischen Eigenschaften von Resveratrol zurückgeführt werden, wozu u.a. eine antithrombotische und anticancerogene Wirkung gehören soll [Dietrich et al., 1999; Clement et al., 1998].

Eine weitere bedeutende Gruppe von Phytoestrogenen bilden die Lignane, die keine flavonoide Struktur aufweisen. Diese sind im Gegensatz zu den Isoflavonen als sekundäre Pflanzenstoffe weit verbreitet und bilden in Nahrungspflanzen die Ausgangssubstanz für den Zellwandbestandteil Lignin. Die Lignane entstammen dem Phenylpropanstoffwechsel der Pflanzen, werden somit häufig aus einem seiner Produkte, z.B. dem Coniferylalkohol, synthetisiert. Es handelt sich bei ihnen um dimere C_6-C_3 -Körper (Phenylpropanderivate), die über das β -C-Atom der C_3 -Seitenkette miteinander verbunden sind (s. Abbildung 6). Bei ihrer

Verknüpfung wird ein radikalischer Mechanismus einer oxidativen Kupplung postuliert, wodurch sich eine Reihe von Variationsmöglichkeiten, wie z.B. Ringschlüsse oder Mehrfachverknüpfungen, ergeben. Die Benennung der Lignane erfolgt aufgrund des gebildeten Ringsystems und des zugrunde liegenden Substitutionsmusters (vgl. Abbildung 6). Sind die Phenylpropaneinheiten nicht über die β -ständigen C-Atome verknüpft, handelt es sich um ein Neolignan [Ayres und Loike, 1990]. Ein weit bekanntes Lignan ist die Nordihydroguajaretsäure, die früher häufig als Antioxidans in Lebensmitteln verwendet wurde. Lignane kommen in den meisten Pflanzen glykosidisch gebunden vor.

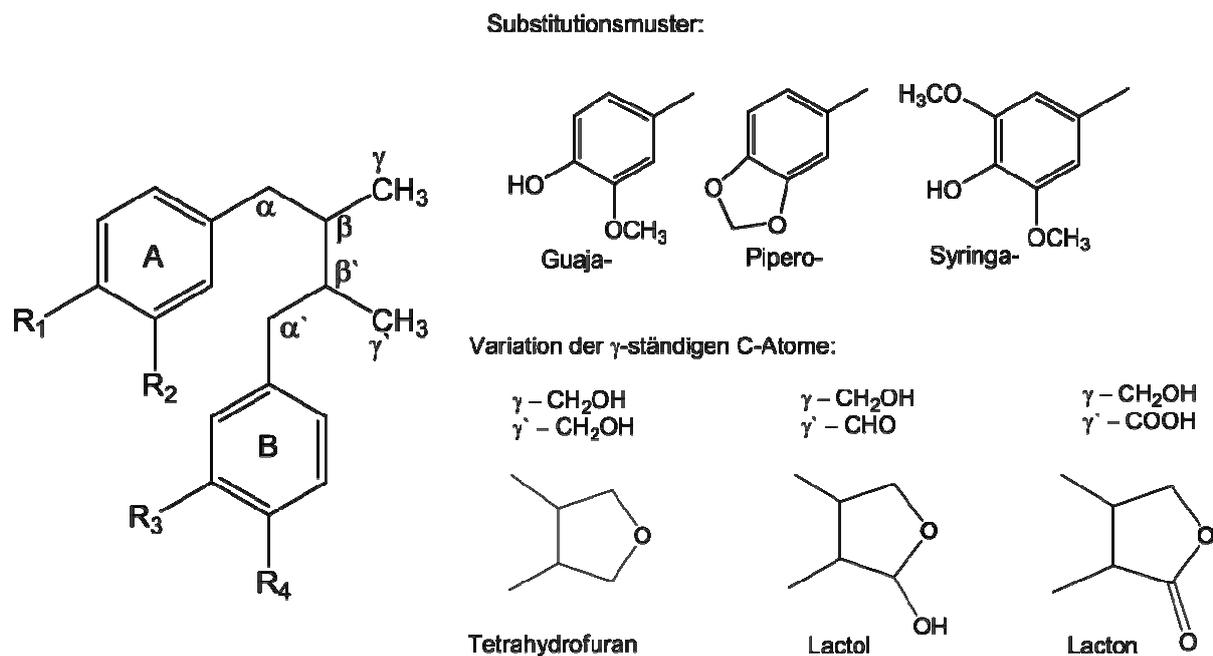


Abbildung 6: Substitutions- und Variationsmuster von Lignanen.

