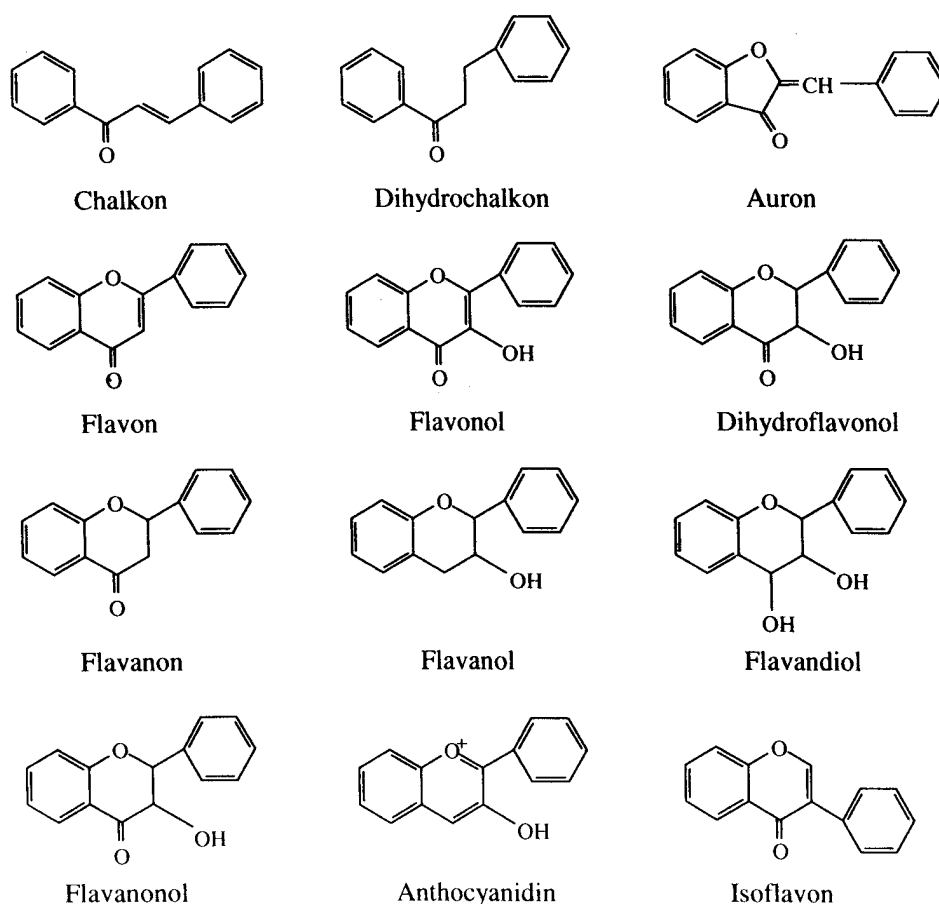


## 2 Literatur

### 2.1 Struktur, Biosynthese und Vorkommen von Flavonoiden

Flavonoide sind polyphenolische Verbindungen, die in höheren Pflanzen als sog. sekundäre Metabolite synthetisiert werden. Das charakteristische chemische Grundgerüst der Flavonoide ist ein Flavan-Kern. Dieser setzt sich aus zwei Benzolringen (A und B) sowie einem heterozyklischen Ring (C) zusammen, so dass ein 2-Phenyl-Benzo- $\gamma$ -Pyran-Ringsystem entsteht. Hiervon leiten sich die Untergruppen der Flavonoide ab, die anhand der Oxidation am zentralen Ring des Flavan-Kernes unterschieden werden. Üblicherweise erfolgt die Einteilung der Flavonoide in die Gruppen der Flavone, Flavonole, Dihydroflavonole, Flavanone, Flavanole, Flavandiole, Flavanonole, Anthocyanidine, Isoflavone, Neoflavane, Biflavonoide, Proanthocyanidine, Catechine, Chalkone, Dihydrochalkone und Aurone (Abbildung 1).

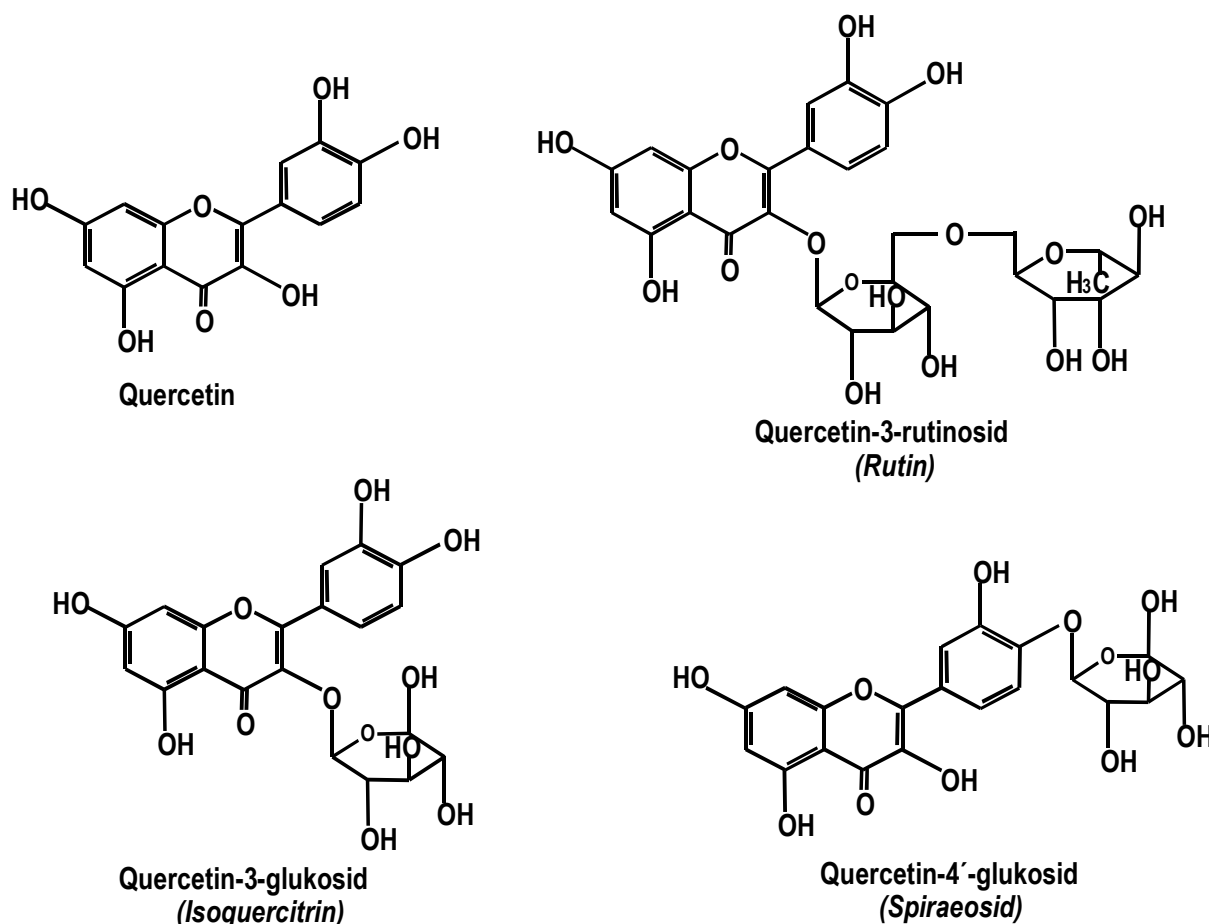


**Abbildung 1: Strukturmerkmale ausgewählter Flavonoid-Unterklassen (Aglyka)**  
(nach Bors et al. 1992, Agullo et al. 1996, Bravo 1998, Berhow und Vaughn 1999)

Innerhalb der jeweiligen Gruppe können Substitutionen funktioneller Gruppen an verschiedenen Positionen des Grundgerüsts (v. a. am A- und B-Ring) stattfinden, wobei Hydroxylierungen und/oder Methylierungen die wichtigsten Modifikationen darstellen. Zudem wird das Spektrum möglicher Derivate v. a. durch die Verbindung mit Zuckern (Glykosilierung), Sulfat- oder Acetylresten vergrößert, so dass bislang über 4000 verschiedene natürliche Flavonoide bekannt sind (Kühnau 1976).

