

Einfluss ausgewählter roter  
Fruchtsaftextrakte und deren Inhaltsstoffe  
auf den Glucosestoffwechsel  
*in vitro* und *in vivo*

Vom Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern zur  
Verleihung des akademischen Grades „Doktor der Naturwissenschaften“  
genehmigte Dissertation

DE – 386



Vorgelegt von  
**Kirsten Berger**

Betreuerin: Prof. Dr. Elke Richling  
Kaiserslautern, 11.02.2022



Diese Arbeit entstand im Zeitraum von April 2016 bis April 2019 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Elke Richling an der TU Kaiserslautern.

Datum der wissenschaftlichen Aussprache: 11.02.2022

Prüfungskommission

Vorsitz: Apl. Prof. Dr. Hornung

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Elke Richling

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Peter Winterhalter

Ich danke Frau Prof. Dr. Richling und Herrn Prof. Dr. Winterhalter für die Anregungen und Unterstützung während der Promotionszeit.



# Inhaltsverzeichnis

|   |      |
|---|------|
| Abkürzungsverzeichnis   | V    |
| Kurzzusammenfassung   | VII  |
| Abstract  | VIII |
| 1 Einleitung  | 1    |
| 2 Stand der Wissenschaft  | 3    |
| 2.1 Diabetes mellitus   | 3    |
| 2.1.1 Typ-I-Diabetes  | 4    |
| 2.1.2 Typ-II-Diabetes   | 5    |
| 2.1.3 Gestationsdiabetes  | 7    |
| 2.1.4 Spätfolgen von Diabetes   | 7    |
| 2.1.5 Epidemiologie   | 9    |
| 2.2 Verdauung und Resorption von Kohlenhydraten                           | 10   |
| 2.2.1 Der Kohlenhydratstoffwechsel  | 10   |
| 2.2.2 Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels und therapeutische Targets | 13   |
| 2.3 Auf- und Abbau von Glykogen   | 15   |
| 2.3.1 Der Glykogenstoffwechsel  | 15   |
| 2.3.2 Regulation des Glykogenstoffwechsels und therapeutische Targets     | 18   |
| 2.4 Insulinstoffwechsel   | 20   |
| 2.4.1 Der Insulinstoffwechsel   | 20   |
| 2.4.2 Regulation des Insulinstoffwechsels und therapeutische Targets      | 22   |
| 2.5 Polyphenole   | 23   |
| 2.5.1 Anthocyane  | 25   |
| 2.5.2 Copigmente  | 33   |
| 2.5.3 Polymere  | 34   |
| 2.6 Bioaktive, anthocyanreiche Früchte                                    | 34   |
| 2.6.1 Aronia ( <i>Aronia melanocarpa</i> )                                | 34   |
| 2.6.2 Granatapfel ( <i>Punica granatum</i> )                              | 36   |
| 2.6.3 Rote Traube ( <i>Vitis vinifera</i> )                               | 37   |
| 2.6.4 Preiselbeere ( <i>Vaccinium vitis-idea</i> )                        | 39   |
| 2.6.5 Cranberry ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> )                          | 40   |
| 2.6.6 Schwarze Johannisbeere ( <i>Ribes nigrum</i> )                      | 41   |
| 2.6.7 Heidelbeere ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )                          | 43   |
| 2.6.8 Holunderbeere ( <i>Sambucus nigra</i> )                             | 44   |
| 2.6.9 Sauerkirsche ( <i>Prunus cerasus</i> )                              | 45   |
| 2.7 Kinetik der Enzymhemmung  | 46   |

## Inhaltsverzeichnis

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 2.7.1 | Grundlegende Enzymkinetik  | 46 |
| 2.7.2 | Kompetitive Hemmung  | 48 |
| 2.7.3 | Unkompetitive Hemmung  | 49 |
| 2.7.4 | Nicht-kompetitive Hemmung  | 49 |
| 2.7.5 | Ermittlung Hemmmechanismus   | 50 |
| 3     | Problemstellung  | 52 |
| 4     | Material und Methoden  | 54 |
| 4.1   | Materialien  | 54 |
| 4.1.1 | Chemikalien  | 54 |
| 4.1.2 | Verbrauchsmaterialien  | 57 |
| 4.1.3 | Geräte   | 57 |
| 4.2   | Arbeiten des Kooperationspartners  | 57 |
| 4.3   | Aufarbeitung der Extrakte und Reinsubstanzen zur Messung                             | 58 |
| 4.4   | $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assay  | 58 |
| 4.4.1 | Methode mit 2-Chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid als Substrat            | 59 |
| 4.4.2 | Methode mit Stärke als Substrat  | 59 |
| 4.5   | $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assay  | 60 |
| 4.5.1 | Prinzip  | 60 |
| 4.5.2 | Durchführung   | 61 |
| 4.6   | Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Inhibitions-Assay                                   | 61 |
| 4.6.1 | Prinzip  | 61 |
| 4.6.2 | Durchführung   | 62 |
| 4.7   | Dipeptidylpeptidase-4-Inhibitions-Assay  | 62 |
| 4.7.1 | Prinzip  | 62 |
| 4.7.2 | Durchführung   | 62 |
| 4.8   | Bestimmung der Inhibition und des $IC_{50}$  | 63 |
| 4.9   | Kinetik  | 63 |
| 4.10  | Durchführung und Design der Humanstudie  | 63 |
| 4.11  | Bestimmung der AUC und Datenanalyse  | 65 |
| 5     | Ergebnisse und Diskussion  | 66 |
| 5.1   | Untersuchung der Fruchtextrakte  | 66 |
| 5.1.1 | Vergleich der Extrakte aus neun verschiedenen Fruchtarten                            | 66 |
| 5.1.2 | Vergleich der Extrakte aus verschiedenen roten Traubensorten                         | 73 |
| 5.2   | Untersuchung der Fraktionen  | 77 |
| 5.3   | Untersuchung der Subfraktionen im $\alpha$ -Amylase- und $\alpha$ -Glucosidase-Assay | 84 |
| 5.3.1 | Subfraktionen der Anthocyan- und Copigmentfraktion des Aroniadirektsaft-Extraktes    | 85 |

## Inhaltsverzeichnis

|        |   |         |
|--------|---|---------|
| 5.3.2  | Subfraktionen der Anthocyan- und Copigment-Fraktion des Granatapfeldirektsaft-Extraktes       | 87      |
| 5.3.3  | Subfraktionen der Anthocyan- und Copigment-Fraktion des roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes | 89      |
| 5.3.4  | Fazit   | 91      |
| 5.4    | Untersuchung von Reinsubstanzen   | 93      |
| 5.4.1  | Vergleich verschiedener Anthocyane  | 93      |
| 5.4.2  | Vergleich verschiedener Copigmente  | 94      |
| 5.4.3  | Fazit der Untersuchung von Anthocyanen und Copigmenten als Reinsubstanzen                     | 96      |
| 5.5    | Ergebnisse der Kinetikmessungen   | 98      |
| 5.5.1  | Ergebnisse des $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assays   | 100     |
| 5.5.2  | Ergebnisse des $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assays                                       | 101     |
| 5.5.3  | Fazit   | 103     |
| 5.6    | Pilotstudie   | 104     |
| 5.6.1  | Einfluss der Extrakte auf den Blutglucosespiegel  | 104     |
| 5.6.2  | Einfluss der Extrakte auf den Gewebsglucosespiegel  | 105     |
| 5.6.3  | Einfluss der Extrakte auf die Insulinkonzentration  | 106     |
| 5.6.4  | „Responder“ und „Nicht-Responder“   | 107     |
| 5.6.5  | Einfluss von Acarbose auf den Gewebsglucosespiegel  | 108     |
| 5.6.6  | Fazit   | 109     |
| 6      | Fazit und Ausblick  | 111     |
| 7      | Literaturverzeichnis  | VII     |
| 8      | Tabellenverzeichnis   | XXXI    |
| 9      | Abbildungsverzeichnis   | XXXIII  |
| 10     | Anhang  | XXXVIII |
| 10.1   | Untersuchung der Extrakte aus neun verschiedenen Fruchtsaftsorten                             | XXXVIII |
| 10.1.1 | Aronia  | XXXVIII |
| 10.1.2 | Granatapfel   | XXXVIII |
| 10.1.3 | Rote Traube   | XXXVIII |
| 10.1.4 | Preiselbeere  | XXXVIII |
| 10.1.5 | Cranberry   | XXXIX   |
| 10.1.6 | Schwarze Johannisbeere  | XXXIX   |
| 10.1.7 | Heidelbeere   | XXXIX   |
| 10.1.8 | Holunderbeere   | XXXIX   |
| 10.1.9 | Sauerkirsche  | XXXIX   |
| 10.2   | Untersuchung der Extrakte aus verschiedenen roten Traubensorten                               | XL      |
| 10.3   | Untersuchung der Fraktionen   | XL      |
| 10.4   | Untersuchung der Subfraktionen des Aroniadirektsaft-Extraktes                                 | XLI     |

## Inhaltsverzeichnis

|                           |  |         |
|---------------------------|--|---------|
| 10.5                      | Untersuchung der Subfraktionen des Granatapfeldirektsaft-Extraktes       | XL I    |
| 10.6                      | Untersuchung der Subfraktionen des roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes | XL II   |
| 10.7                      | Untersuchung von Reinsubstanzen  | XL III  |
| 10.7.1                    | Vergleich verschiedener Anthocyane                                       | XL III  |
| 10.7.2                    | Vergleich verschiedener Copigmente                                       | XL III  |
| 10.8                      | Ergebnisse der Kinetikmessungen  | XL IV   |
| 10.8.1                    | $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assay                                      | XL IV   |
| 10.8.2                    | $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assay                                  | XL VI   |
| 10.9                      | Ergebnisse der Humanstudie   | XL VIII |
| 10.9.1                    | Einfluss auf den Blutglucosespiegel                                      | XL VIII |
| 10.9.2                    | Einfluss auf den Gewebsglucosespiegel                                    | L       |
| 10.9.3                    | Einfluss auf die Insulinkonzentration                                    | L II    |
| Danksagung                |  | L IV    |
| Lebenslauf                |  | L V     |
| Beruflicher Werdegang     |  | L V     |
| Ausbildung                |  | L V     |
| Schulbildung              |  | L V     |
| Veröffentlichungen        |  | L VI    |
| Publikationen             |  | L VI    |
| Diskussionsvorträge       |  | L VI    |
| Posterbeiträge            |  | L VII   |
| Eidesstattliche Erklärung |  | L VIII  |



## Abkürzungsverzeichnis

|               |   |
|---------------|---|
| 3,5-DNS       | 3,5-Dinitrosalicylsäure                             |
| A             | Aronia  |
| $\alpha$ -Amy | $\alpha$ -Amylase                                   |
| AF            | Anthocyanfraktion                                   |
| $\alpha$ -Glu | $\alpha$ -Glucosidase                               |
| AM            | Ammoniummolybdat                                    |
| AMP           | Adenosinmonophosphat                                |
| ARE           | <i>antioxidant response element</i>                 |
| ATP           | Adenosintriphosphat                                 |
| AUC           | <i>Area under curve</i>                             |
| BMI           | <i>Body mass index</i>                              |
| cAMP          | cyclisches Adenosinmonophosphat                     |
| CCC           | <i>Countercurrent chromatography</i>                |
| CF            | Copigmentfraktion                                   |
| CNPG3         | 2-Chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid    |
| CUPRAC        | <i>Cupric Reducing Antioxidant Capacity</i>         |
| DNA           | Desoxyribonukleinsäure                              |
| DFS           | diabetisches Fußsyndrom                             |
| DOAP          | diabetische Osteoarthropathie                       |
| DPP IV        | Dipeptidylpeptidase IV                              |
| DPPH          | 2,2-Diphenyl-1-Pikryl-Hydrazyl                      |
| DSPN          | distal-symmetrische sensomotorische Polyneuropathie |
| E             | Enzym   |
| EI            | Enzym-Inhibitor-Komplex                             |
| EIA           | enzymatische Immunadsorptionsverfahren              |
| ELISA         | <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>            |
| ES            | Enzym-Substrat-Komplex                              |
| ESI           | Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplex                    |
| G             | Granatapfel   |
| GLP-1         | <i>Glucagon-like-peptide-1</i>                      |
| GLUT-2        | Glucosetransporter Typ 2                            |
| GLUT-4        | Glucosetransporter Typ 4                            |
| GP $\alpha$   | Glykogenphosphorylase $\alpha$                      |
| H-Gly-Pro-AMC | Glycyl-L-Prolin-7-Amido-Methylcumarin               |
| HO-1          | Hämoxygenase-1                                      |

|                  |  |
|------------------|--|
| I                | Inhibitor  |
| IC <sub>50</sub> | mittlere inhibitorische Konzentration (engl: <i>Inhibition concentration</i> )         |
| IL-6             | Interleukin 6  |
| IL-8             | Interleukin 8  |
| IL-10            | Interleukin 10   |
| JC               | Saftkonzentrat (engl: <i>juice concentrate</i> )                                       |
| KAT              | Katalase   |
| LDL              | <i>low-density lipoprotein</i>   |
| MG               | Malachitgrün   |
| Mio.             | Millionen  |
| Mo               | Molybdat   |
| NADP             | Nicotinamidadeninukleotidphosphat  |
| Neg.             | Negativ  |
| NFC              | Direktsaft (engl: <i>not from concentrate</i> )  |
| NQO1             | NAD(P)H dehydrogenase [quinone] 1  |
| Nrf2             | <i>Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2</i>                                     |
| ORAC             | <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>  |
| P                | Produkt  |
| PF               | Polymerfraktion  |
| P <sub>i</sub>   | Orthophosphat  |
| PK               | Positivkontrolle   |
| pNPG             | para-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid   |
| Pos.             | Positiv  |
| RT               | Rote Traube  |
| S                | Substrat   |
| SGLT-1           | Natrium/Glucose-Cotransporter 1 (engl: <i>Sodium dependent glucose transporter 1</i> ) |
| SOD              | Superoxid-Dismutase  |
| TEAC             | <i>Trolox Equivalent Antioxidative Capacity</i>  |
| TNF- $\alpha$    | Tumornekrosefaktor- $\alpha$   |
| TPC              | Gesamtpolyphenolgehalt (engl: <i>Total phenolic content</i> )                          |
| UDP              | Uridindiphosphat   |
| UTP              | Uridintriphosphat  |
| UV               | Ultraviolettstrahlung  |

## Kurzzusammenfassung

Die Enzyme  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase katalysieren die Hydrolyse von Polysacchariden in resorbierbare Monosaccharide und damit die Glucosefreisetzung ins Blut. Durch Glykogenphosphorylase  $\alpha$  wird ebenfalls Glucose ins Blut freigesetzt, hier jedoch durch die Hydrolyse von Leber- oder Muskelglykogen. Dipeptidylpeptidase IV spielt eine zentrale Rolle bei der Freisetzung von Insulin, indem sie das Inkretinhormon Glucagon-like-peptide-1 (GLP-1) abbaut. Hemmstoffe dieser Enzyme finden in der therapeutischen Behandlung und Prävention von *Diabetes mellitus* Anwendung. Neben synthetischen Inhibitoren sind bereits einige natürliche Stoffe mit hemmender Wirkung bekannt, die in unterschiedlichen Lebensmitteln vorkommen. So erwiesen sich vor allem Flavonoide als potente Hemmer. Diese Arbeit beschäftigt sich mit dem Einfluss verschiedener Extrakte aus neun roten Früchten auf die Aktivität der Enzyme  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV *in vitro* und *in vivo* sowie der Identifizierung der verantwortlichen Inhaltsstoffe und entstand in Kooperation mit der TU Braunschweig. Alle Saftextrakte enthielten potente Inhibitoren der untersuchten Enzyme. Zu den aktivsten Extrakten zählten die aus Aronia (*Aronia melanocarpa*), Granatapfel (*Punica granatum*) und roter Traube (*Vitis vinifera*). Zur Identifizierung der aktiven Inhaltsstoffe wurden diese drei Extrakte in ihre Anthocyan-, Copigment- und Polymerfraktion getrennt und die ersten beiden Fraktionen in Braunschweig weiter subfraktioniert. Auch hier zeigten sich alle (Sub-)Fraktionen als potente Inhibitoren der getesteten Enzyme. Eine Studie mit einzelnen Anthocyanen und Copigmenten belegte diese Ergebnisse und gab Hinweise auf die Strukturabhängigkeit des Inhibitions potentials. So beeinflussen die Anwesenheit und Anzahl der Hydroxyl- sowie Methylgruppen, die Molekülgröße und synergistische Effekte die inhibitorische Aktivität. Um eine irreversible Inaktivierung der Enzyme auszuschließen, wurde der Hemmmechanismus der Extrakte und Fraktionen ermittelt. Hierbei zeigte sich, dass alle untersuchten Proben die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase reversibel hemmten.

Im Rahmen einer humanen Interventionsstudie wurde der Einfluss eines Extraktes aus Aroniadirektsaft sowie eines roten Traubensaftkonzentrats auf den Blut- und Gewebsglucosespiegel als auch auf die Blutinsulinkonzentration untersucht. Für den ersten Extrakt zeigte sich eine signifikante Reduktion der Glucosespiegel, während der zweite die Insulinkonzentration signifikant erhöhte. Für alle Parameter konnten interindividuelle Unterschiede festgestellt werden, die eine Einteilung der Probanden in „Responder“ und „Nicht-Responder“ ermöglichte. In der vorliegenden Arbeit konnte das inhibitorische Potential verschiedener Extrakte aus roten Früchten sowie unterschiedlicher Polyphenole auf  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV *in vitro* nachgewiesen sowie relevante Struktureigenschaften von Inhibitoren ermittelt werden. Im Rahmen einer humanen Interventionsstudie konnten die beobachteten Effekte auch *in vivo* bestätigt werden. Die Ergebnisse dieser Pilotstudie sollten zukünftig mit einer höheren Anzahl an Probanden und einer höheren Dosierung der Extrakte abgesichert werden.

## Abstract

The enzymes  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase catalyze the hydrolysis of polysaccharides into absorbable monosaccharides and thus the release of glucose into the blood. Glycogen phosphorylase  $\alpha$  also releases glucose into the blood, but here by cleaving liver or muscle glycogen. Dipeptidyl peptidase IV plays a central role in the release of insulin by degrading the incretin hormone glucagon-like-peptide-1 (GLP-1). Inhibitors of these enzymes are used in the therapeutic treatment and prevention of *diabetes mellitus*. In addition to synthetic inhibitors, some natural substances with inhibitory effects are already known to occur in various foods. Flavonoids, in particular, have been shown to be potent inhibitors. This work deals with the influence of different extracts from nine red fruits on the activity of the enzymes  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  and Dipeptidylpeptidase IV *in vitro* and *in vivo* as well as the identification of the responsible constituents and was done in cooperation with the TU Braunschweig. All juice extracts contained potent inhibitors of the enzymes studied. Among the most active extracts were those from aronia (*Aronia melanocarpa*), pomegranate (*Punica granatum*) and red grape (*Vitis vinifera*). To identify the active constituents, in Braunschweig these three extracts were separated into their anthocyanin, copigment, and polymer fractions, and the first two fractions were further subfractionated. Again, all (sub)fractions were shown to be potent inhibitors of the enzymes tested. An investigation of single anthocyanins and copigments substantiated these results and provided evidence for the structure dependence of the inhibition potential. Thus, the presence and number of hydroxyl as well as methyl groups, the molecular size and synergistic effects influenced the inhibitory activity. To exclude irreversible inactivation of the enzymes, the inhibition mechanism of the extracts and fractions was determined. This showed that all samples tested reversibly inhibited the activity of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase.

In a human intervention study, the influence of an extract from aronia direct juice and a red grape juice concentrate on blood and peripheral glucose levels as well as blood insulin concentration was investigated. For the first extract, there was a significant reduction in glucose levels, while the second significantly increased insulin concentration. Interindividual differences were found for all parameters, which allowed the classification of the subjects into 'responders' and 'non-responders'. In the present work, the inhibitory potential of different extracts of red fruits as well as different polyphenols on  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, glycogen phosphorylase  $\alpha$ , and dipeptidyl peptidase IV was demonstrated *in vitro* and relevant structural properties of inhibitors were determined. In a human intervention study, the observed effects could also be confirmed *in vivo*. The results of this pilot study should be validated in the future with a higher number of subjects and a higher dosage of the extracts.

# 1 Einleitung

*Diabetes mellitus* ist eine Stoffwechselerkrankung, die auf eine Störung im Insulinstoffwechsel zurückgeht und durch einen chronisch erhöhten Blutzuckerspiegel gekennzeichnet ist. Es werden drei Typen von Diabetes (Typ-I-, Typ-II- und Gestationsdiabetes) unterschieden, wobei über 95% aller Diabetiker in Deutschland an *Diabetes mellitus* Typ II leiden [Jacobs und Rathmann, 2019]. Weltweit wurde bei ca. 463 Millionen Menschen eine Diabeteserkrankung diagnostiziert, wobei 9,5 Millionen auf Deutschland entfallen. Außerdem ist eine weiter steigende Tendenz zu beobachten [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019]. Personen, die an *Diabetes mellitus* erkrankt sind, haben ein hohes Risiko schwerwiegende Folgeerkrankungen zu entwickeln, wie Schlaganfälle, Retinopathie, Nephropathien oder Neuropathien [International Diabetes Federation, 2013]. Die Ursachen für eine Entwicklung von *Diabetes mellitus* sind vielfältig. Neben einer genetischen Veranlagung spielt auch der Lebensstil (Alter, Übergewicht, körperliche Untätigkeit) eine entscheidende Rolle [Concannon *et al.*, 2009; McMullan *et al.*, 2013].

Der Kohlenhydratstoffwechsel nimmt direkten Einfluss auf den Blutzuckerspiegel. Die Verdauung und Resorption von Kohlenhydraten dienen der Aufnahme von Monosacchariden aus komplexen Polysacchariden, wie z.B. Stärke. Diese wird sowohl durch  $\alpha$ -Amylasen, wie die Speichel- und die Pankreasamylase, als auch durch spezifische membrangebundene Disaccharidasen ( $\alpha$ -Glucosidase, Saccharase, Lactase) katalysiert. Anschließend werden diese Monosaccharide über die Enterozyten in die Blutbahn abgegeben [Biesalski und Grimm, 2011; Löffler *et al.*, 2006]. Ein weiterer Weg der Glucosefreisetzung ins Blut findet sich im Glykogenstoffwechsel. Hierbei wird Glykogen, die hepatische und muskuläre Speicherform der Glucose, durch die Glykogenphosphorylase  $\alpha$  in mehrere Glucose-1-phosphat-Einheiten abgebaut, welche nach einer anschließenden Umwandlung durch die Glucosephosphat-Mutase als Glucose-6-phosphat ins Blut abgegeben wird [Berg *et al.*, 2013]. Ein zentraler Bestandteil im Glucosestoffwechsel spielt auch das Hormon Insulin. Dieser ermöglicht die Aufnahme von Glucose in verschiedene Zellen, wie beispielsweise in Muskulatur und Fettgewebe [Rehner und Daniel, 2010]. Das Enzym Dipeptidylpeptidase IV beeinflusst hierbei die Dauer der Insulinfreisetzung [Deacon, 2019].

Zur Behandlung und in der Prävention von Diabeteserkrankungen spielt die Regulation der beschriebenen Stoffwechselwege eine wesentliche Rolle. Hierbei gibt es verschiedene Angriffspunkte für mögliche Inhibitoren. Einerseits kann die Enzymaktivität der  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase im Speichel, Magen und Darm gehemmt werden, andererseits aber auch die Glucosetransporter in den Enterozyten des Dünndarms [Ali *et al.*, 2006; Subramanian *et al.*, 2008; Sands *et al.*, 2015]. Eine weitere Möglichkeit stellt die Inhibition der Aktivität der Enzyme Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV dar [Ablat *et al.*, 2014; Connolly *et al.*, 2014]. Es gibt einige bekannte Regulatoren des Glucosestoffwechsels. Dazu zählen die therapeutisch eingesetzten synthetischen Wirkstoffe Acarbose®, Voglibose® und Miglitol®, welche als  $\alpha$ -Amylase-

und  $\alpha$ -Glucosidase-Hemmer wirken [DiNicolantonio *et al.*, 2015; Vichayanrat *et al.*, 2002; Ueno *et al.*, 2015]. Aber auch Gliptine (z.B. Sitagliptin), die Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV sind, finden ihren Einsatz in der Diabetesbehandlung [Cahn und Raz, 2013]. Bei der Entwicklung neuartiger antidiabetischer Wirkstoffe sind auch Inhibitoren der Glykogenphosphorylase  $\alpha$ , die das Enzym im inaktivierten Zustand halten, in den Fokus der Forschung gerückt [Loughlin *et al.*, 2008].

Eine weitere Substanzklasse, welche sich bezüglich ihrer Wirkung auf die Reduzierung des Blutglucosespiegels und dadurch einer langfristigen Reduzierung des Diabetesrisikos in der Diskussion befindet, stellen sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe (Polyphenole) dar. Ihnen werden insbesondere antioxidative, antiinflammatorische, antidiabetische und chemopräventive Wirkungen zugeschrieben. Vor allem die Gruppe der Flavonoide zeigte ein hohes Potential, die Aktivität von  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase zu hemmen. Die darin vorhandenen Hydroxylgruppen können über Wasserstoffbrückenbindungen besonders effektiv an das katalytische Zentrum der beiden Verdauungsenzyme binden und so deren Aktivität herabsetzen [Lo Piparo *et al.*, 2008]. Hierbei konnte auch festgestellt werden, dass die Inhibition der  $\alpha$ -Glucosidase eher durch Anthocyane beeinflusst wird, während die Inhibition der  $\alpha$ -Amylase verschiedenen Polyphenolklassen zugeschrieben werden kann [Cheplick *et al.*, 2007]. Das Inhibitionspotential gegenüber den beiden Enzymen konnte auch schon in verschiedenen polyphenolhaltigen Extrakten, aus beispielsweise Granatapfel, Blaubeeren, Cranberry, Erdbeeren oder Maulbeeren, nachgewiesen werden [Adisakwattana *et al.*, 2012]. Die Inhibition der Glykogenphosphorylase  $\alpha$  durch einige Pflanzeninhaltsstoffe, wie Catechingallate, Flavonole und Anthocyane, sowie polyphenolhaltige Extrakte aus beispielsweise verschiedenen Traubensorten, wurde ebenfalls bereits beobachtet [Kamiyama *et al.*, 2010; Jakobs *et al.*, 2006; Kantsadi *et al.*, 2014]. Die Beeinflussung der Aktivität von Dipeptidylpeptidase IV konnte ebenfalls für verschiedene Extrakte nachgewiesen werden. Im Fokus der Untersuchungen standen bisher überwiegend Proteinhydrolysate aus beispielsweise Treber, Amaranth, Soja, Lupinen, Milch, Algen und Fisch, da diese die Enzymaktivität durch Bildung prolinreicher Peptide regulieren können [Connolly *et al.*, 2014; Power *et al.*, 2014]. Allerdings konnte auch für Aroniasaft und verschiedene darin enthaltene Anthocyane eine enzymhemmende Wirkung nachgewiesen werden, wobei diese hauptsächlich auf Cyanidin-3,5-diglucosid zurückgeführt werden konnte [Kozuka *et al.*, 2015].

Um den Einfluss von roten Früchten auf Enzyme des Glucose- und Glykogenstoffwechsels zu untersuchen sowie erste Einblicke in das inhibitorische Potential gegenüber Dipeptidylpeptidase IV zu erhalten, wurden im Rahmen dieser Arbeit von der TU Braunschweig hergestellte Extrakte in verschiedenen zellfreien photometrischen Testsystemen betrachtet. Die Fraktionierung der Fruchtextrakte durch den Kooperationspartner diente der Identifizierung der verantwortlichen Inhaltsstoffe sowie Strukturelemente. Eine anschließende Humanstudie sollte überprüfen, ob die *in vitro* gewonnenen Ergebnisse *in vivo* bestätigt werden können.

## 2 Stand der Wissenschaft

### 2.1 Diabetes mellitus

*Diabetes mellitus* ist eine chronische Stoffwechselerkrankung, die auf einen Insulinmangel oder eine Insulinresistenz zurückzuführen ist. Glucose kann von einer Person, die an *Diabetes mellitus* erkrankt ist, nicht in die Zellen aufgenommen werden und verbleibt somit im Blut. Ein chronisch erhöhter Blutzuckerspiegel, auch Hyperglykämie genannt, ist die Folge. Der Name „*Diabetes mellitus*“ stammt aus dem Griechischen und bedeutet „honigsüßer Durchfluss“, er beschreibt das dominierende Symptom, nämlich die Ausscheidung von Zuckern über den Urin [Karlson et al., 1988]. Man unterscheidet drei Hauptarten von Diabetes: Typ-I-Diabetes, Typ-II-Diabetes und Gestationsdiabetes.

Das Hormon Insulin wird in den  $\beta$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas produziert und fördert die Glucoseaufnahme in die Zellen des menschlichen Körpers. Insulin hat drei grundlegende Funktionen im Stoffwechsel. Es zählt zu den wichtigsten Regulatoren des Glucosemetabolismus und trägt somit zur Senkung des Blutzuckerspiegels bei. Hier spielt nicht nur die Steigerung der Glucoseaufnahme in die menschlichen Zellen eine Rolle, sondern auch eine Hemmung der Glykogenolyse bzw. der Gluconeogenese. Eine weitere Funktion ist die Regulierung des Aminosäurespiegels im Blut und die Stimulation der Proteinsynthese. Dies geschieht durch die Steigerung der Aminosäureaufnahme in die Zelle und des Aminosäureeinbaus in Proteine sowie durch die Hemmung des Proteinabbaus. Die dritte Funktion ist die Steigerung der Triglyceridspeicherung. So regt Insulin die Aufnahme der Triglyceride aus dem Blut in Adipozytenzellen an und hemmt gleichzeitig die Lipolyse sowie die Freisetzung von Fettsäuren aus den Fettzellen [Berg et al., 2013]. Insulin bewirkt unter anderem die Translokation des Glucosetransporter Typ 4 (GLUT 4) aus einem intrazellulären Pool an die Plasmamembran der Zellen. Über ihn wird dann Glucose in die Zelle transportiert (s. Abbildung 2-1). Sinkt der Insulinspiegel, löst sich der Membrantransporter wieder von der Zellmembran. Dadurch wird die Glucoseaufnahme beendet. Die Sekretion von Insulin wird hauptsächlich durch den Blutglucosespiegel reguliert. Nach Nahrungsaufnahme wird vermehrt Insulin produziert, wodurch der Spiegel sinkt und sich dadurch wieder normalisiert. Im Hungerzustand wird weniger Insulin produziert, der Spiegel steigt wieder an und normalisiert sich so. Die Insulinproduktion wird aber auch durch verschiedene gastrointestinale Hormone sowie das vegetative Nervensystem reguliert [Berg et al., 2013].

