

Presseinformation

Esslingen, 03. Mai 2010

Analytik von sekundären Pflanzenstoffen (Teil 3) Polyphenole

Polyphenole stellen eine weit verbreitete Stoffgruppe der Inhaltsstoffe von Pflanzen dar. Sie werden den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen zugerechnet und bestehen aus einem oder mehreren aromatischen Ringstrukturen mit phenolischem Charakter. Sie dienen dort als z. B. Farb- oder Abwehrstoffe und beeinflussen in erheblicher Weise Geschmack, Aussehen und Haltbarkeit. Eine gemeinsame Eigenschaft in unterschiedlicher Ausprägung ist ihr antioxidatives Potential, weshalb seit einiger Zeit polyphenolreiche Extrakte, Präparate oder Lebensmittel vermehrt mit gesundheitlich positiven Eigenschaften in Verbindung gebracht und kommerziell vermarktet werden. Ebenso gilt dies für Präventionsmassnahmen im Zusammenhang mit Koronarerkrankungen oder Arteriosklerose. Bekannte Beispiele sind unter anderem Grüntee-Produkte, Beeren- und Schokoladen-Produkte oder Rotwein und Traubenkernextrakte.

Die BioTeSys GmbH als analytischer Dienstleister hat sich schon seit längerer Zeit auf die Analyse von Wirksubstanzen in komplexen biologischen Matrices wie Pflanzenextrakte, Lebensmittel, Nahrungsergänzungsmittel, Kosmetika, Drogen etc. spezialisiert und bietet für ihre Kunden unter anderem auch für Polyphenole zuverlässige Analysenverfahren an oder entwickelt der Fragestellung angemessene und optimierte Analysenverfahren im Kundenauftrag.

Zur Analyse der Polyphenole sind prinzipiell 2 Wege möglich: Bei der ersten Variante werden ganze Stoffgruppen analysiert, wie in den meisten etablierten pho-

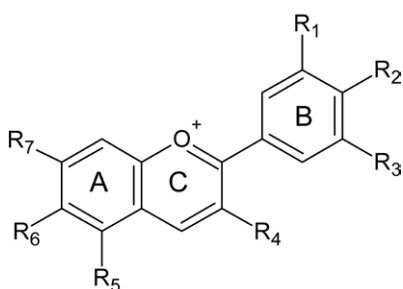
tometrischen Verfahren üblich. Die Informationen sind hier weniger analyt-spezifisch sondern über eine größere Gesamtheit von Verbindungen aufsummiert mit dem Vorteil einer besseren Übersicht und Vergleichbarkeit von Probenmaterial.

Alternativ dazu werden bei der zweiten Variante einzelne, für die Probe charakteristische Leitsubstanzen als Analyten ausgewählt und gezielt, nach Auftrennung der Probenbestandteile beispielsweise mit HPLC, analysiert. Die erhaltene Information kann hierbei sehr viel detaillierter ausfallen als bei der ersten Variante, oft bei lediglich moderatem Mehraufwand.

Im Folgenden sind drei Polyphenol-Stoffgruppen exemplarisch aufgeführt:

Anthocyanidine

Die wichtigsten wasserlöslichen Farbstoffe in Pflanzen stellen die Anthocyane dar, welche besonders in Blüten sowie in Früchten und Gemüse anzutreffen sind. Ihr Name leitet sich vom griechischen anthos = Blüte und kyáneos = dunkelblau her. Reich an Anthocyanen sind vor allem Beeren wie Weintrauben, Heidelbeeren sowie z.B. Kirschen, Auberginen und Rotkohl. Dabei werden am häufigsten die Glycoside (Zuckerkonjugate) von Cyanidin, Delphinidin, Malvidin, Pelargonidin, Peonidin sowie Petunidin, vor. Es handelt sich dabei um Flavonoide, welche als gemeinsames Strukturmerkmal das Flavylum-Kation besitzen (Abbildung 1).