Die Flavonoid-Untergruppe der Flavonole (3-Hydroxy-Flavone) ist durch eine OH-Gruppe am Kohlenstoffatom 3, eine Doppelbindung zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> am Ring C sowie eine Oxogruppe am C<sub>4</sub>-Atom gekennzeichnet. Das Pentahydroxy-Flavon Quercetin, eines der wichtigsten Vertreter der Flavonole, weist an den C-Atomen 3, 7, 3' und 4' weitere Hydroxylgruppen auf (Abbildung 2).

Wie alle Flavonoide liegen auch Flavonole in der Pflanze allerdings fast ausschließlich als Glykoside vor (Herrmann 1990), wobei Mono-, Di- oder auch Oligosaccharide meist  $\beta$ -glykosidisch an das als Aglykon bezeichnete Flavonoidmolekül gebunden sind (Kühnau 1976). Die Glykosilierung erhöht die Löslichkeit der Flavonoide im Pflanzensaft sowie deren Stabilität gegenüber Licht und enzymatischen Abbauvorgängen (Salunkhe et al. 1990). Im Allgemeinen stellen die Quercetin-Glykoside die größte Fraktion der in Pflanzen vorkommenden Flavonoide (Hertog et al. 1993a, Price und Rhodes 1997). In Abbildung 2 ist die chemische Struktur des Aglykons Quercetin, des Quercetin-Glykosids Rutin, das durch eine  $\beta$ -glykosidische Bindung mit dem Disaccharid Rutinose charakterisiert ist und der Quercetin-Glukoside Isoquercitrin und Spiraeosid, bei denen Glukose über eine  $\beta$ -glykosidische Bindung am 3 bzw. 4'-Kohlenstoffatom gebunden ist, dargestellt.



**Abbildung 2:** Chemische Struktur von Quercetin, Rutin, Isoquercitrin und Spiraeosid

In der Pflanze werden der B- und der C-Ring des Flavonoid-Grundgerüsts aus der aromatischen Aminosäure Phenylalanin synthetisiert (Fahey und Jung 1989, Formica und Regelson 1995, Shirley 1996), die aus Erythrose-4-Phosphat aus dem Pentosephosphatzyklus und aus Phosphoenolpyruvat (PEP) aus der Glykolyse als Endprodukt des sog. Shikimisäure-Weges gebildet wird (Salunkhe et al. 1990). Aus dem Phenylalanin entstehen die monomeren Phenolsäuren Zimt- und Cumarsäure (Salunkhe et al. 1990). Die so entstandenen Phenylpropanoide werden in der Pflanze gespeichert und v. a. an Zellwandpolysaccharide der Hemicellulose oder an das sog. Kernlignin gebunden (Oestemann et al. 1995, Bravo 1998). Die Bildung des A-Ringes erfolgt durch Kondensation von 3 Molekülen Acetyl-CoA. Durch die Verbindung mit den zuvor erwähnten Zimtsäuren entsteht so das Chalkon-Molekül, das als Ausgangssubstanz für die Synthese aller weiterer Flavonoide dient. Durch

anschließende Zyklisierung und weitere Hydratisierung, Reduktion, Oxidation, Hydroxylierung und O-Methylierung entstehen die oben erwähnten Flavonoid-Gruppen (Formica und Regelson 1995).

Die Synthese der Flavonoide ist lichtabhängig. Infolgedessen finden sich die höchsten Konzentrationen hauptsächlich in der Epidermis der Blattoberseiten und der Schale von Früchten (Hertog 1996). Aus diesem Grund sind die Flavonoidgehalte in kleinen Früchten oder dünnen Blättern aufgrund der relativ größeren Oberfläche bedeutend höher als in großen Früchten oder dicken Blättern (Herrmann 1988). Eine Ausnahme bildet die Speisezwiebel, in der Flavonoide, v. a. Quercetin-Glukoside, gleichmäßig verteilt vorkommen (Price und Rhodes 1997). Innerhalb einer Pflanzenart wird eine starke Variation der Flavonoidkonzentration in Abhängigkeit von der Sorte, des Standortes (Lichtintensität), des Reifegrades und der Behandlungs- und Lagerbedingungen beobachtet (Duthie et al. 2000). So liegt beispielsweise der Quercetiningehalt von Cherry-Tomaten bei nahezu 30 mg/kg verglichen mit etwa 5 mg/kg Frischsubstanz bei Tomaten „normaler“ Größe und der Gehalt an Flavonolen in diversen Salatsorten schwankt zwischen 10 - 900 mg/kg Frischsubstanz (Duthie et al. 2000). Lagerung und Verarbeitung von Nahrungsmitteln pflanzlichen Ursprungs haben einen nicht zu vernachlässigen Einfluss auf deren Flavonoidgehalt. Beispielsweise reduziert das Trocknen von Zwiebeln deren Quercetin-Glukosidgehalt um etwa 50 %, während durch Kochen oder Einfrieren Verluste von jeweils 25 % zu verzeichnen sind (Price et al. 1997). Im Allgemeinen weisen einer Verarbeitung unterzogene Nahrungsmittel weitaus niedrigere Flavonoidkonzentrationen auf als frische Produkte (Hollman et al. 2000). Traditionelle Heil- und Gewürzpflanzen, wie z. B. Arnika, Gemeine Ringelblume, Ginkgo, Kamille, Knoblauch, Rotklee und Echte Pfefferminze haben von Natur aus hohe Flavonoidgehalte. Doch auch viele Obst- und Gemüsearten sowie Rotwein und grüner Tee weisen beachtliche Konzentrationen an Flavonoiden auf (Andlauer und Fürst 1998, Frankel et al. 1993). Tabelle 1 zeigt eine Auflistung der Flavonoidgehalte ausgewählter Nahrungsmittel pflanzlichen Ursprungs (Hollman et al. 2000).

**Tabelle 1: Durchschnittliche Flavonoidgehalte verschiedener Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs**

Gefundene Aglykons nach Hydrolyse der Glykoside:

Quercetin (3, 5, 7, 3', 4'-Pentahydroxyflavon),

Kaempferol (3, 5, 7, 4'-Tetrahydroxyflavon),

Myricetin (3, 5, 7, 3', 4', 5'-Hexahydroxyflavon)

Lebensmittel	Flavonoid	Gehalt <sup>1)</sup>
Äpfel	Quercetin	20-36
Aprikose	Quercetin	25-26
Broccoli	Quercetin	30-37
	Kaempferol	60-72
Johannisbeere		
-schwarz	Quercetin	37
-rot	Kaempferol	1
	Quercetin	8-13
Kohl		
-grün	-	-
-rot	Quercetin	4,6
-weiß	-	-
Orangensaft	Quercetin	5,7
Tee (schwarz)	Quercetin	14-17
	Kaempferol	14-16
	Myrecetin	3,0
Weintraube		
-rot	Quercetin	15-37
	Myrecetin	4,5
-weiß	Quercetin	2-12
	Myrecetin	4,5
-Saft (rot)	Quercetin	4,4
	Myrecetin	6,2
Zwiebel	Quercetin	340-347

<sup>1)</sup>Angaben in mg/kg Frischsubstanz bzw. mg/l, nur essbare Anteile wurden berücksichtigt

## 2.2 Eigenschaften und Wirkungen von Flavonoiden

In Pflanzen erfüllen Flavonoide eine Vielzahl wichtiger Funktionen. In den dem Sonnenlicht exponierten, Photosynthese betreibenden Zellen der Pflanze spielen sie eine Schlüsselrolle bei der Katalyse der Elektronentransportvorgänge während der Photosynthese (Das 1994), was sich, wie zuvor bereits erwähnt, in einer Kumulation von Flavonoiden in den äußeren, dem Sonnenlicht ausgesetzten Pflanzenbereichen widerspiegelt. Aufgrund ihrer antioxidativen Eigenschaften (näheres s. u.) fungieren diese Polyphenole dort ebenfalls als Schutz vor Schädigung durch intensive UV-Strahlung (Berhow und Vaughn 1999). Als sekundäre Metaboliten sind v. a. die Anthocyanidine maßgeblich an der Färbung von Früchten, des Herbstlaubes und der Blütenblätter beteiligt (Shirley 1996). Weiterhin kontrollieren sie den Gehalt an Auxinen (Phytohormone) und regulieren somit Wachstums- und Differenzierungsvorgänge in der Pflanze (Formica und Regelson 1995). Als Teil des chemischen Pflanzenabwehrsystems dienen Flavonoide als Bitterstoffe und Adstringentien und wirken somit gegen einige Pflanzenschädlingen als Fraßhemmer (Harborne 1976). Des Weiteren üben sie aufgrund antibakterieller, antifungaler und antiviraler Wirkung eine Schutzfunktion aus. Pflanzen der Gattung der Leguminosen sondern Flavonoide über die Wurzeln ab, wodurch ein stimulierender Effekt auf symbiotische, stickstoffassimilierende Bakterien ausgeübt wird, die daraufhin sog. Nodulationsfaktoren bilden. Durch diese Faktoren angeregt, reagieren die Wurzeln mit der Ausbildung der sog. Knöllchen (Shirley 1996, Kneer 1999).