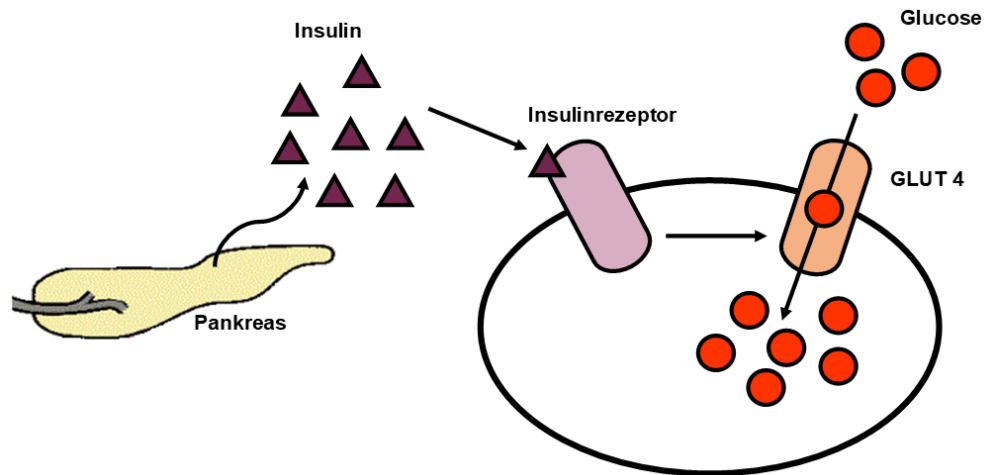


Abbildung 2-1: Die Rolle von Insulin bei der Aufnahme von Glucose über GLUT 4 [modifiziert nach [SwissHealthMed, 2016].

### 2.1.1 Typ-I-Diabetes

Der Typ-I-Diabetes, auch „insulinpflichtiger“ Diabetes genannt, beruht darauf, dass infolge einer Zerstörung der insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen kein oder kaum Insulin produziert werden kann. Die Zerstörung wird durch eine Autoimmunreaktion eingeleitet, welche dafür sorgt, dass die Zellen durch das körpereigene Immunsystem angegriffen werden [Li *et al.*, 2017].

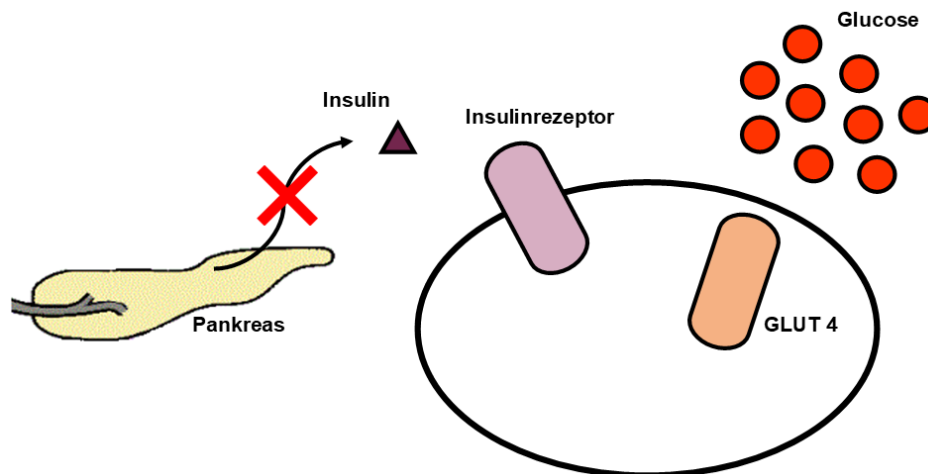


Abbildung 2-2: Mechanismus von Typ-I-Diabetes [modifiziert nach SwissHealthMed, 2016].

Durch diesen Insulinmangel kann Glucose nicht mehr von den insulinabhängigen Zellen aufgenommen werden und verbleibt im Blut. Gleichzeitig wird über den Darm oder die Leber weiterhin Glucose ausgeschüttet. Das führt zu einem stark erhöhten Blutzuckerspiegel, der charakteristisch für Diabetes-Patienten ist. Aufgrund des damit einhergehenden Glucosemangels in den Körperzellen, wird zur Energiegewinnung Fett abgebaut. Die dadurch vermehrt ins Blut abgegebenen Ketonkörper führen zu einer starken Ansäuerung des Blutes, was als Ketoazidose bezeichnet wird. Im Extremfall kann dies zu einem ketoazidotischen Koma führen, welches typisch



für den Typ-I-Diabetes ist. Die nicht aufgenommene Glucose wird in den Urin abgegeben und über diesen ausgeschieden. Dies führt zu einer erhöhten Urinausscheidung und damit verbunden auch zu einem trockenen Mund und einem übermäßigen Durstgefühl [Bluestone *et al.*, 2010].

Die Ursachen für die Entstehung von Typ-I-Diabetes sind vielfältig. Die genetischen Faktoren spielen eine wichtige Rolle. Es gibt mehr als 20 Gene, denen ein Zusammenhang mit der Entstehung von *Diabetes mellitus* Typ I nachgewiesen werden konnten. Allerdings kann sich die Erkrankung nur polygenetisch entwickeln, das heißt, dass mehrere genetische Veränderungen vorliegen müssen [Concannon *et al.*, 2009]. Auch die Umweltfaktoren spielen eine bedeutende Rolle. Die anfangs erwähnte Autoimmunreaktion kann durch körperfremde Antigene, die den körpereigenen Proteinen ähneln, hervorgerufen werden. Das Immunsystem richtet sich in der Folge sowohl gegen diese Antigene als auch gegen die körpereigenen Oberflächenproteine auf den  $\beta$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas. Des Weiteren spielen noch Diabetes auslösende Viren, wie z.B. das Rubivirus oder Herpesviren, sowie Bafilomycine, die sich unter anderem an faulenden Stellen von Wurzelgemüse vermehren können, und ein Vitamin-D-Mangel eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Typ-I-Diabetes [Lee *et al.*, 2013; Hettiarachchi *et al.*, 2006; Zipitis und Akobeng, 2008].

*Diabetes mellitus* Typ I kann bei Personen jeden Alters auftreten. Allerdings liegt die Neuerkrankungsrate bei Kindern und Jugendlichen am höchsten. Am häufigsten tritt er zwischen dem elften und dreizehnten Lebensjahr auf. Daher wird er auch jugendlicher bzw. juveniler Diabetes genannt [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019].

### 2.1.2 Typ-II-Diabetes

Der Typ-II-Diabetes, auch nicht-insulinpflichtiger Diabetes genannt, beruht in erster Linie auf einer Insulinresistenz. Hierbei reagieren die Körperzellen, die Insulin benötigen, um Glucose aus dem Blut aufzunehmen, zunehmend unempfindlicher auf Insulin. Zu Beginn der Erkrankung kann die Bauchspeicheldrüse dem durch erhöhte Insulinproduktion entgegenwirken. Allerdings kann diese stark erhöhte Produktion irgendwann nicht mehr aufrechterhalten werden. Zur Kontrolle des Blutzuckerspiegels reicht die nun produzierte Menge Insulin nicht mehr aus [Padhi *et al.*, 2020].

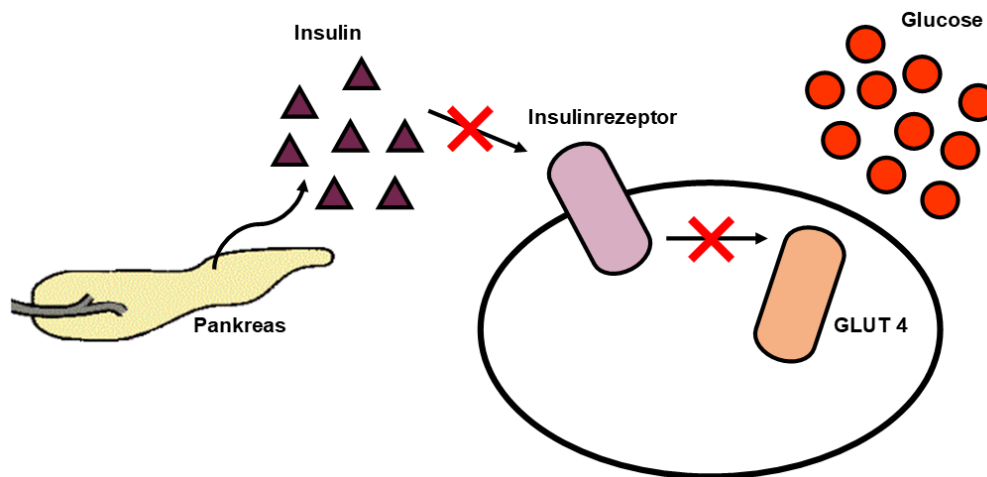


Abbildung 2-3: Mechanismus von Typ-II-Diabetes [modifiziert nach SwissHealthMed, 2016].

Aufgrund der anfänglich möglichen körpereigenen Kompensation der Resistenz zeigen sich bei Typ-II-Diabetikern meist jahrelang keine Symptome. Nur unspezifische Symptome, wie z.B. Müdigkeit, treten auf. Daher bleibt *Diabetes mellitus* Typ II meist lange unerkannt und wird in einigen Fällen erst sehr spät diagnostiziert. Trotz eines Hyperinsulinismus kommt es zu einem stark erhöhten Blutzuckerspiegel. Eine weitere mögliche, aber seltene, Folge ist das so genannte hyperosmolare Koma, welches typisch für Typ-II-Diabetes ist. Hierbei kommt es aufgrund des hohen Blutzuckerspiegels zu einer vermehrten Wasserausscheidung über die Niere. Der erhöhte Flüssigkeitsverlust kann hierbei nicht mehr durch Wasseraufnahme ausgeglichen werden und so kommt es zu einer Dehydrierung des Körpers und zu einem Nierenversagen [Hensen *et al.*, 2006]. Die Ursachen für die Entwicklung von *Diabetes mellitus* Typ II sind vielfältig. Dazu zählt zum einen Übergewicht. Hierbei spielt vor allem das Viszeraalfett, das die inneren Organe umgebende Bauchfett, eine entscheidende Rolle. Dieses bildet sich durch eine überwiegend zucker- und fetthaltige Ernährung aus [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019]. Daneben spielt auch die genetische Veranlagung eine große Rolle. Auch hier erfolgt die Entwicklung der Erkrankung polygenetisch. Neben der genetischen Vorbelastung zählt auch die ethnische Zugehörigkeit zu den beeinflussenden Faktoren. Wie bei bereits bei Typ-I-Diabetes erhöhen auch hier eine erhöhte körpereigene Glukoneogenese, ein Vitamin-D-Mangel, hohes Alter, körperliche Untätigkeit und ein hoher Blutzuckerspiegel während der Schwangerschaft die Wahrscheinlichkeit an Typ-II-Diabetes zu erkranken [McMullan *et al.*, 2013].

*Diabetes mellitus* Typ II ist der häufigste Diabetestyp und macht 90 % aller Fälle aus. Er tritt meist erst im höheren Lebensalter auf, weswegen er früher auch als „Altersdiabetes“ bezeichnet wurde. Allerdings ist ein starker Anstieg in der Erkrankungsrate bei Kindern und Jugendlichen zu sehen [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019].

### 2.1.3 Gestationsdiabetes

Der Gestationsdiabetes, auch „Schwangerschaftsdiabetes“ genannt, tritt erstmals während der Schwangerschaft auf. Frauen entwickeln hierbei meist um die 24. Schwangerschaftswoche eine Insulinresistenz und damit einhergehend einen hohen Blutzuckerspiegel. Die vermehrt im Körper vorliegenden Steroidhormone, wie z.B. Cortisol und Östrogen, wirken dem Insulin entgegen und führen so zu der Insulinresistenz der Körperzellen [Deutsche Diabetes Gesellschaft, 2008].

Der Gestationsdiabetes wird meist nicht bemerkt, da Symptome oft ausbleiben. Auftreten können jedoch ein gesteigertes Durstgefühl, übermäßige Gewichtszunahme, erhöhter Blutdruck oder Veränderungen der Fruchtwassermenge. Entscheidender sind jedoch die Auswirkungen, die eine solche Insulinresistenz auf den Fötus haben kann. Neben Wachstumsstörungen, gehört dazu auch die Gefahr einer Mangelversorgung des Fötus aufgrund einer gestörten Entwicklung der Plazenta. Des Weiteren entwickelt sich im Fötus ebenfalls ein erhöhter Blutzuckerspiegel, dem durch eine vermehrte Insulinproduktion entgegengewirkt werden soll. Nach Beendigung der Glucosezufuhr durch die Mutter nach der Geburt, entsteht eine Unterzuckerung im Neugeborenen, die weitere Nebenwirkungen, wie Lethargie oder Atemaussetzer, nach sich ziehen kann [The HAPO Study Cooperative Research Group, 2008].

Wie bei den beiden anderen Diabetes-Typen, gibt es auch beim Gestationsdiabetes einige Risikofaktoren, die die Entwicklung der Krankheit fördern. Dazu zählen Übergewicht oder das Alter der Mutter. Auch Vorerkrankungen, wie früherer Schwangerschaftsdiabetes oder ein gehäuftes Auftreten von Typ-II-Diabetes in der Familie, erhöhen das Risiko diese Form des Diabetes zu entwickeln [World Health Organization, 2014].

Der Gestationsdiabetes verschwindet in der Regel nach Beendigung der Schwangerschaft, allerdings besteht für die Mütter ein deutlich höheres Risiko bei einer folgenden Schwangerschaft erneut zu erkranken oder später *Diabetes mellitus* Typ II zu entwickeln. Auch für die Kinder erhöht sich die Gefahr später an einem der beiden anderen Diabetes-Typen oder an einem metabolischen Syndrom zu erkranken [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019].

### 2.1.4 Spätfolgen von Diabetes

Personen, die an *Diabetes mellitus* erkrankt sind, haben ein erhöhtes Risiko schwerwiegende Folgeerkrankungen zu entwickeln. Durch den konstant erhöhten Blutzuckerspiegel werden neben dem Blutkreislauf auch das Herzkreislaufsystem, das zentrale Nervensystem und verschiedene Organe beeinflusst.

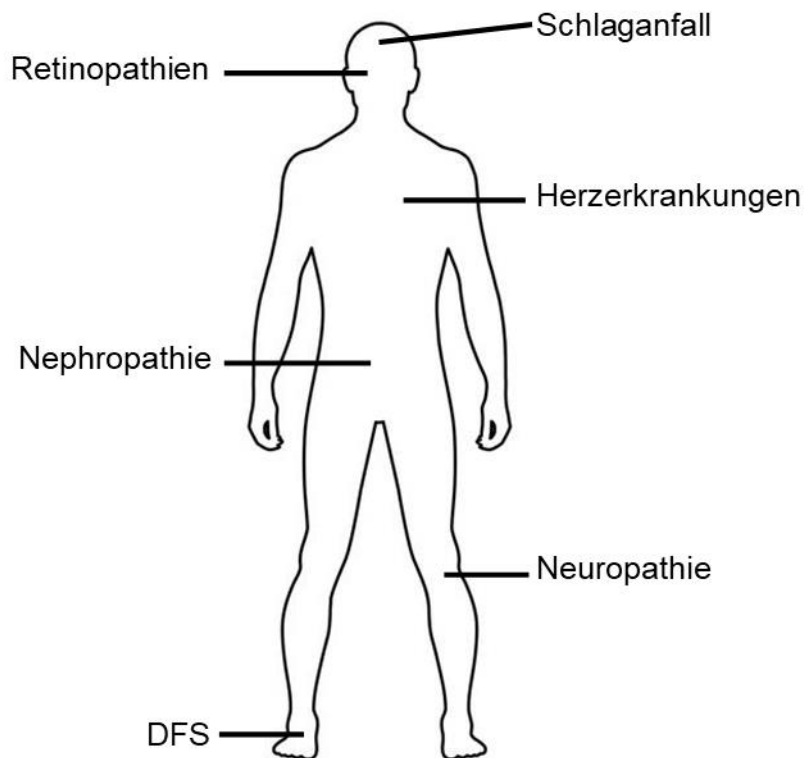


Abbildung 2-4: Die häufigsten Spätfolgen von Diabetes [modifiziert nach [International Diabetes Federation, 2013].

Die kardiovaskulären Erkrankungen zeigen sich vor allem als Herzinfarkt und sind die häufigste Todesursache unter Diabetikern. Hervorgerufen werden sie durch eine Makroangiopathie, bei der die großen Arterien durch Ablagerungen und Verkalkungen Durchblutungsstörungen aufweisen. Diese Angiopathie kann sich aufgrund des hohen Blutzuckerspiegels, des ebenfalls erhöhten Cholesterinspiegels und des erhöhten Blutdrucks entwickeln [Tschöpe *et al.*, 2019].

Diabetes ist eine Hauptursache für chronische Nierenschäden. Hervorgerufen werden sie durch eine Mikroangiopathie, bei der die kleinen arteriellen Blutgefäße eine gestörte Durchblutung aufweisen. Dadurch kann die Nierenaktivität eingeschränkt werden oder sogar komplett ausfallen und so zu einem kompletten Nierenversagen führen. Auch hier erhöht der durch die Diabeteserkrankung hervorgerufene Bluthochdruck das Risiko einer Nephropathie [Merker, 2019].

Retinopathien, die das Sehvermögen einschränken oder gar zur Blindheit führen können, sind eine häufige Folge von *Diabetes mellitus*. Sie werden durch den erhöhten Blutdruck, den ebenfalls erhöhten Cholesterinspiegel, den hohen Blutzuckerspiegel und die damit einhergehende Schädigung der Netzhautgefäße hervorgerufen. Betroffen sind hierbei vor allem die Netzhaut und die Hornhaut [Lutty, 2013].

Bei mehr als jedem dritten Diabetiker entwickeln sich diabetische Neuropathien, bei denen die motorischen, vegetativen und sensiblen Nervenfasern betroffen sein können. Hervorgerufen wird sie durch die Ablagerungen in den Blutgefäßen, welche zu einer Unterversorgung der Nervenzellen mit Nährstoffen und Sauerstoff führt. Es lassen sich zwei Hauptformen unterscheiden. Die autonome

und die periphere Neuropathie. Die autonome Neuropathie ist die Erkrankung des vegetativen Nervensystems. Sie kann fast jedes Organ betreffen und hat eine Vielzahl von Symptomen, wie Blutdruckabfall, Übelkeit oder trockene Haut zur Folge [Said, 2013]. Die periphere Neuropathie ist die Erkrankung des somatischen Nervensystems. Hierbei werden vor allem die peripheren Nervenfasern zerstört. Das kann zu Schmerzen, Kribbeln und Sensibilitätsverlust in den Gliedmaßen, vor allem in den Füßen, führen. Dadurch kann es zu unbemerkten Entzündungen kommen, die zu Infektionen, Geschwürbildung oder zu Amputationen führen. Die häufigste Manifestation dieser Neuropathie ist die distal-symmetrische sensomotorische Polyneuropathie (DSPN) [Ziegler, 2019].

Die diabetische Neuropathie ist neben der Mikro- und der Makroangiopathie die Hauptursache des diabetischen Fußsyndroms (DFS). Es zeigt sich durch schlecht heilende Wunden am Unterschenkel oder am Fuß. Eine Folge des DFS sind Amputationen. Über 70 % aller in Deutschland durchgeführten Amputationen werden bei Menschen mit *Diabetes mellitus* durchgeführt. Eine Sonderform des diabetischen Fußsyndroms ist die sogenannte diabetische Osteoarthropathie (DOAP), bei der es zu einer durch eine Entzündung hervorgerufenen Zerstörung von Knochen und Gelenken kommt [Lawall und Lobmann, 2019].

### 2.1.5 Epidemiologie

9,5 Mio. der 20 – 79 – Jährigen in Deutschland sind an *Diabetes mellitus* erkrankt. Damit liegt Deutschland europaweit auf Platz eins der Länder mit der höchsten Zahl an Erkrankten und zählt somit weltweit als einziges europäisches Land zu den zehn Ländern mit der höchsten absoluten Anzahl an Diabetikern (Platz acht). Hierzu gehören auch die USA, die mit ca. 31 Mio. Betroffenen auf Platz drei liegen. Spitzenreiter ist China mit 116,4 Mio. Diabetikern. Weltweit wurde bei ca. 463 Mio. Menschen zwischen 20 und 79 Jahren eine Diabeteserkrankung diagnostiziert. Circa 352 Mio. Menschen davon - und damit ca. 76 % aller Diabetiker - sind zwischen 20 und 64 Jahren alt [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019].

Über 95 % aller Diabetiker in Deutschland leiden an *Diabetes mellitus* Typ II. Aufgrund verschiedener Änderungen der Lebensbedingungen der Bevölkerung steigt die Häufigkeit von Typ-II-Diabetes immer mehr an und konnte sich so zu einem beträchtlichen Gesundheitsproblem entwickeln [Jacobs und Rathmann, 2019].

In städtischen Gegenden leben fast doppelt so viele Diabetiker wie in ländlichen Gegenden. Das liegt daran, dass eine direkte Korrelation zwischen der Entwicklung einer Diabeteserkrankung und der Lebensweise herrscht. Vermehrte Zuckeraufnahme, verminderter Verzehr von Obst und Gemüse sowie weniger körperliche Aktivität sind Risikofaktoren, die zu Diabetes führen können und aufgrund der urbanen Lebensweise gehäuft in Städten auftreten [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019].

Auch in den nächsten Jahren ist mit einem kontinuierlichen Anstieg der Zahlen zu rechnen. Schätzungen zufolge soll die Zahl weltweit bis 2024 auf 700 Mio. Menschen ansteigen, wovon China allein 147,2 Mio. ausmachen soll. Auch in Europa sollen die Zahlen weiterhin steigen, in Deutschland sollen 2030 schätzungsweise bereits 10,1 Mio. Erkrankte leben. Der größte Anstieg ist jedoch in Ländern zu erwarten, die sich von Ländern mit geringem Einkommen zu Ländern mit einem mittleren Einkommen entwickeln (Schwellenländer), wie z.B. Pakistan, wo sich die Zahlen Schätzungen zufolge von 2019 bis 2045 verdoppeln sollen [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019].

## 2.2 Verdauung und Resorption von Kohlenhydraten

### 2.2.1 Der Kohlenhydratstoffwechsel

Unter Verdauung versteht man die Spaltung komplexer Nahrungsbestandteile in resorbierbare Einheiten mit Hilfe von Verdauungsenzymen. Durch enzymatische Hydrolyse werden hierbei Kohlenhydrate in die kleinstmöglichen Verbindungen (Monosaccharide) gespalten, die im weiteren Verlauf zur Energiegewinnung beispielsweise über Glykolyse genutzt werden kann [Sanders, 2016].

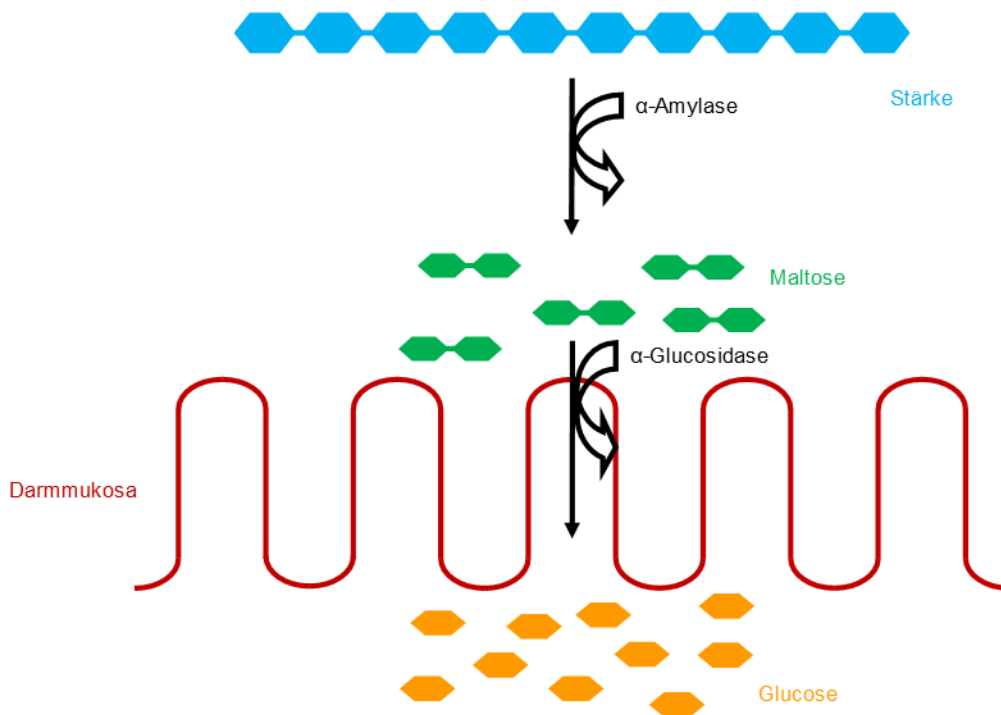


Abbildung 2-5: Prinzip des Stärkeabbaus [modifiziert nach Goodman, 2010].

Die Verdauung beginnt bereits im Mund mit Hilfe der Speichelamylase, die von den Speicheldrüsen der Mundhöhle gebildet wird. Diese spaltet die durch die Nahrung aufgenommene Stärke hydrolytisch durch Trennung der inneren  $\alpha$ -1,4-glykosidischen Bindungen in das Disaccharid Maltose. Im Magen denaturiert die Speichelamylase aufgrund des dort herrschenden sauren Milieus und verliert so nach einiger Zeit ihre Wirksamkeit [Goodman, 2010]. Die Verdauung setzt sich im Dünndarm, genauer im Duodenum, mit Hilfe der Pankreasamylase, die in den Azinuszellen der

Bauchspeicheldrüse gebildet wird, fort. Sowohl die Speichel- als auch die Pankreasamylase gehören zur Gruppe der  $\alpha$ -Amylasen (EC 3.2.1.1, s. Abbildung 2-6, A) [Kam *et al.*, 2013].

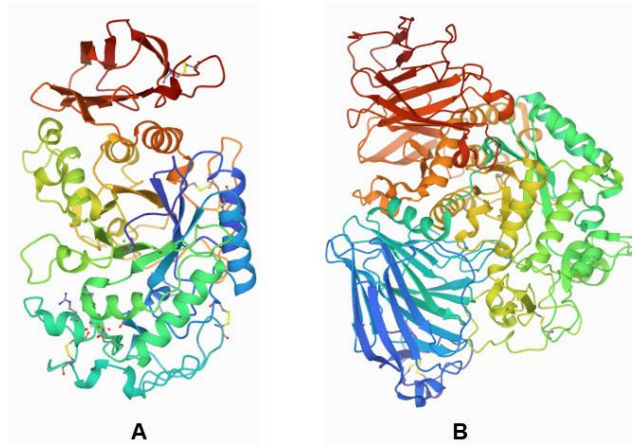


Abbildung 2-6: Röntgenstruktur der  $\alpha$ -Amylase (A, PDB 1SMD) [Ramasubbu, 1996] und der  $\alpha$ -Glucosidase (B, PDB 3TON) [Shen *et al.*, 2011].

Das durch  $\alpha$ -Amylasen gebildete Disaccharid Maltose wird nun durch eine spezifische Disaccharidase, die sich in der Membran der Enterozyten des Dünndarms befinden, durch Hydrolyse der  $\alpha$ -1,4-glykosidischen Bindung in Monosaccharide gespalten. Diese Disaccharidase katalysiert zwar eine ähnliche Reaktion wie die  $\gamma$ -Amylasen, gehören aber nicht zur Gruppe der Amylasen. Maltose wird durch  $\alpha$ -Glucosidase (EC 3.2.1.20, s. Abbildung 2-6, B) - oder früher auch Maltase genannt - in zwei Moleküle  $\alpha$ -D-Glucose gespalten.  $\alpha$ -Glucosidase ist an den Mikrovilli des Dünndarms lokalisiert und wird in den Granulozyten und den Nieren gebildet [Matsui *et al.*, 2001]. Eine weitere Gruppe der Glucosidasen bilden die Cellulasen (EC 3.2.1.4), die in Pilzen und Bakterien vorkommen und das Polysaccharid Cellulose in  $\beta$ -D-Glucose spalten [Lin *et al.*, 2009].  $\beta$ -Glucosidasen (EC 3.2.1.21) kommen ebenfalls in Pilzen und Bakterien vor und sind dort für die hydrolytische Abspaltung terminaler  $\beta$ -D-Glucose von  $\beta$ -D-Glucanen verantwortlich [Belitz *et al.*, 2008]. Die vierte und letzte Gruppe der Glucosidasen bildet das Glykogen-debranching-Enzym (EC 3.2.1.33). Es kommt in Säugetieren und Pilzen vor und ist dort für den Abbau der  $\alpha$ -1,6-glykosidischen Verzweigung des Glykogens in Leber- und Muskelzellen verantwortlich [Song *et al.*, 2010].

Über den Natrium/Glucose-Symporter 1 (SGLT-1), ein Zellmembranprotein, das mittels Symport Monosaccharide und Natriumionen in die Zelle transportiert, gelangt die entstandene Glucose aktiv in die Mukosazelle (s. Abbildung 2-7). Aufgrund der niedrigen Natriumkonzentration in der Zelle läuft der Transport nach innen gerichtet ab, wobei das Carriermolekül stets zwei Natriumionen und ein Molekül Glucose bindet und durch die Membran transportiert [Löffler *et al.*, 2006]. Die Natriumionen werden mit Hilfe einer Natrium-Kalium-ATPase wieder aus der Zelle entfernt und Glucose wird mit Hilfe des Glucosetransporter Typ 2 (GLUT-2), der in verschiedenen Zelltypen in der Membran

lokalisiert ist, aufgrund der hohen intrazellulären Glucosekonzentration über erleichterte Diffusion ins Blut abgegeben und kann so zu den Zielzellen transportiert werden [Kellett *et al.*, 2008].