| Anthocyanidin | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | R ₅ | R ₆ | R ₇ |
|---------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Cyanidin | -OH | -OH | -H | -OH | -OH | -H | -OH |
| Delphinidin | -OH | -OH | -OH | -OH | -OH | -H | -OH |
| Luteolinidin | -OH | -OH | -H | -H | -OH | -H | -OH |
| Pelargonidin | -H | -OH | -H | -OH | -OH | -H | -OH |
| Malvidin | -OCH ₃ | -OH | -OCH ₃ | -OH | -OH | -H | -OH |
| Peonidin | -OCH ₃ | -OH | -H | -OH | -OH | -H | -OH |
| Petunidin | -OH | -OH | -OCH ₃ | -OH | -OH | -H | -OH |

Abb. 1 Flavylumkation und abgeleitete Anthocyaninderivate.

Die Anthocyane sind oft an Hydroxygruppe R₄ (Abb. 1) glycosyliert und tragen weitere Substituenten, die nichtglycosylierten Grundkörper werden Anthocyanidine genannt.

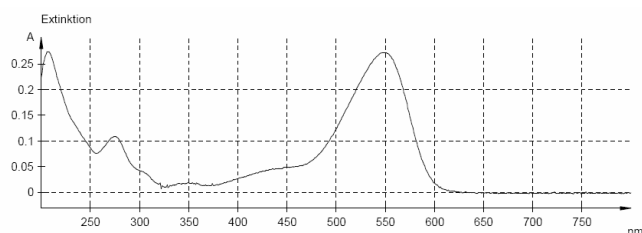


Abb. 2 UV/Vis-Absorptionsspektrum von Delphinidin.

Die Analyse von Anthocyanen erfolgt am besten über RP-HPLC bei pH-Werten < 3. Die Detektion kann durch UV-Absorption bei etwa 550 nm Wellenlänge (Abb. 2) oder elektrochemisch erfolgen.

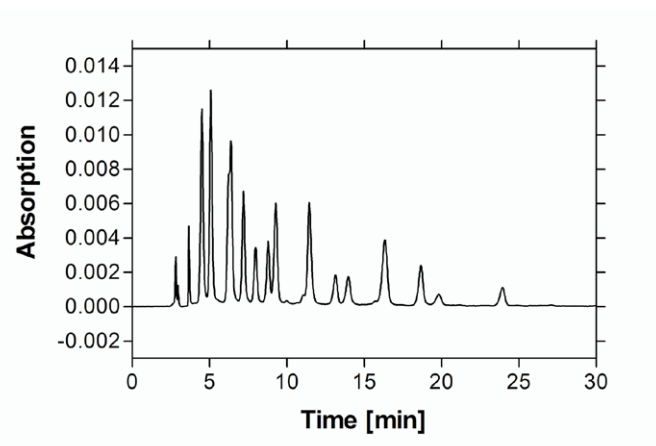


Abb. 3 RP-HPLC-Chromatogramm von Anthocyanen aus einem Beerenextrakt.

Die Anthocyane werden meist als Anthocyanidine analysiert, vor der eigentlichen Analyse werden in diesem Fall die Kohlenhydratreste enzymatisch oder chemisch abgespalten. Mit einem entsprechend angepassten Verfahren lassen sich so beispielsweise HPLC-Profile von Beerenprodukten für das Qualitätsmanagement (Abb. 3) erstellen oder auch anhand von Leitsubstanzen quantitative Aussagen zu Inhaltsstoffen treffen.

In bei BioTeSys durchgeführten in vitro-Versuchen mit Darmzellen konnten z.B. auch die Aufnahmekinetiken aus unterschiedlichen Extraktformulierungen verglichen werden und so wichtige Erkenntnisse für die Produktentwicklung eines Kunden gewonnen werden.

Catechine

Die Catechine gehören innerhalb der Gruppe der Polyphenole zu den Flavanolen. Gemeinsam ist ihnen der Aufbau aus 3 Kohlenstoffringen mit 2 aromatischen (A und B) und einem O-heterozyklischen Ring (C).

