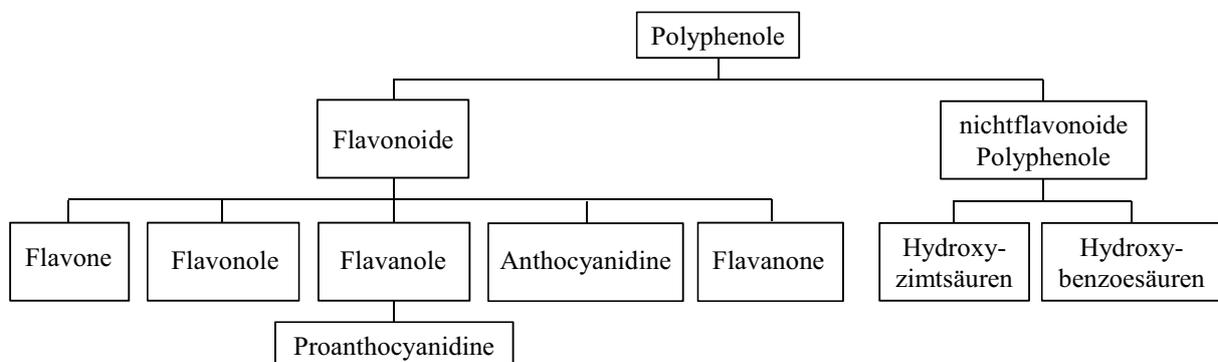


# 1 Grundlagen und Kenntnisstand

## 1.1 Sekundäre Pflanzenstoffe: Polyphenole

Polyphenole werden den sekundären Pflanzenstoffen zugerechnet. Innerhalb der Pflanze besitzen sie die Funktion, z.B. als Giftstoffe „Schädlinge“ zu vertreiben oder als Geruchs- oder Geschmacksstoffe Insekten zur Fortpflanzung anzulocken (MANACH et al., 2004; BELITZ et al., 2008). Daneben schützen sie die Pflanze nicht nur vor den schädlichen Effekten der UV-Strahlung, sondern spielen auch eine entscheidende Rolle in der geschlechtlichen Fortpflanzung (KOES et al., 1994).

Der Begriff „Polyphenole“ wird in der Literatur uneinheitlich verwendet. So kennzeichnet er etwa Verbindungen, die mindestens zwei aromatische Ringe besitzen, von denen jeder mindestens eine Hydroxylgruppe trägt (CLIFFORD, 1999). Diesem Einteilungsschema folgend, gehören Hydroxyzimtsäuren wie z.B. Caffeoylchinasäuren zu den nichtflavonoiden Polyphenolen bzw. „einfachen Phenolen“ (Abbildung 1.1).