Eine Vielzahl von *in vitro* - Studien weisen auf zahlreiche biologische Wirkungen von in Pflanzen vorkommenden Flavonoiden im Säugetierorganismus hin. Bereits im Jahr 1936 fanden Szent-Györgyi, dass eine Mischung der Flavanone Hesperidin und Eriodictyol zur Abnahme der Kapillarpermeabilität und -fragilität führt (Fragner 1964). In Anlehnung an diese Eigenschaft schlug er für diese Stoffe die Bezeichnung Vitamin P vor. Die Zuordnung zu den Vitaminen konnte jedoch nicht aufrecht erhalten werden. Unter den verschiedenen Flavonoiden gilt den Flavonolen und daher v. a. dem Quercetin besonderes Interesse in Bezug auf potentielle Wirkungen im Organismus. Die chemische Struktur der Flavonole verleiht ihnen die Eigenschaft, direkt antioxidativ wirksam zu sein (Radikalfänger). Aufgrund der Delokalisation der Elektronen sind Flavonoide in der Lage, mit Sauerstoffradikalen unter Bildung stabilisierter, weniger reaktiver Phenoxyradikale zu reagieren. Die

dafür notwendigen strukturellen Voraussetzungen sind v. a. eine Doppelbindung zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub> sowie Hydroxylgruppen an C<sub>3</sub> und C<sub>5</sub> des Ringsystems (van Acker et al. 1996, Roginsky et al. 1996, Rice-Evans et al. 1995). Zudem gibt es Hinweise, dass der Drehwinkel zwischen Ring B und dem Rest des Moleküls einen Einfluss auf die Radikal-abfangende Wirkung zu haben scheint. Eine flache räumliche Anordnung des Winkels steigert die Reaktivität des Moleküls. So führt die Bindung eines Zuckerrestes an das Aglykon im Falle des Quercetins zu einer stärkeren Abwinkelung und dem Verlust der antioxidativen Wirkung (van Acker et al. 1996a). Neben einer direkten antioxidativen Wirkung besitzen Flavonole die Fähigkeit, freie zweiwertige Kationen (Cu<sup>2+</sup>- oder Fe<sup>3+</sup>-Ionen) zu komplexieren (Afanas'ev et al. 1989, Ferrali et al. 1997), die entweder an sich pro-oxidativ wirken oder oxidative Prozesse katalysieren bzw. auslösen können (Fenton-Reaktion). Für diese, auf der Bildung von Chelatkomplexen mit Metallionen beruhende antioxidative Eigenschaft, fanden Ferrali et al. (1997) ebenfalls eine Struktur-Wirkungsbeziehung. Danach muss am C-Ring sowohl eine Hydroxylgruppe am C<sub>3</sub> als auch eine Carboxylgruppe am C<sub>4</sub> vorhanden sein. Des Weiteren beeinflussen Flavonole die Aktivität zahlreicher Enzyme, so z. B. der Laktatdehydrogenase, der Aldose-Reduktase, der Pyruvatkinase, der Proteinkinase C, der Protein-Tyrosinkinase, der Phospholipase A<sub>2</sub>, der RNA- und DNA-Polymerasen und der Cytochrom-P-450-Oxidoreductasen. Middleton und Kandaswami (1994) listeten insgesamt 24 Enzyme bzw. Enzymsysteme auf, die *in vitro* durch Flavonoide in ihrer Aktivität beeinflusst werden. Diese Enzyme nehmen zum Teil Schlüsselpositionen bei der Zellteilung, im Energiestoffwechsel, in Signalkaskaden und Entgiftungsreaktionen der Zelle ein. Aufgrund des breiten Wirkungspotentials wird eine mögliche Wirkung insbesondere durch die antioxidative Eigenschaft von Flavonolen und anderen Flavonoiden auf das Herz-Kreislauf- bzw. Blutgefäßsystem abgeleitet. Eine Vielzahl von *in vitro*-Studien belegen z. B. eine Hemmung der durch Kupfer katalysierten Oxidation von Low-Density-Lipoproteinen (LDL) (de Whalley et al. 1990, Aviram und Fuhrmann 1998). Nach dem heutigen Kenntnisstand spielt die Oxidation dieser Lipoproteinfraktion bei der Genese arteriosklerotischer Veränderungen eine Schlüsselrolle (Steinberg 1990, Guyton 1995). In jüngerer Zeit führten auch Befunde über mögliche antikanzinogene Eigenschaften zu einem verstärkten Interesse an pflanzlichen Polyphenolen. So konnte beispielsweise eine antiproliferative Wirkung von Quercetin auf transformierte Dickdarmepithelzellen (Ranelletti et al. 1992, Agullo

et al. 1996, Kuo 1996) und Leukämiezellen (Uddin und Choudhry 1995) gezeigt werden. Bezüglich der Wirkungsweise wird vermutet, dass Flavonoide durch ihre antioxidativen und enzymmodulierenden Eigenschaften sowie durch Interaktion an spezifischen Rezeptorbindungsstellen in den Mechanismus der Tumorinduktion bzw. Zellproliferation eingreifen. Eine andere Möglichkeit der Hemmung des Wachstums von Tumoren könnte in der Fähigkeit einiger Flavonoide liegen, die Entwicklung von Blutgefäßen zu unterdrücken (Angiogenese-Hemmung), so dass die Nährstoffversorgung von Tumoren beeinträchtigt wird (Fotsis et al. 1998). Für einige Flavonoide wurden auch, zumindest *in vitro*, antivirale Aktivitäten gegenüber unterschiedlichen Virustypen nachgewiesen. Als wirksam zeigten sich dabei einzig Aglykone mit einer Hydroxylgruppe am C<sub>3</sub>. So konnte eine antivirale Wirkung beispielsweise gegen Rhinoviren, Polioviren, Herpesviren oder Parainfluenzaviren nachgewiesen werden (Middleton und Kandaswami 1994). Im Zusammenhang mit der Entstehung von Magen- und Darmulzera wurde über eine therapeutische Wirkung von Quercetin bei der Bekämpfung von *Helicobacter pylori*-Infektionen berichtet (Suzuki et al. 1998, Mabe et al. 1999). Des Weiteren könnten Flavonoide aufgrund ihrer antiinflammatorischen Wirkung chronisch entzündliche Prozesse der Darmschleimhaut (z. B. Morbus Crohn) positiv beeinflussen (Ocete et al. 1998).

Flavonole scheinen aber auch physiologische Vorgänge am Gastrointestinaltrakt zu beeinflussen. So konnten Nguyen et al. (1991) an kultivierten humanen Colonkarzinomzellen eine durch cAMP- (zyklisches Adenosin-Monophosphat) vermittelte Cl<sup>-</sup>-Sekretion nachweisen. Auch Cermak et al. (1998, 2000) fanden am nativen Colonepithel der Ratte einen pro-sekretorischen Effekt von Quercetin. Allerdings deuten ihre Befunde im Unterschied zu den Ergebnissen von Nguyen et al. (1991) auf einen Ca<sup>2+</sup>-vermittelten Mechanismus und damit auf eine unterschiedliche zelluläre Signaltransduktion im nativen Colongewebe im Vergleich zu Zellkulturen hin.