Hauptvertreter der Lignane sind Secoisolariciresinol-Diglucosid (SDG) und Matairesinol (s. Abbildung 7), die in vielen Nahrungspflanzen wie Ölsaaten oder Getreide vorkommen [Mazur und Adlercreutz, 1998]. Eine Vielzahl verschieden substituierter Lignane konnte aus diversen Pflanzen isoliert werden, wobei diese unterschiedliche biologische Aktivitäten aufweisen [Ward, 1999]. Einige von ihnen sind von besonderer Bedeutung und in das Interesse der Forschung gerückt, da sie potentiell wirksame Agenzien gegen HIV darstellen [Vlientinck et al., 1998]. Eine Anti-Tumor-Aktivität geht unter anderem von dem Lignan Podophyllotoxin aus [Borsche und Niemann, 1932], welches als chemische Grundlage für die pharmazeutische Herstellung des Krebsmedikamentes Etoposid dient (vgl. auch 3.6.1).

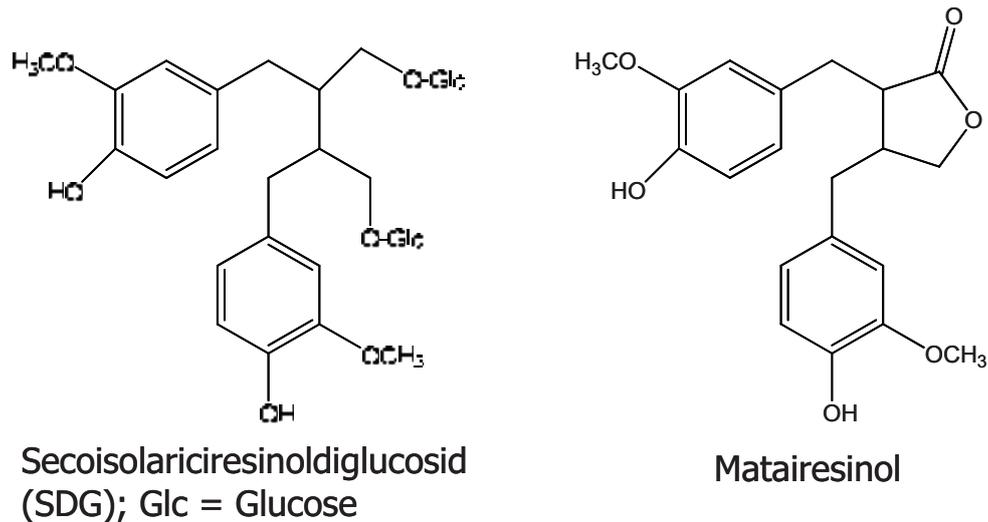


Abbildung 7: Die ernährungsphysiologisch wichtigen Lignane SDG und Matairesinol.

1.1.3 Verbreitung in Lebensmitteln

Innerhalb der Nahrungsmittel sind als besonders reichhaltige Quellen von Phytoestrogenen zwei Pflanzen zu nennen: Leinsamen (Lignane) und Soja (Isoflavone). Höhere Konzentrationen dieser beiden Phytoestrogen-Gruppen sind ebenfalls in Leguminosen sowie in Getreide vorhanden. In etwas geringerer Konzentration sind Phytoestrogene auch in vielen Gemüse- und Obstsorten, Samen, Hopfen, Salbei, Tee und in einigen alkoholischen Getränken wie Bier oder Wein enthalten.

Für die menschliche Ernährung bedeutend ist vorwiegend Soja (*Glycine max* L.), in dem die Isoflavone Daidzein und Genistein dominieren. Eine Vielzahl von Lebensmitteln wie Tofu oder Miso werden aus Soja hergestellt. Nicht nur diese traditionellen asiatischen Lebensmittel werden auf der Grundlage von Soja zubereitet, sondern ebenfalls eine Vielzahl anderer Verarbeitungsprodukte wie unter anderem Sojasauce, Suppen, Backwaren, Milcherzeugnisse, Baby- oder Sportlernahrung. Aufgrund ihrer hochwertigen Proteinzusammensetzung ist die Sojabohne vielfach verbreitet (siehe Kapitel 1.2.1). In einigen anderen Leguminosen wie Kichererbsen (*Cicer arietinum*), Linsen (*Lens culinaris*) oder Kidney-Bohnen (*Phaseolus vulgaris*) konnten auch höhere Konzentrationen von Daidzein und Genistein nachgewiesen werden. In Gemüse, Ölsaaten und Cerealien sind ebenfalls geringe Mengen dieser beiden Isoflavone enthalten, wohingegen in Obst und Nüssen lediglich Spuren detektiert werden konnten [Mazur und Adlercreutz, 1998; Liggins et al., 2000; Mazur et al., 1998; Liggins et al., 2007]. Eine Übersicht über den Gehalt der beiden Soja-Isoflavone Daidzein und Genistein in verschiedenen Lebensmitteln ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Gehalte der Isoflavone Daidzein und Genistein in verschiedenen Lebensmitteln nach Mazur und Adlercreutz [1998], und Mazur et al. [1998].