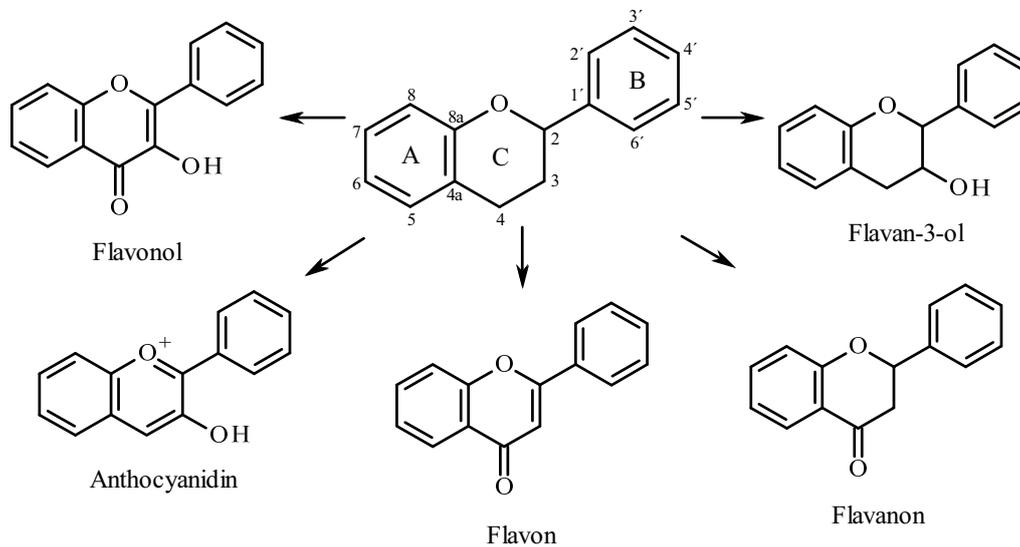


**Abbildung 1.1:** Klassifizierung der Polyphenole (nach MANACH et al., 2004; IRITI & FAORO, 2009)

Die größte Bedeutung unter den Polyphenolen haben die Flavonoide, deren Name sich von der gelben Farbe (lat. *flavus* = gelb) einiger Vertreter dieser Stoffklasse ableitet. Gegenwärtig sind einige Tausend verschiedene Verbindungen dieser Gruppe in höheren Pflanzen charakterisiert worden, einige Hundert sind in essbaren Pflanzen anzutreffen (WATZL & RECHKEMMER, 2001b; MANACH et al., 2004).

In Abbildung 1.2 ist das Flavonoidgrundgerüst ( $C_6-C_3-C_6$ -Körper) dargestellt. Dieses besteht aus zwei aromatischen Ringsystemen (A- und B-Ring), die über den heterozyklischen C-Ring

verbunden sind. Die einzelnen Flavonoidklassen ergeben sich aus dem Oxidationszustand des C-Rings (Pyran-Ring). Hauptunterklassen der Flavonoide sind die Flavonole, Flavan-3-ole, Flavanone, Flavone und Anthocyanidine. Chalkone, Dihydrochalkone, Flavan-3,4-diole und Cumarine stellen Nebengruppen dar.



**Abbildung 1.2:** Grundgerüst der Flavonoide (2-Phenyl-benzopyran) und chemische Struktur der Hauptunterklassen (nach CROZIER et al., 2009)

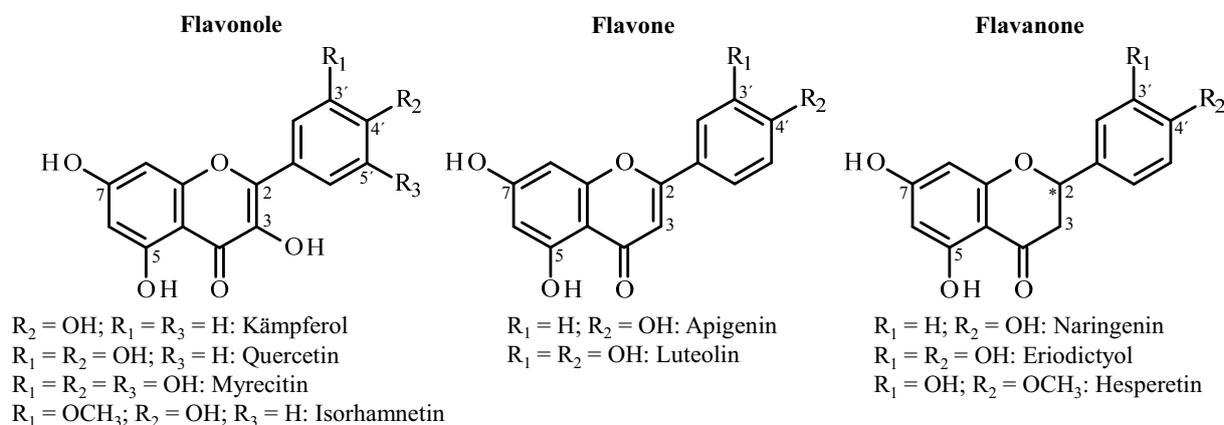
Die enorme Vielfalt und -zahl der Flavonoide innerhalb der Klassen ergibt sich durch Substitution mit funktionellen Gruppen. Hydroxylgruppen liegen beispielsweise bevorzugt am C-4', C-5 und C-7 vor. Die Mehrheit der Flavonoide kommt natürlicherweise als Glykoside vor. Die glykosidische Bindung befindet sich zumeist an den Hydroxylgruppen der C-Atome C-3 (bei Flavanolen) und C-7. Oft sind auch C-Glykoside vorzufinden. Hier sind die Zucker am C-6 und C-8 gebunden. Während polare Substituenten wie Zucker und Hydroxylgruppen die Wasserlöslichkeit der Flavonoide erhöhen, bewirken unpolare Substituenten wie Methylgruppen den umgekehrten Effekt und verstärken die Lipophilie (MANACH et al., 2004; CROZIER et al., 2009).