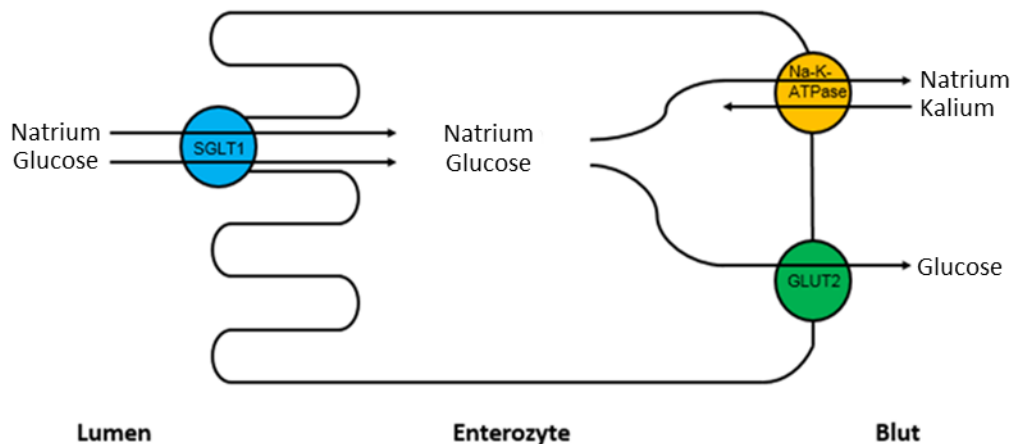


Abbildung 2-7: Modell der Glucoseabsorption durch die Enterozyten im Dünndarm [modifiziert nach [Wright, 1998]].

Glucose kann nur von Zellen in der Leber, dem Gehirn und von Erythrozyten direkt aufgenommen werden. Die anderen Zellen benötigen spezielle Membrantransporter, die sich im intrazellulären Pool befinden. Insulin bewirkt die Translokation dieser Transporter an die Zellmembran, wodurch dort die Aufnahme von Glucose ermöglicht wird [Ezeh *et al.*, 2020].

Die Leber ist das zentrale Organ der Glucosehomöostase, also der Aufrechterhaltung des Blutzuckerspiegels. In sie wird ein Großteil der im Blut zirkulierenden Glucose aufgenommen und als Glykogen gespeichert, um dieses bei Bedarf wieder abzubauen und als Glucose ins Blut freizusetzen und zu den jeweiligen Zielzellen zu transportieren. Durch ein Rückkopplungssystem, an dem die Hormone Insulin und Glucagon beteiligt sind, wird die Blutglucosekonzentration konstant gehalten (s. Abbildung 2-8). Hierzu muss die Glucoseaufnahme bzw. -produktion und der Glucoseverbrauch im Gleichgewicht sein. Insulin ermöglicht die Aufnahme von Glucose in bestimmte Organe und führt somit zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels. Die Sekretion von Insulin korreliert mit dem herrschenden Blutzuckerspiegel. Glucagon, das als Gegenspieler des Insulins angesehen werden kann und in den  $\alpha$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas produziert wird, ist für die Blutzuckererhöhung verantwortlich, indem es den Glykogenabbau fördert und gleichzeitig die Glykogensynthese hemmt. Seine Sekretion verhält sich invers zum vorhandenen Blutzuckerspiegel [Maid-Kohnert, 2001].



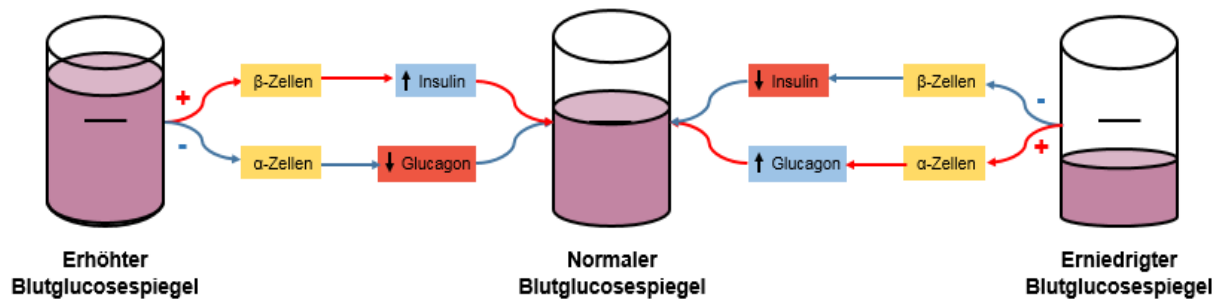


Abbildung 2-8: Modell der Glucosehomöostase [nach [Biesalski und Grimm, 2011].

### 2.2.2 Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels und therapeutische Targets

Die Regulation der Verdauung und der Resorption von Kohlenhydraten spielt vor allem in der Behandlung von Diabetes-Erkrankungen und der Prävention von Diabetes-Folgeerkrankungen eine bedeutende Rolle. Minimiert werden soll hierbei die Glucoseabgabe ins Blut, da so der erhöhte Blutzuckerspiegel gesenkt werden kann. Hierbei gibt es verschiedene Angriffspunkte für mögliche Inhibitoren.

Zum einen kann die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase gehemmt werden. Dadurch wird die Hydrolyse der durch die Nahrung aufgenommenen Stärke in der Mundhöhle und im Darm in Maltose verringert, wodurch die weitere Verdauung reguliert wird [Ali *et al.*, 2006].

Eine weitere Möglichkeit ist die Hemmung der  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität. Durch diese Hemmung wird die Spaltung des gebildeten oder auch des durch die Nahrung aufgenommenen Disaccharids Maltose an der Dünndarmmukosa in das Monosaccharid Glucose vermindert [Subramanian *et al.*, 2008].

Das letzte therapeutische Target der Kohlenhydratverdauung und -resorption ist die Hemmung des Transports der Glucose ins Blut. Durch Hemmung der Glucosetransporter SGLT-1 oder GLUT-2 wird der Transport der Glucose in die Mukosazelle und anschließend ins Blut verringert [Sands *et al.*, 2015].

Die Hemmung von Verdauungsenzymen des Kohlenhydratstoffwechsels führt aufgrund einer verminderten Verfügbarkeit von Glucose im Darm ebenso wie die Hemmung der Glucosetransporter zu einer reduzierten intestinalen Glucoseresorption und somit zu einem sinkenden Blutzuckerspiegel.

Es gibt einige bekannte Inhibitoren der Glucoseaufnahme. Zu den therapeutisch eingesetzten synthetischen Antidiabetika gehören Verbindungen wie Acarbose (O-4,6-Didesoxy-4-[[{(1S,4R,5S,6S)-4,5,6-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-2-cyclohexen-1-yl]amino}- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1,4)-O- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1,4)-D-glucopyranose), Voglibose ((1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-Dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetraol) und Miglitol ((2R,3R,4R,5S)-1-(2-Hydroxyethyl)-2-(hydroxymethyl)piperidine-3,4,5-triol) (s. Abbildung 2-9) [Al Kazaz *et al.*, 1998].

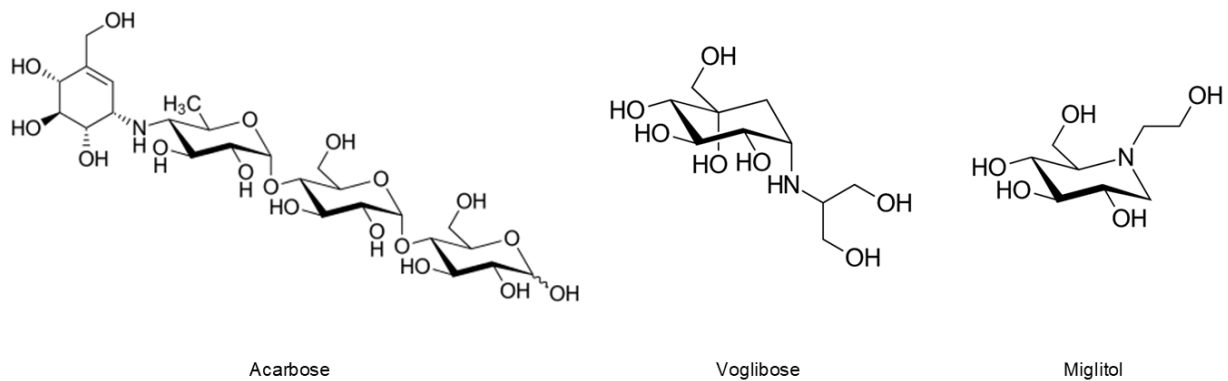


Abbildung 2-9.:  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitoren als Wirkstoffe in Diabetesmedikamenten.

Der seit 1990 aufgrund seiner hohen Hemmwirkung häufigste eingesetzte Wirkstoff ist Acarbose. Dieses Pseudotetrasaccharid bindet über kompetitive Hemmung an die aktiven Zentren dreier Enzyme der Kohlenhydratverdauung ( $\alpha$ -Amylase, Saccharase und  $\alpha$ -Glucosidase), wobei es eine höhere Inhibitionsaktivität gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase im Vergleich zur  $\alpha$ -Amylase zeigt. Starke Schwankungen im Glucosespiegel können zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies führen und somit zu oxidativem Stress, welcher wiederum ein Auslöser für endotheliale Dysfunktionen sein kann. Durch die Regulierung der Glucosekonzentration im Blut senkt Acarbose das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen. Neben seinem Einsatz in der Behandlung von Diabeteserkrankungen, kann es auch in der Diabetesprävention angewendet werden [DiNicolantonio *et al.*, 2015; Wehmeier und Piepersberg, 2004]. Der neueste  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitor ist Voglibose. Da die kompetitive Hemmung dieses Wirkstoffes jedoch nahezu keine Wirkung auf die  $\alpha$ -Amylase-Aktivität zeigt, ist er weniger effizient als Acarbose und wird deshalb seltener eingesetzt [Vichayanrat *et al.*, 2002]. Ein weiterer  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitor ist Miglitol. Da er allerdings sehr schnell und fast komplett im Dünndarm absorbiert wird und dadurch nur kurzen Kontakt mit dem membrangebundenen Enzym hat, ist seine Wirkung eher gering. Dafür zeigt Miglitol jedoch noch zusätzlichen Einfluss auf die Insulinausschüttung der  $\beta$ -Zellen der Bauchspeicheldrüse [Ueno *et al.*, 2015].

Zahlreiche Polyphenole werden im Zusammenhang mit einer Reduzierung des Blutglucosespiegels durch Hemmung der  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität diskutiert. In verschiedenen zellfreien *in vitro*-Studien wurde dieses Inhibitionspotential bereits untersucht. Hierbei zeigten vor allem die Gruppe der Flavonoide ein hohes Potential. Eine Untersuchung von Extrakten aus der Montmorency-Kirsche zeigte eine signifikante Hemmung der Aktivität von  $\alpha$ -Amylase sowie eine leichte Hemmung der  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität. Diese Beobachtung kann vor allem auf die darin enthaltenen Anthocyane wie Cyanidin-3-rutinosid und Cyanidin-3-glucosid zurückgeführt werden [Kirakosyan *et al.*, 2018]. Die Untersuchung von Anthocyanen aus Heidelbeeren und schwarzen Johannisbeeren zeigte ein hohes Potential auf die  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität zu hemmen mit  $IC_{50}$ -Werten von 0,232 und 0,133 mg/ml für die Heidelbeer-Anthocyane und 0,152 und 0,005 mg/ml für die aus schwarzen Johannisbeeren [Zhang *et al.*, 2019]. Um zu ermitteln, welche Verbindung für

die hypoglykämische Wirkung von schwarzen Johannisbeeren zuständig ist, wurde die enzymhemmende Wirkung eines Extraktes aus schwarzen als auch eines aus grünen Johannisbeeren untersucht. Hierbei zeigte sich, dass der Extrakt aus schwarzen Johannisbeeren sowohl die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase als auch der  $\alpha$ -Amylase signifikant hemmte, während der Extrakt aus grünen Johannisbeeren lediglich gegenüber  $\alpha$ -Amylase wirkte. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Inhibition der  $\alpha$ -Glucosidase eher spezifisch durch Anthocyane beeinflusst wird, während die Inhibition der  $\alpha$ -Amylase verschiedenen, anderen Polyphenolen zugeschrieben werden kann [Barik *et al.*, 2020]. Dies bestätigte sich auch bei der Untersuchung verschiedener Extrakte aus Traubenschalen und -fruchtfleisch. Hier war die inhibitorische Aktivität aller Proben gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase höher als gegen  $\alpha$ -Amylase [Tkacz *et al.*, 2019]. Den u.a. in Muskatellertrauben vorkommenden Anthocyanen konnte ebenfalls ein Inhibitionspotential gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase nachgewiesen werden. Für Cyanidin und das Cyanidin-3,5-diglucosid konnte ein  $IC_{50}$  von 0,04 bzw. 6,01 mg/ml ermittelt werden [You *et al.*, 2011]. Auch für Extrakte aus Früchten der blauen Heckenkirsche konnte bereits eine enzymhemmende Wirkung beobachtet werden. So konnte die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase mit  $IC_{50}$ -Werten von 1130 bis 2120  $\mu$ g/ml und die der  $\alpha$ -Amylase mit  $IC_{50}$ -Werten zwischen 2380 und 5080  $\mu$ g/ml gehemmt werden. Das Hauptanthocyan dieser Früchte ist Cyanidin-3-glucosid [Silva und Rupasinghe, 2020]. Xie und Mitarbeiter betrachteten verschiedene Anthocyane in einem strukturbasierten Designansatz, um strukturelle Voraussetzungen für die Eignung als Inhibitor des Verdauungsenzyms  $\alpha$ -Amylase zu ermitteln. Hierbei zeigte sich vor allem Malvidin-3-arabinsid als potenter Inhibitor. Die Erklärung hierfür liegt in der Struktur dieser Verbindung. Sowohl der Anthocyanidinkern als auch der Glykosylrest nehmen Einfluss auf die aktivitätshemmende Wirkung. So bindet Malvidin-3-arabinsid über stabile Wasserstoffbrückenbindungen an die katalytischen Schlüsselreste des Enzyms. Außerdem wurde die  $\alpha$ -Helix-Fraktion des Enzyms durch Anwesenheit des Anthocyan reduziert und die  $\beta$ -Faltblatt-Fraktion erhöht [Xie *et al.*, 2020] Untersuchungen der Ellagitannine des Granatapfels haben ergeben, dass auch diese Polyphenole potente Inhibitoren der beiden Verdauungsenzyme sind. So waren Extrakte aus Granatapfel starke Inhibitoren der  $\alpha$ -Glucosidase ( $IC_{50} = 922,8 \mu$ M) und schwache Inhibitoren der  $\alpha$ -Amylase (42% Hemmung bei einer Konzentration von 3 mM) [Bellesia *et al.*, 2015].

## 2.3 Auf- und Abbau von Glykogen

### 2.3.1 Der Glykogenstoffwechsel

Die leicht mobilisierbare Speicherform von Glucose ist das Glykogen, welches hauptsächlich in der Leber und der Skelettmuskulatur von Tieren und Menschen vorkommt. Das große, verzweigte Polymer besteht aus mehreren Glucosemolekülen, die über  $\alpha$ -1,4-glykosidische Bindungen

miteinander verknüpft sind, während die Verzweigungen auf  $\alpha$ -1,6-glykosidischen Bindungen beruhen [Goodman, 2010].

Die Glykogensynthese und der -abbau wird durch unterschiedliche Enzyme katalysiert und erfolgt über gegenläufige Reaktionen.

Zur Aufrechterhaltung eines konstanten Blutglucosespiegels sowie zur Versorgung des Gehirns mit Glucose und bei plötzlicher intensiver Aktivität, wird Glucose aus Glykogen freigesetzt [Adeva-Andany *et al.*, 2016].

Durch eine hohe Glucosekonzentration im Blut wird die Glykogensynthese initiiert. Hierfür wird die aktivierte Form der Glucose, Uridindiphosphatglucose (UDP-Glucose), benötigt, die aus Glucose-1-Phosphat und Uridintriphosphat (UTP) gebildet wird. Die Glykogen-Synthase (EC 2.4.1.11) fügt anschließend neue Glykosyleinheiten an die nichtreduzierenden endständigen Reste eines von Glykogenin ausgehenden Glykogenmoleküls hinzu. Das *branching enzyme* (Amylo- $\alpha$ -1,4  $\rightarrow$   $\alpha$ -1,6-Transglykosylase, EC 2.4.1.18) bildet die Verzweigungen. Hierzu werden  $\alpha$ -1,4-Bindungen gespalten und sieben Glucoseeinheiten übertragen, die anschließend über  $\alpha$ -1,6-Bindungen mindestens vier Einheiten weiter im Inneren des Moleküls wieder verknüpft werden. Durch die Verzweigungen wird die Anzahl endständiger Glucoseeinheiten erhöht und somit die Geschwindigkeit von Glykogensynthese und -abbau gesteigert [Voet *et al.*, 2019].

Der Glykogenabbau, auch Glykogenolyse genannt, besteht aus drei Schritten. Zum einen die Freisetzung von Glucose-1-Phosphat aus Glykogen, der Transfer von Glucoseeinheiten von einem äußeren Zweig auf den anderen und die anschließende Umwandlung von Glucose-1-Phosphat zu Glucose-6-Phosphat. Insgesamt werden hierfür vier Enzyme benötigt. Eins für den ersten Schritt, zwei für den Umbau des Moleküls und eins um das Abbauprodukt schließlich nutzbar zu machen [Dashty, 2013]. Abbildung 2-10 zeigt eine schematische Darstellung der ersten drei Schritte des Glykogenabbaus.

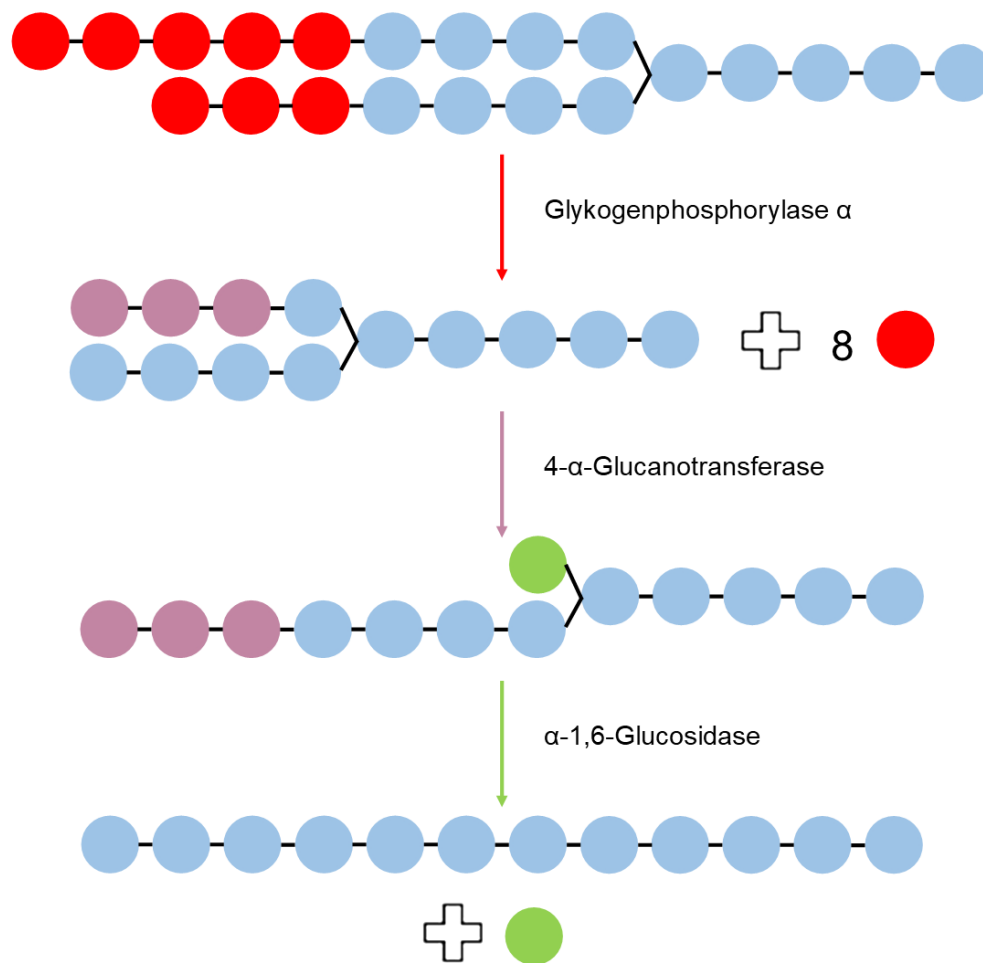


Abbildung 2-10: Die schematische Darstellung der ersten drei Schritte der Glykogenolyse [nach [Berg *et al.*, 2013]. Die Kreise stehen für einzelne Glucoseeinheiten. Farblich hervorgehobene Kreise markieren die Glucoseeinheiten, die durch diesen Schritt abgespalten werden.

Der erste Schritt wird durch das Schlüsselenzym Glykogenphosphorylase  $\alpha$  (EC 2.4.1.1) katalysiert. Hierfür wird in einer sogenannten Phosphorolyse Glykosylreste von den nichtreduzierenden Enden durch Anfügen von Orthophosphat abgetrennt. Liegt das Gleichgewicht *in vivo* auf Seite des Abbaus, ist diese Reaktion *in vitro* reversibel [Livanova *et al.*, 2002]. Die Glykogenphosphorylase  $\alpha$  ist ein Homodimer (s. Abbildung 2-11) aus zwei identischen 97-kd-Untereinheiten mit einer aminoterminalen Domäne mit Glykogenbindungsstelle und einer carboxyterminalen Domäne, dessen katalytisches Zentrum sich in einem Spalt zwischen diesen beiden Domänen befindet. Dieser erste Abbauschritt läuft über ein Carbeniumion-Zwischenprodukt und stoppt vier Einheiten vor einer Verzweigung des Glykogens [Voet *et al.*, 2019].

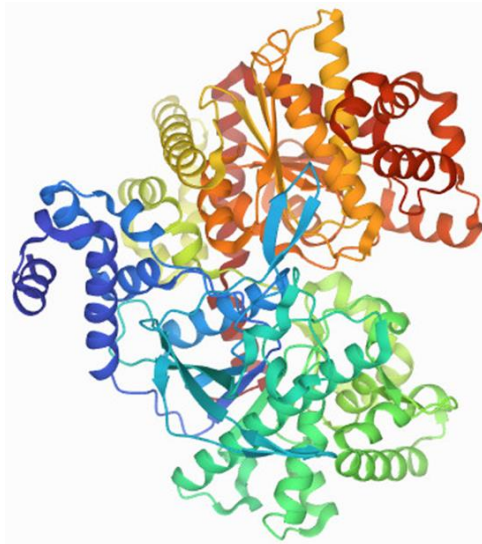


Abbildung 2-11: Röntgenstruktur der Glykogenphosphorylase  $\alpha$  (PDB 4L22) [Lihan *et al.*, 2014].

Der nächste Schritt gliedert sich in zwei Teilschritte, die von verschiedenen Enzymen katalysiert werden. Als erstes überträgt die 4- $\alpha$ -Glucanotransferase (EC 2.4.1.25) drei Glucoseeinheiten von einem äußeren Zweig auf den anderen. Somit bleibt ein einzelner, verzweigter Glucoseresst übrig. Das *debranching enzyme* - eine Amylo- $\alpha$ -1,6-Glucosidase (EC 3.2.1.33) - spaltet die Verzweigung durch Hydrolyse dieses Restes. Das so entstandene Glucosemolekül wird anschließend durch eine Hexokinase (EC 2.7.1.1) phosphoryliert. Die daraus resultierende lineare Glykosylkette kann anschließend wieder durch Glykogenphosphorylase  $\alpha$  abgebaut werden [Voet *et al.*, 2019].

Im Laufe des Glykogenabbaus entstehen somit mehrere Glucose-1-Phosphat-Moleküle. Um diese für andere Stoffwechselwege nutzbar zu machen, müssen sie über die Zwischenstufe Glucose-1,6-bisphosphat in Glucose-6-Phosphat umgewandelt werden (Glykolyse). Diese Reaktion wird von der Glucosephosphat-Mutase (EC 5.4.2.2) katalysiert und bildet den letzten Schritt der Glykogenolyse. Glucose-6-Phosphat erfüllt verschiedene Funktionen im Körper. Zum einen ist es das primäre Substrat für die Glykolyse. Außerdem kann es im Rahmen des Pentosephosphatwegs zu NADP und Ribosederivaten umgewandelt werden. Von der Leber wird Glucose-6-Phosphat jedoch als Glucose in den Blutstrom freigesetzt. Dies katalysiert ein weiteres Enzym, die Glucose-6-Phosphatase (EC 3.1.3.9), welche das Molekül in Glucose und Orthophosphat spaltet, damit die Glucose anschließend aus der Leber transportiert werden kann. Die Muskelzellen besitzen dieses Enzym nicht und können dementsprechend keine Glucose ins Blut abgeben. Hier wird das gebildete Glucose-6-Phosphat über die Glykolyse für die Energiegewinnung [Dashty, 2013].

### 2.3.2 Regulation des Glykogenstoffwechsels und therapeutische Targets

Aufgrund der Beteiligung mehrerer Enzyme beim Glykogenstoffwechsel, ist dessen Regulation komplex. Sie verläuft hauptsächlich über die allosterische Kontrolle der beteiligten Enzyme durch Metabolite. Außerdem können Signaltransduktionskaskaden durch Hormone beeinflusst werden,

wodurch sich die katalytischen Eigenschaften der Enzyme verändern. Auch wenn sich die Grundlage der Kontrolle in Leber und Muskulatur unterscheidet, steht die Glykogenphosphorylase  $\alpha$  hierbei im Mittelpunkt [Voet *et al.*, 2019].

Die Regulation der Enzymaktivität verläuft über eine Feedback-Hemmung. Im Muskel wird die Glykogenphosphorylase über Effektoren wie Adenosinmonophosphat (AMP), ATP und Glucose-6-Phosphat reguliert. Durch eine hohe AMP-Konzentration wird ein niedriger Energiestatus signalisiert und das Enzym wird aktiviert, während eine hohe Konzentration an ATP und Glucose-6-Phosphat aufgrund des hohen Energiestatus die Aktivität der Glykogenphosphorylase hemmt [Loughlin *et al.*, 2008]. In der Leber erfolgt die Kontrolle über den Blutglucosespiegel, wobei ein erhöhter Blutzuckerspiegel zu einer Inaktivierung des Enzyms führt [Hanhineva *et al.*, 2010]

Aber auch hormonelle Einflüsse spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation. Die Ausschüttung von Adrenalin durch Angst oder die Erwartung einer Muskelaktivität sowie die Sezernierung von Glucagon bei niedriger Blutglucosekonzentration lösen eine Signaltransduktionskaskade aus. Durch Bindung dieser Hormone an einen G-Protein-gekoppelten Membran-Rezeptor wird die Proteinkinase A aktiviert, welche wiederum die Phosphorylase-Kinase anregt. Diese überführt die inaktive Glykogenphosphorylase  $\beta$  durch Phosphorylierung in ihre aktive  $\alpha$ -Form. Während Adrenalin diese Kaskade in den Muskeln auslöst, wirkt Glucagon in der Leber [Adeva-Andany *et al.*, 2016].

Über diese Kaskade wird ebenfalls die Glykogensynthese kontrolliert, wobei die Regulation reziprok erfolgt. Das bedeutet, dass die Glykogensynthese durch Phosphorylierung inaktiviert wird. Für die Dephosphorylierung der Glykogenphosphorylase und -synthase, wodurch die Glykogenolyse gestoppt und die Synthese gestartet wird, ist die Proteinphosphatase 1 zuständig. Aber auch ein hoher Blutglucosespiegel und die dadurch ausgelöste Insulinausschüttung führen zu einer Anregung der Glykogensynthese. Durch das Insulin wird die Glykogen-Synthase-Kinase gehemmt, welche die Glykogen-Synthase im inaktiven Zustand hält [Sargsyan und Herman, 2019].

Die Regulation der Glykogenphosphorylase spielt daher auch bei der Behandlung von *Diabetes mellitus* eine bedeutende Rolle. Es wurden bereits einige Pflanzeninhaltsstoffe untersucht, die über die Inhibition des Schlüsselenzyms der Glykogenolyse zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels führen können [Ablat *et al.*, 2014]. Für polyphenolhaltige Extrakte verschiedener Traubensorten sowie für Catechingallate aus grünem Tee wurde eine Hemmung der Glykogenphosphorylase bereits nachgewiesen [Kantsadi *et al.*, 2014; Kamiyama *et al.*, 2010]. Diese natürlichen Leitsubstanzen dienen der Entwicklung neuer Behandlungsstrategien von Hyperglykämie [Loughlin *et al.*, 2008]. So konnten bisher eine große Anzahl an regulatorischen Angriffspunkten der Glykogenphosphorylase identifiziert werden. Zum einen eine katalytische Bindungsstelle, welche Glykogen, Glucose-1-Phosphat, Glucose und Glucoseanaloga bindet. Zum anderen ein inhibitorisches Purin-Nukleosid-Zentrum, an das Coffein, Purinderivate oder heterocyclische Verbindungen binden können, des Weiteren ein allosterisches Zentrum für AMP, ATP und Glucose-

6-Phosphat. Außerdem gibt es ein Serin-14-Phosphat-Zentrum und ein Glykogen-Speicher-Zentrum [Jakobs *et al.*, 2006]. Die Glykogenphosphorylase soll hierbei im inaktivierten Zustand gehalten werden, wodurch die Freisetzung der Glucose reduziert wird [Oikonomakos *et al.*, 1999; Oikonomakos *et al.*, 2000].

