

Phenolsäuren

Bernhard Watzl und Gerhard Rechkemmer, Karlsruhe

Ziel der Reihe „Basiswissen aktualisiert“ ist es, zweimonatlich übersichtlich den derzeit aktuellen Wissensstand über Nährstoffe und andere, der Gesundheit dienende Nahrungsinhaltsstoffe zu vermitteln.

Definition, Chemie, Vorkommen

Unter dem Begriff „Phenolsäuren“ werden Hydroxyzimtsäuren und Hydroxybenzoesäuren (Abb. 1) zusammengefasst. Phenolsäuren sind meist mit organischen Säuren oder mit Zuckern verestert. Der am häufigsten vorkommende Hydroxyzimtsäureester ist Chlorogensäure; diese wird aus Kaffeesäure und Chinasäure gebildet. Auf Grund des hohen Vorkommens von Kaffeesäure in Kaffee ist diese Hydroxyzimtsäure bei Kaffeetrinkern vermutlich der in der Nahrung am meisten vorkommende sekundäre Pflanzenstoff. Mit einer Tasse Kaffee werden etwa 25–75 mg Kaffeesäure bzw. 50–150 mg Chlorogensäure zugeführt, d. h., starke Kaffeetrinker nehmen bis zu 1 g dieser Säuren pro Tag auf. Im Durchschnitt macht der Kaffeekonsum 92 % der Kaffeesäurezufuhr aus.

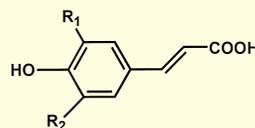
Die in Vollkorn dominierende Hydroxyzimtsäure ist die Ferulasäure (Abb. 1). Diese liegt, über Esterbindung an Arabinose gekoppelt, als Bestandteil der Hemizellulosen vor. In Weizen- und Roggenvollkorn finden sich etwa 1 g Hydroxyzimtsäuren/kg Trockenmasse. Über den Phenolsäuregehalt von Frühstückscerealien gibt es noch keine Angaben. Bestimmte Gemüsearten (Spinat, Kopfsalat) sind ebenfalls reich an Hydroxyzimtsäuren. Gallussäure (Abb. 1), eine Hydroxybenzoesäure, wird fast ausschließlich mit Rot- und Weißwein aufgenommen (93 %). Eine aus zwei Gallussäuremolekülen bestehende Hydroxybenzoesäure ist die Ellagsäure, die ausschließlich in bestimmten Nüssen (Walnuss, Pekannuss; 54 % der Zufuhr) und Beeren (Himbeere, Brombeere; 38 % der Zufuhr) enthalten ist.

Phenolsäuren treten häufig in den Randschichten der Pflanzen auf und tragen zur Stabilität der Zellwände in den Schalen bei. So sind z. B. in Kartoffeln 50 % der Kaffeesäure in der Schale sowie im angrenzenden Gewebe lokalisiert. In Pommes frites hingegen wurde weder Kaffee- noch Chlorogensäure nachgewiesen (Tab. 1). Im Getreide liegt der überwiegende Anteil der Ferulasäure in der Kleie vor. Vollkornweizen enthält 500 mg/kg, niedrig ausgemahlenes Weizenmehl nur 50 mg/kg, Weizenkleie hingegen 5 g/kg. Verarbeitungsprozesse wie das Entfernen äußerer Randschichten, Blätter oder Schalen führen somit zu einer Verringerung des Phenolsäuregehaltes. Während der Gefrierlagerung von Beeren wird der Hydroxybenzoesäuregehalt nicht herabgesetzt. Insgesamt fehlen allerdings Daten zum Vorkommen von Phenolsäuren in verarbeiteten Lebensmitteln.