### Flavonole, Flavone und Flavanone

Flavonole sind die verbreitetsten Flavonoide in Lebensmitteln und kommen in großen Mengen in Zwiebeln, Grünkohl und grünen Bohnen vor (WATZL & RECHKEMMER, 2001b; CROZIER et al., 2009). Oft treten in der Natur Konjugate der Aglyka Quercetin und Kämpferol auf (MANACH et al., 2004 – Abbildung 1.3). Allein von Kämpferol sind rund 200 Glykoside bekannt (CROZIER et al., 2009).

Flavone sind ungeachtet ihrer strukturellen Verwandtschaft in Obst und Gemüse weniger verbreitet als Flavonole. Die überwiegende Zahl der Verbindungen sind Glykoside (zumeist 7-O-Glykoside) der Aglyka Apigenin und Luteolin (Abbildung 1.3). Weiterhin sind methylierte, hydroxylierte sowie O- und C-alkylierte Flavone bekannt. Reich an Flavonen

sind einige Kräuter (z.B. Petersilie und Sellerie). Bestimmte Getreidearten (Weizen und Hirse) enthalten ebenso Flavon-C-glykoside (MANACH et al., 2004; CROZIER et al., 2009).



**Abbildung 1.3:** Chemische Strukturen einiger Flavonoide

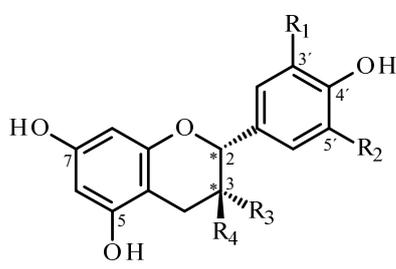
Flavanone wie Naringenin, Hesperetin und Eriodictyol (Abbildung 1.3) treten in höheren Konzentrationen in Zitrusfrüchten (z.B. Grapefruit, Zitrone und Orange) auf. Sie sind im Allgemeinen durch ein Disaccharid an Position 7 glykosyliert. Eine Neohesperidose verleiht ihnen einen bitteren Geschmack (z.B. Naringin in Grapefruit), während eine Rutinose geschmacklos ist. Strukturell zeichnen sie sich durch das Fehlen der Doppelbindung am C-2 und C-3 des C-Rings aus, wodurch am C-2 ein Chiralitätszentrum entsteht (MANACH et al., 2004; CROZIER et al., 2009).

#### Flavan-3-ole (Catechine) und Proanthocyanidine

Die Flavan-3-ole sind die komplexeste Untergruppe der Flavonoide, da sie sowohl in monomerer (→ Catechine) als auch polymerer Form (→ Proanthocyanidine) auftreten. Die Struktur der Catechine ist gekennzeichnet durch die Einfachbindung am C-2 und C-3 des heterocyclischen C-Rings, wodurch zwei Chiralitätszentren entstehen. Dadurch führt eine Hydroxylierung am B-Ring zur Bildung von insgesamt vier Isomeren. Zu den wichtigsten zählen die Diastereomerenpaare (+)-Catechin und (-)-Epicatechin, (+)-Gallocatechin und (-)-Epigallocatechin, (+)-Afzelechin und (-)-Epiäfzelechin sowie die korrespondierenden Gallate (CROZIER et al., 2009 – Abbildung 1.4).