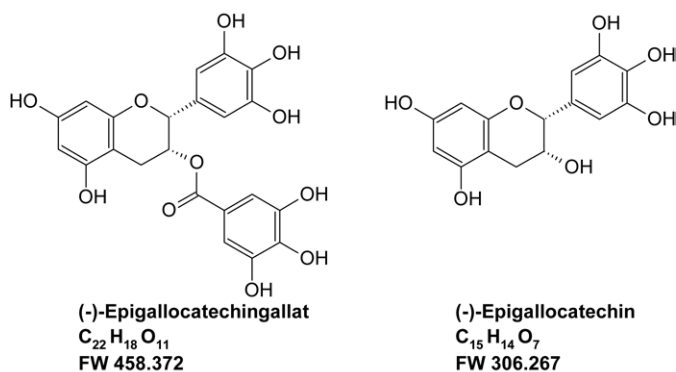
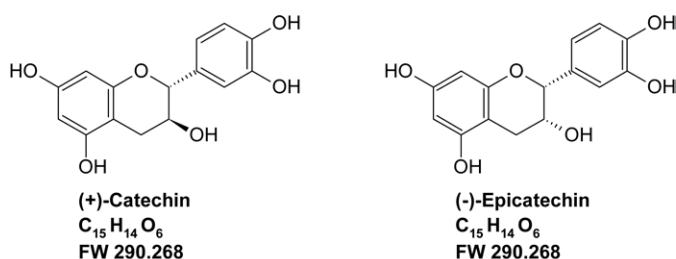
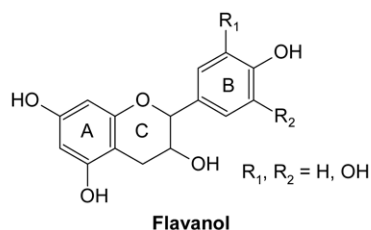


Abb. 4 Strukturen der Catechinerenextrakt.

Catechine kommen in größeren Mengen z. B. in Obst, Schokolade, Wein, Gewürzen und in grünem Tee vor. Catechine sind kräftige Radikalfänger, sie werden mit einer verringerten Sterblichkeit an Herz-/Kreislaufkrankungen in Zusammenhang gebracht und haben in vitro sowie im Tiermodell gesundheitsfördernde Wirkungen wie Anticancerogenität, Antiviralität, Schutz vor Lipidperoxidation, Immunmodulation sowie entzündungshemmende Aktivität und Schutz der DNA gezeigt. Catechine und andere Flavonoide können nach Extraktion aus Zellen, Plasma, Drogen, etc. durch RP-HPLC mit UV-Detektion bei 280 nm Wellenlänge bestimmt werden.

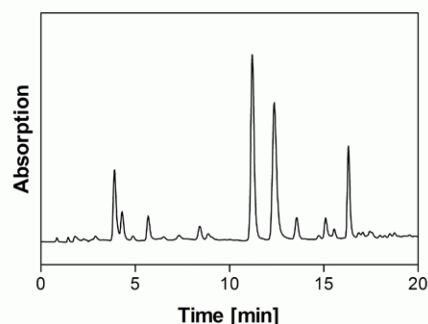


Abb. 5 RP-Chromatogramm von Catechinen in einem Grüntee-Extrakt.

Die Catechine werden in natürlichen Produkten meist von ihren Oligomeren und Polymeren begleitet, oft in erheblich größerem Anteil als von den Catechinen. Diese „oligomeren Procyanidine“ (OPC), sind in jüngster Zeit verstärkt in den Fokus geraten, da ihnen besonders starke biologische Aktivität nachgesagt wird. Unsere Analytik von oligomeren Procyanidinen wird in einem späteren Kapitel extra behandelt.

Resveratrol

Dieses antioxidativ wirkende Stilbenderivat kommt unter anderem in Weintrauben, Weinblättern, in Wein und Traubensäften sowie in Erdnüssen vor. Die höchste Resveratrol-Konzentration wird bei Weintrauben in der Schale aufgefunden. Deshalb enthält Rotwein, aufgrund der Anwesenheit von Traubenschalen in der Maische während des Gärens, deutlich höhere Gehalte an Resveratrol als Weißwein.