Großes medizinisches Interesse gilt auch der Flavonoid-Untergruppe der Isoflavone. Die biologischen Effekte dieser Substanzen scheinen weniger auf antioxidativen Wirkungen, als vielmehr auf ihren östrogenen bzw. antiöstrogenen Wirkungen im Säugerorganismus zu beruhen. Diese, der Gruppe der Phytoöstrogene zugeordneten Isoflavone, gelten beispielsweise als Mitverursacher der sog.



Östrogenvergiftung bei Schafen (Behrens 1987) und bei anderen Tierarten. Isoflavone kommen u. a. im Erdklee (*Trifolium subterraneum*), im Rotklee (*Trifolium pratense*), in der Luzerne (*Medicago sativa*) und in diversen Weidegräsern vor. Bei intensiver Aufnahme phytoöstrogenhaltigen Futters kommt es zu den typischen pathologisch-anatomischen Veränderungen und Symptomen, wie Vergrößerung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen bzw. die Ausbildung einer stark sezernierenden Uterusschleimhaut mit *Endometritis cystica* sowie allgemeinen Fertilitätsstörungen. Untersuchungen von Anderson und Garner (1997) an ovariectomierten Tieren (überwiegend Ratten) konnten ferner eine knochenprotektiven Wirkung von Isoflavonen zeigen, so dass ein möglicher anti-osteoporotischer Effekt von Isoflavonen bei Frauen nach der Menopause von medizinischem Interesse ist.

Die größtenteils *in vitro* gefundenen Wirkungen rücken die Flavonoide in Hinblick auf die Möglichkeit der Prävention und Therapie sog. Zivilisationskrankheiten, wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebsleiden, in den Mittelpunkt wissenschaftlichen und im zunehmendem Maße auch des öffentlichen Interesses. Es muss aber an dieser Stelle betont werden, dass eine Übertragung dieser Erkenntnisse auf den Säugerorganismus kritisch zu bewerten ist, da nicht davon ausgegangen werden kann, dass die bei *in vitro*-Versuchen eingesetzten Konzentrationen auch unter *in vivo*-Verhältnissen erreicht werden können (Janssen et al. 1998). Somit haben Erkenntnisse über die Wirkungen der Flavonoide ihre Gültigkeit zunächst nur unter den gewählten Versuchsbedingungen. Trotzdem bleibt zu berücksichtigen, dass seit vielen Jahrhunderten Pflanzen und deren Extrakte, die nachweislich einen besonders hohen Gehalt an Flavonoiden und weiteren polyphenolischen Verbindungen aufweisen, im Bereich der traditionellen Pflanzenheilkunde eingesetzt werden. Die therapeutischen Effekte konnten aber im seltensten Fall einem speziellen Inhaltsstoff bzw. einer Wirkstoffkombination zugeschrieben werden (Li et al. 1998) und sind somit größtenteils ausschließlich empirischer Natur.

### **2.2.1 Epidemiologische Studien zum Präventionspotential von Flavonoiden**

In der Vergangenheit wurden eine Vielzahl von epidemiologischen Studien zur Frage nach Zusammenhängen zwischen der Aufnahme von Flavonoiden bzw. anderen phenolischen Verbindungen und dem Auftreten von sog. „Free Radical Diseases“, wie arteriosklerotische Erkrankungen und bestimmte Tumorformen, durchgeführt. Es ist seit langem bekannt, dass Nahrungsmittel pflanzlichen Ursprungs einen hohen Gehalt an antioxidativ wirksamen Verbindungen enthalten, die das Risiko für das Auftreten der oben genannten Erkrankungen reduzieren könnten (Block et al. 1992). Das Ergebnis einer epidemiologischen Studie zur Darstellung eines kausalen Zusammenhanges zwischen dem Vorkommen einer antioxidativ wirkenden Stoffgruppe in einem pflanzlichen Nahrungsmittel und der Entstehung bestimmter Erkrankungen sollte aber kritisch betrachtet werden, da Pflanzen eine Vielzahl von potentiell wirksamen Verbindungen enthalten, denen ebenfalls gesundheitsfördernde Eigenschaften zugesprochen werden. Somit ist es denkbar, dass jeder beliebige Pflanzeninhaltsstoff, dessen Häufigkeit mit dem Vorkommen der zu untersuchenden Substanz korreliert, fälschlicherweise als die protektive Substanz deklariert wird (Halliwell 1999). Die möglicherweise positive Wirkung der Flavonoide im Hinblick auf die Prävention von Herz-Kreislaufkrankungen wird schon seit langem durch das sog. „French Paradoxon“ beschrieben (Frankel et al. 1993). In Ländern wie Frankreich und Italien und insbesondere in den Regionen, wo relativ viel Rotwein konsumiert wird, treten trotz hohem Tabak-, Fett- und sonstigem Alkoholkonsum weniger Fälle von Artherosklerose und koronaren Herzkrankheit auf als in Ländern mit ähnlichem Konsumverhalten. Studien, die den Zusammenhang zwischen diesen Erkrankungen und anderen alkoholischen Getränken untersuchten, unterstützten die Hypothese, dass die Flavonoide des Rotweines eventuell doch die Substanzen seien, die vor arteriosklerotischen Veränderungen schützen könnten, da zwischen Bier- oder Spirituosenkonsum und Herz-Kreislaufkrankungen nur geringe Korrelationen gefunden wurden (Criqui und Ringel 1994). In prospektiven epidemiologischen Studien zur Aufnahme von Flavonolen und Flavonen und dem Mortalitätsrisiko für Herzinfarkt und Schlaganfall konnte eine mehr oder weniger ausgeprägte Risikominderung durch eine erhöhte Zufuhr von Flavonoiden gezeigt werden (Hertog et al. 1993, Keli et al. 1996, Knekt et al. 1996). Nach Hollman et al. (1999) scheint kein gesicherter formaler und kausaler Zusammenhang zwischen der

Flavonidaufnahme und dem Risiko, an Krebs zu erkranken, zu bestehen. Lediglich eine von drei epidemiologischen Studien ließ ein reduziertes relatives Risiko für die Erkrankung an Lungenkrebs erkennen. Alle übrigen Studien fanden keinen Einfluss der Flavonidaufnahme auf die Entstehung einer Krebserkrankung. Ob der wesentlich höhere Konsum von Sojaprodukten der asiatischen Bevölkerung im Vergleich zu Amerikanern und Europäern für das wesentlich geringere Auftreten von Brust- und Prostatakrebs verantwortlich ist, bleibt unklar. Messina et al. (1994) überprüften eine Vielzahl von epidemiologischen Studien, die sich mit Soja und dessen Wirkung auf hormonabhängige Tumoren befassten. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass keine definitive Aussage über einen protektiven Effekt von Soja möglich sei.

### **2.3 Aufnahme und intestinale Absorption von Flavonoiden**

Die Literaturangaben bezüglich der täglichen Gesamtaufnahme von Flavonoiden sind recht uneinheitlich. Kühnau (1976) schätzte die in den USA mit der Nahrung aufgenommenen Mengen an Flavonoid-Glykosiden auf etwa 1000 mg pro Tag. Der Anteil an Flavonolen und Flavonen, berechnet als Aglykon, betrug dabei etwa 160 mg. Aufgrund unzureichender Analyseverfahren und Einbeziehung der nicht essbaren Anteile der pflanzlichen Nahrung wurden diese Werte höchstwahrscheinlich überschätzt (Hollmann et al. 1996). Aus neueren Arbeiten mit verbesserten Analyseverfahren ergeben sich geringere Aufnahme von Flavonolen und Flavonen. Hertog et al. (1993) und Linseisen et al. (1997) ermittelten in einer in den Niederlanden bzw. in Bayern durchgeführten Studie eine orale Aufnahme von 26 bzw. 54 mg pro Person und Tag. Der Anteil an Quercetin betrug dabei ca. 16 bzw. 11 mg. Die Flavonoid-Zufuhr erfolgt v. a. durch Getränke wie Tee, Kaffee, Kakao, Fruchtsäfte und Wein (v. a. Rotwein). Weitere wichtige Flavonoidquellen sind Zwiebeln, Samen und Keime, Früchte (Zitrusfrüchte), Gemüse, Gewürze und Soja (Kühnau 1976).