Bioverfügbarkeit, Stoffwechsel

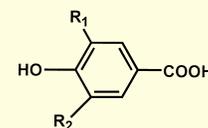
Phenolsäureester unterscheiden sich von den Phenolsäuren hinsichtlich ihrer chemischen, physikalischen und physiologischen Eigenschaften. Das wirkt sich letztlich auf die Bioverfügbarkeit aus. Freie Hydroxyzimtsäuren können sowohl im Dünndarm als auch im Dickdarm absorbiert werden. Im Gegensatz dazu werden veresterte Hydroxyzimtsäuren im Dünndarm nicht absorbiert, da der Mensch keine Esterasen besitzt, um z. B. Kaffeesäure aus Chlorogensäure freizusetzen. Eine Metabolisierung von Phenolsäureestern erfolgt ausschließlich durch Enzyme (Xylanasen, Esterasen) der Mikroflora im Dickdarm. Als Dickdarmbakterien, die Chlorogensäure hydrolysieren können, wurden *E. coli*, *Bifidobacterium lactis* sowie *Lactobacillus gasserii* identifiziert. Die Hydrolyse von Ferulasäureestern erfolgt zu über 95 % im Gastrointestinaltrakt bei der Fermentation im Dickdarm. Da im Fermentationsüberstand wenig Ferulasäure vorkommt, ist es wahrscheinlich, dass freie Ferulasäure entweder von Mikroorganismen metabolisiert oder in andere phenolische Verbindungen umgewandelt wird. Somit dürften nur geringe Mengen intakter

Hydroxyzimtsäuren



p-Cumarsäure	$R_1 = H, R_2 = H$
Ferulasäure	$R_1 = H, R_2 = OCH_3$
Sinapinsäure	$R_1 = OCH_3, R_2 = OCH_3$
Kaffeesäure	$R_1 = H, R_2 = OH$

Hydroxybenzoesäuren



Gallussäure	$R_1 = OH, R_2 = OH$
Protocatechusäure	$R_1 = OH, R_2 = H$
Syringasäure	$R_2 = OCH_3, R_2 = OCH_3$
Vanillinsäure	$R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Abb. 1: Die häufigsten in Lebensmitteln vorkommenden Hydroxyzimtsäuren (links) und Hydroxybenzoesäuren (rechts)

Ferulasäure im Dickdarm zur Absorption zur Verfügung stehen.

Hydroxyzimtsäurenester sind im menschlichen Blutplasma bisher nicht nachgewiesen worden. In einer aktuellen Studie konnten jedoch erstmals im Urin Chlorogensäure quantifiziert und eine nach dem Verzehr von 100 g Pflaumen signifikante Zunahme der Chlorogensäurekonzentration festgestellt werden. In einer anderen Studie wurde bei Ileostomie-Patienten eine Absorption der Chlorogensäure in Höhe von 33 % berechnet. Allerdings wurden keine Plasmaspiegel bestimmt. 0,3 % der aufgenommenen Chlorogensäure wurden im Urin in Form von Kaffeesäure ausgeschie-

Tab. 1: Chlorogensäuregehalt (mg/kg) verschiedener Lebensmittel [2, 3].

Kaffee ¹	50–150
Äpfel	30–60
Apfelsaft ²	0–208
Speierling	1500
Heidelbeeren	500–2000
Kartoffeln	1400
Pommes frites	0

¹mg/200 ml Tasse, ²mg/L

den. Eine kürzlich publizierte Humanstudie zeigte, dass unveresterte Hydroxyzimtsäuren (Ferulasäure, Kaffeesäure, p-Cumarsäure) im Urin innerhalb von 8 h nach dem Verzehr von 500–800 g Früchten nachzuweisen waren. Weitere Untersuchungen mit Ileostomie-Patienten ergaben, dass nach der oralen Gabe von 500 mg Kaffeesäure 12–18 % davon unverändert im Urin ausgeschieden wurden. Die Aufnahme von Ferulasäure (21–44 mg) mit Tomaten (36–73 g) ergab nach 7 h eine maximale Konzentration freier Ferulasäure im Urin von 7 µM. Als höchste Plasmakonzentration für einzelne Hydroxyzimtsäuren werden bis zu 200 nM angegeben. Einen spezifischen Biomarker für die Bioverfügbarkeit und Metabolisierung von Kaffeesäure bzw. von deren Derivaten aus Lebensmitteln stellt die erst kürzlich identifizierte Iso-Ferulasäure dar. Diese kommt in Lebensmitteln nicht vor und entsteht aus Kaffeesäure infolge einer strukturellen Änderung (4-Methoxylierung) vor oder nach der Absorption durch Enzyme der Mikroflora und der Leber. Vermutlich erfolgt die Aufnahme von Hydroxyzimtsäuren im Darm über einen Na⁺-abhängigen Transporter. Für die Ratte konnte dies bereits gezeigt werden. Absorbierte Hydroxyzimtsäuren können in der Le-