## 2.4 Insulinstoffwechsel

### 2.4.1 Der Insulinstoffwechsel

Insulin wird in den  $\beta$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas produziert. Während der Transport von Glucose in Leber, Gehirn und Erythrozyten über Glucosetransporter insulinunabhängig erfolgt, ist er in Muskulatur und Fettgewebe abhängig von Insulin. Hier wird die Glucose mittels erleichterter Diffusion über GLUT-4 in die Zellen transportiert. Durch Insulin wird die Anzahl dieser Transporter erhöht. Zudem stimuliert es die Speicherung von Glucose in Form von Glykogen in der Leber und in den Muskelzellen. Zusammen mit Glucagon, welches in den  $\alpha$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas gebildet wird, reguliert Insulin die Blutglucosekonzentration. Steigt sie an, wird vermehrt Insulin ausgeschüttet und die Glucoseaufnahme in Skelettmuskel- und Fettzellen wird stimuliert. Eine Senkung des Blutzuckerspiegels führt jedoch zu einer Anregung der Glucagonproduktion, wodurch der Glykogenabbau gefördert und gleichzeitig die Glykogensynthese gehemmt wird. Die beiden Pankreashormone beeinflussen sich im Stoffwechsel gegenseitig. Die Insulinkonzentration ist außerdem von sekretionsfördernden Hormonen, wie Glucagon-like-peptide-1 (GLP-1) abhängig [Koeslag *et al.*, 2003].

Das Enzym Dipeptidylpeptidase IV (DPP IV; EC 3.4.14.5) ist eine ubiquitär exprimierte Typ-II Transmembran-Exopeptidase bzw. -Serinprotease, die zur Familie der Prolyl oligopeptidasen zählt [Brandt *et al.*, 2005]. Es ist ein dimeres Glykoprotein (vgl. Abbildung 2-12), das aus drei Domänen besteht. Neben der N-terminalen und Transmembran-Domäne, besitzt es eine extrazelluläre Domäne, die sowohl glykosyl- und cysteinreich ist als auch das katalytische Zentrum in Form einer hydrophoben Tasche trägt [Ogata *et al.*, 1989].



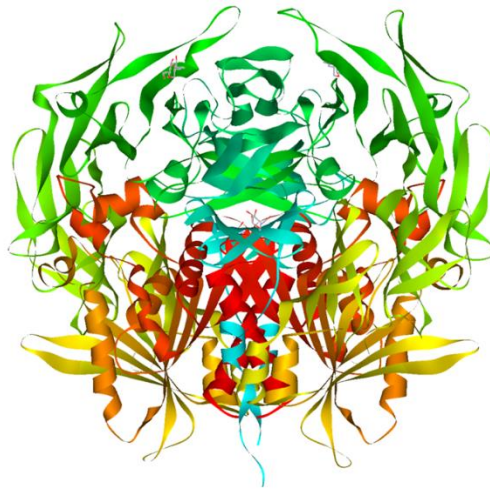


Abbildung 2-12: Röntgenstruktur der Dipeptidylpeptidase IV (PDB 1PFQ) [Oefner *et al.*, 2003].

Lokalisiert ist das Enzym auf der Oberfläche von Endothel- und Epithelzellen, vor allem im Darm, in der Leber, Lunge, Niere und in den T-Lymphozyten, kommt aber auch gelöst im Blutplasma vor [Glorie *et al.*, 2016]. Die lösliche Form des Enzyms unterscheidet sich von der transmembrangebundenen Variante durch den zytoplasmatischen Schweif sowie das Fehlen der Transmembranregion [Durinx *et al.*, 2000].

Im aktiven Zentrum der Dipeptidylpeptidase IV werden spezifisch Dipeptide mit L-Prolin oder L-Alanin in vorletzter Position des N-terminalen Endes abgespalten. Befindet sich an Position drei ebenfalls die Aminosäure L-Prolin, kann die Spaltung jedoch nicht erfolgen [Deacon, 2019]. Neben dieser katalytischen Funktion kann DPP IV ebenfalls als Ligand und Bindungsprotein mit zahlreichen extrazellulären Molekülen, wie Adenosin-Desaminase, Kollagen und Fibronectin, interagieren, aber auch costimulatorisch als T-Zellenaktivator oder als Exopeptidase [Lambeir *et al.*, 2003; Deacon, 2019].

Die Dipeptidylpeptidase IV spielt eine wichtige Rolle beim sogenannten Inkretineffekt. Dieser beschreibt die Tatsache, dass bei oraler Glucosegabe die Insulinantwort höher ist als bei intravenöser Gabe. Das Inkretinhormon GLP-1 ist ein Peptidhormon, das vor allem in der Dickdarmschleimhaut gebildet wird und nach Kohlenhydratverzehr ausgeschüttet wird. Indem es die Sensibilität der Bauchspeicheldrüse für Glucose herabsetzt, fördert es die Insulinfreisetzung [Drucker und Nauck, 2006]. Durch Erhöhung des cyclischen Adenosinmonophosphat (cAMP)-Levels und der Aktivierung der Proteinkinase A wird der Inkretineffekt von GLP-1 eingeleitet [Kashima *et al.*, 2001]. Durch die Aufnahme von Glucose steigt die ATP-Konzentration in den  $\beta$ -Zellen des Pankreas an. Dadurch werden ATP-sensitive Kaliumkanäle geschlossen und es kommt zu einer Depolarisation der Membran. Die anschließende Erhöhung der Calciumkonzentration in der Zelle führt zu einer vermehrten Insulinsekretion und -freisetzung und zeitgleich zu einer verminderten Glucagonproduktion [MacDonald *et al.*, 2002]. Spezifische G-Protein gekoppelte

Transmembranrezeptoren bewirken diesen Effekt des Inkretinhormons (vgl. Abbildung 2-13) [Hansotia und Drucker, 2005].

DPP IV baut das Inkretinhormon GLP-1 ab, indem es proteolytisch zwei Aminosäuren vom N-terminalen Ende dieses Hormons abspaltet. Dadurch wird die Interaktion mit den Rezeptoren verhindert, was zu einer Unterdrückung der Insulinsekretion führt [Deacon, 2019].

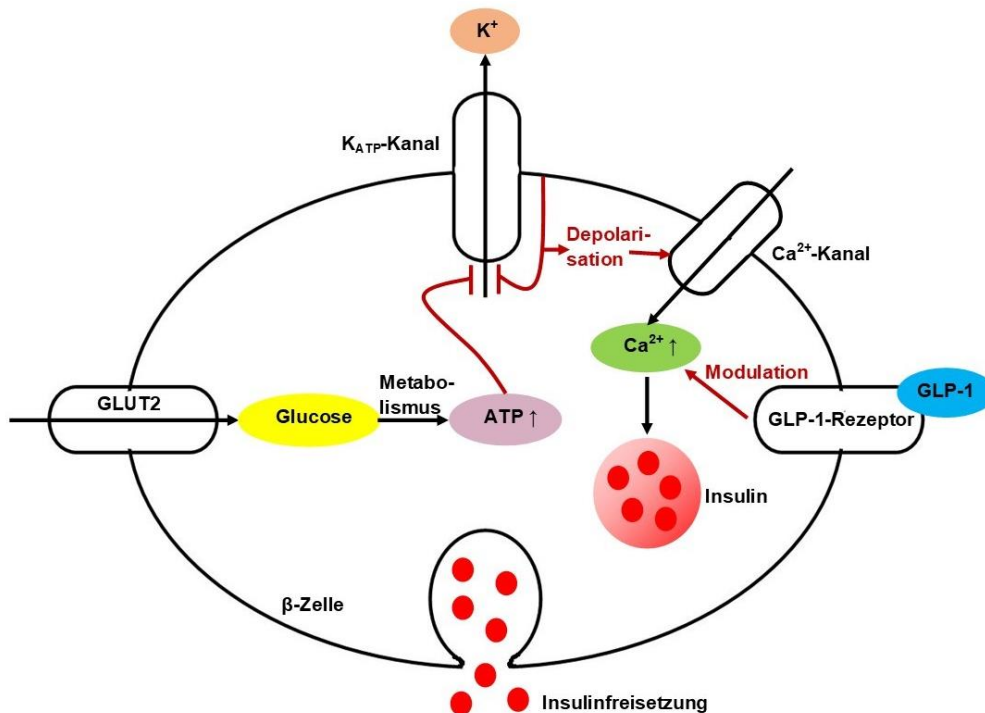


Abbildung 2-13: Mechanismus der Insulinfreisetzung aus den  $\beta$ -Zellen mit ATP = Adenosintriphosphat, GLP-1 = Glucagon-like Peptide 1 und GLUT-2 = Glucosetransporter Typ 2 [nach [Rehner und Daniel, 2010].

## 2.4.2 Regulation des Insulinstoffwechsels und therapeutische Targets

Durch die indirekte Beeinflussung der Insulinausschüttung spielt die Dipeptidylpeptidase IV auch eine Rolle bei der Regulation des Glucosespiegels. Da GLP-1 von DPP IV abgebaut wird, führt die Inhibition der katalytischen Aktivität des Enzyms zu einer Verlängerung der Wirkung von GLP-1. Durch die zusätzliche Stimulation der Insulinsekretion, der Reduzierung der Glucagonsekretion und der Verbesserung der Glucosetoleranz und der Funktion der  $\beta$ -Zellen, kann ein chronisch erhöhter Blutzuckerspiegel durch Inhibitoren der DPP IV gesenkt werden. Die Bioverfügbarkeit potentieller Inhibitoren spielt dabei eine untergeordnete Rolle, da diese Mechanismen im Darm ablaufen [Grunberger, 2014; Liao *et al.*, 2017; Drucker, 2003]. Potentielle Hemmer der Dipeptidylpeptidase-IV-Aktivität sind die Spaltprodukte der Enzymwirkung sowie ihre decarboxylierten Derivate. Therapeutische Ansätze hierzu findet man bei den  $\beta$ -Aminoacylamiden, wozu die Klasse der Gliptine zählt. Die bekanntesten Vertreter stellen Sitagliptin und Vildagliptin dar. Weitere Wirkstoffe, die in der klinischen Behandlung Anwendung finden, sind Saxagliptin, Linagliptin und Alogliptin (s. Abbildung 2-14) [Deacon, 2019; Gerich, 2010; Duez *et al.*, 2012; Hung *et al.*, 2012].

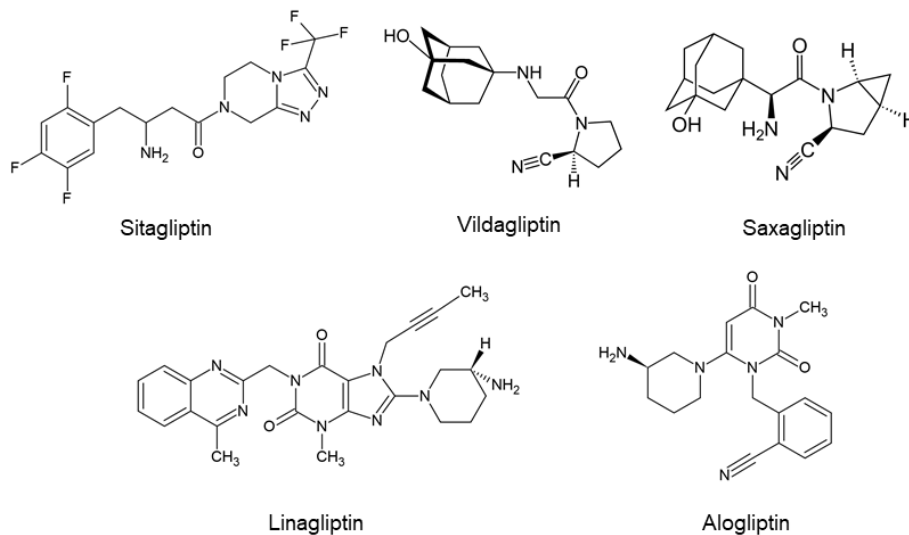


Abbildung 2-14: Dipeptidylpeptidase-IV-Inhibitoren als Wirkstoffe in Diabetesmedikamenten.

Im Gegensatz zu GLP-1-Rezeptoragonisten führen sie nicht zu einer Hypoglykämie, da die Inkretinsekretion glucoseabhängig ist. Allerdings weisen sie andere Nebenwirkungen auf, wie beispielsweise Herzfehler oder Pankreatitis, da eine Hemmung der Enzymaktivität zu einem immunmodulierenden Effekt führen kann [Doggrell und Dimmitt, 2014; Scirica *et al.*, 2013]. Außerdem können sie mit weiteren Medikamenten unerwünscht reagieren und müssen in einem aufwendigen Prozess chemisch hergestellt werden. Daher gibt es bereits Untersuchungen zu möglichen natürlichen DPP-IV-Inhibitoren. Studien zeigten, dass Proteinderivate in Abhängigkeit von der verwendeten Proteinase die Enzymaktivität durch Bildung prolinreicher Peptide regulieren können. Hierzu zählen Proteinhydrolysate aus Treber, Amaranth, Soja, Lupinen, Milch, Algen und Fisch [Connolly *et al.*, 2014; Power *et al.*, 2014]. Aber auch für anthocyanreiche Früchte wie beispielsweise Aronia in Form eines Saftes konnte bereits ein inhibitorisches Potential *in vitro* nachgewiesen werden. Eine aktivitätsgeleitete Fraktionierung zeigte hierbei, dass die inhibitorische Aktivität des Saftes hauptsächlich auf das darin enthaltene Cyanidin-3,5-diglucosid zurückzuführen ist [Kozuka *et al.*, 2015]. In einer weiteren Studie wurden verschiedene, isolierte Anthocyane aus Beerenweinemischungen sowie weitere phenolische Bestandteile aus Beeren, Trauben, Sojabohnen und Zitrusfrüchten auf ihr Potential die Aktivität der Dipeptidylpeptidase IV zu hemmen untersucht. Hierbei zeigte sich, dass vor allem die anthocyanreichen Fraktionen einer Mischung aus Heidelbeer- und Brombeer-Wein effektiv die DPP-IV-Aktivität hemmten. Als Einzelsubstanzen zeigten sich jedoch andere getesteten Polyphenole, wie Resveratrol, Luteolin, Apigenin und Flavone, als potentere Inhibitoren [Fan *et al.*, 2013].

## 2.5 Polyphenole

Polyphenole sind phenolische Verbindungen mit mehreren Hydroxylgruppen. Sie kommen als biologisch aktive sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe in Form von Abwehr-, Farb-, Duft- und

Aromastoffen in Obst und Gemüse vor. Sie dienen den Pflanzen als Schutz vor Fraßfeinden oder dem Anlocken von Insekten zur Befruchtung durch die starke Färbung ihrer Blüten [Belitz *et al.*, 2008]. Aktuell sind über 8000 Polyphenole bekannt, die sich in vier Hauptgruppen aufteilen: Die Stilbene, die Lignane, die phenolischen Säuren sowie die Flavonoide [Somerville *et al.*, 2017].

Flavonoide bilden die größte Gruppe innerhalb der Polyphenole und umfassen ca. 6500 Verbindungen. Obwohl sie viele Funktionen in den Pflanzen erfüllen, haben sie doch besondere Bedeutung als Blütenfarbstoffe. Die Flavonoide liegen meist nicht frei vor, sondern gebunden als Glykoside, zum Teil aber auch als Ester mit Säuren. Die Biosynthese dieser Verbindungen wird über den Shikimsäureweg eingeleitet, durch den das Grundgerüste der Flavonoide, das Flavan (s. Abbildung 2-15) gebildet wird [Belitz *et al.*, 2008].

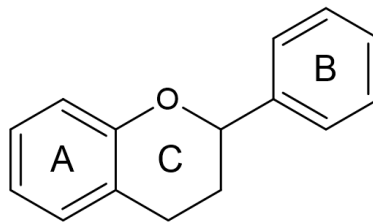
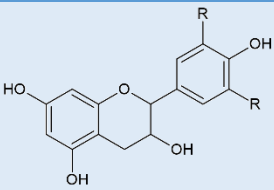
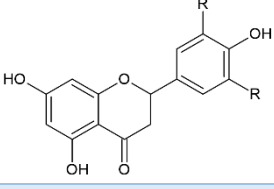
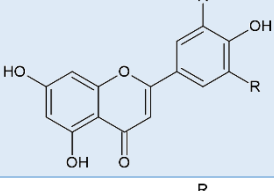
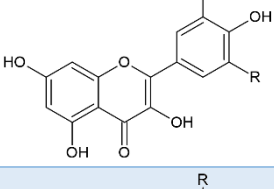
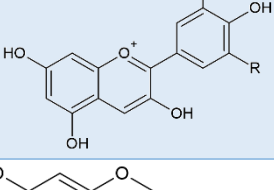
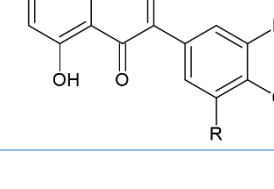


Abbildung 2-15: Die Grundstruktur der Flavonoide, Flavan (2-Phenylchroman) [nach Belitz *et al.*, 2008].

Flavonoide unterteilen sich je nach Oxidationsgrad der Kohlenstoffatome C2, C3 und C4 in verschiedene Gruppen, wobei sechs große Untergruppen unterschieden werden können, die am häufigsten auftreten (s. Tabelle 2-1). Durch Hydroxylierung und Methoxylierung der Grundstruktur unterteilen sich diese sechs Gruppen noch einmal in viele verschiedene Substanzen [Belitz *et al.*, 2008].

Tabelle 2-1: Die Untergruppen der Flavonoide [modifiziert nach [Havsteen, 1983].

| Untergruppe | Grundstruktur   | Beispiel   |
|-------------|---|------------|
| Flavanole   |    | Catechin   |
| Flavanone   |    | Naringenin |
| Flavone     |    | Luteolin   |
| Flavonole   |   | Quercetin  |
| Anthocyane  |  | Cyanidin   |
| Isoflavone  |  | Genistein  |

## 2.5.1 Anthocyane

### 2.5.1.1 Allgemeines

Die Anthocyane, eine Untergruppe der Flavonoide, sind die wichtigsten wasserlöslichen Farbstoffe im Pflanzenreich. Sie kommen in Früchten, Obst, Gemüse und Blüten vor und sind dort für deren rote, violette oder blaue Färbung verantwortlich. Der Farbton der Anthocyane hängt sowohl vom pH-Wert als auch von der Anwesenheit bestimmter Copigmente ab [Ghosh und Konishi, 2007].

„Anthocyane“ ist der Überbegriff für Anthocyanidine und Anthocyanine. Anthocyanine sind die glykosidierten Formen der Anthocyanidine und kommen in der Natur hauptsächlich vor. Als Zuckerrest finden sich verschiedene Zucker wie Glucose, Galactose, Arabinose und Rhamnose

sowie Di- und Trisaccharide. Die strukturelle Besonderheit der Anthocyane ist die positive Ladung am Sauerstoffatom des C-Ringes (s. Abbildung 2-16) [Anderson und Jordheim, 2013].

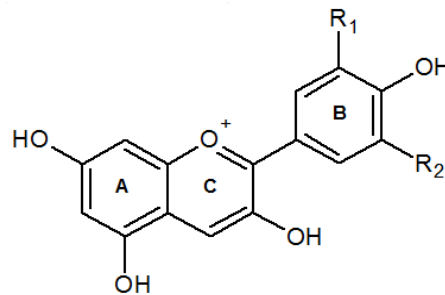


Abbildung 2-16: Die Grundstruktur der Anthocyane [nach [Wallace und Giusti, 2015].

Die einzelnen Anthocyanidine unterscheiden sich durch verschiedene Hydroxy- und Methoxysubstituenten am B-Ring (s. Tabelle 2-2).

Tabelle 2-2: Die sechs häufigsten Anthocyane [modifiziert nach [Wu *et al.*, 2006].

| Anthocyanidin       | R1               | R2               |
|---------------------|------------------|------------------|
| <b>Pelargonidin</b> | H                | H                |
| <b>Cyanidin</b>     | OH               | H                |
| <b>Delphinidin</b>  | OH               | OH               |
| <b>Malvidin</b>     | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> |
| <b>Petunidin</b>    | OCH <sub>3</sub> | OH               |
| <b>Peonidin</b>     | OCH <sub>3</sub> | H                |

Wie schon erwähnt, sind die Anthocyane für die rot-blau-violette Färbung von Beeren, Früchten und bestimmten Gemüsearten verantwortlich. Außerdem sind sie als Extrakt aus beispielsweise Traubenschalen als E 163 als Farbstoff in Lebensmitteln zugelassen [Khoo *et al.*, 2017]. Der Farbton wird maßgeblich durch den pH-Wert bestimmt. Bei einem pH-Wert von 1 bis 3 liegt ein roter Farbstoff vor. Bei einem pH-Wert von 4 bis 6 sind sie farblos und bei einem höheren pH-Wert wechselt die Farbe zu violett und schließlich zu blau [Khoo *et al.*, 2017].

#### 2.5.1.2 Gehalt in Lebensmitteln und Aufnahmemengen

Anthocyane sind in Pflanzen sehr weit verbreitet. Besonders hohe Gehalte finden sich in Aronia, schwarzen Johannisbeeren und Brombeeren (s. Tabelle 2-3). Diese zählen somit zu den anthocyanreichsten essbaren Früchten. Die Schwankungen in den Gehalten sind durch die veränderte Zusammensetzung der Lebensmittelinhaltsstoffe je nach Reifegrad, Lagerung, Anbau (Düngung, Bodentyp, etc.) und Witterung zu erklären [Róžańska und Regulska-Ilow, 2018].

Tabelle 2-3: Anthocyangehalt verschiedener Lebensmittel [modifiziert nach [Neveu *et al.*, 2010].

| Lebensmittel                        | Anthocyangehalt<br>[mg/100g Frischgewicht] |
|-------------------------------------|--|
| <b>Cranberry</b>                    | 49,9                                       |
| <b>Sauerkirsche</b>                 | 54,4                                       |
| <b>Rote Traube</b>                  | 72,1                                       |
| <b>Erdbeere</b>                     | 73,0                                       |
| <b>Brombeere</b>                    | 172,6                                      |
| <b>Schwarze Johannisbeere</b>       | 592,2                                      |
| <b>Aronia</b>                       | 878,1                                      |
| <b>Rote Zwiebel</b>                 | 9,0  |
| <b>Rotkohl</b>                      | 25,0                                       |
| <b>Rotwein (Cabernet Sauvignon)</b> | 22,3                                       |
| <b>Portwein</b>                     | 109,3                                      |

Die durchschnittliche tägliche Aufnahmemenge von Anthocyanen liegt in Deutschland bei 22 mg mit einer hohen Schwankungsbreite [Vogiatzoglou *et al.*, 2015]. Die Aufnahme erfolgt hauptsächlich über den Verzehr von Früchten, Gemüse und Säften. So stellen beispielsweise Erdbeeren die Hauptquelle bei Kindern und Jugendlichen dar [Drossard *et al.*, 2013]. Zudem gibt es auch verschiedene industriell gefertigte Produkte, in denen Anthocyane vorkommen, da sie als Lebensmittelfarbstoff E 163 erlaubt sind. 50 % der aufgenommenen Anthocyane stammen aus Früchten, vor allem Trauben und Beeren. Aber auch der Konsum von Wein trägt zu ca. 21 % zur Anthocyanversorgung bei [Zamora-Ros *et al.*, 2011]. Allerdings schwankt die Aufnahmemenge stark in Abhängigkeit von den Essgewohnheiten, die von verschiedenen lebensstilbezogenen Faktoren beeinflusst werden. So gibt es auch Teile der Bevölkerung, die keine Anthocyane aufnehmen [Zamora-Ros *et al.*, 2011]. Zu den Ländern mit der höchsten Aufnahmemenge an Anthocyanen zählen die skandinavischen Länder (vgl. Tabelle 2-4), aufgrund des traditionell hohen Konsums roter Beeren, gefolgt von den Ländern in Südeuropa [Vogiatzoglou *et al.*, 2015].

Tabelle 2-4: Durchschnittliche Aufnahmemenge (mg/d) verschiedener Anthocyane in Erwachsenen (18 - 64 Jahre) in Europa [Vogiatzoglou *et al.*, 2015].

| Anthocyan           | Nordeuropa | Zentraleuropa | Südeuropa | Europa, gesamt |
|---------------------|------------|---------------|-----------|----------------|
| <b>Cyanidin</b>     | 10 ± 1     | 8 ± 1         | 10 ± 1    | 9 ± 1          |
| <b>Delphinidin</b>  | 5 ± 0      | 3 ± 0         | 4 ± 1     | 4 ± 0          |
| <b>Malvidin</b>     | 5 ± 1      | 3 ± 0         | 4 ± 1     | 3 ± 0          |
| <b>Pelargonidin</b> | 2 ± 0      | 1 ± 0         | 1 ± 0     | 1 ± 0          |
| <b>Peonidin</b>     | 1 ± 0      | 1 ± 0         | 1 ± 0     | 1 ± 0          |
| <b>Petunidin</b>    | 1 ± 0      | 1 ± 0         | 1 ± 0     | 1 ± 0          |

### 2.5.1.3 Bioverfügbarkeit

Die biologische Aktivität einer Substanz im menschlichen Körper hängt von ihrer Absorption und der Metabolisierung im Körper ab. Anthocyane sind in vielen Lebensmitteln in relativ hohen Mengen vorhanden. Daher gibt es zahlreiche Untersuchungen zu ihrer Bioverfügbarkeit. Borges *et al.* bestimmten die Wiederfindungsraten der in einem Himbeersaft enthaltenen Anthocyane in verschiedenen Matrices in Ratten. Im Plasma konnten nur geringe Mengen an Anthocyanen ermittelt werden, wobei diese nach einer Stunde ihr Maximum erreichten. Nach zwei Stunden hatte sich das Plasmalevel bereits halbiert und nach vier Stunden waren keine Anthocyane mehr nachweisbar. Die Wiederfindungsrate im Urin lag nach 24 Stunden bei 1,2 % [Borges *et al.*, 2007]. In einer Studie mit sechs Erwachsenen, die 500 mg eines Aroniaextraktes als Einzeldosis aufnahmen, wurde die Wiederfindung von Anthocyanen im Plasma sowie im Blut ermittelt und mit anderen Polyphenolen verglichen. Im Plasma konnten lediglich Peonidin-3-galactosid und Cyanidin-3-glucosid nachgewiesen werden mit Wiederfindungsraten von 2,4 % bzw. 1,8 %. Im Urin konnten zusätzlich zu diesen beiden Verbindungen Cyanidin-3-arabinosid sowie Cyanidin-3-galactosid gefunden werden. Allerdings ist die Wiederfindungsrate im Urin deutlich geringer (Cyanidin-3-glucosid: 0,004 %; Cyanidin-3-arabinosid: 0,004 %; Peonidin-3-galactosid: 0,002 %; Cyanidin-3-galactosid: 0,001 %). Die Konzentration an Cyanidin-3-glucosid im Plasma steigt bis 30 Minuten nach Verzehr an, was die Vermutung nahelegt, dass Anthocyane durch den Magen absorbiert werden können [Xie *et al.*, 2016]. In einer Studie mit der Magenkarzinomzelllinie MKN-28 konnte bereits nachgewiesen werden, dass Anthocyane ohne Metabolisierung von den Magenzellen absorbiert werden können. Dies verläuft höchstwahrscheinlich über einen konzentrationsabhängigen Transportmechanismus [Fernandes *et al.*, 2012]. Da das Hauptanthocyan von Aronia, Cyanidin-3-galactosid, im Plasma nicht und im Urin nur in geringen Mengen nachgewiesen werden konnte, ist dieses vermutlich das primäre Edukt für die Metabolisierung im Darm. Im Vergleich zu anderen in Aronia enthaltenen Polyphenolen war die Konzentration an Anthocyanen sowohl im Plasma als auch im Urin deutlich geringer. Dies kann sowohl auf ihre hohe Metabolismusrate als auch ihre geringe Bioverfügbarkeit zurückgeführt werden [Xie *et al.*, 2016]. Diese geringen Resorptionsraten von 2 % bis zu weniger als 1 % konnten auch in weiteren Humanstudien bestätigt werden [Lila *et al.*, 2016]. Es gibt jedoch auch Hinweise darauf, dass die Bioverfügbarkeit von Anthocyanin möglicherweise höher sein könnten als bisher angenommen wurde. So konnte in einer Humanstudie mit stabilisotopenmarkiertem Cyanidin-3-glucosid eine Resorptionsrate von 12,4 % beobachtet werden [Czank *et al.*, 2013]. In einer humanen Interventionsstudie mit gesunden Probanden sowie Ileostomiepatienten (Probanden mit einem künstlichen Darmausgang), die einen anthocyanreichen Heidelbeerextrakt konsumierten, konnte beobachtet werden, dass der Dickdarm die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen beeinflussen kann. So erreichte der Anthocyanengehalt im Plasma bei den Ileostomiepatienten bereits nach einer Stunde sein Maximum während es in den gesunden Probanden erst nach zwei Stunden erreicht wurde. Die Bioverfügbarkeit der Anthocyane lag hier bei 0,02 %, allerdings zeigte sich, dass



der Plasmagehalt der Abbauprodukte bis zu 20-fach höher war [Mueller *et al.*, 2017]. In einer darauf aufbauenden Studie wurde untersucht, wie sich die Verkapselung des Extraktes entweder mit Molkeprotein oder mit Zitruspektin auf die Bioverfügbarkeit auswirken kann. Hierbei zeigte sich, dass die Molkeproteinverkapselung dazu führte, dass sich die Konzentration an Anthocyanen und ihren Abbauprodukten im Urin erhöhte. Somit könnte diese Art der Verkapselung eine Verbesserung der Kurzzeit-Bioverfügbarkeit zur Folge haben. Die Stabilisierung durch Zitruspektin und die Umhüllung aus Schellack scheinen dazu zu führen, dass die Anthocyane unbeeinflusst in den Darm gelangen können. Somit kann diese Art der Verkapselung eine Stabilisierung der Anthocyane und damit einen verzögerten Abbau zur Folge haben [Mueller *et al.*, 2018]. Eine weitere Möglichkeit, die Metabolisierung von Anthocyanen zu reduzieren und somit auch die Bioverfügbarkeit zu erhöhen, ist die Verkapselung durch Nanobiopolymere. So zeigten verschiedene Studien eine verbesserte Stabilität von nanoverkapselten Anthocyanen in Lebensmitteln sowie eine kontrolliertere Freisetzung dieser Verbindungen im Magen-Darm-Trakt. Damit verbunden ist eine effektivere Absorption der intakten Form sowie die Erhaltung der biologischen Wirkung. Die Grundlagen dieser Verkapselung können sowohl Polysaccharide, als auch Proteine und Lipide sein [Rosales *et al.*, 2022]. Im Vergleich zu anderen Flavonoiden ist die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen sehr gering. Die Instabilität der Anthocyane im Dün- und Dickdarm aufgrund des niedrigen pH-Wertes oder auch eine mögliche Metabolisierung durch die Darmflora, können Gründe für diese geringe Bioverfügbarkeit sein [Kuntz *et al.*, 2015]. Es konnte außerdem nachgewiesen werden, dass Anthocyane, während sie den Körper passieren, zu einer Vielzahl von Metaboliten, wie Methyl-, Sulfat- oder Glycinderivaten, abgebaut werden [Ludwig *et al.*, 2015], wobei die Glucoside auch in ihrer Reinform transportiert werden können allerdings mit einer sehr geringen Transporteffizienz [Kuntz *et al.*, 2015]. Die geringe Bioverfügbarkeit verglichen mit der anderer Flavonoide spiegelt sich auch in der geringen prozentualen Wiederfindung der Anthocyane in Untersuchungen beim Menschen (0,004 - 0,23 %) wider [Nielsen *et al.*, 2003].