Über die Lokalisation und den Mechanismus der Absorption von mit der Nahrung aufgenommenen Flavonoiden liegen bisher nur unzureichende bzw. sich widersprechende Daten vor. Des Weiteren besteht Unklarheit darüber, ob Flavonoide als Glykoside oder als Aglykon absorbiert werden d. h. eine Spaltung der

$\beta$ -glykosidischen Bindung durch Dickdarmbakterien oder endogene Enzymaktivität die Voraussetzung für den intestinalen Transport darstellt.

Bisher veröffentlichte Untersuchungen lassen darauf schließen, dass die Absorption von Flavonoiden in verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktes stattfinden kann.

Piskula et al. (1999) führten einen Versuch mit Ratten durch, bei dem sie den Tieren oral Isoflavon-Aglykone bzw. deren Glukoside verabreichten. Bereits nach 3 Minuten konnten konjugierte Metabolite nach oraler Aglykon-Gabe gemessen werden, die Metabolite der verabreichten Glukoside wurden dagegen erst nach 10 Minuten gefunden. Die Arbeitsgruppe schloss daraus, dass bei Ratten die Absorption von freien Isoflavonen im Magen, hingegen die der entsprechenden Glukoside erst nach einer Hydrolyse im Dünndarm erfolgte.

Mannach et al. (1997) veröffentlichten eine Studie, in der die Absorption von Quercetin mit der von Rutin, einem Quercetin-Glykosid, verglichen wurde. Auch hierbei handelte es sich um einen Fütterungsversuch mit Ratten, bei dem eine zeitlich gestaffelte Blutentnahme zur Bestimmung der Quercetin-Konjugate (Glukuronide, Sulfate) und Metabolite (Isorhamnetin und Tamarixetin) im Plasma durchgeführt wurde. Bei der Versuchsgruppe, die einmalig mit einer Quercetin-haltigen Diät gefüttert wurden, erschienen die Konjugate und Metabolite des Quercetins bereits nach 2 h im Plasma, also bevor größere Mengen des aufgenommenen Quercetins das Caecum erreichen konnte. Demgegenüber erfolgte der Anstieg der Quercetin-Konjugate im Plasma nach Aufnahme von Rutin deutlich später (nach etwa 4 h), wobei diese Verzögerung durch eine im Caecum stattfindende mikrobielle Spaltung des Quercetin-Glykosids mit anschließender Absorption des Aglykons erklärt wurde. Die Versuchsergebnisse deuten darauf hin, dass Quercetin im Gegensatz zu Rutin im Dünndarm absorbiert wird. Die Absorption von Rutin und demnach die auch anderer Flavonoid-Glykoside findet vermutlich im Dickdarm-Bereich statt, wobei eine vorherige mikrobielle Hydrolyse Voraussetzung für die intestinale Aufnahme zu sein scheint.

Im Widerspruch zu diesen Schlussfolgerungen stehen die Untersuchungen von Hollmann et al. (1995) mit ileostomierten Menschen. Diese Autoren zeigten, dass sowohl Quercetin als auch dessen Glykoside noch vor dem Ileum absorbiert wurden

und somit eine mikrobielle Deglykosilierung im Dickdarm für die Absorption von Quercetin-Glykosiden keine zwingende Voraussetzung darstellte. Bei dieser Studie nahmen die Probanden gedünstete Zwiebel (hoher Gehalt an Quercetin-Glukosiden) bzw. eine Quercetin- oder Rutin-angereicherte Diät auf. Die intestinale Absorption von Quercetin wurde aus der Differenz der oralen Aufnahme und der Ausscheidung in die Ileostomiebeutel unter Einbeziehung einer zuvor ermittelten „spontanen“ Degradation der Versuchssubstanzen im Beutellumen berechnet. Danach wurde Quercetin aus Quercetin-Glukosiden (Zwiebeln) besser, aus Rutin dagegen schlechter als das freie Aglykon Quercetin absorbiert. Allerdings müssen die potentiell veränderten mikrobiellen Verhältnisse im Dünndarm der Ileostomiepatienten im Vergleich zu gesunden Personen bedacht werden. Es kann in dieser Studie nicht ausgeschlossen werden, dass Flavonoid-Glykoside bereits im mikrobiell besiedelten Dünndarm bakteriell hydrolysiert wurden.

Neben den Fragen nach der Lokalisation der Absorption (Magen, Dünndarm, Dickdarm) von mit der Nahrung aufgenommenen Flavonoiden, bleibt die Frage offen, ob Flavonoide intakt als Glykoside oder als Aglykon absorbiert werden.

Untersuchung von Aziz et al. (1998) weisen darauf hin, dass Flavonoide zumindest teilweise intakt absorbiert werden können. In dieser Studie konnten nach Aufnahme von gedünsteten Zwiebeln sowohl im Blutplasma als auch im Urin der Versuchspersonen u. a. die in der verabreichten Diät enthaltenen Quercetin-Glukoside in unveränderter Form nachgewiesen werden. Dass zumindest bestimmte Flavonoid-Glykoside teilweise in intakter Form die Darmwand passieren können, zeigte auch eine Untersuchung von Spencer et al. (1999). Nach Perfusion des Jejunums und Ileums von Ratten konnte u. a. gezeigt werden, dass Quercetin-3-Glukosid und Rutin nicht wie einige andere Flavon- und Flavonol-Glukoside während ihrer Passage in das serosale Kompartiment einer Glukuronidierung bzw. Metabolisierung unterzogen wurden, sondern größtenteils intakt absorbiert wurden. Tsuda et al. (1999) fanden in Plasmaproben von Ratten, denen Cyanidin-Glukosid mit einer Magensonde zugeführt wurde, intaktes Glukosid, während das Aglykon nicht gefunden wurde, obgleich es im Lumen des Darmes vorhanden war.

Hingegen deuten Untersuchungen von Shimoi et al. (1998) an umgestülpten Darmsäckchen der Ratte darauf hin, dass eine intestinale Absorption intakter

Glukoside nicht stattfindet. Es zeigte sich, dass Luteolin (Aglykon) während der Passage durch die Mukosazellen in das serosale Kompartiment einer Konjugation mit Glukuronsäure unterzogen wurde und eine Absorption von Luteolin-7-O- $\beta$ -Glukosid (3', 4', 5, 7-Tetrahydroxyflavon) erst nach einer Hydrolyse der  $\beta$ -glykosidischen Bindung stattfand. Zudem ergaben Versuche mit Ratten, denen radioaktiv markiertes Quercetin oral appliziert wurde, eine intensive intestinale Resorption des Aglykons. Annähernd 20 % des zugeführten Quercetins wurden nach Extraktion der Gallenflüssigkeit und des Urins wiedergefunden (Ueno et al. 1983). Untersuchungen von Izumi et al. (2000) ergaben ähnliche Ergebnisse. Die Arbeitsgruppe untersuchte die Absorption der in der Sojabohne vorkommenden Isoflavone sowie deren Glukoside Genistin und Daidzin bei weiblichen und männlichen Probanden. Nach Aufnahme der Aglyka konnten im Blutplasma mehr als 5-fach höhere Isoflavon-Konzentrationen gemessen werden als nach Aufnahme der gleichen Menge ihrer Glukoside. Piskula et al. (1999) kamen bei Studien an Ratten, denen ebenfalls Genistein und Daidzein sowie deren Glukoside oral appliziert wurden, zu der selben Schlussfolgerung. Untersuchungen zum Transport von Quercetin und dessen Glukosiden wurden von Walgren et al. (1998) mit Caco-2-Zellen (colonic adenocarcinoma cells) durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass Quercetin im Gegensatz zu Quercetin-4'-Glukosid bzw. Quercetin-3, 4'-Diglukosid von apikal nach basal transportiert wurde. Zusammenfassend spricht die Mehrzahl der bisher veröffentlichten Untersuchungen für eine bevorzugte intestinale Absorption von Flavonoid-Aglyka gegenüber Flavonoid-Glykosiden (Heilmann und Merfort 1998, 1998a).