ber durch β-Oxidation abgebaut bzw. dort methyliert und mit dem Gallensaft wieder ausgeschieden werden. Über weitere Stoffwechselwege liegen keine Daten vor. *In vivo* besitzen Hydroxyzimtsäuren eine hohe Affinität zu Albumin, wobei Kaffeesäure eine besonders starke Bindung aufweist. Diese erfolgt u. a. über die Ausbildung von Wasserstoffbrücken.

Für Gallussäure (0,3 mmol) konnte in einer Humanstudie 2 h nach deren Aufnahme sowie der von 600 ml schwarzem Tee eine maximale Plasmakonzentration von 1,8 µM nachgewiesen werden. Im Tiermodell (Maus) wird oral aufgenommene Ellagsäure (300 µmol/kg KG) nur in geringen Mengen absorbiert (0,9 nmol). Ellagsäure wird bevorzugt zur Lunge transportiert. Dort wurden Konzentrationen gefunden, die im Vergleich zur Leber 10fach größer waren. Allerdings sind solche Absorptionsstudien meist mit gereinigten Substanzen durchgeführt worden, Ellagsäure liegt in Pflanzen jedoch normalerweise als Glykosid oder Ester vor und besitzt deswegen wahrscheinlich eine geringere Bioverfügbarkeit als in der reinen Form.

Ernährungsphysiologie

Weil freie Phenolsäuren im Dünndarm aufgenommen werden, können sie eine systemische Wirkung ausüben. Da für Phenolsäurenester z. B. keine Informationen über mögliche Plasmakonzentrationen vorliegen, ist bei ihnen eine systemische Wirkung fraglich. Lokale Effekte im Intestinaltrakt sind jedoch wahrscheinlich und könnten z. B. die Entstehung eines Dickdarmtumors beeinflussen.

Phenolsäuren vermögen während der Nahrungszubereitung sowie im Gastrointestinaltrakt die Bildung von Mutagenen bzw. Kanzerogenen zu hemmen. So unterdrücken z. B. in Tomatensaft vorhandene Phenolsäuren wie p-Cumarsäure und Chlorogensäure die Nitrosaminbildung *in vitro* wirksamer als vergleichbare Mengen Vitamin C. Aus Humanstudien liegen jedoch noch keine Hinweise auf einen Einfluss von Phenolsäuren auf die Entwicklung von Tumoren vor. Im Gegensatz dazu gibt es zur krebsprotektiven Wirkung von Phenolsäuren zahlreiche Tierstudien. Im Tierversuch hemmte Ellagsäure nach oraler Zufuhr chemisch induzierten Speiseröhren- und Lungenkrebs. Für Kaffee- und Ferulasäure wurde eine hemmen-

de Wirkung auf die Entstehung von induziertem Magenkrebs festgestellt.

Der Wirkmechanismus der Phenolsäuren ist intensiv am Beispiel der Ellagsäure untersucht worden. Demzufolge können Phenolsäuren sowohl die Initiation als auch die Promotion der Kanzerogenese hemmen, und zwar über folgende Mechanismen:

- Hemmung von Phase-I-Enzymen,
- Wechselwirkung mit dem aktivierten Kanzerogen,
- Wechselwirkung mit der DNA,
- Induktion von Phase-II-Enzymen,
- antioxidative Wirkungen.