Im Gegensatz zu den anderen Flavonoidklassen kommen die Flavan-3-ole nur selten glykosyliert vor (RAAB et al., 2010). Catechine sind in vielen Früchten (z.B. Aprikose, Kirsche und Pfirsich), Rotwein sowie insbesondere in grünem Tee und Schokolade enthalten. Schwarzer Tee weist normalerweise nur geringe Gehalte monomerer Catechine auf, da diese während der „Fermentation“ der grünen Teeblätter enzymatisch zu Oxidationsprodukten wie den orange-roten Theflavinen (Dimere mit einem charakteristischen 1,2-Dihydroxy-3,4-benzotropolonringsystem) und den strukturell kaum charakterisierten, bräunlichen, Thearubiginen (heterogene Polymere) reagieren (MANACH et al., 2004; MENET et al.,

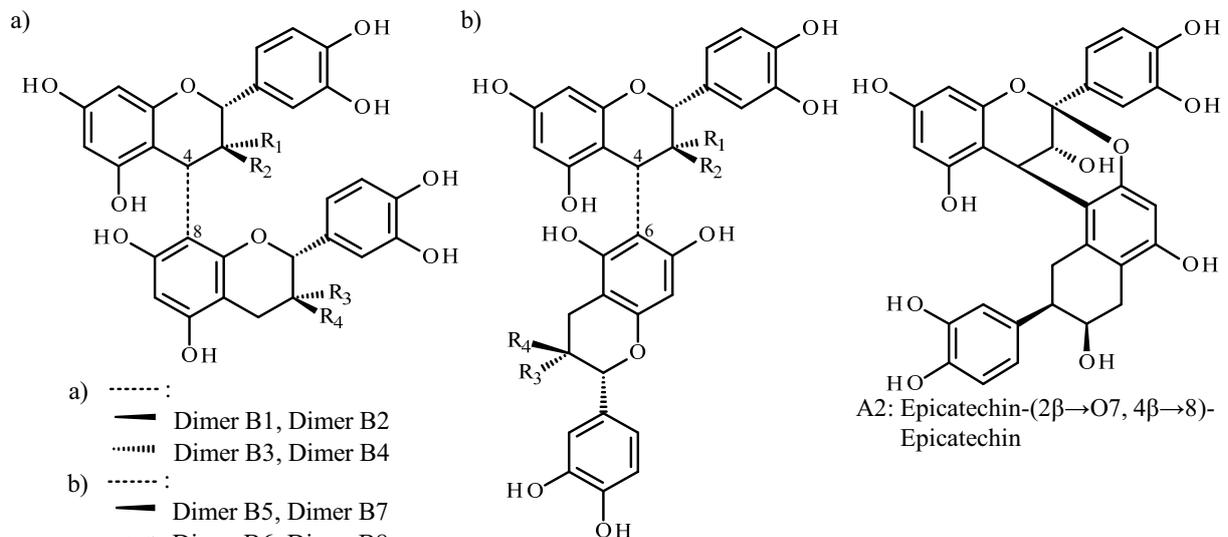
2004; GU et al., 2004; CROZIER et al., 2009; TANAKA et al., 2009), die u.a. für den bitteren Geschmack und die dunkle Farbe verantwortlich sind (TANAKA et al., 2001).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>Flavan-3-ol</b>				
(+)-Afzelechin (2R, 3S)	H	H	H	OH
(-)-Epiafzelechin (2R, 3R)	H	H	OH	H
(+)-Catechin (2R, 3S)	OH	H	H	OH
(-)-Epicatechin (2R, 3R)	OH	H	OH	H
(+)-Gallocatechin (2R, 3S)	OH	OH	H	OH
(-)-Epigallocatechin (2R, 3R)	OH	OH	OH	H

Abbildung 1.4: Chemische Struktur einiger Flavan-3-ole

Proanthocyanidine, auch als kondensierte Tannine bezeichnet, sind Mischungen von dimeren, oligomeren und polymeren Flavan-3-olen, die hauptsächlich über Position C-4→C-8, aber auch über C-4→C-6 (beides B-Typ) verknüpft sind (ARON et al., 2008). Die Flavan-3-ol-einheit kann ebenfalls über eine zusätzliche Etherbrücke zwischen C-2→O-7 konjugiert sein (A-Typ) (Abbildung 1.5).