Bezüglich des intestinalen Transportmechanismus von Flavonoiden wird die Möglichkeit diskutiert, dass Flavonoid-Glukoside über den in der Bürstensaummembran des Dünndarmes lokalisierten Na<sup>+</sup>/Glukose-Cotransporter (SGLT1) in die Mukosazelle transportiert werden. Kimmich und Randles (1978) zeigten für eine ganze Reihe von Flavonoiden aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit mit den etablierten spezifischen Glukose-Carrier-Inhibitoren Phloretin bzw. Phlorizin eine Interaktion mit dem Na<sup>+</sup>-unabhängigen, basolateral lokalisierten Glukosetransporter (GLUT2). Die Arbeitsgruppe führte die Versuche an isolierten Dünndarm-Mukosazellen von 6 - 7 Wochen alten Hühnern durch, wobei die Aktivität des passiven basolateralen Glukose-Transportsystems durch Messung des

unidirektionalen Transportes von  $^{14}\text{C}$ -3-O-Methylglukose in die Mukosazellen bestimmt wurde. Bestimmte Flavonoid-Glykoside, die als Phlorizin-Analoga betrachtet werden können, hemmten ebenfalls dieses  $\text{Na}^+$ -unabhängige Transportsystem, jedoch nicht so potent, wie die korrespondierenden Aglyka. Nur für das Apigenin-7-Glukosid (5, 7, 4'-Hydroxy-Flavon-7-Glukosid) konnte zudem eine Interaktion mit dem  $\text{Na}^+$ -abhängigen Transportsystem gezeigt werden. Zusammenfassend wurde festgestellt, dass die Substanzen, die bezüglich ihrer chemischen Struktur dem Phloretin am nächsten standen, den stärksten inhibitorischen Effekt auf den GLUT2 hatten.

Hollman et al. (1995) vertraten die Ansicht, dass die im Vergleich zu Quercetin bzw. Rutin in einer Versuchsreihe mit ileostomierten Patienten ermittelte wesentlich höhere Absorption von Quercetin aus Zwiebeln, die vornehmlich Quercetin-Glukoside enthalten, auf eine Beteiligung des SGLT1 an dem intestinalen Transport von Quercetin-Glukosiden zurückzuführen sein könnte. In Untersuchungen an umgestülpten Darmsäckchen aus dem Jejunum von Ratten konnten Gee et al. (1998) eine Beschleunigung des  $\text{Na}^+$ -abhängigen Carrier-vermittelten Effluxes von  $^{14}\text{C}$ -Galaktose über den in der Bürstensaummembran befindlichen Glukose/Galaktose-Transporter der Mukosazellen durch Zugabe von Quercetin-Glukoside in das Inkubationsmedium nachweisen (transstimulierter Efflux von Galaktose). Die Arbeitsgruppe deutete dieses Ergebnis als einen Hinweis auf die Beteiligung des SGLT1 am intestinalen Transport von Quercetin-Glukosiden. Einen weiteren Hinweis, dass der Transport von Flavonoid-Glukosiden über den SGLT1 prinzipiell möglich sein könnte, liefert eine Arbeit von Mizuma et al. (1994). Mit der Methode der umgestülpten Darmsäckchen aus Rattenjejunum wurde die anomerische Präferenz der  $\text{Na}^+$ -abhängigen intestinalen Absorption von Glukosiden und Galaktosiden untersucht. Als Testsubstanzen wurden  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere von 1- und 2-Naphthyl-Glykosiden eingesetzt. Demnach waren  $\beta$ -Glukose-Konjugate die besten Substrate für den intestinalen Glukose-Carrier, denn es wurde ein bevorzugter Transport von  $\beta$ -Anomeren gegenüber  $\alpha$ -Anomeren und Glukosiden gegenüber Galaktosiden festgestellt. Walgren et al. (2000a) konnten kürzlich im Gegensatz zu den zitierten indirekten Befunden bezüglich einer Beteiligung des SGLT1 an der Absorption von Flavonoid-Glykosiden erstmals direkt den Transport von Quercetin-4'-Glukosid über diesen Carrier nachweisen. Als Zellmodell wurden

humane Caco-2-Zellen und stabil mit SGLT1 transfizierte Ovar-Zellen des chinesischen Hamsters (G6D3-Zellen) verwendet.

Im scheinbaren Gegensatz zu der Hypothese einer Beteiligung des SGLT1 an der intestinalen Absorption von Flavonoiden stehen die Studien von Walgren et al. (1998) und Walle et al. (1999), die sich mit Untersuchungen zum Transport von Quercetin und Quercetin-Glukosiden bzw. von Genistein und Genistein-7-Glukosid (4', 5, 7,-Trihydroxisoflavon-7-Glukosid) an Caco-2-Zellen befassten. Beide Arbeitsgruppen zeigten, dass die eingesetzten Glukoside durch Caco-2-Zell-Monolayer von apikal nach basolateral nur in geringen Mengen bzw. gar nicht transportiert wurden, während ein Transport in die entgegengesetzte Richtung vom basolateralen in das apikale Kompartiment (Efflux) stets beobachtet wurde. In einer weitergehenden Studie von Walgren et al. (2000) konnte allerdings gezeigt werden, dass ein Export von Quercetin-4'- $\beta$ -Glukosid aus den Epithelzellen über das MRP2 (multidrug associated protein 2), einem unspezifischen Anionen Transportmechanismus, stattfindet, was den fehlenden Transport des Glukosids in muko-serosaler Richtung in den beiden Untersuchungen erklärt. Beim Einsatz von Quercetin bzw. Genistein (Aglykone) konnte von beiden Gruppen ein deutlicher apikaler und basolateraler und somit ein richtungstunabhängiger Transport in das entsprechende Akzeptor-Kompartiment gezeigt werden. Beide Arbeitsgruppen schlugen daraufhin als Transportmechanismus von Quercetin bzw. Genistein den Weg der transzellulären Diffusion vor. Der Nachweis von Genistein, dem Hydrolyseprodukt des apikal oder basolateral eingesetzten Genistein-7-Glukosids im Donor-Kompartiment, ließ auf das Vorhandensein einer intra- oder extrazellulären  $\beta$ -Glukosidase-Aktivität schließen. Die Autoren postulierten daher, dass eine extra- oder intrazelluläre Spaltung der  $\beta$ -glykosidischen Bindung einer passiven Diffusion des Aglykons vorausgeht, da bei Zugabe von Genistein-7-Glukosid zur basolateralen Seite sowohl auf der basolateralen als auch der apikalen Seite der Caco-2-Zellen das entsprechende Aglykon gefunden wurde (Walle et al. 1999).

In einer Untersuchung von Day et al. (2000) konnte gezeigt werden, dass die Laktase-Phlorizin-Hydrolase (LPH, Laktase), eine  $\beta$ -Glykosidase in der intestinalen Bürstensaummembran des Säugetier-Dünndarmes, eine Vielzahl von Flavonoid- und Isoflavon-Glykosiden hydrolysiert. Die Experimente wurden mit gereinigter Laktase aus dem Dünndarm des Schafes durchgeführt. Aufgrund des hydrophilen Charakters von Flavonoid-Glykosiden schlossen diese Autoren eine Absorption via



unspezifische Diffusion aus. Des Weiteren wurde in Analogie zum Verhalten von Phlorizin, das eine hohe Affinität zum SGLT1 aufweist, ohne selbst transportiert zu werden, eine Absorption von Flavonoid-Glykosiden über den Glukose-Carrier negiert. Nach Day et al. (2000) hydrolysiert die Laktase, die in unmittelbarer Nachbarschaft zum Na<sup>+</sup>-Glukose-Carrier lokalisiert ist und deren aktives Zentrum in die sog. „unstirred-layer“ (unbewegte Flüssigkeitsschicht, die der Mukosa unmittelbar anhaftet) hineinragt, zunächst die Flavonoid-Glykoside. Das hydrophobere und im Vergleich zum Glukosid kleinere Aglykon könnte dann über Diffusion die Enterozytenmembran passieren. Durch anschließende intrazelluläre Konjugation mit Glukuronsäure und Sulfaten sowie den Übergang der Substanzen in den Blutstrom würde ein ständiger Konzentrationsgradient als Motor der Diffusion aufrechterhalten werden.