Über Hemmung von Phase-I-Enzymen verhindern Phenolsäuren die Aktivierung von Prokanzerogenen. Ellagsäure beeinträchtigt nicht nur die Aktivität dieser Enzyme, sie hat darüber hinaus bei Mäusen auch den Gesamt-Cytochrom-P450-Gehalt in Lunge und Leber mit einem besonders starken Effekt auf Cytochrom P450IIE1 vermindert. Kaffee-, Chlorogen- und Gallussäure vermögen die durch Cytochrom-P450-abhängige Enzyme katalysierte Umwandlung von Aflatoxin B₁ in das aktive Kanzerogen zu verhindern. Das Risiko einer Lungenkrebs-erkrankung wurde dadurch im Tierversuch signifikant verringert.

Die antikanzerogene Wirkung der Phenolsäuren beruht wahrscheinlich teilweise darauf, dass sie direkt mit dem aktivierten Kanzerogen in Wechselwirkung treten und kovalente Bindungen eingehen. Dadurch entstehen aus dem Kanzerogen biologisch inaktive Produkte. So reagieren Ferula-, Kaffee-, Chlorogen- und Ellagsäure in zellfreien Systemen direkt mit polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen, die als starke Kanzerogene gelten. Dosisabhängig kann dadurch deren Mutagenität um über 90 % verringert werden. Ellagsäure hat sich dabei als 80 bis 300 Mal stärker wirksam erwiesen als die anderen Phenolsäuren. Chlorogensäure verhindert *in vitro* wie im Tiermodell die Entstehung oxidativer DNA-Schäden. Das ist anhand der verminderten Bildung von 8-Hydroxydesoxyguanosin sowie von DNA-Strangbrüchen festgestellt worden.

Ellagsäure unterbindet die Krebsentstehung in der Initiationsphase vermutlich ebenso dadurch, dass sie die Bindung von aktivierten Kanzerogenen an die DNA verhindert. Es sind kovalente Bindungen der Ellagsäure an die DNA nachgewiesen worden, was zu einer Maskierung der Bin-

dungsstellen für die Kanzerogene führte. Dies wurde *in vitro* für Zellen verschiedener Organe gezeigt. Die Induktion von Phase-II-Enzymen (z. B. Glutathion-S-Transferase, Quinon-Reduktase) durch Ellagsäure sowie deren vermehrte Synthese in der Leber konnten im Tierversuch ebenfalls nachgewiesen werden. Mit ihrem antioxidativen Potenzial können Phenolsäuren bei induziertem Hautkrebs im Tiermodell vermehrt auftretende reaktive Sauerstoffmoleküle neutralisieren und somit zur beobachteten Hemmung der Tumorpromotion beitragen.

Das antioxidative Potenzial der Phenolsäuren wurde anhand verschiedener *In-vitro*-Methoden gemessen. In einem standardisierten Antioxidantientest (Trolox-Äquivalent) wurde für Ferulasäure ein Wert von 2,0 und für Kaffeesäure von 1,3 ermittelt. Unter Berücksichtigung des hohen Vorkommens von Phenolsäuren könnten beide Säuren somit eine wichtige Rolle für den Antioxidantienstatus spielen. Des Weiteren hemmt Kaffeesäure *in vitro* beispielsweise die Lipidperoxidation und gilt als Inhibitor der Hydroxylradikalbildung. Die Inhibitorwirkung beruht auf ihrer Eigenschaft, Metallionen zu binden. In einer Humanstudie erhöhte der Konsum von Rotwein (5 ml/kg KG) zwar die Plasmakonzentration von Kaffeesäure (84 nM), aber die *Ex-vivo*-LDL-Oxidation wurde nicht signifikant beeinflusst. Offensichtlich können die *In-vitro*-Beobachtungen nicht direkt auf die Situation *in vivo* übertragen werden, oder die für die antioxidative Wirkung benötigten Plasmakonzentrationen wurden mit dieser Rotweinmenge nicht erreicht. Um *in vitro* eine 50 %ige Hemmung der LDL-Oxidation zu erzielen, war eine Kaffeesäurekonzentration von 0,4 μ M nötig. Im Tierversuch führte die orale Aufnahme von Kaffeesäure (0,2 % des Futters) zu einer im Plasma nachweisbaren Konzentration an Kaffeesäure (0,9 μ g/ml), die zur Gesamt-Antioxidantienkapazität maßgeblich beitrug. *In vitro* kann Ellagsäure reaktive Sauerstoffmoleküle abfangen und dadurch oxidative DNA-Schäden verhindern. Freie Feru-