#### 2.5.1.4 *Biologische Wirkungen*

Trotz deren geringer Bioverfügbarkeit, sind Anthocyane für ihre vielfältigen gesundheitsfördernden Eigenschaften bekannt, die auf verschiedene Wirkmechanismen zurückgehen. So zeigen sie antioxidative, antidiabetische, chemopräventive, antikanzerogene, antibakterielle und antivirale Effekte [Yousuf *et al.*, 2016].

Reaktive Sauerstoffspezies, wie Wasserstoffperoxid, Singulett-Sauerstoff und verschiedene Radikale, sowie Stickstoffmoleküle können im Körper DNA-, Protein- und Lipidschäden verursachen und somit vielfältige Folgeeffekte hervorrufen. Die antioxidative Wirkung *in vitro* der Anthocyane beruht auf ihrer effektiven Wirkung als Radikalfänger durch den Transfer von Elektronen auf die freien Radikale, wodurch sie die Radikalkettenreaktionen abstoppen können. Die antioxidative Kapazität von Anthocyanen zeigt eine Abhängigkeit zu ihrer chemischen Struktur. So üben Art,

Position und Anzahl der Methyl- und Hydroxylgruppen einen direkten Einfluss aus [Blando *et al.*, 2018]. Der antioxidative Effekt konnte mit Hilfe der TEAC- und ORAC-Methode mit verschiedenen anthocyanreichen Lebensmittelextrakten (z. B. Traubensaft, schwarzer Johannisbeernektar, Sauerkirschnektar, Blaubeeren) nachgewiesen werden [Fröhling *et al.*, 2012; Cardeñosa *et al.*, 2016]. Zusätzlich konnte für verschiedene Anthocyane aus schwarzen Johannisbeeren *in vitro* das Potential die Aktivität der 5-Lipoxygenase sowie die Oxidation des *low-density lipoprotein* (LDL) zu inhibieren beobachtet werden [Röhrig *et al.*, 2020]. Die Kapazität, reaktive Sauerstoffspezies direkt abzufangen, konnte auch im Rahmen einer humanen Interventionsstudie beobachtet werden. Limitiert wird dieses Potential jedoch durch die sehr geringe Bioverfügbarkeit und der damit verbundenen niedrigen Plasmakonzentration der Anthocyane [Kropat *et al.*, 2013]. In einer Humanstudie von Bakuradze *et al.* nahmen 57 männliche gesunde Probanden 750 mL eines anthocyanreichen Saftes (aus rotem Traubensaft, Preiselbeer- und Aroniasaftkonzentrat sowie Apfel-, Blaubeeren-, Erdbeer- und Acerolapüree) oder eines Placebogetränkes zu sich. Nach 8-wöchigem Konsum konnte bei den Probanden, die das anthocyanreiche Getränk zu sich nahmen, eine signifikante Erhöhung der Aktivität des antioxidativen Enzyms Superoxid-Dismutase (SOD) im Plasma beobachtet werden [Bakuradze *et al.*, 2019b]. Nach dem Konsum von 330 mL eines anthocyanreichen Testgetränkes konnten Kuntz *et al.* nach 14 Tagen zusätzlich auch eine signifikante Zunahme der Katalase (KAT) - Aktivität im Plasma beobachten [Kuntz *et al.*, 2014]. In beiden Studien konnte der jeweilige Effekt in der Placebogruppe nicht nachgewiesen werden. In einer Humanstudie von Kropat *et al.* wurde der Kurzeiteffekt von Anthocyanen auf den Transkriptionsfaktor *Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2* (Nrf2), der die Expression antioxidativer *antioxidant response element* (ARE)-abhängiger Enzyme reguliert, untersucht. Hierzu wurden zehn weiblichen Probanden (fünf gesunde und fünf Ileostomiepatientinnen) eine einzelne 10 g Dosis eines Heidelbeerextraktes (entspricht 2,5 g Anthocyanen) verabreicht und die Expression der Nrf2/ARE-abhängigen Gene über acht Stunden in Lymphozyten untersucht. In der Gruppe der gesunden Probanden konnte eine Erhöhung des Transkriptionslevels von NAD(P)H *dehydrogenase [quinone] 1* (NQO1) und eine Senkung der Transkription von Hämoxigenase-1 (HO-1) beobachtet werden. Außerdem zeigte sich eine Reduzierung der gesamten DNA-Schäden im Blut [Kropat *et al.*, 2013]. In einer Humanstudie mit gesunden männlichen Probanden reduzierten sich die direkten und gesamten DNA-Schäden in Lymphozyten signifikant. Des Weiteren stieg das Glutathionlevel im Blut nach vierwöchigem Konsum von 700 mL eines anthocyanreichen Saftes. Diese Wirkungen können auf die oben erwähnte erhöhte Expression von antioxidativen Enzymen (SOD und KAT), sowie  $\gamma$ -Glutamylcystein im Blut zurückgehen [Weisel *et al.*, 2006]. Eine Humanstudie von Bakuradze *et al.* untersuchte den Effekt eines Nahrungsergänzungsmittels auf Basis eines Aroniasaftkonzentrates in 10 gesunden männlichen Probanden auf die DNA-Integrität, verschiedene oxidationsbezogene Parameter, wie Nrf2, SOD, LDL und KAT, sowie die Blutfette über 6 Wochen. Hierbei zeigte sich sowohl bei den Gesamt- als auch bei den Hintergrund-DNA-Strangbrüchen sowie für das Gesamt-

sowie das LDL-Cholesterin eine rückläufige Tendenz. Zusätzlich konnte eine Erhöhung der Transkriptionswerte von Nrf2 beobachtet werden [Bakuradze *et al.*, 2019a].

Die Regulierung der durch oxidativen Stress ausgelösten DNA-Schäden ist eine der Grundlagen für die chemopräventive Wirkung von Anthocyanen. Für einen anthocyanreichen Aroniaextrakt konnte zusätzlich eine antiproliferative Wirkung und damit die Inhibition des Zellzyklus in HT-29-Zellen beobachtet werden [Malik *et al.*, 2003]. In einer anderen Studie konnte die Hemmung der Proliferation von Caco-2-Zellen durch verschiedene Anthocyanmetabolite festgestellt werden [Forester *et al.*, 2014]. Anthocyane können ebenfalls sowohl den extrinsischen als auch den intrinsischen Weg der Apoptose aktivieren. Dies wird durch die Reduzierung der Expression von anti-apoptischen Proteinen oder durch die Stimulation der Expression von pro-apoptischen Proteinen beeinflusst [Mazewski *et al.*, 2018; Shih *et al.*, 2005].

Zu den besonders relevanten gesundheitsfördernden Eigenschaften der Anthocyane zählt auch ihre blutzuckersenkende Wirkung. Hierbei gibt es drei verschiedene Wirkweisen, die dem zugrunde liegen. Zum einen über die Beeinflussung der Insulinsensitivität, der postprandialen Glykämie sowie der postprandialen Insulinsekretion. So zeigte Cyanidin in isolierten Rattendipozyten eine erhöhte Sekretion von Adiponectin und Leptin [Tsuda *et al.*, 2004]. Die Serumkonzentration dieser beiden Substanzen korreliert positiv mit der Insulinsensitivität [Różańska und Regulska-Ilow, 2018]. In humanen omentalen Adipozyten sowie in 3T3-L1 Zellen aus Mäusen wurde der Einfluss von Cyanidin-3-glucosid und dessen Metabolit, der Protocatechusäure, auf eine vorangegangene Schädigung mit oxidiertem LDL untersucht. Die Vorbehandlung führte zu einer reduzierten Glucoseaufnahme und einer verringerten Konzentration an GLUT-4. Dem konnte durch die Behandlung mit diesen beiden Substanzen entgegengewirkt werden [Scazzocchio *et al.*, 2011]. *In vitro* wurden neun Substanzen auf ihre Wirkung auf die Insulinsekretion in pankreatischen  $\beta$ -Zellen von Nagern, welche zuvor mit 4 bzw. 10 mM Glucose behandelt wurden, untersucht. Hierbei zeigte sich, dass außer Malvidin und Petunidin alle getesteten Anthocyane in der Lage waren die Insulinsekretion deutlich zu stimulieren [Jayaprakasam *et al.*, 2005]. Auch die Hemmung der beiden Verdauungsenzyme  $\alpha$ -Glucosidase und  $\alpha$ -Amylase stellen einen zugrundeliegenden Mechanismus für die blutzuckersenkende Wirkung von Anthocyanen dar, der sowohl in zellfreien Testsystemen als auch in Rattenzellen beobachtet werden konnte [Akkarachiyasit *et al.*, 2010; Adisakwattana *et al.*, 2011]. In einer Studie mit diabetischen Ratten, denen ein Extrakt aus der Samenschale der schwarzen Sojabohne, welcher reich an Cyanidin-3-glucosid, Delphinidin-3-glucosid und Petunidin-3-glucosid war, gefüttert wurde, konnte eine signifikante Reduzierung des Blutzuckerspiegels beobachtet werden [Nizamutdinova *et al.*, 2009]. Diese Effekte können auf verschiedene Mechanismen zurückgeführt werden. Zum einen zeigte sich in einer Studie mit Mäusen nach Gabe von Anthocyanen aus Kirschen eine verbesserte Glucosetoleranz [Jayaprakasam *et al.*, 2006]. Sun *et al.* beobachteten in einer Studie mit diabetischen Mäusen, dass Cyanidin-3-glucosid die Pankreaszellen durch Verhütung des Zelltodes, Verbesserung der Zellviabilität und

Runterregulierung der mitochondrialen Expression von reaktiven Sauerstoffspezies schützt [Sun *et al.*, 2012]. Mäusen, denen über sieben Wochen 10 mg/kg Körpergewicht eines Anthocyanextraktes aus lila Mais verabreicht wurde, zeigten in einem oralen Glucosetoleranztest einen geringeren Nüchternblutzuckerwert im Vergleich zur Placebogruppe. Außerdem stieg der Blutglucosespiegel nach Gabe von 2 mg/kg Körpergewicht Glucose nicht so hoch wie der der Kontrollgruppe [Hong *et al.*, 2013]. Landrault *et al.* untersuchten diabetische Ratten und konnten eine Stimulation der Insulinfreisetzung aus den  $\beta$ -Zellen des Pankreas nachweisen. Dadurch kann die beim Typ-II-Diabetes vorherrschende Resistenz der insulinabhängigen Zellen übergangen werden und so der Blutzuckerspiegel normalisiert werden [Landrault *et al.*, 2003]. Die Beeinflussung der Insulinsensitivität durch Anthocyane konnte auch bereits in verschiedenen Humanstudien beobachtet werden. So führte der Konsum von Anthocyanen aus Heidelbeeren bei übergewichtigen Menschen nach sechs Wochen zu einer verbesserten Insulinsensitivität [Stull *et al.*, 2010]. Eine erhöhte Insulinresistenz durch Konsum von anthocyanreichem Essen zeigte sich in einer weiteren Humanstudie. Dieser Effekt könnte auf die Hochregulierung der GLUT-4-Genexpression zurückgehen [Jennings *et al.*, 2014]. In einer humanen Interventionsstudie wurde der Blutzuckerspiegel nach Konsum eines Pürees aus Heidelbeeren, schwarzen Johannisbeeren, Cranberry, Erdbeere und Saccharose mit dem nach Gabe eines Getränkes, das nur Saccharose enthielt, verglichen. Hier zeigte sich, dass der Blutglucosespiegel in der Püreegruppe nach 15 und 30 Minuten signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe war, nach 150 min jedoch höher. Auch waren die Maxima verschieden. Die Gruppe, die das anthocyanreiche Getränk konsumierte, erreichte das Maximum nach 45 Minuten, die Kontrollgruppe nach 30 Minuten. Der Konsum anthocyanreicher Früchte kann somit nicht nur zu einer reduzierten Glucoseabsorption sondern auch zu einer verzögerten glykämischen Antwort führen [Törrönen *et al.*, 2010]. Diese Beobachtung konnte in einer weiteren Humanstudie nach Gabe eines Getränkes aus Saccharose, schwarzer Johannisbeere und Preiselbeere bestätigt werden. Hier zeigte sich auch eine verringerte Insulinkonzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe [Törrönen *et al.*, 2012]. Auch die Senkung des Insulinlevel im Blut konnte nach Konsum eines Getränkes aus Erdbeerextrakt in übergewichtigen Erwachsenen bereits beobachtet werden [Edirisinghe *et al.*, 2011]. Neben der blutzuckersenkenden Wirkung kann auch die Inzidenz von Diabetes-induzierten Retinopathien und Grauem Star durch Anthocyane erniedrigt werden, indem die Aldosereduktase inhibiert wird [Ghosh und Konishi, 2007]. Außerdem regen Anthocyane die Vasorelaxation, die bei Diabeteserkrankten gestört ist, an [Nakamura *et al.*, 2002].

Die antibakterielle und antivirale Wirkung ist eine weitere positive Eigenschaft der Anthocyane. Diese beruht auf der Bindung und Denaturierung lebenswichtiger Enzyme in Viren, Bakterien und Pilzen sowie der Verhinderung der Anhaftung von Viren an Wirtszellen [Zakay-Rones *et al.*, 2004]. Zudem wirken sie antiinflammatorisch *in vitro*, durch die Inhibierung von Cyclooxygenase I und II und anderen Prostaglandinsynthasen, welche für die Synthese von Prostaglandinen und damit für die

Entstehung von Entzündungsfaktoren zuständig sind [Joseph *et al.*, 2014]. Eine Verbesserung der Dunkeladaptation des menschlichen Auges ist eine weitere positive Wirkung, die durch Anthocyane hervorgerufen werden kann [Ghosh und Konishi, 2007].

## 2.5.2 Copigmente

Wie bereits erwähnt, hängt der Farbton der Anthocyane sowohl vom pH-Wert und der chemischen Struktur als auch von der Anwesenheit sogenannter Copigmente ab. Copigmente sind farblose Flavonoide, die mit Anthocyanen einen über nicht-kovalente Bindungen verbundenen Komplex bilden, und so durch bathochrome oder hyperchrome Effekte die optischen Eigenschaften des Anthocyanins verändern. Dieser Vorgang wird als „Copigmentierung“ bezeichnet [Trouillas *et al.*, 2016].

Zahlreiche Verbindungen können als Copigmente agieren. Zu den wichtigsten zählen hydrolysierbare Tannine, Flavonoide und Phenolsäuren, wobei sich Flavon und Flavonole (z. B. Quercetin, Kaempferol und Rutin) als besonders effektiv zeigten [Yan *et al.*, 2013]. Aber auch Hydroxyzimtsäuren und deren Derivate, wie Kaffee-, Coumar-, Ferula-, Chlorogen- und Caftar-säure, zeigen ein vergleichbar hohes Potential als Copigmente zu wirken. Verstärkt wird dieser Effekt, wenn sie durch Acylierung einer Glykosolgruppe so an das Anthocyan binden, dass nicht-kovalente, intramolekulare Wechselwirkungen gebildet werden können [Fanzone *et al.*, 2015]. Aber auch Phenolsäuren wie Ellagsäure können mit verschiedenen Anthocyanen Komplexe zur Farbverstärkung bilden [Zhang *et al.*, 2018]. In Abbildung 2-17 sind Beispiele verschiedener Flavonoidgruppen – zwei Flavonole (Quercetin, Kaempferol), zwei Hydroxyzimtsäurederivat (Chlorogen- und Caftar-säure) und eine Phenolsäure (Ellagsäure) – dargestellt, die als Copigmente wirken können.

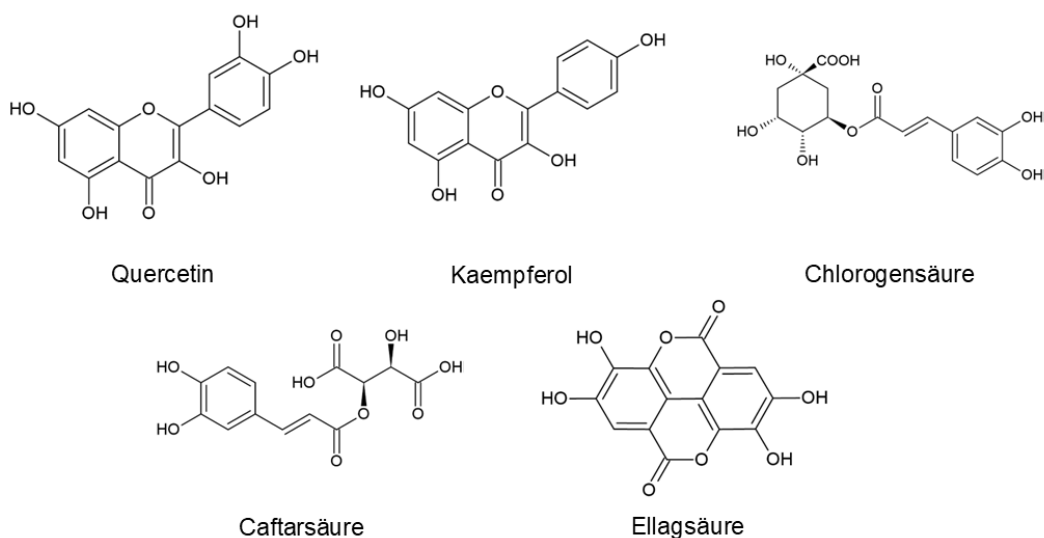


Abbildung 2-17: Beispiele für Flavonoide, die als Copigmente wirken können.

Einen Spezialfall der „Copigmentierung“ bildet die Selbstassoziation mehrere Anthocyane, wobei der Einfluss auf die Farbeigenschaften hier weniger stark ausgeprägt ist [Trouillas *et al.*, 2016].

### 2.5.3 Polymere

Phenolische Polymere sind Substanzen, die sich aus mehreren Polyphenolen zusammensetzen und eine Vielzahl von Klassen umfasst, wie beispielsweise Tannine und Lignine.

Viele Früchte sind reich an phenolischen Polymeren, wobei hier vor allem die Klasse der Tannine eine bedeutende Rolle spielt. Diese lassen sich in hydrolysierbare und nicht-hydrolysierbare bzw. kondensierte Untergruppen unterteilen [Panzella und Napolitano, 2017].

Zu den kondensierten Tanninen zählen beispielsweise die polymeren Proanthocyanidine (s. Abbildung 2-18), die vor allem in Aronia, aber auch in den Schalen und Kernen von Trauben vorkommen [Müller *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2022]. Granatäpfel enthalten große Mengen an Ellagitanninen, welche zu den hydrolysierbaren Tanninen zählen und sich aus einer oder mehreren Hexahydroxydiphenoyl-Gruppen und einem veresterten Zucker (meist Glucose) zusammensetzen. Die Hauptverbindungen sind Punicalagin und Punicalin (s. Abbildung 2-18) [Sharifi-Rad *et al.*, 2022].

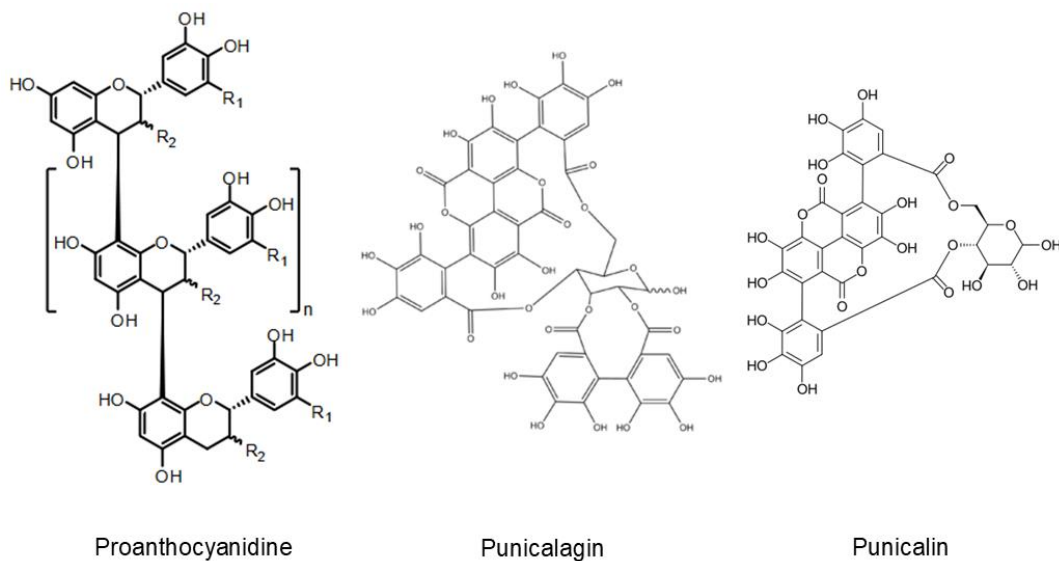


Abbildung 2-18: Beispiele für phenolische Polymere.

## 2.6 Bioaktive, anthocyanreiche Früchte

### 2.6.1 Aronia (*Aronia melanocarpa*)

*Aronia melanocarpa* (schwarze Apfelbeere) ist ein Strauch in der Familie der *Rosaceae* (Rosengewächse), welcher ursprünglich aus dem Nordosten Amerikas stammt, nun aber auch in Ost- und Mitteleuropa verbreitet ist. Die rundlichen, schwarz-glänzenden Früchte mit ihrem rötlichen Fruchtfleisch haben einen herb-süßlichen, adstringierenden Geschmack. Daher werden sie meist

zu Konfitüren, Gelees, alkoholischen Getränken oder Saft verarbeitet. Aber auch als Farbstoff oder Nahrungsergänzungsmittel spielen sie eine bedeutende Rolle [Jurikova *et al.*, 2017].



Abbildung 2-19: *Aronia melanocarpa*, Strauch und Frucht [eigene Aufnahme].

In der traditionellen Volksmedizin wird *Aronia* vor allem in Russland vielfältig genutzt. Die reifen frischen oder getrockneten Früchte werden zur Behandlung von Bluthochdruck, Magenschleimhautentzündungen, Harnwegsinfektionen oder Arteriosklerose eingesetzt. Ihnen werden zahlreiche positive physiologische Wirkungen zugeschrieben. Extrakte aus *Aronia*früchten zeigen eine hohe antioxidative Wirkung, indem sie reaktive Sauerstoffspezies abfangen und die Lipidperoxidation verringern [Malinowska *et al.*, 2012; Rop *et al.*, 2010; Kedzierska *et al.*, 2012]. Der antiinflammatorische Effekt von *Aronia*saftkonzentrat wurde in einer Studie mit Hilfe von *Enzyme-linked Immunosorbent Assays* (ELISA) und enzymatischen Immunadsorptionsverfahren (EIA) untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die Freisetzung von proinflammatorischen Markern wie Interleukin 6 (IL-6) und 8 (IL-8) sowie Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) inhibiert wurde [Appel *et al.*, 2015]. Dieser Mechanismus bietet die Basis zur Therapie verschiedener chronischer Krankheiten, wie Diabetes, kardiovaskuläre Krankheiten sowie chronischen Erkrankungen des Immunsystems [Appel *et al.*, 2015; Xu und Mojsoska, 2013]. Die Gabe eines *Aronia*saftes in einer Studie mit Mäusen führte über die Inhibierung der Aktivität von  $\alpha$ -Glucosidase und Dipeptidylpeptidase-IV zu einer Reduzierung des Blutzuckerspiegels [Yamane *et al.*, 2016]. Der Konsum von *Aronia*saft reduzierte in einer Studie mit Ratten aufgrund der positiven Beeinflussung des oxidativen Status das Auftreten von Darmläsionen und zeigte somit einen gastroprotektiven Effekt [Valcheva-Kuzmanova *et al.*, 2005]. In einem Zellversuch mit Endothelzellen der Koronararterien von Schweinen konnte ein kardioprotektiver Effekt eines *Aronia*saftkonzentrates beobachtet werden [Kim *et al.*, 2013]. Zu den weiteren gesundheitsfördernden Wirkungen zählen antibakterielle und antivirale Eigenschaften [Liepina *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2013].

Die oben erwähnten vielfältigen gesundheitsfördernden Wirkungen gehen auf die chemische Zusammensetzung der Früchte zurück. Sie enthalten zahlreiche Polyphenole, wie zum Beispiel

phenolische Säuren, Anthocyane, Proanthocyanidine, Flavanole und Flavonole [Jakobek *et al.*, 2012]. Der Gesamtpolyphenolgehalt von Aronia ist auch im Vergleich mit anderen roten Früchten sehr hoch (690 – 2560 mg GAE/100 g) [Jurikova *et al.*, 2017]. Das Anthocyanprofil ist von verschiedenen Cyanidin-Derivaten geprägt [Oszmiański und Lachowicz, 2016]. Zu den insgesamt 54 phenolischen Bestandteilen zählen ebenfalls die Hydroxymizmsäuren, wie Kaffeesäure, Chlorogensäure und deren Stellungsisomere sowie Flavonole, vor allem geprägt durch Quercetin-Derivate [Jurikova *et al.*, 2017; Neveu *et al.*, 2010]. Neben den Polyphenolen enthält Aronia noch weitere bioaktive Komponenten. Hierzu zählen Vitamine, vor allem Vitamin C und E, sowie verschiedene Mineralstoffe (Calcium, Magnesium und Kalium), Carotinoide, Pektin und organische Säuren [Jurikova *et al.*, 2017]. Zusätzlich sind vergleichsweise große Mengen an Sorbitol in Aronia zu finden [Mikulic-Petkovsek *et al.*, 2012].

### 2.6.2 Granatapfel (*Punica granatum*)

Der Granatapfel (*Punica granatum*) ist ein kleiner Baum der Familie der Weiderichgewächse (*Lythraceae*) und kommt vor allem in West- und Mittelasien, sowie im Mittelmeerraum vor. Die runden Früchte des Granatapfelbaums sind durchschnittlich zwischen fünf und zwölf Zentimeter groß bei einem Gewicht von 150 – 500 g, können aber auch bis zu 20 cm groß werden und bis über 1000 g schwer. Die Schale hat eine orangerote bis rote Farbe, die Kerne sind rubinrot bis rosafarben und in das Mesokarp eingebettet. Die reifen Früchte weisen einen herbsüßen Geschmack auf. Neben dem Verzehr der frischen Ware werden Granatäpfel vor allem zur Produktion von Saft, aber auch Wein und früher Grenadinesirup, verwendet [Shaygannia *et al.*, 2016].



Abbildung 2-20: *Punica granatum*, Baum und Frucht [eigene Aufnahme].

Traditionell wurde Granatapfel zur Behandlung von beispielsweise Diabetes, Geschwüren und anderen Darmbeschwerden genutzt, aber auch bei Erkrankungen der Gallenblase [Shaygannia *et al.*, 2016]. Die schon mehrfach beschriebene hohe antioxidative Aktivität *in vitro* geht unter anderem auf die Regulation der oxidativen Aktivität von Superoxiden und 2,2-Diphenyl-1-Pikryl-Hydrazyl (DPPH) - Radikalen sowie auf die Hemmung der Lipidperoxidation zurück, die bereits in



verschiedenen zellfreien Studien mit Granatapfelsaft beobachtet werden konnte [Seeram *et al.*, 2008]. Auch wurden bereits verschiedene antikanzerogene Effekte beschrieben. So sind Extrakte aus Granatapfel unter anderem in der Lage die Redifferenzierung sowie Apoptose von humanen HL-60 Promyelozytenleukämiezellen zu induzieren [Kawaii und Lansky, 2004]. Aber auch die Wachstumshemmung von humanen MCF-7 Brustkrebszellen durch Granatapfelsaft und -polyphenole konnte in Zellkulturversuchen bereits beschrieben werden [Kim *et al.*, 2002]. Aufgrund seiner antiinflammatorischen Wirkung werden Granatapfelextrakte auch häufig im Zusammenhang mit der Behandlung von Arthritis diskutiert [Shukla *et al.*, 2008]. Zu weiteren beschriebenen positiven physiologischen Wirkungen gehört die Senkung des Blutdrucks [Sahebkar *et al.*, 2017]. Ebenfalls konnte sowohl in gesunden als auch in „diabetischen Ratten“ nach Gabe eines Granatapfelextraktes mit Hilfe eines oralen Glucosetoleranztestes eine Senkung des Blutzuckerspiegels beobachtet werden [Jafri *et al.*, 2000].

Die Früchte des Granatapfels enthalten besonders viele Polyphenole, was sich auch in einem vergleichsweise hohen Gesamtpolyphenolgehalt widerspiegelt. Neben Anthocyanen, wobei Cyanidin-3,5-diglucosid und Cyanidin-3-glucosid die Hauptkomponenten darstellen, umfasst das Polyphenolprofil weitere Flavonoide, wie auch Gallotannine. Hierzu zählen vor allem die Ellagitannine Punicalin und Punicalagin, die spezifisch für Granatäpfel sind [Fischer *et al.*, 2011].

### 2.6.3 Rote Traube (*Vitis vinifera*)

*Vitis vinifera* (Weinrebe) ist ein Strauch mit Sprossranken aus der Familie der *Vitaceae* (Weinrebengewächse), der weit verbreitet ist, unter anderem im Mittelmeerraum, Mitteleuropa, aber auch in Südwestasien sowie Südafrika. Je nach Rebsorte variiert die Farbe der länglichen oder runden Früchte von gelb über grün, violett bis dunkelblau. Das Geschmacksprofil ist ebenfalls breit gefächert und reicht von süß bis säuerlich. Die Trauben der Unterart *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* (edle Weinrebe) werden zur Weinproduktion genutzt. Neben dem Verzehr der frischen Früchte werden Trauben auch zur Herstellung von unter anderem Säften, Gelees und verschiedenen alkoholischen Getränken verwendet [This *et al.*, 2006].



