

1. Einleitung und Problemstellung

Bei vielen technologischen Prozessen wie dem Kochen, Backen, aber auch dem Trocknen und Lagern von Lebensmitteln findet eine nicht-enzymatische Bräunungsreaktion statt, die als Maillardreaktion bezeichnet wird. Sie ist von großer Bedeutung für den Geruch, Geschmack und die Farbe des Lebensmittels. Im Zuge der Maillard-Reaktion entstehen aus der Reaktion zwischen reduzierenden Zuckern und Aminosäuren bzw. Proteinen eine Vielzahl von Produkten, welche allgemein als Maillard-Reaktionsprodukte, kurz MRPs, zusammengefasst werden. Täglich werden größere Mengen an MRPs mit der Nahrung konsumiert. In den letzten Jahren mehrten sich Hinweise, dass Maillard-Reaktionsprodukte eine pharmakologische Wirksamkeit aufweisen, so dass sie zunehmend in den Blickpunkt der Wirkstoffforschung gelangten. Jedoch kamen *in vitro*- und *in vivo*-Studien häufig zu widersprüchlichen Ergebnissen. Bei der Maillard-Reaktion entstehen komplexe Gemische, deren Zusammensetzung stark abhängig ist von zahlreichen Faktoren wie dem Wassergehalt, der Temperatur, der Zeitdauer des Erhitzens, dem pH-Wert, sowie der Art der verwendeten Aminosäure und des Zuckers. Daher entwickelte die *europäische Zusammenarbeit auf dem Gebiet der wissenschaftlichen und technischen Forschung* (COST) 1999 eine standardisierte Vorschrift zur Herstellung von Maillard-Reaktionsprodukten, um Einflüsse unterschiedlicher Herstellungsmethoden auf Forschungsergebnisse zu reduzieren und damit eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Parallel dazu wurden fünf Arbeitsgruppen gegründet, die sich im einzelnen mit der Strukturaufklärung von MRPs sowie der Funktion von MRPs in Lebensmitteln und im menschlichen Organismus befassen sollten. Es zeigte sich, dass mindestens 30 % der mit der Nahrung aufgenommen niedermolekularen MRPs resorbiert werden. *In vitro*- und *in vivo*-Studien schrieben den MRPs sowohl antioxidative, chemopräventive als auch probiotische Eigenschaften zu. Frühere Publikationen ermittelten bei einzelnen MRPs, vor allem bei heterozyklischen aromatischen Aminen, gesundheitsschädliche Effekte wie Mutagenität und Kanzerogenität. Neuere Untersuchungen weisen den MRPs verglichen mit bekannten Mutagenen allerdings nur schwache bis vernachlässigbare mutagene und genotoxische Effekte zu. In einigen Fällen ließen sich sogar Hinweise auf antimutagene Effekte von MRPs finden.

Im menschlichen Körper findet die Maillard-Reaktion, wenn auch stark verlangsamt, ebenfalls *in vivo* statt. An der *in vivo*-Bildung von MRPs wird ebenfalls großes Interesse gezeigt, seit eine Relation zwischen einem gehäuften Vorkommen von MRPs und dem Fortschreiten von Diabetes und Alterungsprozessen vermutet wird. Intra- und intermolekulare

Quervernetzungen von langlebigen Proteinen führen zu den sogenannten „Advanced Glycation Endproducts“ (AGEs). Die vernetzten Proteine können teilweise nicht mehr abgebaut werden, akkumulieren daher in Geweben und können zur Gewebedegeneration beitragen. Darüber hinaus üben MRPs Einfluss auf Enzymaktivitäten aus. Die Maillard-Reaktion findet bevorzugt an Lysin- und Arginin-Resten statt. Da diese Aminosäurereste häufig im Aktivitätszentrum von Enzymen eine Rolle spielen, kommt es dadurch zu veränderten Enzymaktivitäten. Mehrere *in vitro*- und *in vivo*-Studien belegen eine Aktivitätssteigerung chemopräventiver Enzyme wie der Glutathion-S-Transferase (GST) und der NADPH-Cytochrom-C-Reduktase (CCR) durch Modell- und Nahrungs-MRPs. Eine *in vivo*-Studie zeigte überdies einen Zusammenhang zwischen dem Trinken von Espresso und erhöhten Konzentrationen von Glutathion im Blutplasma.