a) ..... :  
 — Dimer B1, Dimer B2  
 ..... Dimer B3, Dimer B4

b) ..... :  
 — Dimer B5, Dimer B7  
 ..... Dimer B6, Dimer B8

A2: Epicatechin-(2β→O7, 4β→8)-Epicatechin

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Dimer B1	OH	H	H	OH
Dimer B2	OH	H	OH	H
Dimer B3	H	OH	H	OH
Dimer B4	H	OH	OH	H
Dimer B5	OH	H	OH	H
Dimer B6	H	OH	H	OH
Dimer B7	OH	H	H	OH
Dimer B8	H	OH	OH	H

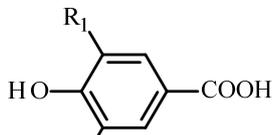
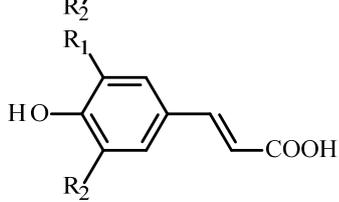
Abbildung 1.5: Chemische Struktur der dimeren Procyanidine des B-Typs (links & Mitte) und des A-Typs am Beispiel des Procyanidins A2 (rechts)

Die Größe des Proanthocyanidinmoleküls wird durch den Polymerisationsgrad beschrieben (2-7 Flavan-3-ol-Einheiten: oligomere bzw. niedermolekulare Proanthocyanidine; > 7 Ein-

heiten: polymere bzw. höhermolekulare Proanthocyanidine – GUYOT et al., 2001; GU et al., 2004). Proanthocyanidine, die ausschließlich aus (Epi)catechineinheiten bestehen, werden auch als „Procyanidine“ bezeichnet. Hauptquellen von Proanthocyanidinen sind verschiedene Früchte, Getreidekörner, Nüsse, Schokolade oder auch Getränke wie Tee, Wein, Kakao und Bier (GU et al., 2004; PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2010).

### Phenolische Säuren

Neben den Flavonoiden spielen auch die phenolischen Säuren, die sich in die Hydroxybenzoesäuren (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>-Körper) und Hydroxyzimtsäuren (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-Körper) unterteilen lassen, eine wichtige Rolle in der Natur. Einige Vertreter dieser Stoffklassen werden in Abbildung 1.6 vorgestellt.

		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
a)				
		<b>a) Hydroxybenzoesäure</b>		
		<i>p</i> -Hydroxybenzoesäure	H	H
		Protocatechusäure	OH	H
	Vanillinsäure	OCH <sub>3</sub>	H	
b)				
		<b>b) Hydroxyzimtsäure</b>		
		<i>p</i> -Cumarsäure	H	H
		Kaffeesäure	OH	H
		Ferulasäure	OCH <sub>3</sub>	H
	Sinapinsäure	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	

**Abbildung 1.6:** Chemische Struktur einiger phenolischer Säuren

Die Hydroxybenzoesäuregehalte essbarer Pflanzen sind mit Ausnahme derjenigen in Zwiebeln insgesamt niedrig. Tee ist daneben eine wichtige Quelle für Gallussäure. Hydroxybenzoesäuren sind auch Bestandteil komplexer Strukturen wie hydrolysierbarer Tannine (z.B. Gallotannine in Mangos) (MANACH et al., 2004; CROZIER et al., 2009).

Hydroxyzimtsäuren sind verbreiteter als Hydroxybenzoesäuren. Bedeutende Vertreter sind *p*-Cumar-, Kaffee-, Ferula- und Sinapinsäure, die abgesehen von verarbeiteten Erzeugnissen (z.B. fermentierte oder sterilisierte Produkte) nur selten in freier Form auftreten. Überwiegend kommen glykosylierte Derivate oder Ester mit China-, Shikimi- und Weinsäure vor. Zu den Hauptquellen von Hydroxyzimtsäuren zählen Heidelbeeren, Kiwis, Pflaumen, Kirschen und Äpfel, wobei Kaffeesäure (in freier und veresteter Form) üblicherweise 75-100 % des Hydroxyzimtsäuregesamtgehalts der meisten Früchte ausmacht (WATZL & RECHKEMMER, 2001a; MANACH et al., 2004; CROZIER et al., 2009, PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2010).