Alternativ können aber auch intakte Glukoside absorbiert werden. So zeigten Walgren et al. (2000a) die Aufnahme von Quercetin-4'- $\beta$ -Glukosid in Caco-2-Zellen. Da eine  $\beta$ -Glukosidase-Aktivität im Enterozyten nachgewiesen wurde (Ioku 1998) könnte es zur Spaltung intakter Glukoside mit anschließender Glukuronidierung bzw. Sulfatierung und Übertritt der Konjugate in das Blut kommen. In der Tat finden sich nach Aufnahme von Quercetin bzw. Quercetin-Glukosiden praktisch ausschließlich Glukuronide und Sulfate im Blut (Manach et al. 1997, Crespy et al. 1999, Ader et al. 2000).

## 2.4 Metabolisierung und Ausscheidung von Flavonoiden

Aus zahlreichen Literaturangaben ist bekannt, dass oral zugeführte Flavonoide bereits im Lumen des Darmtraktes in einem gewissen Umfang einer praeabsorptiven Metabolisierung unterliegen. Neben der sich in der Bürstensaummembran befindlichen Laktase-Phlorizin-Hydrolase, die in der Lage ist, die  $\beta$ -glykosidische Bindung von (Iso-) Flavonoid-Glykosiden zu hydrolysieren (Day et al. 2000), kommt der physiologischen Darmflora bei der Metabolisierung der Flavonoiden eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zu. Aus der Darmflora des Menschen wurden mehrere Bakterienstämme der Gattung *Eubacterium*, *Clostridium* und *Bacterioides* isoliert, die verschiedene Flavonoide und deren Glykoside bis hin zu Phenolcarbonsäuren mit unterschiedlichen Hydroxylierungs- und Methylierungsmustern metabolisierten. Die Entstehung dieser Verbindungen beruht auf einer Spaltung des C-Ringes zwischen

den Positionen 1, 2 und 3, 4 mit nachfolgenden Dehydroxylierungen bzw. Methylierungen. Die aus dem B-Ring hervorgegangenen Spaltprodukte von Quercetin und Rutin waren u. a. 3-Hydroxybenzoesäure (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>-Körper), 3,4-Dihydroxyphenylessigsäure (C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-Körper) und 3-(3-Hydroxyphenyl)-Propionsäure (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Körper). Es ist daher anzunehmen, dass zumindest bei einer ausreichend langen Verweildauer der Flavonoide im Gastrointestinaltrakt bei Vorhandensein einer ungeschädigten physiologischen Darmflora ein nicht unbeträchtlicher Anteil der Flavonoid-Aglyka und -Glykoside zu Phenolcarbonsäuren metabolisiert werden (Heilmann und Merfort 1998).

Die postabsorptive Metabolisierung der Flavonoide findet hauptsächlich in der Leber und den Dünndarmmukosazellen, möglicherweise auch in anderen Organen (z. B. Niere) statt. Nach Fuhr (1996) befinden sich die Enzyme in den Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulums (mikrosomale Fraktion). Durch die enzymatische Aktivität der Mukosazellen können nach oraler Aufnahme absorbierte Substanzen bereits vor Erreichen der Vena cava einem sog. „First-Pass-Effekt“ unterzogen werden. Crespy et al. (1999) konnten in einer Absorptionsstudie an Ratten, deren Dünndarm *in situ* mit Rutin- und Quercetin-haltigen Lösungen perfundiert wurde, zeigen, dass eine intensive Glukuronidierung, Methylierung und Sulfatierung des Aglykons in den Mukosazellen stattfindet, da diese Konjugate auf der apikalen und basolateralen Seite detektiert wurden und eine Beteiligung der Leber bei der Synthese dieser Verbindungen ausgeschlossen werden konnte. In einem ähnlichen Versuchsansatz wurden von Spencer et al. (1999) die Aktivität einer UDP (Uridindiphosphat)-Glukuronyl-Transferase in den Enterozyten des Dünndarmes bei der Absorption von Flavon- und Flavonol-Glykosiden und deren Aglyka postuliert. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass Glykoside auch bei Fehlen einer mikrobiellen Besiedlung des Darmes hydrolysiert wurden, was auf das Vorhandensein endogener Glukosidasen schließen lässt. Zusammenfassend deuten die Versuchsergebnisse darauf hin, dass sowohl bei luminalem Vorliegen von Glykosiden als auch von Aglyka überwiegend Flavonoid-Glukuronide und -Sulfate im Pfortaderblut auftauchen.

Unmittelbar nach Übergang der oral zugeführten Flavonoide werden diese möglicherweise größtenteils an Plasmaproteine gebunden (Gugler et al. 1975 und

Mannach et al. 1995). In einer neueren Untersuchung konnten Boulton et al. (1998) diese Hypothese durch eine Untersuchung mit  $^{14}\text{C}$ -markierten Quercetin bestätigen. Dabei wurde Quercetin Human-Plasmaproben zugegeben und diese einer Ultrazentrifugation unterzogen. Die Plasmaprotein-Bindung von Quercetin betrug  $99,1 \pm 0,5\%$ . Die ungebundene Fraktion lag somit unter 1%. Quercetin wurde hauptsächlich an Albumin und in geringem Umfang an Glykoprotein und Very-Low-Density-Lipoproteine gebunden. Eine Assoziation von Quercetin mit Erythrozyten konnte durch Bindung an Plasmaproteine signifikant reduziert werden.

Über die Portalvene gelangen die absorbierten Flavonoide wahrscheinlich direkt zur Leber. Die hepatische Metabolisierung verschiedener Flavonoide wurden von Nielson et al. (1998) unter Verwendung von aus Rattenleber isolierten Mikrosomen untersucht. Dabei ergab sich, dass v. a. der B-Ring des Flavonoid-Grundgerüsts Metabolisierungsreaktionen unterliegt. Hydroxylierungen und Demethylierungen scheinen bei diesen Reaktionen die größte Bedeutung zu haben und zur Bildung von 3', 4'-Dihydroxyderivaten der Ausgangssubstanzen zu führen. Boulton et al. (1999) untersuchten an humanen Hepatocarcinomazellen (Hep G2) die Metabolisierung von Quercetin. Dabei konnten sie nach vorausgegangener Akkumulation von Quercetin in den Zellen die Entstehung eines O-methylierten Metaboliten (Isorhamnetin) nachweisen. Insgesamt sprechen eine Vielzahl von Untersuchungen dafür, dass Flavonoide zum einen während der Resorption in der Darmwand, zum anderen während der Leberpassage einer Metabolisierung bzw. Konjugation im Sinne eines „First-Pass-Effektes“ unterliegen (Hollmann und Katan 1997, Manach et al. 1997, Graefe et al. 1999). Auch Ader et al. (2000) interpretierten ihre Versuchsergebnisse in diesem Sinne. Bei einem Fütterungsversuch mit Schweinen konnten nach oraler Gabe von Quercetin im Plasma nur geringe Mengen freien Quercetins sowie dessen Metabolite Tamarixetin und Isorhamnetin detektiert werden. Mehr als 95 % des Quercetins und der Quercetin-Metabolite lagen in konjugierter Form vor.

Die teilweise von der Leber über die Galle ausgeschiedenen Flavonoid-Metabolite und -Konjugate werden aus dem Darm partiell rückresorbiert und unterliegen somit einem enterohepatischen Kreislauf (Fahey und Jung 1989). In einer Übersichtsarbeit von Griffith (1982) wurde der Transport konjugierter Flavonoide und deren Metaboliten über die Galle als ein Hauptweg der Exkretion beschrieben.