Abbildung 2-21: *Vitis vinifera*. Strauch und Frucht [eigene Aufnahme].

Sowohl die Weintrauben als auch der Wein selbst und andere Bestandteile der Weinrebe finden Anwendung als Heilmittel. So werden Extrakte aus Weinblättern zur Behandlung von chronischer Veneninsuffizienz in den Beinen verwendet, während für Traubenschalenextrakten sowohl eine antikanzerogene Wirkung durch das enthaltene Resveratrol als auch eine antioxidative Wirkung aufgrund der enthaltenen oligomeren Proanthocyanidinen beschrieben wird [Xia *et al.*, 2010]. Die letztgenannten sind ebenfalls in Traubenkernextrakten vorhanden, weswegen diese in Nahrungsergänzungsmitteln als Beitrag zur kardioprotektiven Wirkung eingesetzt werden [Xia *et al.*, 2010]. Die bedeutendste physiologische Wirkung ist der antioxidative Effekt. In einer Humanstudie konnte nach Konsum eines roten Traubensaftes eine Senkung der IL-6-Werte sowie eine Erhöhung der SOD-Aktivität beobachtet werden, aber auch ein Anstieg des nicht enzymatischen antioxidativen Schutzes [Dani *et al.*, 2021]. Die orale Gabe eines Traubensaft, der zusätzlich mit Polyphenolen aus roten Trauben angereichert war, führte in Mäusen zu einer reduzierten Expression von Genen, die an Entzündungs- und Oxidationsmechanismen beteiligt sind, sowie eine erhöhte Expression von Genen, die mit dem Schutz vor oxidativem Stress korrelieren [Bobadilla *et al.*, 2021]. Der Verzehr von Resveratrol zeigte in Mäusen eine reduzierte Bildung radikaler Sauerstoffspezies im Serum auf ohne dabei die Mechanismen zum Abfangen freier Sauerstoffradikale zu beeinflussen [Petrella *et al.*, 2020]. Eine zusätzliche kardioprotektive Wirkung steht sowohl im Zusammenhang mit den bisher beschriebenen Effekten, als auch beispielsweise mit der Hemmung der Phosphodiesterase-5 und der damit einhergehenden polyphenolinduzierten Vasorelaxation durch die in roten Trauben enthaltenen Anthocyane [Dell'Agli *et al.*, 2005]. Polyphenole aus Traubenkernen führten zu einer Verringerung der Zellviabilität sowie zur Induktion des apoptotischen Zelltodes in humanen Brustkrebszellen der Linie MCF-7. Somit zeigen Polyphenole aus Trauben ebenfalls eine antikanzerogene Wirkung [Leone *et al.*, 2019]. Durch die Hemmung des Glucosetransports mittels GLUT-2 oder durch eine verbesserte Aufnahme von Glucose in beispielsweise Leberzellen sowie

die Stimulation der Glykogensynthese zeigen Polyphenole aus roten Trauben auch eine blutzuckersenkende Wirkung [Pandey und Rizvi, 2014].

Diese Wirkungen sind auf die in roten Trauben enthaltenen Polyphenole zurückzuführen. Rote Trauben weisen einen relativ hohen Gesamtpolyphenolgehalt auf und zeigen dabei ein breites Spektrum an Anthocyanen [Neveu *et al.*, 2010]. Sie enthalten hauptsächlich Glucosid-Derivate, wobei die Hauptverbindung Malvidin-3-glucosid ist [Kammerer *et al.*, 2004]. Rote Trauben sind zusätzlich eine Quelle für verschiedene Flavonole, Proanthocyanidine und Stilbene [Neveu *et al.*, 2010]. Weitere phenolische Komponenten sind Catechin, Quercetin, Resveratrol und Hydroxizimtsäuren, sowie Derivate dieser Verbindungen [Xia *et al.*, 2010]. Neben den Polyphenolen enthalten rote Trauben auch weitere wichtige Bestandteile, wie zum Beispiel Kalium und Vitamin C [Andersen *et al.*, 2011].

#### 2.6.4 Preiselbeere (*Vaccinium vitis-idea*)

Die Preiselbeere (*Vaccinium vitis-idea*) ist ein Strauch aus der Familie der *Ericaceae* (Heidekrautgewächse), der in Nordamerika und Eurasien verbreitet ist. Die Beeren sind leuchtend rot, rund und weisen einen etwas bitteren bis säuerlichen Geschmack auf. Daher werden sie selten roh verzehrt, sind aber als Marmelade oder Kompott beliebte Bestandteile der Ernährung [Mane *et al.*, 2011].



Abbildung 2-22: *Vaccinium vitis-idea*, Strauch und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].

Traditionell finden Preiselbeeren Anwendung bei Nieren- und Harnblaseninfekten, sowie zur Fiebersenkung. In Skandinavien werden sie vor allem in den Wintermonaten zur ausreichenden Vitamin- und Nährstoffversorgung verzehrt [Ho *et al.*, 2001]. Preiselbeerextrakte können das Level an oxidativen Spezies im DPPH Assay sowie im *Cupric Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC) Assay reduzieren und wirken so antioxidativ [Drózdź *et al.*, 2017]. Aber auch ein antiinflammatorischer Effekt wurde bereits beschrieben. Dieser zeigt sich vor allem in der Senkung inflammatorischer Marker, aber auch in einer positiven Modifizierung der Zusammensetzung und

Funktionalität der Darmmikrobiota von Mäusen [Heyman-Lindén *et al.*, 2016]. Eine antidiabetische Wirkung zeigte sich in Mäusen durch Senkung des Nüchternblutzuckerwertes sowie des Nüchterninsulinlevels nach längerem Konsum eines Preiselbeerpulvers [Ryyti *et al.*, 2020]. Ein antikanzerogenes Potential konnte ebenfalls bereits nachgewiesen werden. So verringerte ein Preiselbeerextrakt die Proliferation der Darmkrebszelllinie HT29 und der Brustkrebszelllinie MCF-7 [Olsson *et al.*, 2004]. Außerdem konnte die Induktion der Apoptose von humanen HL-60 Leukämiezellen beobachtet werden [Olsson *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005]. Des Weiteren zeigten die in Preiselbeeren enthaltenen Tannine eine antimikrobielle Wirkung [Ho *et al.*, 2001]. Außerdem verhinderte der Konsum eines Preiselbeerpulvers in Mäusen die Akkumulation von viszeralem Fett [Ho *et al.*, 2001; Ryyti *et al.*, 2020].

Das Polyphenolprofil von Preiselbeeren setzt sich aus phenolischen Säuren, Flavanolen, wie Quercetin und Kaempferol, Flavonolen und Anthocyanen zusammen. Die dominierende Säure ist Cumarsäure, aber auch Kaffeesäure, Ferulasäure und Chlorogensäure kommen vor. Neben Catechin und Epicatechin gehören auch Procyanidin B1, B2 und A2 zum Flavanolspektrum. Verschiedene Anthocyane kommen in den Früchten der Preiselbeere vor, wobei vor allem Cyanidinglykoside dominieren. Die Hauptverbindung ist hierbei Cyanidin-3-galactosid. Neben phenolischen Substanzen, enthalten Preiselbeeren auch viele Vitamine, wie Provitamin A in Form von  $\beta$ -Carotin, Vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und B<sub>3</sub>, sowie Mineralstoffe, wie Kalium, Calcium und Magnesium [Mane *et al.*, 2011].

### 2.6.5 Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*)

*Vaccinium macrocarpon* (Cranberry, auch großfrüchtige Moosbeere) ist ein Strauch der Familie der Heidekrautgewächse (*Ericaceae*), der vor allem im östlichen Nordamerika wächst. Die runden, rot gefärbten Früchte schmecken frisch stark säuerlich, getrocknet herb-süß. Daher werden Cranberrys selten roh verzehrt, sondern beispielsweise zu Saft weiterverarbeitet oder sie finden getrocknet Anwendung beim Kochen oder Backen [Blumberg *et al.*, 2013].



Abbildung 2-23: *Vaccinium macrocarpon*. Strauch und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].

In der traditionellen Volksmedizin findet Cranberry, vor allem in Form von Saft, Anwendung bei der Behandlung von Blasen- und Niereninfekten [Blumberg *et al.*, 2013]. In einer Humanstudie konnte eine Erhöhung der antioxidativen Kapazität im Plasma sowie die Reduzierung von Blutmarkern des oxidativen Stresses nach Konsum eines Cranberrysaftes beobachtet werden [Ruel *et al.*, 2005]. Aufgrund einer Reduzierung des Levels an inflammatorischen Zytokinen, wie Interleukin 1 $\beta$ , 6 und 8 und TNF- $\alpha$ , in Makrophagen zeigen Fraktionen aus Cranyberrysaftkonzentrat eine antiinflammatorische Wirkung [Bodet *et al.*, 2006]. Der Konsum von Cranberrypulver führte in Ratten zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität und einer damit einhergehend zur Senkung des Blutzuckerspiegels [Khanal *et al.*, 2010]. Eine bedeutende physiologische Eigenschaft von Cranberrysaft ist die antibakterielle Wirkung. Dies zeigt sich vor allem im Zusammenhang mit Harnwegsinfekten. In humanen Zellen zeigte sich das Potential das Anhaften von Bakterien an Zellen der Blasenschleimhaut zu verhindern und somit eine Möglichkeit zur Behandlung aber auch zur Prävention solcher Infekte bieten zu können [Howell *et al.*, 2005]. Außerdem konnte in einer anderen Studie eine Verbesserung des Lipoproteinprofils in Diabetespatienten nach Konsum eines Cranberryextraktes beobachtet werden [Lee *et al.*, 2008].

Das Polyphenolprofil von Cranberries umfasst sowohl Flavonole, wie Quercetin, Myricetin und Kaempferol, als auch Flavan-3-ole, Proanthocyanidine (hier vor allem Epicatechin), Anthocyane und phenolische Säuren, wie Hydroxybenzoe- und Hydroxyzimtsäuren. Zu den Anthocyanen zählen Glykoside von allen sechs häufigen Anthocyanidinen, wobei die Galactoside und Arabinoside von Cyanidin und Peonidin die Hauptverbindungen darstellen. Unter den ebenfalls in Cranberries enthaltenen Terpenen findet man besonders hohe Gehalte an Ursolsäure [Blumberg *et al.*, 2013].

#### 2.6.6 Schwarze Johannisbeere (*Ribes nigrum*)

Die schwarze Johannisbeere (*Ribes nigrum*) ist ein Strauch der Familie der Stachelbeergewächse (*Grossulariaceae*), der vor allem in der gemäßigten und kalt-gemäßigten Zone Eurasiens vorkommt. Die kleinen, rundlichen, schwarzen Beeren schmecken bitter und adstringierend. Verzehrt werden sie daher meist in verarbeiteter Form, beispielsweise als Gelee, Konfitüre oder Saft, aber auch in Form von Likör und Sirup [Cortez und Gonzalez de Mejia, 2019].



Abbildung 2-24: *Ribes nigrum*, Strauch [eigene Aufnahme] und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].

Traditionell wird schwarze Johannisbeere zur Stärkung des Immunsystems verwendet, aber auch bei Darmbeschwerden [Cortez und Gonzalez de Mejia, 2019]. Ein Extrakt aus schwarzer Johannisbeere zeigte in einem zellfreien Testsystem das Potential freie Radikale abzufangen und ist somit in der Lage oxidativen Stress zu reduzieren [Nour *et al.*, 2013]. Extrakte aus schwarzer Johannisbeere hemmen ebenfalls die Ausschüttung von Inflammationsmarkern, wie verschiedene Zytokine, und wirken somit antiinflammatorisch [Shaw *et al.*, 2017]. In diabetischen Mäusen zeigen Johannisbeerextrakte das Potential die Ausschüttung von GLP-1 und Insulin zu verbessern sowie die AMP-aktivierte Proteinkinase zu aktivieren, was letztendlich dazu führt, dass der Blutzucker nach Glucosezufuhr nicht übermäßig ansteigt (erhöhte Glucosetoleranz) und somit einer Hyperglykämie entgegengewirkt wird [Iizuka *et al.*, 2018]. In Caco-2-Zellen führte Johannisbeersaft sowohl dazu, dass Bakterien nicht mehr an körpereigene Zellen anhaften können, als auch zu einer Inhibierung der Bakterienzellproliferation [Parker *et al.*, 2014]. Aber auch die Anregung der Biosynthese von Kollagen in humanen Hautfibroblasten sowie in Ratten wurde bereits beschrieben. Damit einhergehend zeigte sich auch ein phytoöstrogener Effekt [Nanashima *et al.*, 2018]. Des Weiteren wurde in einer Humanstudie das Potential die Fettoxidation zu erhöhen nachgewiesen [Strauss *et al.*, 2018]. Auch konnte für Anthocyane aus schwarzen Johannisbeeren ein Potential die Aktivität der 5-Lipoxygenase sowie die Oxidation des LDL zu inhibieren beobachtet werden [Röhrig *et al.*, 2020].

Im Vergleich zu anderen Früchten (wie Brombeere und Heidelbeere) enthalten schwarze Johannisbeeren viele Polyphenole, insbesondere Anthocyane und Proanthocyanidine [Lee *et al.*, 2015]. Zu den Hauptanthocyanen zählen die Rutinoside von Delphinidin und Cyanidin, aber auch deren Glucoside [Parker *et al.*, 2014; Neveu *et al.*, 2010]. Dementsprechend gestaltet sich auch das Proanthocyanidinspektrum. Zu den Procyanidinen zählen Catechin sowie Epicatechin, während die Prodelphinidine durch Gallocatechin und Epigallocatechin geprägt sind [Laaksonen *et al.*, 2015].

Neben den Polyphenolen sind Johannisbeeren vor allem eine gute Quelle für Vitamin C. Ihr Gehalt variiert von 50 bis hin zu 280 mg Vitamin C pro 100 g Frucht [Nour *et al.*, 2013].

### 2.6.7 Heidelbeere (*Vaccinium myrtillus*)

*Vaccinium myrtillus* (Heidelbeere) ist ein Strauch aus der Familie der Heidekrautgewächse (*Ericaceae*), der hauptsächlich im Norden von Europa und Asien wächst. Die runden, teils platten Früchte der eurasischen Heidelbeere sind durchgängig blau gefärbt. Die Beeren weisen einen süß-säuerlichen und schwach adstringierenden Geschmack auf. Neben dem Verzehr frischer oder getrockneter Früchte, werden Heidelbeeren vor allem zu Marmelade, Eis, Säften und in verschiedenen Süßspeisen verarbeitet [Chu *et al.*, 2011].



Abbildung 2-25: *Vaccinium myrtillus*, Strauch [lizenzfrei, pixabay.com] und Frucht [eigene Aufnahme].

Heidelbeeren finden zahlreiche Anwendungen in der traditionellen Medizin. So können sie, je nach Darreichungsform, für unterschiedliche Darmbeschwerden genutzt werden, aber auch bei Entzündungen im Mund- und Rachenraum verwendet werden [Chu *et al.*, 2011]. In Mäusen zeigte ein Heidelbeerextrakt eine Reduzierung des Levels an reaktiven Sauerstoffspezies, wodurch die Zellen vor oxidativen Schäden geschützt werden können [Bao *et al.*, 2010]. In einer Studie mit phenolischen Fraktionen aus Heidelbeeren wurde der Einfluss auf UV-induzierte DNA-Schäden in HaCaT Zellen untersucht. Hierbei zeigte sich eine Reduzierung der DNA-Strangbrüche. Des Weiteren wurde die Expression von IL-6 teilweise verringert, sowie die Anzahl reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies signifikant gesenkt [Svobodová *et al.*, 2009]. Die Behandlung von Makrophagen mit einem Heidelbeerextrakt führte zur Inhibition der Freisetzung verschiedener antiinflammatorischen Faktoren in RAW264 -Zellen [Chen *et al.*, 2008]. Aber auch die spezifische Hemmung des Wachstums von Darmkrebszellen in Ratten, sowie die Anregung der Apoptose von Zellen der humanen Leukämiekrebszelllinie HL-60 wurde bereits beobachtet [Lala *et al.*, 2006; Katsube *et al.*, 2003; Nguyen *et al.*, 2010]. Die in Heidelbeeren enthaltenen Anthocyane wirken über die Anregung der Insulinsekretion in  $\beta$ -Zellen des Pankreas von Nagern blutzuckersenkend

[Jayaprakasam *et al.*, 2005]. Aber auch ein verbesserter Glucosetransport nach Behandlung von Myoblastenzellen aus Mäusen der Linie C2C12 mit einem Heidelbeerextrakt wurde bereits beschrieben [Martineau *et al.*, 2006]. Zu den weiteren positiven physiologischen Wirkung zählen kardio- und neuroprotektive Effekte, sowie eine Verbesserung der Nachtsicht und ein antimikrobielles Potential [Chen *et al.*, 2008; Matsunaga *et al.*, 2010; Ghosh und Konishi, 2007; Lee *et al.*, 2006].

Das Polyphenolprofil von Heidelbeeren umfasst Flavonole, wie Quercetin und Catechin, Tannine, Ellagitannine, phenolische Säuren und Anthocyane, wobei letztere den Hauptanteil ausmachen. In Heidelbeeren konnten bis zu 1017 mg Anthocyane pro 100 Frischgewicht detektiert werden [Müller *et al.*, 2012]. Glykoside von Delphinidin, hier vor allem Delphinidin-3-glucosid, aber auch Cyanidinarabinosid sind die Hauptanthocyane in Heidelbeeren [Lätti *et al.*, 2008; Müller *et al.*, 2012]. Die phenolischen Säuren machen einen großen Anteil des Polyphenolprofils aus, wobei die Derivate der Cumarsäure hierunter am meisten vertreten sind [Liu *et al.*, 2020].

#### 2.6.8 Holunderbeere (*Sambucus nigra*)

*Sambucus nigra* (schwarzer Holunder) ist ein Strauch aus der Familie der Moschuskrautgewächse (*Adoxaceae*) und zählt zu den häufigsten Straucharten in Mitteleuropa, ist aber auch im restlichen Europa verbreitet. Die kleinen, runden Früchte des Holunderstrauchs sind schwarz gefärbt und weisen einen herben Geschmack mit einem süßen Nachgeschmack auf. Roh können die Früchte des Holunderstrauches nur begrenzt verzehrt werden, daher werden sie meist zu Gelees, Säften oder Wein verarbeitet. Daneben finden sie auch Anwendung als Lebensmittelfarbstoff [Atkinson und Atkinson, 2002].



Abbildung 2-26: *Sambucus nigra*, Strauch und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].

Holunder findet sowohl als Beeren oder einem daraus hergestellten Saft Anwendung als Heilmittel in der traditionellen Volksmedizin. So werden sie in der Volksmedizin bei Erkältungen, Grippe, zur Stärkung des Kreislaufs sowie bei Magenbeschwerden eingesetzt [Sidor und Gramza-Michałowska,



2015]. Die antioxidative Aktivität eines Holunderextraktes wurde durch die Beurteilung seiner Fähigkeit, DPPH sowie Hydroxylradikale zu inaktivieren, untersucht. Hierbei zeigte sich ein hohes Potential diese Radikale abzufangen und die Lipidperoxidation zu inhibieren [Stoilova *et al.*, 2007]. Nach Aufnahme eines polyphenolreichen Extraktes aus Holunderbeere konnten im Serum von hypertensiven Ratten eine höhere antioxidative Aktivität sowie ein verbessertes Lipidprofil beobachtet werden [Moroşanu *et al.*, 2011]. Auch kardioprotektive Effekte durch eine Reduzierung des Harnsäurelevels und damit einhergehend ein geringeres Risiko für Hypertonie konnten für einen Holunderextrakt nachgewiesen werden [Ciocoiu *et al.*, 2012; Takayama *et al.*, 2012]. Die in den Holunderbeeren enthaltenen Polyphenole führen in Zellsystemen zu einer Erhöhung der Glucoseaufnahme in beispielsweise Muskelzellen sowie zu einer Erhöhung der Insulinsekretion [Bhattacharya *et al.*, 2013]. In einer Humanstudie konnte ein Holunderbeerextrakt die Produktion antiinflammatorischer Marker wie Interleukin 10 erhöht werden. Außerdem wurde das Level proinflammatorischer Marker, wie Interleukin 1 $\beta$ , 6 und 8 sowie TNF- $\alpha$ , reduziert [Barak *et al.*, 2002]. Extrakte aus Holunderbeeren zeigen zusätzlich antibakterielle Wirkungen, während für Holundersaft auch antivirale Effekte untersucht wurden [Krawitz *et al.*, 2011; Kinoshita *et al.*, 2012].

Flavonole, phenolische Säuren, Proanthocyanidine und Anthocyane prägen das Polyphenolprofil von Holunderbeeren [Anton *et al.*, 2013]. Cyanidin-Derivate gehören zu den vorherrschenden Anthocyanen [Labun *et al.*, 2011]. Zu den Hauptflavonolen zählen Quercetin, Kaempferol und Isorhamnetin, während Chlorogensäure und ihre Derivate die dominierenden phenolischen Säuren sind [Christensen *et al.*, 2008; Lee und Finn, 2007].

### 2.6.9 Sauerkirsche (*Prunus cerasus*)

Die Sauerkirsche (*Prunus cerasus*) aus der Familie der Rosengewächse (*Rosaceae*) ist ein Baum, der auf der gesamten Nordhalbkugel wächst. Die runden, hell- bis schwarzroten Früchte schmecken säuerlich. Daher werden diese Kirschen auch selten roh verzehrt, sondern eher beim Kochen und Backen verarbeitet bzw. als Saft konsumiert [Kelley *et al.*, 2018].



Abbildung 2-27: *Prunus cerasus*, Baum und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].

Sauerkirschen werden in der traditionellen Volksmedizin zur Behandlung von Darmbeschwerden, aber auch bei entzündungsbedingten Erkrankungen, wie Gicht oder Arthritis, angewendet [Kelley *et al.*, 2018]. In Mäusen konnte durch einen Sauerkirschsaft eine erhöhte Aktivität der antioxidativen Enzyme Superoxid-Dismutase in der Leber und im Blut und der Glutathionperoxidase in der Leber sowie eine Abnahme der Lipidperoxidation beobachtet werden [Sarić *et al.*, 2009]. Das Level von inflammatorischen Markern wie IL-6 und IL-8 sowie TNF- $\alpha$  kann durch körperliche Aktivität erhöht werden. In einer Humanstudie konnte beobachtet werden, dass der Konsum eines Sauerkirschpulvers dazu führt, dass die Bildung dieser Stoffe trotz körperlicher Belastung auf einem niedrigen Niveau gehalten werden konnte [Levers *et al.*, 2016]. Eine Humanstudie mit einem Sauerkirschsaft zeigte, dass dieser den Harnsäurespiegel senken kann, wodurch ein Beitrag zur Behandlung entzündungsassoziierter Erkrankungen, wie Arthritis und Gicht, geleistet werden kann [Martin *et al.*, 2011]. Auch ein antidiabetischer Effekt wurde bereits beschrieben. So konnten in weiblichen Probanden nach Verzehr eines Sauerkirschsaftkonzentrates über sechs Wochen eine signifikante Senkung des Hämoglobin A1c-Levels beobachtet werden. Im Rahmen dieser Humanstudie zeigte sich ebenfalls eine signifikante Reduzierung des systolischen und diastolischen Blutdrucks sowie des Cholesterinspiegels [Ataie-Jafari *et al.*, 2008]. Der Verzehr von Sauerkirschsaftkonzentrat führte in einer humanen Interventionsstudie zu einer Erhöhung des Melatoninspiegels. Da Melatonin für die Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus zuständig ist, korreliert eine erhöhte Konzentration mit einer verbesserten Schlafzeit und -qualität [Howatson *et al.*, 2012].

Sauerkirschen sind reich an Polyphenolen. Sie enthalten viele Anthocyane, wobei die Rutinoside von Cyanidin und Peonidin die Hauptverbindungen darstellen [Neveu *et al.*, 2010]. Daneben enthalten die Früchte zusätzlich viele Hydroxyzimtsäuren sowie Flavon-3-ole [Wojdyło *et al.*, 2014]. Neben Inhaltsstoffen wie Vitamin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C und E sowie Folsäure und Kalium, enthalten Sauerkirschen eine hohe Menge an Melatonin [Kelley *et al.*, 2018; Howatson *et al.*, 2012; Burkhardt *et al.*, 2001].

## 2.7 Kinetik der Enzymhemmung

### 2.7.1 Grundlegende Enzymkinetik

Die Unterscheidung zwischen kompetitiven, unkompetitiven und nicht-kompetitiven Hemmprozessen erfolgt über die kinetischen Parameter der allgemeinen Enzymkinetik. Die Reaktion zwischen einem Enzym E und einem Substrat S kann hierbei als reversible Bildung eines Enzym-Substrat-Komplexes ES und der anschließenden irreversiblen Bildung eines Produktes P aus diesem Komplex beschrieben werden (vgl. Abbildung 2-28) [Voet *et al.*, 2019].

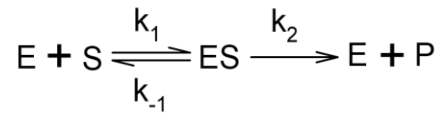


Abbildung 2-28: Reaktionsschema der Enzymkatalyse erster Ordnung [Yung-Chi und Prusoff, 1973].

Mit dieser Formel können ebenfalls Reaktionen zweiter Ordnung angenähert werden, wenn eines der Substrate im Überschuss vorhanden ist [Kirsch, 2008].

In direktem Zusammenhang stehen dabei die Gleichgewichtskonstanten der Komplexbildung  $k_f$ , der Komplexlösung  $k_r$ , sowie der Produktbildungskonstante  $k_{cat}$  [Chen *et al.*, 2010].

$$K_M = \frac{k_r + k_{cat}}{k_f}$$

Durch Ermittlung der Produktionsrate  $v$  bei unterschiedlichen Substratkonzentrationen  $[S]$  mithilfe des Lineweaver-Burk-Plots (s. Abbildung 2-29) kann die Michaelis-Menten-Konstante  $K_M$  experimentell bestimmt werden. Hierbei entspricht  $K_M$  der Substratkonzentration bei halbmaximaler, gesättigter Bildungsrate  $v_{1/2max}$  und wird aus dem Schnittpunkt mit der x-Achse ( $1/K_M$ ) bestimmt. Aus dem Schnittpunkt mit der y-Achse ( $1/v_{max}$ ) kann die maximale Produktbildungsrate  $v_{max}$  ermittelt werden [Bjornsson *et al.*, 2003].

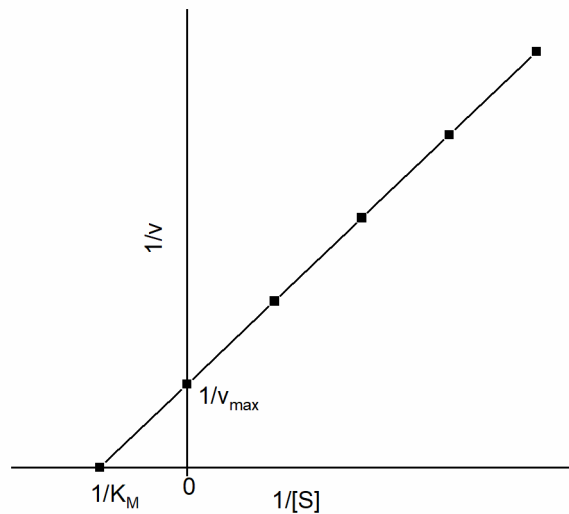


Abbildung 2-29: Lineweaver-Burk-Plot.

Durch die Substratkonzentration  $[S]$ , die maximale Produktbildungsrate  $v_{max}$  und die Michaelis-Menten-Konstante  $K_M$  wird die anfängliche Umsatzrate oder auch Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  definiert [Yung-Chi und Prusoff, 1973].

$$v = \frac{v_{max} * S}{K_M * S}$$

Ein Inhibitor ist in der Lage die Funktion eines Enzyms zu unterbrechen oder zu verlangsamen. Dies kann reversibel oder irreversibel erfolgen. Während die Wirkung eines reversiblen Inhibitors

rückgängig gemacht werden kann, wird die Aktivität eines Enzyms durch einen irreversiblen Inhibitor dauerhaft beeinflusst [Kirsch, 2008].

Inhibitoren können über unterschiedliche Mechanismen auf die Enzymaktivität wirken. Diese lassen sich mit den Michaelis-Menten-Parametern beschreiben. Es gibt jedoch auch Mechanismen, die nicht über diese Parameter beschrieben werden können. Dazu zählt die Kooperativität, also die Änderung der Substrataffinität durch Bindung eines Liganden, die Enzymaktivierung oder die Substratinhibition [Bjornsson *et al.*, 2003].

Es gibt drei Klassen der reversiblen Inhibitoren. Dazu zählen die kompetitiven, unkompetitiven und nicht-kompetitiven Inhibitoren.

### 2.7.2 Kompetitive Hemmung

Die kompetitive Hemmung zeichnet sich dadurch aus, dass das Substrat S mit dem Inhibitor I um die Bindungsstelle im aktiven Zentrum des Enzyms E konkurriert. Dadurch steht die Bildung des Komplexes EI in direkt Konkurrenz zur Bildung des Komplexes ES (Abbildung 2-30) [Waldrop, 2009].