Sehr oft ist Chlorogensäure anzutreffen, die aus Kaffee- und Chinasäure aufgebaut ist. Diese Verbindung kommt in vielen Früchten und in hohen Konzentrationen im Kaffee (70-350 mg/Tasse) vor (MANACH et al., 2004). Die Hauptuntergruppen der Chlorogen-

säureisomere im Kaffee sind die Caffeoyl-, Feruloyl- und Dicaffeoylchinasäureester, die 98 % der Chlorogensäurezusammensetzung ausmachen (CLIFFORD, 1999; PERRONE et al., 2008). Das Chlorogensäureprofil stellt einen wichtigen Parameter zur Evaluierung der Qualität eines Kaffees dar (MOREIRA et al., 2001).

### 1.1.1 Biosynthese der Polyphenole

Die Biosynthese der Flavonoide und phenolischen Säuren ist ein komplexer Prozess, der vornehmlich unter Beteiligung des Shikimisäure- ( $C_6-C_1$ -Körper), Phenylpropanoid- ( $C_6-C_3$ -Körper) und Flavonoid-Wegs abläuft. Die nichtflavonoiden Polyphenole werden auf dem Shikimisäure- und Phenylpropanoid-Weg synthetisiert, während die Flavonoidstruktur ( $C_6-C_3-C_6$ -Grundgerüst) durch Kombination dieser beiden unabhängigen Biosynthesewege entsteht (CROZIER et al., 2009).

Der erste Schritt des Shikimisäure-Wegs umfasst die aldolartige Kondensation von Phosphoenolpyruvat und Erythrose-4-Phosphat (DEWICK, 1994). Über mehrere Zwischenstufen entsteht Shikimisäure, die über Phenylalanin nach Desaminierung zu Zimtsäure und schließlich *p*-Cumaroyl-CoA umgesetzt wird. Die beiden zuletzt genannten Verbindungen stellen die Ausgangsstoffe für die Substanzklassen der Hydroxyzimtsäuren und -benzoesäuren sowie der Depside (Ester einer aliphatischen mit einer aromatischen Hydroxycarbonsäure) dar (CROZIER et al., 2009).

Die Synthese der Flavonoide erfolgt durch die Kondensation von drei Malonyl-CoA-Einheiten mit der aktivierten *p*-Cumarsäure zu einem Naringeninchalkon, von dem sich letztendlich alle Flavonoidklassen ableiten (Abbildung 1.7). Der aromatische B-Ring sowie die Verbindung von A- und B-Ring des Chalkons gehen auf die aktivierte *p*-Cumarsäure zurück, der A-Ring auf die Malonyl-CoA-Einheiten (HELLER & FORKMANN, 1988; CROZIER et al., 2009).

Die an den Umsetzungen beteiligten Enzyme sind in Tabelle 1.1 zusammengefasst.

**Tabelle 1.1:** An der Biosynthese der Flavonoide, Stilbene und phenolischen Säuren beteiligte Enzyme

Abkürzung	Enzym	Abkürzung	Enzym
PAL	Phenylalanin-Ammonium-Lyase	IFS	Isoflavon-Synthase
C4H	Zimtsäure-4-Hydroxylase	FNS	Flavon-Synthase
COMT-1	Kaffeesäure O-Methyltransferase	F3H	Flavanon-3-Hydroxylase
ACoAC	Acetyl-CoA-Carboxylase	FLS	Flavonol-Synthase
4CL	4-Cumarat:CoA-Ligase	F3'H	Flavonoid-3'-Hydroxylase
SS	Stilben-Synthase	DFR	Dihydroflavanol-4-Reduktase
CHS	Chalkon-Synthase	LAR	Leucoanthocyanidin-4-Reduktase
CHI	Chalkon-Isomerase	ANS	Anthocyanidin-Synthase