	Lebensmittel	Daidzein [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]	Genistein [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]
Leguminosen	Sojabohne	10500-56000	26800-84100
	Kichererbse	11-192	69-214
	Linsen	3-10	7-19
	Kudzu; Wurzel	185000	126000
	Erbse	4-11	0-23
	Kidneybohnen	7-40	18-518
Getreide	Gerste; ganzes Korn	14	8
	Hafer, Mehl	0	0
	Weizen; Kleie	4	7
	Roggen, Mehl	0	0
Ölsamen und Nüsse	Sesam; Samen	140	14
	Erdnuss	58	64
	Mandel	4	0
	Leinsamen	0	0
	Klee; Samen	178	323
Früchte und Beeren	Erdbeere	0	0
	Apfel	12	0
	Banane	0	0
Gemüse	Zucchini, mit Schale	0	0
	Rotkohl	5	14
	Kartoffel, gepellt	0	0
	Blumenkohl	5	9

Deutlich hervortretend ist der hohe Gehalt von Isoflavonen in Soja, aber auch in Kudzu (vgl. 1.5). Kichererbsen weisen ebenso einen sehr hohen Gehalt auf. Daidzein konnte vereinzelt in Getränken wie Bier [Lapcik, 1998] nachgewiesen werden.

Zwei weitere wichtige Isoflavone sind Formononetin und Biochanin A, die jeweiligen 4'-O-Methyl-derivate von Daidzein und Genistein (vgl. Abbildung 4). Die beiden Isoflavone treten vereinzelt in Nahrungsmitteln, jedoch hauptsächlich in Futtermitteln wie z.B. Rotklee auf. Das Isoflavon Biochanin A wurde sogar aus Bourbon-Whisky isoliert [Gavaler et al., 1987].

Lignane sind insbesondere in Leinsamen (*Linum usitatissimum* L.), sowie in Raps (*Brassica nápus*), Cerealien, Gemüse und Früchten enthalten [Meagher und Beecher, 2000]. Die beiden Lignane Secoisolariciresinol und Matairesinol werden häufig mit der Nahrung aufgenommen, da diese Phytoestrogene in vielen Pflanzen enthalten sind. In Tabelle 2 sind die Gehalte in verschiedenen Lebensmitteln aufgeführt.

Deutlich zu erkennen ist der hohe Gehalt von Lignan en in Leinsamen, in dem diese als Diglucoside vorliegen. Bei den Getreidesorten, wie z.B. Gerstenkörnern, sind die höchsten Konzentrationen an Lignan en in der Aleuronschicht sowie im Perikarp zu finden. In Spuren kommt das Lignan Secoisolariciresinol in Erdnüssen und in Soja vor. Das Lignan Matairesinol liegt in allen Pflanzen und Nahrungsmitteln in deutlich geringerer Konzentration vor als SEC. Bei einem Vergleich zwischen den beiden Gruppen der Isoflavone und der Lignan en hinsichtlich ihres Gehaltes in Nahrungsmitteln werden einige Unterschiede ersichtlich. Leguminosen (z.B. Kichererbsen) enthalten weitaus mehr Isoflavone als Lignan en, hingegen ist die Bandbreite an Lebensmitteln, in denen Lignan en vorkommen, weitaus größer. Lignan en sind weit verbreitet und kommen beispielsweise in einigen Früchten wie Erdbeeren vor, in denen bislang keine Isoflavone detektiert werden konnten. Ebenso ist in verschiedenen Teesorten ein durchaus hoher Gehalt an Lignan en vorhanden, was sich sowohl auf die Blätter als auch auf den fertig aufgebühten Tee bezieht [Mazur und Adlercreutz, 1998].