lasäure ist ebenfalls ein wirksames Antioxidans, da es resonanzstabilisierende Phenoxyradikale bildet. Es wirkt in wässriger Phase als Antioxidans und kann *in vitro* LDL vor einer Oxidation schützen. In einer Konzentration von 1 mM hat Ferulasäure die Entstehung von Lipidperoxiden um 50 %, dieselbe Menge Vitamin C hingegen die Peroxidbildung nur um 17 % verringert. Die *In-vivo*-Wirkung der Phenolsäuren auf den Antioxidantienstatus des Menschen ist bis jetzt jedoch nur unzureichend untersucht worden. Fraglich ist, ob die in den Humanstudien gemessenen Plasmakonzentrationen ausreichend sind, um eine wesentliche antioxidative Wirkung auszuüben.

Zur antimikrobiellen Wirkung von Phenolsäuren liegen bisher überwiegend nur Ergebnisse von Untersuchungen mit phenolsäurereichen Fruchtextrakten vor. Diese enthalten jedoch neben den Phenolsäuren auch Polyphenole. Verschiedene Fruchtextrakte zeigten gegen bestimmte Viren in einer Verdünnung von 1:10 eine starke Wirkung. In nachfolgenden Untersuchungen konnten Gallus- und Chlorogensäure als in allen Fruchtextrakten vorhandene Phenolsäuren mit antiviralem Effekt identifiziert werden. Es wird vermutet, dass für die antivirale Wirkung die entgegengesetzte Ladung von Phenolsäuren und Virus-hülle wichtig ist. Verschiedene Hydroxymyrsäuren hemmten *in vitro* das Wachstum gramnegativer Bakterien. Bei grampositiven waren sie allerdings unwirksam. Analog zur antioxidativen scheint auch für die antimikrobielle Wirkung von Phenolsäuren der Grad der Hydroxylierung wesentlich zu sein. Die eigentlichen Wirkmechanismen sind allerdings noch nicht bekannt. Insgesamt sind Beerenextrakte deutlich wirksamer als einzelne Phenolsäuren oder Flavonoide. Vermutlich sind deshalb nicht allein die bekannten Einzelverbindungen für die antimikrobielle Wirkung wichtig, sondern die komplex aufgebauten Phenolpolymere wie hydrolysierbare Tannine und Proanthocyanidine bzw. die synergistischen Wirkungen phenolischer Verbindungen. Die Ellagsäure

hemmt *in vitro* konzentrationsabhängig nachweislich das Wachstum von *Helicobacter pylori* ($IC_{50} = 1$ mM).

Hinweise aus ersten Untersuchungen deuten darauf hin, dass Phenolsäuren die intrazelluläre Signalübertragung beeinflussen können. So wurde für Ellagsäure *in vitro* eine Hemmung der tyrosinspezifischen Proteinkinase pp60src nachgewiesen. Die Aktivität verschiedener Proteinkinasen (A, C) wurde durch hohe Kaffeesäurekonzentrationen (50–200 μ M) unterdrückt. Des Weiteren war die Ceramid induzierte Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF κ B durch Kaffeesäure gehemmt.