Bis heute existiert kein Wissen darüber, ob MRPs ebenfalls die Fähigkeit besitzen, die Aktivität von Transportern zu beeinflussen. Ein Transporter von besonderem Interesse ist das P-Glykoprotein (P-gp), ein Effluxtransporter, welcher die Bioverfügbarkeit von Xenobiotica und Arzneistoffen limitiert und für die Ausschleusung der Metabolite zuständig ist. P-gp stellt zudem ein Schutzmechanismus der Zelle vor Toxinen dar, die mit der Nahrung aufgenommen werden. Die Strukturen vieler MRPs sind noch nicht aufgeklärt, da im Zuge der Maillard-Reaktion komplexe MRP-Gemische entstehen und eine Aufklärung der Strukturen dadurch erschwert wird. Die Endprodukte der Maillard-Reaktion, die als Melanoidine bezeichnet werden, stellen braun gefärbte Verbindungen mit einem Molekulargewicht zwischen 1000 Da bis 100000 Da dar. Neben elementaren Strukturelementen wie –CHON- enthalten Melanoidine ein Stickstoffatom z.B. in Form von Pyrolen oder Indolen. Zu den charakteristischen Strukturmerkmalen von P-gp-Substraten oder P-gp-Modulatoren zählen Lipophilie, Planarität, Molekulargewichte von 250- 2000 Da und ein Stickstoffatom. In der Regel liegt dieses Stickstoffatom als positiv geladenes tertiäres Stickstoffatom vor. Melanoidine sind jedoch häufig negativ geladen. Unter den P-gp-Substraten gibt es jedoch auch Ausnahmen. So stellt Methotrexat trotz seiner Hydrophilie und negativen Ladung ein P-gp-Substrat dar. Selbst das Stickstoffatom an sich ist für eine Wechselwirkung mit P-gp nicht zwingend notwendig. Zum Beispiel üben Flavonoide und Tenside trotz fehlendem Stickstoffatom einen hemmenden Effekt auf die P-gp-Aktivität aus. Das Immunsuppressivum Cyclosporin A ist ein zyklisches Peptid aus 11 Aminosäuren. Auch hier findet sich kein tertiäres Stickstoffatom. Stattdessen sind mehrere Amidbindungen, wie bei den Melanoidinen vorhanden. Trotzdem gehört Cyclosporin A zu den P-gp-Inhibitoren. Generell weist der Effluxtransporter ein sehr breites Spektrum an Substraten unterschiedlicher Struktur auf. P-gp

liegt unter anderem an der Darmschleimhaut als Effluxtransporter vor. Da MRPs auf transzellulärem Wege die Darmschleimhaut passieren, wäre eine Interaktion mit dem P-gp durchaus denkbar.

Induktive Effekte bezüglich der P-gp-Expression sind ebenfalls möglich, wobei diese erst nach längerer bzw. wiederholter Exposition zu erwarten sind. Nach Aufnahme in die Zelle können sich MRPs im Sinne der Maillard-Reaktion weiter umsetzen oder mit vorhandenen Zellproteinen und Zuckern weiterreagieren und so zu einer veränderten P-gp-Aktivität oder P-gp-Expression beitragen. Ferner ist nicht ausgeschlossen, dass MRPs als Liganden von Transkriptionsfaktoren die P-gp-Expression beeinflussen können.

Schwerpunkte dieser Arbeit sollen die Synthese verschiedener Modell-MRPs nach der Vorschrift der COST darstellen. Dabei sollen in Abhängigkeit der verwendeten Zucker bzw. Aminosäuren induzierende und hemmende Eigenschaften im Zusammenhang mit dem Effluxtransporter P-Glykoprotein untersucht werden. Da MRPs *in vivo* über die Darmschleimhaut resorbiert werden, wurden als *in vitro*-Zellmodelle die humanen Kolonkarzinomzelllinien Caco-2 und LS180 ausgewählt. Caco-2-Zellen verfügen bereits konstitutiv über das P-Glykoprotein, während bei LS180-Zellen P-gp erst nach Induktion der Proteinbiosynthese vorliegt. Durch Verwendung beider Zelllinien können so Rückschlüsse gezogen werden, ob eine Inhibition oder eine Induktion seitens der MRPs stattgefunden hat.

Der zweite Teil der Arbeit widmet sich den Salzen kurzkettiger Fettsäuren. Schwer verdauliche Nahrung wird im Dickdarm einem bakteriellen Abbau unterworfen, bei dem als Hauptprodukte kurzkettige Fettsäuren entstehen. Dem Na-Butyrat als Salz der C₄-Fettsäure werden Effekte auf Zellteilung, Differenzierung und programmierten Zelltod (Apoptose) nachgesagt. Eine Induktion der P-Glykoprotein-Expression infolge einer Butyrat-Inkubation konnte in zahlreichen Publikationen nachgewiesen werden. Inwiefern die Natriumsalze der Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Isobuttersäure, Valerian- und Isovaleriansäure sowie Capronsäure Einfluss auf die Aktivität von P-Glykoprotein nehmen, sollte als zweiter Themenbereich untersucht werden.