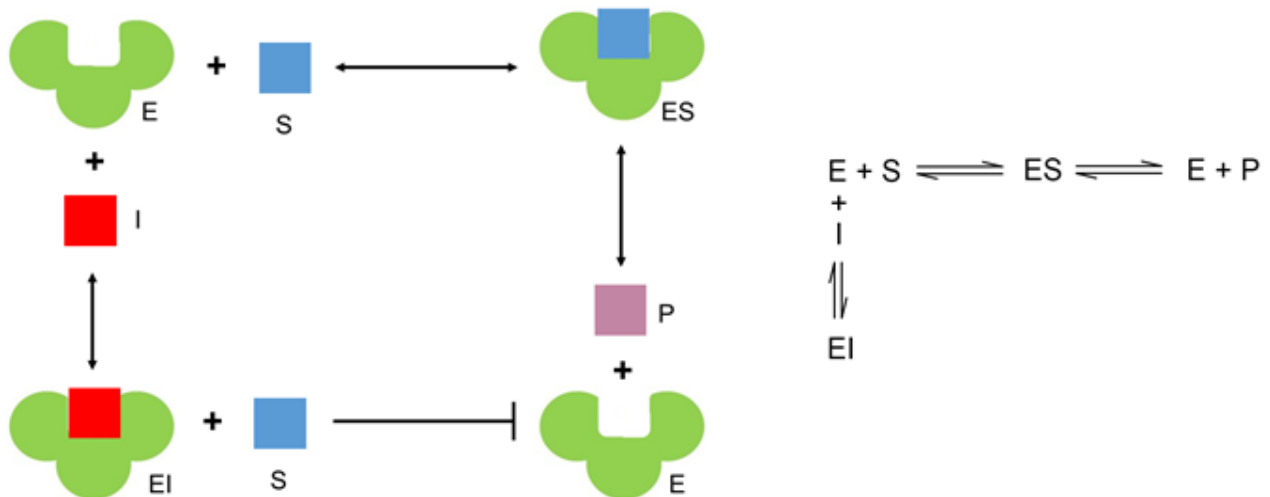


Abbildung 2-30: Schematische Darstellung der kompetitiven Hemmung und Reaktionsschema mit E = Enzym, EI = Enzym-Inhibitor-Komplex, ES = Enzym-Substrat-Komplex, I = Inhibitor, P = Produkt und S = Substrat [nach [Voet *et al.*, 2019].

Die Produktbildungsrate  $v_i$  hängt hierbei zusätzlich von der Inhibitor-Komplexdissoziationskonstante  $K_i$  und der Inhibitor-Konzentration  $[I]$  ab [Yung-Chi und Prusoff, 1973].

$$v_i = \frac{v_{\max} * S}{K_M * \left(1 + \frac{I}{K_I}\right) + S}$$

Der Zusammenhang zwischen  $K_i$ , halbmaximaler, inhibitorischer Konzentration ( $IC_{50}$ ) und  $K_M$  wird wie folgt beschrieben [Yung-Chi und Prusoff, 1973]:

$$IC_{50} = K_I * \left(1 + \frac{S}{K_M}\right)$$

### 2.7.3 Unkompetitive Hemmung

Bei der unkompetitiven Hemmung bindet der Inhibitor I an den Komplex ES, wodurch ein neuer Komplex ESI gebildet wird und somit die Spaltung des Enzym-Substrat-Komplexes verhindert wird (s. Abbildung 2-31) [Waldrop, 2009].

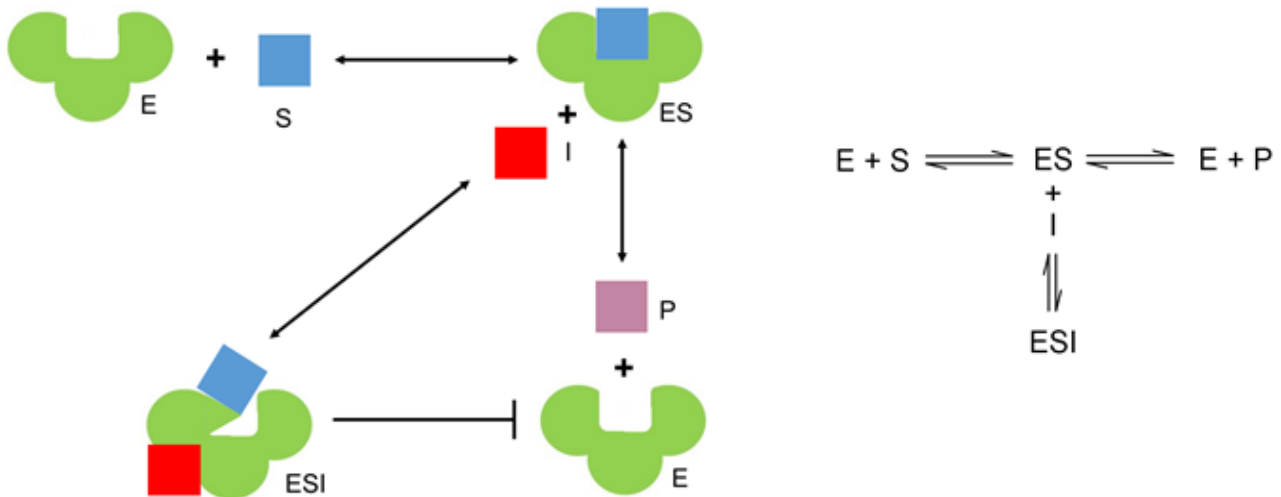


Abbildung 2-31: Schematische Darstellung der unkompetitiven Hemmung und Reaktionsschema mit E = Enzym, ES = Enzym-Substrat-Komplex, ESI = Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplex, I = Inhibitor, P = Produkt und S = Substrat [nach Voet *et al.*, 2019].

Die gleichen Zusammenhänge wie schon bei der kompetitiven Hemmung gelten auch hier für die Produktbildungsrate und die daraus abgeleiteten Parameter [Yung-Chi und Prusoff, 1973].

### 2.7.4 Nicht-kompetitive Hemmung

Die nicht-kompetitive Hemmung zeichnet sich dadurch aus, dass der Inhibitor sowohl an das Enzym E als auch an den Komplex ES binden kann und dabei die Faltung des Enzyms ändert, wodurch das Binden von Substrat S an Enzym E und das Lösen des Komplexes ES verlangsamt wird. Die Enzymbindung kann hierbei beispielsweise allosterisch erfolgen, wodurch es zu einer Konformationsänderung kommt. Diese Art der Inhibition kann auch reversibel sein, da der Inhibitor nicht an die Bindungsstelle bindet (vgl. Abbildung 2-32) [Waldrop, 2009].

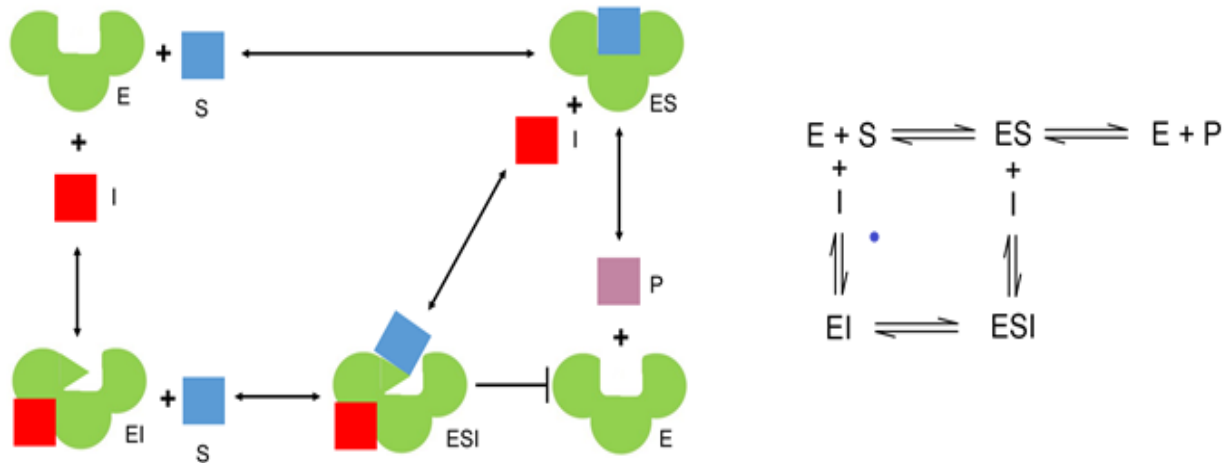


Abbildung 2-32: Schematische Darstellung der nicht-kompetitiven Hemmung und Reaktionsschema mit E = Enzym, EI = Enzym-Inhibitor-Komplex, ES = Enzym-Substrat-Komplex, ESI = Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplex, I = Inhibitor, P = Produkt und S = Substrat [nach Voet *et al.*, 2019].

Hierbei muss für die Produktbildungsrate die Dissoziationskonstante  $K_{IS}$  und  $K_{II}$  berücksichtigt werden [Yung-Chi und Prusoff, 1973].

$$v_I = \frac{v_{\max} * S}{K_M * \left(1 + \frac{I}{K_{IS}}\right) + S * \left(1 + \frac{I}{K_{II}}\right)}$$

Somit ergibt sich für den  $IC_{50}$ -Wert [Yung-Chi und Prusoff, 1973]:

$$IC_{50} = \frac{K_M + S}{\frac{K_M}{K_{IS}} + \frac{S}{K_{II}}}$$

### 2.7.5 Ermittlung Hemmmechanismus

Mithilfe des Lineweaver-Burk-Plots kann der vorliegende Mechanismus bei einer Enzymhemmung ermittelt werden. Durch Auftragung von  $1/v$  gegen  $1/[S]$  für verschiedene Inhibitorkonzentrationen  $[I]$  und die Lage der Geraden lässt sich der Inhibitionstyp ablesen. Die Geraden der kompetitiven Hemmung schneiden sich auf der y-Achse, da  $v_{\max}$  unabhängig von der Konzentration des anwesenden Inhibitors ist. Bei der unkompetitiven Hemmung ist die Steigung unabhängig von  $[I]$ , daher verlaufen die Geraden hier parallel zueinander. Da bei der nicht-kompetitiven Hemmung  $K_M$  nicht beeinflusst wird, schneiden sich die Geraden hier auf der x-Achse (vgl. Abbildung 2-33) [Waldrop, 2009]

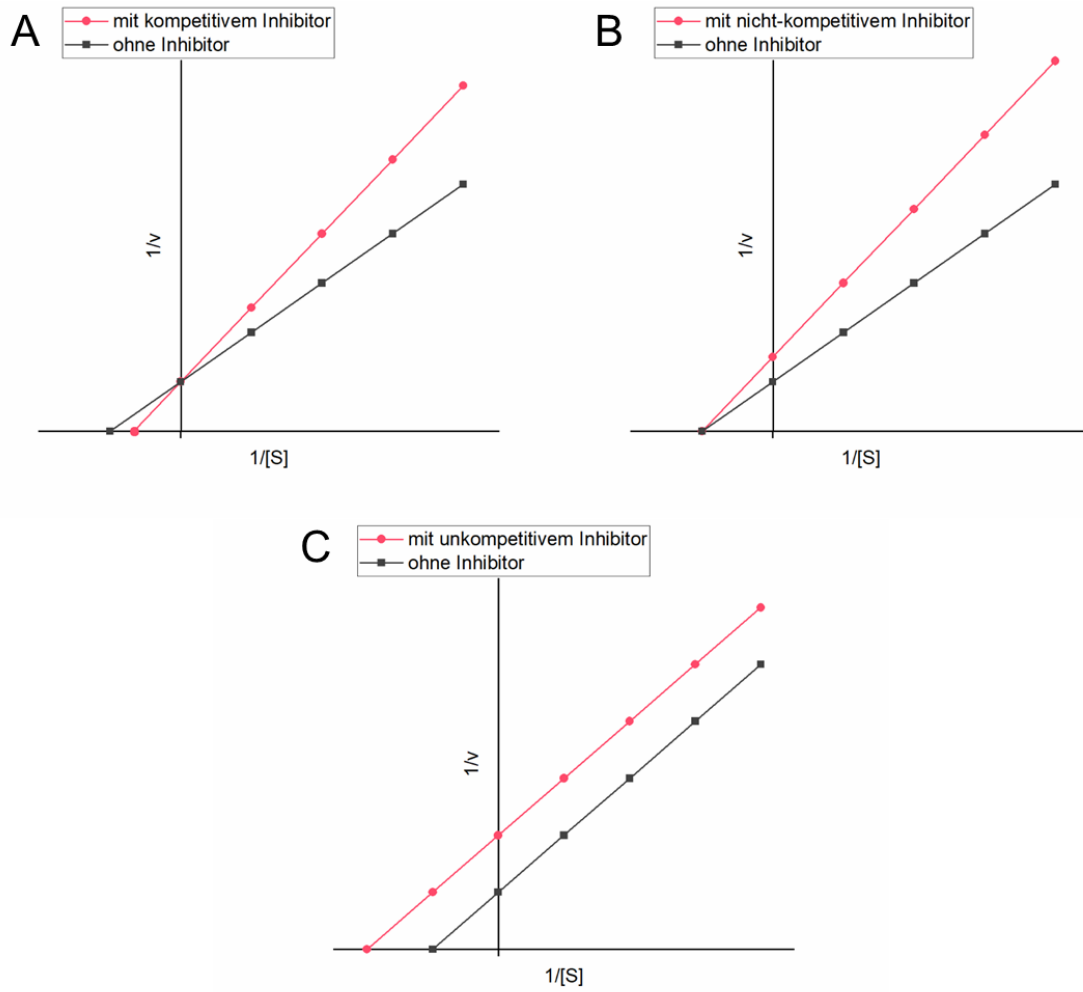


Abbildung 2-33: Schematische Beispiele für die Lineweaver-Burk-Auftragung eines kompetitiven (A), nicht-kompetitiven (B) und unkompetitiven (C) reversiblen Inhibitors jeweils mit und ohne Inhibitor [nach [Waldrop, 2009]].

### 3 Problemstellung

Diese Arbeit entstand im Rahmen des AiF-Projektes 18506 N in Kooperation mit dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Peter Winterhalter der Technischen Universität Braunschweig. Das Hauptziel des Projektes sowie der vorliegenden Arbeit war es, die Hemmung von Enzymen, die mit dem Glucosestoffwechsel zusammenhängen, durch anthocyanreiche Früchte zu untersuchen. Die hierbei verfolgte zentrale Hypothese war, dass sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe aus Fruchtsäften - insbesondere aus Buntsäften - in der Lage sind, über Aktivitätshemmung verschiedener Schlüsselenzyme des Kohlenhydratstoffwechsels diesen zu regulieren. Zu den untersuchten Enzymen gehörte unter anderem die  $\alpha$ -Amylase. Diese katalysiert den ersten Schritt der Kohlenhydratverdauung, die Spaltung von Nahrungspolysacchariden in das Disaccharid Maltose im Speichel und im Magen. Sie zählt damit zu einem der beiden Schlüsselenzyme des Glucosestoffwechsels. Das andere ist die ebenfalls untersuchte  $\alpha$ -Glucosidase. Sie spaltet die so gewonnene Maltose im Darm in das vom Körper resorbierbare Monosaccharid Glucose. Ein weiterer Mechanismus, der eine bedeutende Rolle in der Regulierung des Blutglucosespiegels spielt, ist der Glykogenstoffwechsel. Diese katalysiert den ersten Schritt des Glykogenabbaus, der bei Bedarf eingeleitet wird, um Glucose aus beispielsweise Leberzellen freizusetzen. Der Insulinstoffwechsel spielt eine entscheidende Rolle im Blutzuckerhaushalt. Neben verschiedenen Möglichkeiten die Insulinausschüttung direkt zu regulieren, kann man diese auch indirekt stimulieren. Beispielsweise durch die Dipeptidylpeptidase IV, welche das Inkretinhormon GLP-1 abbaut und somit indirekt die Insulinfreisetzung nach Kohlenhydratverzehr reguliert.

Diese Arbeit untergliederte sich in einen *in vitro* sowie einen *in vivo* Teil. Zu Beginn wurden die an der TU Braunschweig aus verschiedenen rotgefärbten sortenreinen Säften hergestellten Extrakte auf ihre biologische Aktivität in vier zellfreien, photometrischen Testsystemen *in vitro* getestet. Das Screening umfasste Direktsäfte, Saftkonzentrate und Pürees aus insgesamt neun unterschiedlichen Früchten. Um ein möglichst breites Spektrum an phenolischen Inhaltsstoffen zu ermöglichen, umfasste das Probenmaterial anthocyanreiche Buntsäfte, wie Heidelbeer-, Holunderbeer-, schwarzer Johannisbeer-, Sauerkirsch- und roter Traubensaft, anthocyan- und procyanidinreiche Buntsäfte, wie Aronia-, Cranberry- und Preiselbeersaft, sowie Produkte, die reich an Ellagitanninen sind, wie Granatapfelsaft.

Als nächstes wurden die drei in den photometrischen Testsystemen aktivsten Fruchtsaftextrakte (Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotes Traubensaftkonzentrat) an der TU Braunschweig fraktioniert. Die so erhaltenen Anthocyan-, Copigment- und Polymerfraktionen wurden anschließend auf ihre *in vitro* Aktivität gegenüber  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV untersucht. Außerdem wurden aus der Anthocyan- und Copigmentfraktion weitere Subfraktionen hergestellt, um die aktiven Inhaltsstoffe *in vitro* zu identifizieren. Abschließend



## Problemstellung

wurden ausgewählte Copigmente sowie Anthocyane auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber den vier Enzymen *in vitro* getestet.

Um den Mechanismus der Inhibierung zu erfassen, wurde zusätzlich der Hemmmechanismus der Anthocyan-, Copigment- und Polymerfraktion sowie der Ausgangsextrakte aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat bestimmt.

Darauffolgend wurden im Rahmen einer humanen Interventionsstudie die blutzuckerregulierenden Eigenschaften eines Aroniadirektsaft- und eines roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes *in vivo* getestet. Hierbei sollte untersucht werden, ob Testgetränke aus Saftextrakten zu einer Beeinflussung des postprandialen Glucosespiegels im Blut und in der Gewebsflüssigkeit sowie der Insulinkonzentration im Blut führt.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Materialien

#### 4.1.1 Chemikalien

- 3-Caffeoylchinasäure, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- 4-Caffeoylchinasäure, Reinheit  $\geq 98$  % (Phytolab)
- 2-Chloro-4-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-Maltotriosid, CNPG3 (Sigma-Aldrich)
- CNPG3-Lösung  
26,3 mg CNPG3 in 10 mL 40 mM PBS lösen
- 3,5-Dinitrosalicylsäure, 3,5-DNS (Sigma-Aldrich)
- DNS-Farbreagenz-Lösung  
3 g Kaliumnatriumtartrat und 0,1 g DNS in 2 mL 2 M NaOH lösen  
auf 10 mL mit bidestilliertem Wasser auffüllen
- $\alpha$ -Amylase (Sigma-Aldrich)
- $\alpha$ -Amylase-Lösung  
3,5 mg  $\alpha$ -Amylase in 7 mL 40 mM PBS lösen
- Acarbose (Glucobay®, 50 mg Tabletten; Bayer Pharma AG)
- Acarbose-Stammlösung  
1 Glucobay®-Tablette in 5 mL bidestilliertem Wasser lösen
- $\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphat Dinatriumsalz Hydrat (Sigma-Aldrich)
- $\alpha$ -Glucosidase (Sigma-Aldrich)
- $\alpha$ -Glucosidase-Lösung  
7 U  $\alpha$ -Glucosidase in 7 mL 0,1 M PBS lösen
- Ammoniummolybdat (Carl Roth)
- Caftar säure, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- Chlorogensäure, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- Coffein (Sigma Aldrich)
- Cyanidinchlorid, Reinheit  $\geq 90$  % (Phytolab)
- Cyanidin-3,5-diglucosidchlorid, Reinheit  $\geq 98$  % (Phytolab)
- Cyanidin-3-arabinosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Extrasynthese)
- Cyanidin-3-galactosidchlorid, Reinheit  $\geq 97$  % (Extrasynthese)
- Cyanidin-3-glucosidchlorid, Reinheit  $\geq 98$  % (Phytolab)
- Cyanidin-3-rutinosidchlorid, Reinheit  $\geq 90$  % (Phytolab)
- Delphinidin-3,5-diglucosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- Delphinidin-3-galactosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Extrasynthese)

## Material und Methoden

- Delphinidin-3-glucosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- (Human) Dipeptidylpeptidase IV, DPP IV (Active Bioscience)
- DPP IV-Enzym-Lösung
  - 0,5  $\mu$ l DPP IV-Lösung in 8,3995 mL Tris HCL Puffer mischen
- Ellagsäure, Reinheit  $\geq 98$  % (Phytolab)
- Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) Titriplex III (Serva)
- Ethylenglycol-Bis(Aminoethylether)-N,N,N',N'-Tetraessigsäure, EGTA (Sigma-Aldrich)
- Glycyl-L-proline-7-amido-4-methylcoumarin Hydrobromide H-Gly-Pro-AMC (Apollo Scientific)
- H-Gly-Pro-AMC-Lösung
  - 0,821 mg H-Gly-Pro-AMC in 10 mL Tris HCl Puffer lösen
- Glykogen (Carl Roth)
- Glykogenphosphorylase  $\alpha$  aus Hasenmuskel GP $\alpha$  (Sigma-Aldrich)
- GP $\alpha$ -Enzym-Lösung
  - 0,4 mg Glykogenphosphorylase  $\alpha$  in 0,8 mL HEPES lösen
  - 80  $\mu$ l dieser Lösung in 7,92 mL HEPES geben
- GP $\alpha$ -Farbreagenz-Lösung
  - 5,7 mg Malachitgrün
  - 150 mg Ammoniummolybdat
  - in 15 mL 1 M Salzsäure lösen
- GP $\alpha$ -Substrat-Lösung
  - 3,8 mg EGTA
  - 29,8 mg Kaliumchlorid
  - 2,0 mg Magnesiumchlorid
  - 4 mg Glykogen
  - 0,3 mg  $\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphat
  - in 4 mL HEPES lösen
- HEPES, Pufferan® (Carl Roth)
- 50 mM HEPES (pH = 7,2)
  - 11,9 g in 1 L bidestilliertem Wasser lösen
  - pH-Wert mit 1 M Salzsäure einstellen
- Kaempferol-3-glucosid, Reinheit  $\geq 99$  % (Extrasynthese)
- Kaliumchlorid (Merck)
- Magnesiumchlorid-hexahydrat (Merck)
- Malachitgrün-Oxalat (Carl Roth)
- Maltodextrin Powder (Elite Sports Nutrients)
- Malvidin-3-glucosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)

## Material und Methoden

- para-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-Glucopyranosid, pNPG (Acros Chemicals)
- pNPG-Lösung  
12,05 mg pNPG in 10 mL 0,1 M PBS lösen
- PBS-Stammlösungen  
907,8 mg Kaliumdihydrogenphosphat mit bidestilliertem Wasser auf 100 mL auffüllen  
1,1876 g Dinatriumhydrogenphosphat mit bidestilliertem Wasser auf 100 mL auffüllen
- 0,1 M PBS (pH=6,8)  
49,2 ml Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung  
mit Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung auf 100 mL auffüllen
- 40 mM PBS (pH = 6,9)  
55,2 ml Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung  
mit Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung auf 100 mL auffüllen  
1:2,5 verdünnen
- 20 mM PBS (pH = 6,9) mit 6 mM NaCl  
55,2 ml Dinatriumhydrogenphosphat-Lösung  
mit Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung auf 100 mL auffüllen  
1:5 mit bidest. Wasser verdünnen  
35,1 mg NaCl dazugeben
- Pelargonidin-3-glucosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- Peonidin-3-arabinosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Extrasynthese)
- Peonidin-3-glucosidchlorid, Reinheit  $\geq 90$  % (Phytolab)
- Petunidin-3-glucosidchlorid, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- Punicalagin (A + B Gemisch), Reinheit  $\geq 90$  % (Phytolab)
- Punicalin (A + B Gemisch), Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- Quercetin-3-galactosid, Reinheit  $\geq 95$  % (Phytolab)
- Salzsäure (Mallinckrodt Baker B.V.; 37 %, rauchend)
- 1 M Salzsäure  
82,6 mL 37 % Salzsäure mit bidestilliertem Wasser auf 1 L auffüllen
- Sitagliptin (Januvia®, 50 mg Filmtablette; MSD Sharp & Dohme GmbH)
- Sitagliptin-Stammlösung  
1 Januvia®-Tablette in 5 mL Tris HCl Puffer lösen
- Stärke (Merck)
- Stärke-Lösung  
0,05 g Stärke in 20 mM PBS heiß lösen  
nach Abkühlen auf 10 mL mit 20 mM PBS auffüllen
- Tris, Pufferan® (Carl Roth)

- 0,02 M Tris HCl Puffer (pH = 8,0)
  - 2,4 g Tris
  - 5,8 g NaCl
  - 0,29 g EDTA
  - mit bidest. Wasser auf 1 L auffüllen und mit 1 M HCl pH-Wert einstellen

#### 4.1.2 Verbrauchsmaterialien

- Spitzen für Eppendorf-Pipetten (Greiner Bio-One)
- Cellstar® Tubes (Greiner Bio-One; 15 mL, 50 mL)
- Mikroreaktionsgefäße (Greiner Bio-One; 2 mL; 1,5 mL)
- 96-Well-Platte (Greiner Bio-One)
- 96-Well-Platten, F-Bottom, optical, schwarz (Thermo Scientific Nunc)

#### 4.1.3 Geräte

- Eppendorf-Pipetten (5 mL; 1 mL; 200 µL; 100 µL; 20 µL; 10 µL; Eppendorf)
- Eppendorf-Pipette Eppendorf Xplorer (10 µl, elektrisch; Eppendorf)
- Mehrkanalpipette (30 – 300 µL, 30 – 300 µL elektrisch; 1 – 10 µL; Eppendorf)
- Feinwaage (BP 210 S; Sartorius)
- Plattenphotometer (Synergy 2, Biotek)
- Ultrafeinwaage (XP6-U Comparator, Mettler Toledo)
- Vortex (MSI Minishaker, IKA)
- Wasserbad (Köttermann Labortechnik)
- Ultraschallbad (Sonorex Super RK 106, Bandelin)
- pH-Meter (HI 2210, Hanna Instruments)

## 4.2 Arbeiten des Kooperationspartners

Die vorliegende Arbeit entstand in Kooperation mit dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Peter Winterhalter der Technischen Universität Braunschweig. Hier wurden die Extrakte hergestellt und fraktioniert. Außerdem wurden Kompositionsanalysen durchgeführt.

Zur Extraktion aus den verschiedenen Fruchtsäften, -saftkonzentraten und -pürees wurde eine Adsorptionschromatographie an Amberlite® XAD-7 durchgeführt. Die Püreeproben wurden dazu vorher noch mit einem Ethanol-Wasser-Gemisch extrahiert. Der Gesamtpolyphenolgehalt der so erhaltenen Extrakte wurde mittels Folin-Ciocalteu-Assay ermittelt [Berger *et al.*, 2020].

Die Fraktionierung der Extrakte in Anthocyan- und Copigmentfraktion erfolgte mittels Membranchromatographie. Das Trennverfahren beruht auf den Wechselwirkungen der

Flavyliumkationen der Anthocyane mit denen der funktionalisierten Cellulosemembran. Die im Sauren positiv geladenen Anthocyane binden an die Sulfonsäuregruppen der Membran, während die Copigmente direkt eluieren. Des Weiteren wurde eine Hexanfällung durchgeführt. Dabei wurden höher molekulare phenolische Inhaltsstoffe von anderen Extraktbestandteilen abgetrennt. Die Reaktion beruht darauf, dass mit dem Polymerisationsgrad die Löslichkeit der phenolischen Verbindungen in unpolaren Lösungsmitteln abnimmt. Dadurch konnte die Polymerfraktion der Fruchtsaftextrakte gewonnen werden [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019]. Über eine Gegenstromverteilungschromatographie (engl. *countercurrent chromatography* (CCC)) konnten die einzelnen Fraktionen weiter subfraktioniert werden. Das Trennprinzip beruht auf zwei flüssigen, nicht miteinander mischbaren Phasen, wobei es zu einer verteilungschromatographischen Auftrennung der Substanzen kommt. Hierbei eluieren polarere Verbindungen, wie beispielsweise Delphinidin-Glykoside, zuerst und finden sich in den vorderen Subfraktionen wieder, während unpolare Verbindungen, wie Malvidin-Glykoside, später eluieren [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019]. Die Zusammensetzung der Extrakte, Fraktionen und Subfraktionen wurde mit Hilfe einer HPLC/DAD/ESI-MS<sup>n</sup> Analyse bestimmt [Berger *et al.*, 2020; Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019]. Die Extrakte für die Humanstudie wurden ebenfalls mittels Adsorptionschromatographie an einer Amberlite® XAD-7 Säule gewonnen und anschließend mit einer Headspace-Gaschromatographie auf ihren Restgehalt an Lösungsmitteln untersucht [Berger *et al.*, 2021].

### 4.3 Aufarbeitung der Extrakte und Reinsubstanzen zur Messung

Die Extrakte und Reinsubstanzen wurden im Gefrierschrank aufbewahrt.

Zur Bestimmung der %-Inhibition wurden aus den Extrakten fünf Messlösungen unterschiedlicher Konzentration in bidestilliertem Wasser hergestellt. Die Konzentrationen variierten hierbei von Extrakt zu Extrakt und wurden so gewählt, dass eine Inhibition von 50 % im mittleren Bereich der Konzentrationsspanne lag und noch keine Sättigung in den höheren Bereichen erreicht wurde.

Zur Bestimmung der %-Inhibition der Reinsubstanzen wurde eine Konzentration von 2 mM gewählt, da die meisten Substanzen die Aktivität der vier untersuchten Enzyme bei dieser Konzentration nicht zu 50 % hemmen konnten und so kein IC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden konnte.

In den folgenden Erläuterungen zur Durchführung der verschiedenen Testsysteme wird von den Extrakten und Reinsubstanzen als „Probe“ gesprochen.

### 4.4 $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assay

Zur Untersuchung der Inhibitionsaktivität der verschiedenen Extrakte gegenüber  $\alpha$ -Amylase wurde eine Methode mit CNPG3 als Substrat verwendet. Im Laufe der Messung zeigte sich jedoch, dass diese Methode für Reinsubstanzen ungeeignet ist. Das könnte auf das als Gegenionen in diesen

Verbindungen vorhandene Chloridion zurückzuführen sein. Daher wurde eine zweite Methode mit Stärke als Substrat etabliert. Nachfolgend werden diese beiden Methoden beschrieben.

#### 4.4.1 Methode mit 2-Chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid als Substrat

##### 4.4.1.1 Prinzip

Der zellfreie, photometrische  $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assay nach Ashok Kumar *et al.* beruht auf der Spaltung des Substrates 2-Chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid (CNPG3) zu 2-Chloro-4-nitrophenol.



Abbildung 4-1: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assays mit CNPG3 als Substrat mit  $\alpha$ -Amy =  $\alpha$ -Amylase und CNPG3 = 2-Chloro-4-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid.