In mehreren Studien wurde trans-Resveratrol auf seine Wirkung in in vitro und in vivo untersucht. Dabei wurde wie auch bei Flavonoiden eine Schutzwirkung gegen Herz-Kreislaufkrankungen festgestellt, welche der Verbesserung der Blut-Lipid-Werte zugeordnet wird. Außerdem wurden wiederholt anticancerogene und antiinflammatorische Wirkungen von Resveratrol beschrieben.

Als stark antioxidativ wirksame Verbindung schützt Resveratrol vor Lipidperoxidation. Diese Schutzwirkung steht aufgrund der Amphiphilie des Moleküls, im Gegensatz zu anderen Antioxidantien, sowohl in wässrigen als auch in hydrophoben Systemen zur Verfügung.

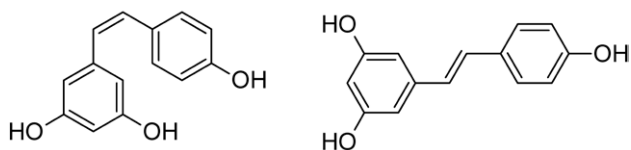


Abb. 6 cis- (links) und trans- (rechts) Resveratrol.

Chemisch gesehen ist Resveratrol ein (5-[(E)-2-(4-Hydroxyphenyl)ethenyl]resorcinol) oder (3,4',5-Trihydroxy-trans-stilben) aus der Gruppe der Phytoalexine. Diese Verbindungen werden von Pflanzen als Immunantwort auf biotische und abiotische Stressbedingungen erzeugt. Als Folge von UV-Bestrahlung isomerisiert trans-Resveratrol in cis-Resveratrol.

Die BioTeSys GmbH verwendet ein HPLC-Verfahren zur Analyse von Resveratrol, mit dem der Gehalt des cis- bzw. trans-Isomeren direkt aus Wein, Traubenkernextrakten oder Reinsubstanzen präzise und zuverlässig bestimmt werden kann. Die Trennung erfolgt nach einem einfachen Probenvorbereitungsschritt, bei Bedarf zusätzlich mit einer Festphasenextraktion (SPE) und Konzentrierung, isokratisch auf einer C-18-Umkehrphase, Resveratrole werden mit Hilfe eines UV-Detektors identifiziert und quantifiziert.

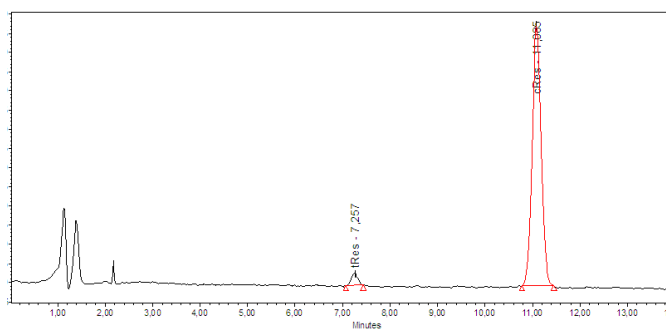


Abb. 7 Chromatogramm von cis-Resveratrol-Reinsubstanz (Retentionszeit 11 min) mit geringer trans-Resveratrol-Verunreinigung (Retentionszeit 7.3 min).

Außerdem bieten wir unseren Kunden ein Gradiententrennverfahren zur Analyse von verschiedenen Stilbenen, mit denen ganze Stilbenprofile gewonnen werden können. Damit ist auch die Qualitätskontrolle von Zutaten oder das Identifizieren von unnatürlichen Addukten in bestimmten Fällen möglich.

Polyphenole gehören bei BioTeSys zu den sehr häufig nachgefragten Analyten. Wenn auch Sie Interesse an einer Polyphenolanalyse haben, sprechen Sie mit uns. Wir werden Sie gerne kompetent bei Ihrer Fragestellung beraten. Selbstverständlich behandeln wir alle Informationen, Proben- und Analysendaten mit absoluter Vertraulichkeit.