Unerwünschte Wirkungen – Toxizität

In einer Langzeitstudie (2 Jahre) an Ratten hat die tägliche Zufuhr von Kaffeesäure (2 % des Futters) zu Magenkrebs geführt. Es wird vermutet, dass verschiedene nicht genotoxische Mechanismen zur Entstehung der Tumore beigetragen haben. Auf den Menschen übertragen, würde die verabreichte Dosis einer täglichen Aufnahme von 140 g Kaffeesäure entsprechen. Des Weiteren wurde im Tierversuch für Kaffee- und Chlorogensäure eine Beeinträchtigung der Zinkabsorption nachgewiesen. Aus epidemiologischen sowie Interventionsstudien ist bekannt, dass Kaffeekonsum die Plasmahomocysteinkonzentration erhöht, was mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Krankheiten einhergeht. Als ein hierfür mit verantwortlicher Inhaltsstoff wurde kürzlich die Chlorogensäure identifiziert. In einer Humanstudie erhielten die Teilnehmer täglich 2 g Chlorogensäure (dies entspricht etwa 1,5 Liter starkem Kaffee) für die Dauer von 7 Tagen. Die Plasmahomocysteinkonzentration war postprandial im Vergleich zur Placebokontrolle um 12 % erhöht, die Folatkonzentration im Nüchternplasma um 8 % verringert. Eine direkte Beteiligung der Folsäure an der Erhöhung des Homocysteinspiegels wird jedoch als unwahrscheinlich bewertet.

Aktuelle Zufuhr/ Versorgungszustände

Zur Gesamtphenolaufnahme tragen Phenolsäuren zu etwa $\frac{1}{3}$ und Flavonoide zu $\frac{2}{3}$ bei. Die Phenolsäurezufuhr in Deutschland wurde kürzlich in einem bayerischen Teilkollektiv der Nationalen Verzehrsstudie quantifiziert. Die mittlere Zufuhr betrug 222 mg/Tag, die Schwankungsbreite 8,7–989 mg/Tag. Wegen der unzureichenden Datenlage wurde hierbei die Phenolsäureaufnahme aus Vollkornprodukten nicht berücksichtigt. Da Kleie besonders reich an Ferulasäure ist, kann die durchschnittliche Aufnahme von Phenolsäuren bei täglichem Vollkornverzehr darüber liegen. Hydroxyzimtsäuren tragen mit 211 mg/Tag den größten Teil zur Gesamtaufnahme an Phenolsäuren bei. Kaffeesäure ein-

schließlich Chlorogensäure stellt davon die Hauptmenge (205,5 mg/Tag). Bei den Hydroxybenzoesäuren ist die Ellagsäure mit 5,2 mg/Tag dominierend. Eine vergleichbare durchschnittliche tägliche Zufuhr an Ellagsäure wurde mit 6 mg/Person auch in einem niederländischen Kollektiv bestimmt.

Literatur:

1. Chesson, A., Provan, G.J., Russell, W.R., Scobbie, L., Richardson, A.J., Stewart, C.: Hydroxycinnamic acids in the digestive tract of livestock and humans. *J. Sci. Food Agric.* 79 (1999), S. 373-378.
2. Clifford, M.N.: Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.* 79 (1999), S. 362-372.
3. Clifford, M.N.: Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *J. Sci. Food Agric.* 80 (2000), S. 1033-1043.
4. Kroon, P.A., Williamson, G.: Hydroxycinnamates in plants and food: current and future

perspectives. *J. Sci. Food Agric.* 79 (1999), S. 355-361.

5. Radtke, J., Linseisen, J., Wolfram, G.: Phenolsäurezufuhr Erwachsener in einem bayerischen Teilkollektiv der Nationalen Verzehrsstudie. *Z. Ernährungswiss.* 37 (1998), S. 190-197.
6. Shahrzad, S., Aoyagi, K., Winter, A., Koyama, A., Bitsch, I.: Pharmacokinetics of gallic acid and its relative bioavailability from tea in healthy humans. *J. Nutr.* 131 (2001), S. 1207-1210.
7. Watzl, B., Leitzmann, C.: Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. S. 34-35, 82-84, 107-108, 115. 2. Aufl., Hippokrates, Stuttgart (1999).

Anschrift der Verfasser:

Dr. Bernhard Watzl
Prof. Dr. Gerhard Rechkemmer
Institut für Ernährungsphysiologie
Bundesforschungsanstalt für
Ernährung
Haid-und-Neu-Str. 9
76131 Karlsruhe