Experimente an Ratten mit kanuliertem Gallengang, denen oral oder parenteral radioaktiv markierte Catechine verabreicht wurden, zeigten, dass bis zu 44 % der zugeführten Menge als Flavonol-Konjugate über die Galle ausgeschieden wurden. Dabei handelte es sich vornehmlich um Glukuronide. Ueno et al. (1983) konnten die Ergebnisse anhand eines ähnlichen Versuchsansatzes bestätigen. Oral zugeführtes <sup>14</sup>C-Quercetin wurde binnen 48 h über die Galle und über den Harn als Glukuronsäure- oder Schwefelsäure-Konjugat ausgeschieden. Generell scheint aber die Elimination über die Niere eine untergeordnete Rolle bei der Ausscheidung von Flavonoiden zu spielen. So zeigten z. B. Hollmann et al. (1995) in einer Studie mit ileostomierten Probanden, denen Flavonoide oral verabreicht wurden, dass nur etwa 0,5 % der absorbierten Flavonoid-Menge über den Harn ausgeschieden wurde. Auch Choudhury et al. (1999) kamen zu dem Schluss, dass bei der Ratte nach oraler bzw. intravenöser Applikation von Quercetin, Isoquercitrin und Rutin die renale Ausscheidung dieser Flavonoide eine untergeordnete Rolle spielt. Sie fanden nur 2,4 % der intravenös applizierten Dosis von Quercetin, 6,7 % des Isoquercitrins und 9,2 % des Rutins im Harn wieder.

## **2.5 Bioverfügbarkeit von Flavonoiden**

Studien zur oralen Bioverfügbarkeit von Flavonoiden erbrachten bisher recht unterschiedliche und zum Teil sich widersprechende Daten. Zudem müssen die Ergebnisse zu diesem Thema vor dem Hintergrund einer umfangreichen prae- und postabsorptiven Metabolisierung (s. o.) betrachtet werden. Man versteht unter der Bioverfügbarkeit eines Stoffes die Geschwindigkeit und das Ausmaß mit der ein therapeutisch wirksamer Bestandteil an einem Wirkort oder einem Zielgewebe verfügbar ist (Mutschler 1991). Im Hinblick auf die Befunde zum Thema Metabolisierung von Flavonoiden, die zeigen, dass i. d. R. nach oraler Aufnahme im Plasma überwiegend glukuronidierte bzw. sulfatierte Metabolite vorliegen, sollte das wissenschaftliche Interesse v. a. auf deren biologische Wirksamkeit im Organismus gerichtet werden. Gerade zu diesem Thema liegen aber noch unzureichende Erkenntnisse vor.

In einer der ersten Bioverfügbarkeitsstudien bestimmten Gugler et al. (1975) die Konzentrationen von Quercetin im Blutplasma, Urin und Faeces bei Menschen, denen zuvor Quercetin oral bzw. intravenös verabreicht wurde. Die Plasmaproben

wurden im Gegensatz zu den Harnproben nicht enzymatisch behandelt, so dass nur das nichtkonjugierte Quercetin bestimmt wurde. Bei oraler Applikation wurden in beiden Fällen keine messbaren Konzentrationen von Quercetin bzw. dessen Metaboliten gefunden. Da nur etwa 53 % der zugeführten Quercetin-Dosis in den Faeces wiedergefunden wurden, vermutete man eine umfangreiche mikrobielle Umsetzung von Quercetin. Bei intravenöser Applikation von 100 mg Quercetin pro Versuchsperson konnte nach 10 min eine Quercetin-Plasmakonzentration von etwa 4 µg/ml bestimmt werden. Renal wurde 0,65 % als freies Quercetin und 7,4 % in Form von Konjugaten ausgeschieden. Die Arbeitsgruppe bezweifelte, ob die gemessenen Quercetin-Plasmakonzentrationen für biologische Effekte ausreicht. Manach et al. (1995) fanden bei einem Fütterungs-Versuch mit Ratten, denen Quercetin bzw. Quercetin-3-rhamnoglykosid (Rutin) in einer Konzentration von 16,4 mmol/kg Futter über 10 Tage verabreicht wurde, in mit β-Glukuronidase/Sulfatase behandelten Blutplasmaprobeen durchschnittlich 115 µmol/l Flavonol. Weiterhin konnte die Arbeitsgruppe in einem *in vitro*-Versuch zeigen, dass die Cu<sup>2+</sup>-katalysierte Oxidation von humanen LDL durch die Gegenwart von 0,5 µmol/l Quercetin effektiv inhibiert wurde und schlossen daraus, dass die im Blutplasma bestimmten Flavonol-Konzentrationen einen nicht unerheblichen biologischen Effekt haben können. In einer Studie mit 9 ileostomierten Probanden wurden von Hollman et al. (1995) die Bioverfügbarkeit von Quercetin aus Zwiebeln (reich an Quercetin-Glukosiden) mit einem Gehalt von 89 mg bezogen auf das Aglykon, von Rutin (hauptsächlich in Tee vorkommend) und die von freiem Quercetin in Form einer substituierten Diät mit einem Gehalt von jeweils 100 mg bezogen auf das Aglykon untersucht. Zunächst wurde die absorbierte Menge als Differenz aus der oralen Aufnahme und der Exkretion über die Ileostomiebeutel und über die Niere bestimmt. Dabei lag die Aufnahme von Quercetin-Glukosiden aus der Zwiebel bei durchschnittlich 52 %, für Quercetin-Rutinosid bei 17 % und für Quercetin bei 24 % der applizierten Dosis. Die Bestimmung von Quercetin im Blutplasma bei 9 Probanden mit intaktem Darm nach oraler Aufnahme von Quercetin aus Zwiebeln (reich an Quercetin-Glukosiden), Äpfeln (enthält Quercetin-Glykoside und Quercetin als Aglykon) und gereinigtem Quercetin-Rutinosid (in Form von Kapseln) bestätigte die an ileostomierten Probanden erhaltenen Resultate. So lagen die ermittelten Werte für die Bioverfügbarkeit von Quercetin aus Zwiebeln etwa drei mal höher als bei den beiden anderen Darreichungsformen. Deutliche Unterschiede ergaben sich

auch für den Zeitpunkt der maximalen Quercetinkonzentrationen im Plasma, der für Zwiebel, Äpfel bzw. reinem Rutin bei 0,7, 2,5, bzw. 9 h lag. Die Eliminationshalbwertszeiten wurden mit 28 h für Quercetin aus Zwiebeln und 23 h für Quercetin aus Äpfeln beziffert (Hollman et al. 1997). Ader et al. (2000) veröffentlichten eine Untersuchung zur Bioverfügbarkeit von Quercetin beim Schwein. Die Versuchstiere waren mit einem Dauer-Jugularvenenkatheter ausgestattet, aus dem zu definierten Zeitpunkten über eine Dauer von drei Tagen Blut entnommen wurde, nachdem ihnen Quercetin in einer Dosis von 50 bzw. 500 mg/kg oral oder 0,4 mg/kg Körpergewicht intravenös appliziert wurde. Die orale Bioverfügbarkeit von unveränderten, freien Quercetin in einer Dosis von 50 mg/kg Körpergewicht entsprach durchschnittlich  $0,5 \pm 0,2$  %. Nach Behandlung der Plasmaproben mit  $\beta$ -Glukuronidase/Sulfatase zur Erfassung der Quercetin-Konjugate erhöhte sich die Bioverfügbarkeit auf durchschnittlich 8,6 % und nach zusätzlicher Einbeziehung der Quercetin-Metabolite Isorhamnetin, Tamarixetin (methylierte Quercetin-Metabolite) und Kaempferol (3'-hydroxylierter Quercetin-Metabolit) sogar auf 17 %. Die höchsten Plasmakonzentrationen von Quercetin sowie dessen Konjugaten und Metaboliten wurden ca. 3 - 4 h nach dessen oraler Aufnahme gemessen. Nach intravenöser Applikation von Quercetin wurden ausschließlich dessen konjugierte Metaboliten, aber kein freies Quercetin gefunden. Die in dieser Studie ermittelte niedrige Bioverfügbarkeit von Quercetin steht im Einklang mit den Ergebnissen von Noteborn et al. (1997), die bei der Perfusion von Rattenjejunum nur 0,3 - 0,4 % der eingesetzten Quercetin-Dosis und 1,3 - 2,3 % des perfundierten Quercetin-3-Glukosids (Rutin) im Resorbat detektierten. Graefe et al. (1999) stellten in einer Übersichtsarbeit dar, dass in der Mehrzahl der veröffentlichten Studien eine sehr geringe Bioverfügbarkeit von Quercetin und dessen Glykoside gefunden wurde.