Das entstandene 2-Chloro-4-nitrophenol weist eine gelbe Farbe auf und kann bei  $\lambda$  405 nm photometrisch gemessen werden. Anhand der Intensität der entstandenen Farbe kann auf die Umsatzrate des Substrates rückgeschlossen werden und somit auf die durch die Testsubstanzen erfolgte Inhibition der  $\alpha$ -Amylase.

##### 4.4.1.2 Durchführung

In eine 96-Well-Platte werden pro Well 20  $\mu$ L der Probe bzw. 20  $\mu$ L der Positivkontrolle (Acarbose) oder 20  $\mu$ L der Negativkontrolle (40 mM PBS) vorgelegt. Zur Vorinkubation werden 70  $\mu$ L  $\alpha$ -Amylase-Lösung ( $c = 0,5$  mg/mL) hinzugefügt und für 10 min bei 37 °C inkubiert.

Anschließend werden 100  $\mu$ L 4 mM 2-Chloro-4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid-Lösung zugesetzt und für 8 min bei 37 °C inkubiert.

Das entstandene 2-Chloro-4-nitrophenol wird nun mit Hilfe eines Plattenphotometers bei  $\lambda$  405 nm und 37 °C gemessen und über die Computer-Software Gen5 ausgewertet [Ashok Kumar *et al.*, 2011].

#### 4.4.2 Methode mit Stärke als Substrat

##### 4.4.2.1 Prinzip

Bei dieser Methode des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assays nach Subramanian *et al.* wird der Abbau von Stärke zu Maltose durch die  $\alpha$ -Amylase und die anschließende Umsetzung des Substrates 3,5-Dinitrosalicylsäure (3,5-DNS) zu 3-Amino-5-nitrosalicylsäure durch Maltose gemessen.



Abbildung 4-2: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des α-Amylase-Inhibitions-Assays mit Stärke als Substrat mit α-Amy = α-Amylase und 3,5-DNS = 3,5-Dinitrosalicylsäure.

Durch die Zugabe des Enzyms α-Amylase wird zunächst die zugegebene Stärke in Maltoseeinheiten gespalten. Die daraufhin zugegebene 3,5-Dinitrosalicylsäure wird durch den anwesenden reduzierenden Zucker Maltose zu 3-Amino-5-nitrosalicylsäure reduziert. Die entstandene Verbindung weist eine rote Farbe auf und kann bei  $\lambda$  540 nm photometrisch gemessen werden. Anhand der Intensität der entstandenen Farbe kann auf die Umsatzrate des Farbreagens rückgeschlossen werden und somit auf die vorhandene Menge an Maltose und so auf die durch die Testsubstanzen erfolgte Inhibition der α-Amylase.

#### 4.4.2.2 Durchführung

In eine 96-Well-Platte werden pro Well 10  $\mu$ L der Probe bzw. 10  $\mu$ L der Positivkontrolle (Acarbose) oder 10  $\mu$ L der Negativkontrolle (20 mM PBS mit 6 mM NaCl) vorgelegt. Zur Vorinkubation werden 70  $\mu$ L α-Amylase-Lösung ( $c = 0,5$  mg/mL) hinzugefügt und für 10 min bei 25 °C inkubiert. Anschließend werden 50  $\mu$ L einer 0,5 %-igen Stärkelösung hinzugegeben und für weitere 10 min bei 25 °C inkubiert.

Zum Schluss werden 50  $\mu$ L 96 mM Dinitrosalicylsäure-Farbreagens zugesetzt und zum Abstoppen der Reaktion für 5 min im kochenden Wasserbad inkubiert.

Die entstandene 3-Amino-5-Nitrosalicylsäure wird nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit Hilfe eines Plattenphotometers bei  $\lambda$  540 nm und 25 °C gemessen und über die Computer-Software Gen5 ausgewertet [Subramanian *et al.*, 2008].

## 4.5 α-Glucosidase-Inhibitions-Assay

### 4.5.1 Prinzip

Im α-Glucosidase-Inhibitions-Assay nach You *et al.* wird die Spaltung des Substrates *p*-Nitrophenyl-α-D-Glucopyranosid (*p*NPG) zu *p*-Nitrophenol und Glucose durch die α-Glucosidase gemessen.

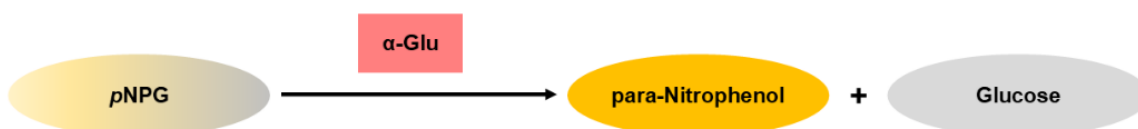


Abbildung 4-3: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des α-Glucosidase-Inhibitions-Assays mit α-Glu = α-Glucosidase und *p*NPG = *p*-Nitrophenyl-α-D-Glucopyranosid.



Das entstandene *p*-Nitrophenol weist eine gelbe Farbe auf und kann bei  $\lambda$  405 nm photometrisch vermessen werden. Anhand der Intensität der entstandenen Farbe kann auf die Umsatzrate des Substrates rückgeschlossen werden und somit auf die durch die Testsubstanzen erfolgte Inhibition der  $\alpha$ -Glucosidase.

#### 4.5.2 Durchführung

In eine 96-Well-Platte werden pro Well 20  $\mu$ L der Probe bzw. 20  $\mu$ L der Positivkontrolle (Acarbose) oder 20  $\mu$ L der Negativkontrolle (0,1 M PBS) vorgelegt. Zur Vorinkubation werden 70  $\mu$ L  $\alpha$ -Glucosidase-Lösung ( $c = 1$  U/mL) hinzugefügt und für 10 min bei 25 °C inkubiert.

Anschließend werden 100  $\mu$ l 4 mM *p*-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-Glucopyranosid-Lösung zugesetzt und für 5 min bei 25 °C inkubiert.

Das entstandene para-Nitrophenol wird nun mit Hilfe eines Plattenphotometers bei  $\lambda$  405 nm und 25 °C gemessen und über die Computer-Software Gen5 ausgewertet [You *et al.*, 2011].

### 4.6 Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Inhibitions-Assay

#### 4.6.1 Prinzip

Die Methode nach Ablat *et al.* beruht auf der Freisetzung von Phosphat im Rahmen der Glykogensynthese aus Glucose-1-Phosphat. Durch Säurezugabe wird diese Reaktion unterbrochen und das anorganische Phosphat kann mit Ammoniummolybdat (AM) einen farblosen Komplex bilden, der mit Malachitgrün angefärbt wird.

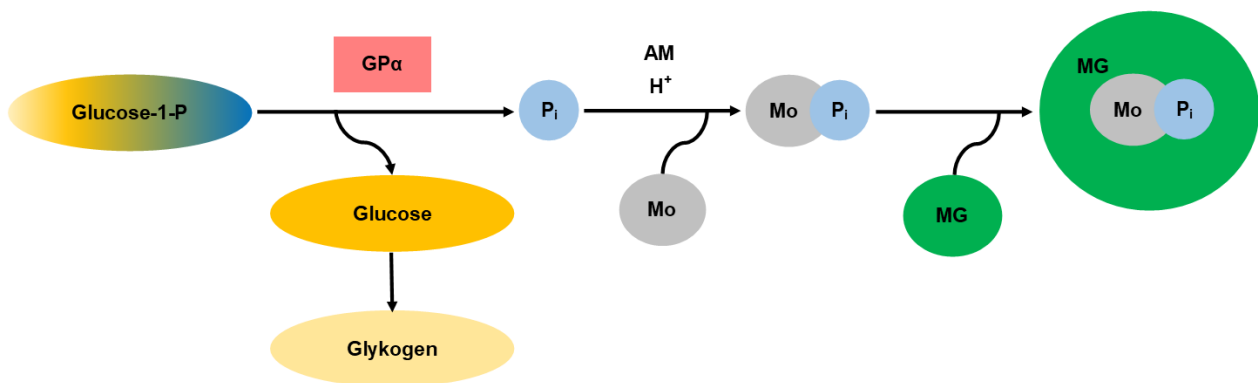


Abbildung 4-4: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Inhibitions-Assays mit AM = Ammoniummolybdat, GP $\alpha$  = Glykogenphosphorylase  $\alpha$ , H $^+$  = Säure (HCl), MG = Malachitgrün, Mo = Molybdat und P $_i$  = Orthophosphat.

Der Komplex weist eine grünblaue Farbe auf und kann bei  $\lambda$  620 nm photometrisch gemessen werden. Anhand der Intensität der entstandenen Farbe kann auf die freigesetzte Menge an Phosphat

rückgeschlossen werden und somit auf die durch die Testsubstanzen erfolgte Inhibition der Glykogenphosphorylase  $\alpha$ .

#### 4.6.2 Durchführung

In eine 96-Well-Platte werden pro Well 10  $\mu$ L der Probe bzw. 10  $\mu$ L der Positivkontrolle (Coffein) oder 10  $\mu$ L der Negativkontrolle (50 mM HEPES) vorgelegt. Zur Vorinkubation werden 40  $\mu$ L 0,25 mM Glucose-1-Phosphat-Lösung, sowie 80  $\mu$ L Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Lösung ( $c = 5 \mu\text{g/mL}$ ) hinzugefügt und für 30 min bei 25 °C inkubiert.

Anschließend werden 150  $\mu$ L Ammoniummolybdat-Lösung ( $c = 10 \text{ mg/mL}$ ) zugesetzt und für weitere 5 min bei 25 °C inkubiert.

Der entstandene Farbkomplex wird nun mit Hilfe eines Plattenphotometers bei  $\lambda$  620 nm und 25 °C gemessen und anhand der Computer-Software Gen5 ausgewertet [Ablat *et al.*, 2014].

### 4.7 Dipeptidylpeptidase-4-Inhibitions-Assay

#### 4.7.1 Prinzip

Die Methode nach Connolly *et al.* beruht auf der Freisetzung von 7-Amido-4-methylcumarin (AMC). Hierbei nutzt man, dass Dipeptidylpeptidase IV bevorzugt nach der Aminosäuresequenz Glycin-Prolin spaltet.

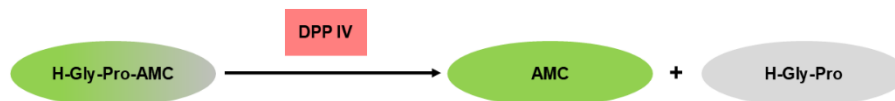


Abbildung 4-5: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des Dipeptidylpeptidase-4-Inhibitions-Assays mit AMC = 7-Amido-4-Methylcoumarin, DPP IV = Dipeptidylpeptidase IV und H-Gly-Pro = Aminosäuresequenz Glycin-Prolin.

In gebundener Form fluoresziert AMC nicht, nach Abspaltung kann die Fluoreszenz jedoch freigesetzt werden und photometrisch gemessen werden. Anhand der Intensität der entstandenen Fluoreszenz kann auf die freigesetzte Menge an AMC rückgeschlossen werden und somit auf die durch die Testsubstanzen erfolgte Inhibition der Dipeptidylpeptidase IV.

#### 4.7.2 Durchführung

In eine schwarze 96-Well-Platte werden pro Well 20  $\mu$ L der Probe bzw. 20  $\mu$ L der Positivkontrolle (Sitagliptin) bzw. 20  $\mu$ L der Negativkontrolle (Tris HCl Puffer) vorgelegt. Anschließend werden 70  $\mu$ L Tris-HCl Puffer, sowie 100  $\mu$ L 0,2 mM H-Gly-Pro-7-amido-4-methylcoumarin-Lösung hinzugefügt. Zum Starten der Reaktion werden 20  $\mu$ L Tris-HCl Puffer, welcher 6 mU/mL Dipeptidylpeptidase IV enthält, zugesetzt.

Nach einer 30-minütigen Inkubation bei 37°C kann das entstandene 7-Amido-4-methylcoumarin mit Hilfe eines Plattenphotometers gemessen und mit der Computer-Software Gen5 ausgewertet werden. Die Lichtabsorption liegt bei  $\lambda$  360/40 nm und die Fluoreszenzemission bei  $\lambda$  460/40 nm [Connolly *et al.*, 2014].

#### 4.8 Bestimmung der Inhibition und des IC<sub>50</sub>

Die Bewertung der Enzym-Inhibitionsaktivität erfolgt über die %-Inhibition, die wie folgt berechnet wird:

$$\% \text{ Inhibitor} = \left( \frac{\text{Absorption Kontrolle} - \text{Absorption Testsubstanz}}{\text{Absorption Kontrolle}} \right) * 100$$

Die mittlere inhibitorische Konzentration, auch IC<sub>50</sub> genannt, gibt die Konzentration einer Substanz an, bei der eine Inhibition von 50% beobachtet wird. Sie dient dazu, die Wirkstärke eines Inhibitors anzugeben [Sebaugh, 2011].

Durch Auftragung der %-Inhibition gegen die eingesetzten Konzentrationen der Extrakte und Fraktionen erhält man mittels linearer Regression eine Ausgleichsgerade. Durch Umstellen der Geradengleichung nach x lässt sich der IC<sub>50</sub>-Wert der zu untersuchenden Substanz, z.B. eines Extraktes, ermitteln.

#### 4.9 Kinetik

Um den Inhibitionsmechanismus ausgewählter Extrakte zu ermitteln, wurden für die CNPG3-Lösung beim  $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assay bzw. für die pNPG-Lösung beim  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assay Konzentration von 2, 3 und 4 mM gewählt. Diese reagierten mit den Extrakten in einer Konzentration, die dem IC<sub>50</sub>-Wert entspricht. Aus den erhaltenen Ergebnissen kann der Lineweaver-Burk-Plot mit Hilfe der Michaelis-Menten-Gleichung erstellt werden. Die reziproke Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  wurde wie folgt bestimmt (mit t = Inkubationszeit):

$$\frac{1}{v_0} = \frac{t}{\text{Absorption Testsubstanz}}$$

Durch die Auftragung der Konzentrationen gegen das reziproke  $v_0$  kann man mittels linearer Regression den zugrundeliegenden Hemmmechanismus ermitteln [You *et al.*, 2011].

#### 4.10 Durchführung und Design der Humanstudie

Die Durchführung der Humanstudie wurde durch ein positives Ethikvotum (Nr. 2018-13279) am 29.05.2018 durch die Landesärztekammer Mainz genehmigt. Die Studie wurde mit zehn gesunden, männlichen Probanden zwischen 20 und 50 Jahren mit einem *body mass index* (BMI) zwischen 19

und 25 kg/m<sup>2</sup>, kaukasischer Abstammung, die Nichtraucher waren und keine Medikamente einnahmen, durchgeführt. Die Ausschlusskriterien umfassten die Einnahme von Medikamenten und Nahrungsergänzungsmitteln, ein BMI größer 25 kg/m<sup>2</sup>, Tabakkonsum, die Ausübung von Leistungssport, vorhandene Stoffwechselstörungen, sowie die Teilnahme an Blutspenden. Nach einer Voruntersuchung, bei der neben einer Anamnese und einer körperlichen Untersuchung auch klinische Marker (allg. kleines Blutbild, Kreatinin, gamma-Glutamyl-Transferase und C-reaktives Protein) geprüft wurden, wurden zehn Probanden im Alter von 22 bis 29 Jahren mit einem BMI von durchschnittlich 22,7 ± 2,4 kg/m<sup>2</sup> in die Studie eingeschlossen. An drei unabhängigen Studientagen, die jeweils sieben Tage auseinander lagen, erschienen die Probanden nach zwölf-stündigem Übernachtsfasten nüchtern und konsumierten verschiedene Testgetränke. Das Kontrollgetränk enthielt 75 g Maltodextrin und 400 mL Wasser. Das Getränk mit Aroniaextrakt bestand aus 75 g Maltodextrin und 100 mg eines Extraktes aus Aroniadirektsaft (vgl. Kapitel 4.2) in 400 mL Wasser. Das Getränk mit rotem Traubenextrakt setzte sich aus 75 g Maltodextrin und 120 mg eines Extraktes aus italienischem, rotem Traubensaftkonzentrat (vgl. Kapitel 4.2) zusammen. Die Gabe der Testgetränke erfolgte randomisiert. Während der jeweiligen Studientage blieben die Probanden nüchtern und durften Mineralwasser *ad libitum* konsumieren. Kurz vor Verzehr sowie bis zu sechs Stunden danach wurden Blutproben genommen zu den folgenden Zeitpunkten: 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240 und 360 Minuten (s. Abbildung 4-6). In den erhaltenen Blutproben wurden der Blutglucosespiegel und die Insulinkonzentration im Westfalzklinikum (Institut für Laboratoriumsmedizin, Chefarzt Prof. Dr. Axel Stachon) bestimmt. Zusätzlich wurde über einen minimalinvasiven Sensor der Marke FreeStyle Libre (Abbott Diabetes Care Inc.) über den gesamten Zeitraum der Gewebezuckerspiegel in der Zwischenzellflüssigkeit bestimmt.

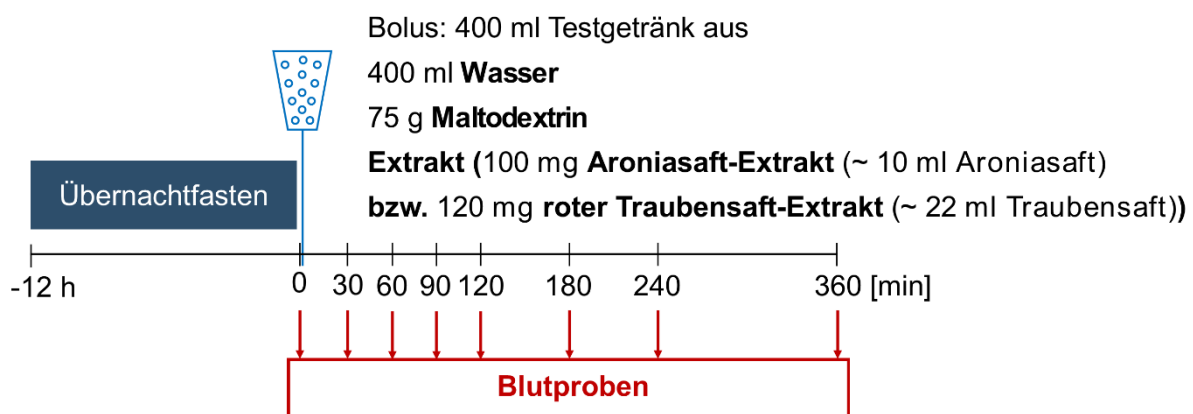


Abbildung 4-6: Studiendesign der Humanstudie.

Zusätzlich konsumierten in einer unabhängigen Untersuchung zwei Probanden 75 g Maltodextrin in 400 mL Wasser mit einer Tablette Glucobay®, die 50 mg Acarbose enthielt. Mit Hilfe des FreeStyle Libre Sensors wurde hier der Gewebsglucosespiegel über einen Zeitraum von 180 min alle 15 min erfasst.

#### 4.11 Bestimmung der AUC und Datenanalyse

Die *Area under the curve* (AUC) für jede Zeitperiode wurde mit Hilfe der folgenden Gleichung berechnet:

$$\text{AUC} = \frac{c_1 + c_2}{2} * \Delta t$$

mit  $c_1$  = Parameterkonzentration zu Beginn der Zeitperiode,  $c_2$  = Parameterkonzentration am Ende der Zeitperiode und  $t$  = Länge der Zeitperiode. Die Gesamt-AUC wurde durch Aufsummieren der einzelnen AUC bestimmt.

Die statistische Auswertung (Anderson-Darling Test und Zwei-Stichproben-t-Test) wurde mit Hilfe von Origin 2019b (Origin-Lab, Northampton, USA) durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde mit den p-Werten  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  und  $p \leq 0,001$  bestimmt.

## 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Untersuchung der Fruchtextrakte

#### 5.1.1 Vergleich der Extrakte aus neun verschiedenen Fruchtarten

Insgesamt wurden 39 Extrakte aus Produkten von Aronia, Cranberry, Granatapfel, Heidelbeere, Holunderbeere, Preiselbeere, roter Traube, Sauerkirsche und schwarzer Johannisbeere hergestellt und auf ihr Potential die Aktivität verschiedener mit dem Glucose-, Glykogen- und Insulinstoffwechsel verbundenen Enzyme zu hemmen untersucht. Die Proben teilten sich auf in 27 Direktsäfte (*not from concentrate*, NFC), 9 Saftkonzentrate (*juice concentrate*, JC) und 3 Pürees. Die Extrakte wurden im Arbeitskreis von Prof. Dr. Peter Winterhalter an der TU Braunschweig mittels einer XAD-7-Säule hergestellt und auf ihre Zusammensetzung untersucht (vgl. Kapitel 4.2). Tabelle 5-1 zeigt die Anthocyane sowie Copigmente der neun Früchte.

Tabelle 5-1: Auswahl an Anthocyanen und Copigmenten, die in den neun untersuchten roten Früchten enthalten sind [Berger *et al.*, 2020]. A = Aronia, C = Cranberry, G = Granatapfel, HB = Heidelbeere, HoIB = Holunderbeere, Neg. = Negativ, P = Preiselbeere, Pos. = Positiv, RT = Rote Traube, S = Sauerkirsche, SJ = Schwarze Johannisbeere.

| Substanz                                       | Modus<br>[M + H] <sup>±</sup> | Ion<br>m/z | Fragment<br>m/z | Früchte |   |   |    |      |   |    |   |    |
|--|-------------------------------|------------|-----------------|---------|---|---|----|------|---|----|---|----|
|  |                               |            |                 | A       | C | G | HB | HoIB | P | RT | S | SJ |
| Anthocyane                                     |                               |            |                 |         |   |   |    |      |   |    |   |    |
| Cyanidin-3-arabinosid                          | Pos.                          | 419        | 287             | x       | x |   | x  |      | x |    |   |    |
| Cyanidin-3,5-diglucosid                        | Pos.                          | 611        | 449/287         |         |   | x |    |      |   |    |   |    |
| Cyanidin-3-galactosid                          | Pos.                          | 449        | 287             | x       | x |   | x  |      | x |    |   |    |
| Cyanidin-3-glucosid                            | Pos.                          | 449        | 287             | x       |   | x | x  | x    | x | x  |   | x  |
| Cyanidin-3-(2 <sup>G</sup> -glucosylrutinosid) | Pos.                          | 757        | 677/287         |         |   |   |    |      |   |    | x |    |
| Cyanidin-3-rutinosid                           | Pos.                          | 595        | 287             |         |   |   |    |      |   |    | x | x  |
| Cyanidin-3-sambubiosid                         | Pos.                          | 581        | 287             |         |   |   |    | x    |   |    |   |    |
| Delphinidin-3,5-diglucosid                     | Pos.                          | 627        | 303             |         |   | x |    |      |   |    |   |    |
| Delphinidin-3-galactosid                       | Pos.                          | 465        | 303             |         |   |   | x  |      |   |    |   |    |
| Delphinidin-3-glucosid                         | Pos.                          | 465        | 303             |         |   | x | x  |      |   | x  |   | x  |
| Delphinidin-3-rutinosid                        | Pos.                          | 611        | 303             |         |   |   |    |      |   |    |   | x  |
| Malvidin-3-glucosid                            | Pos.                          | 493        | 331             |         |   |   | x  |      |   | x  |   |    |
| Myricetin-3-glucosid                           | Neg.                          | 479        | 316             |         |   |   |    |      |   |    |   | x  |
| Peonidin-3-arabinosid                          | Pos.                          | 433        | 301             |         | x |   |    |      |   |    |   |    |
| Peonidin-3-galactosid                          | Pos.                          | 463        | 301             |         | x |   |    |      |   |    |   |    |
| Peonidin-3-glucosid                            | Pos.                          | 463        | 301             |         | x |   | x  |      |   | x  |   |    |
| Petunidin-3-glucosid                           | Pos.                          | 479        | 317             |         |   |   | x  |      |   | x  |   |    |

| Substanz               | Modus<br>[M + H] <sup>±</sup> | Ion<br>m/z | Fragment<br>m/z | Früchte |   |   |    |      |   |    |   |    |   |  |
|------------------------|-------------------------------|------------|-----------------|---------|---|---|----|------|---|----|---|----|---|--|
|                        |                               |            |                 | A       | C | G | HB | HoIB | P | RT | S | SJ |   |  |
| Copigmente             |                               |            |                 |         |   |   |    |      |   |    |   |    |   |  |
| Caftar Säure           | Neg.                          | 311        | 179             |         |   |   |    |      |   |    |   | x  |   |  |
| 3-Caffeoylchinasäure   | Neg.                          | 353        | 191/179/135     | x       |   |   |    |      | x |    |   |    | x |  |
| 4-Caffeoylchinasäure   | Neg.                          | 353        | 191/179/173     | x       |   |   |    | x    | x |    |   |    |   |  |
| Chlorogensäure         | Neg.                          | 353        | 191/179/161     | x       | x |   |    | x    | x | x  |   |    | x |  |
| Cumaroyliridoid        | Neg.                          | 535        | 371             |         |   |   |    | x    |   |    |   |    |   |  |
| Ellagsäure             | Neg.                          | 301        | 229             |         |   |   | x  |      |   |    |   |    |   |  |
| Kaempferol-3-glucosid  | Neg.                          | 447        | 285             |         |   |   |    |      |   |    |   |    | x |  |
| Punicalagin            | Neg.                          | 1083       | 601             |         |   |   | x  |      |   |    |   |    |   |  |
| Punicalin              | Neg.                          | 781        | 601             |         |   |   | x  |      |   |    |   |    |   |  |
| Quercetin-3-galactosid | Neg.                          | 463        | 301             | x       | x |   |    | x    |   |    | x |    |   |  |
| Quercetin-3-glucuronid | Neg.                          | 477        | 301             |         |   |   |    |      |   |    |   |    | x |  |
| Quercetin-3-rhamnosid  | Neg.                          | 447        | 301             |         |   |   |    |      |   |    | x |    |   |  |
| Quercetin-3-rutinosid  | Neg.                          | 609        | 301             |         |   |   |    |      |   | x  |   |    |   |  |

Die Ergebnisse des  $\alpha$ -Amylase-,  $\alpha$ -Glucosidase-, Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - und Dipeptidylpeptidase-IV-Assays werden nachfolgend beschrieben.

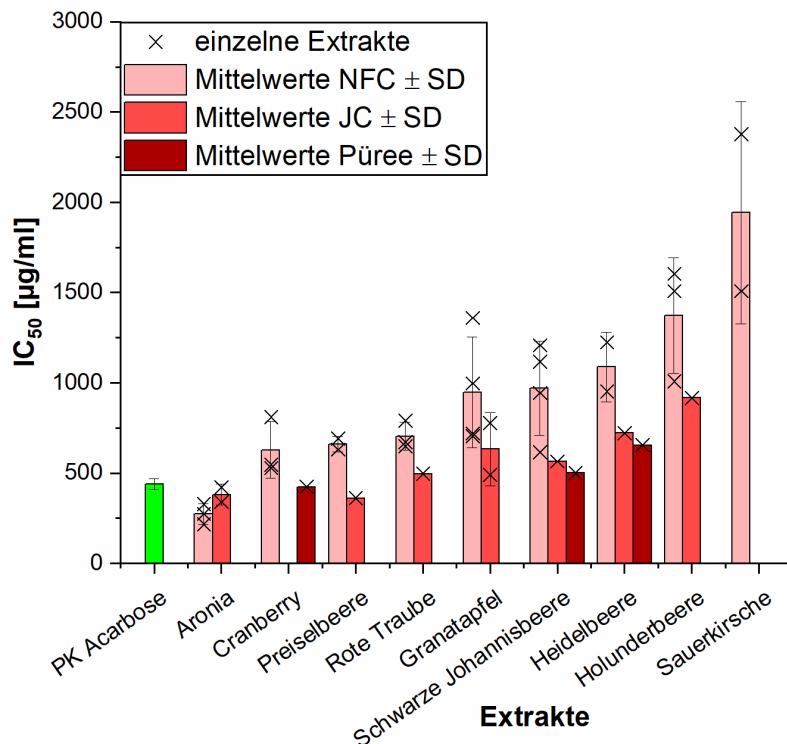


Abbildung 5-1: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des  $\alpha$ -Amylase-Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n = 3).

Im  $\alpha$ -Amylase-Assay (s. Abbildung 5-1) konnte für die Extrakte aus Aroniaprodukten (Direktsäfte und Saftkonzentrate), Preiselbeersaftkonzentrat und Cranberrypüree mit  $IC_{50}$ -Werten von  $273 \pm 57$ ,  $381 \pm 57$ ,  $361 \pm 33$  und  $424 \pm 31 \mu\text{g/mL}$  ein höheres Potential die Enzymaktivität zu inhibieren als für die Positivkontrolle Acarbose ( $IC_{50} = 441 \pm 30 \mu\text{g/mL}$ ) beobachtet werden. Damit waren diese die aktivsten Extrakte innerhalb der in dieser Arbeit getesteten. Allgemein zeigten Extrakte aus Saftkonzentraten eine höhere inhibitorische Aktivität als die Extrakte aus Direktsaft. Eine Ausnahme bildete jedoch Aronia. Hier waren die Extrakte aus Direktsäften aktiver als die aus Saftkonzentraten. Bei den Untersuchungen des  $\alpha$ -Amylase-Assays waren alle Extrakte aus Pürees aktiver als die dazugehörigen Direktsaft- oder Saftkonzentrat-Extrakte. Die NFC-Extrakte von Sauerkirsche ( $IC_{50} = 1943 \pm 615 \mu\text{g/mL}$ ), Holunderbeere ( $IC_{50} = 1373 \pm 320 \mu\text{g/mL}$ ), sowie Heidelbeere ( $IC_{50} = 1088 \pm 192 \mu\text{g/mL}$ ) zeigten die schwächste  $\alpha$ -Amylase-Inhibition in diesem Testsystem.

In einem ausführlichen Screening mehrerer Fruchtarten von Podsędek gehörte Aronia ebenfalls zu den aktivsten Früchten im  $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assay, während rote Traube, Granatapfel und Preiselbeere mittlere inhibitorische Aktivitäten aufwiesen und schwarze Johannisbeere sowie Sauerkirsche weniger aktiv waren [Podsędek *et al.*, 2014]. Diese Beobachtungen decken sich mit unseren Untersuchungen.

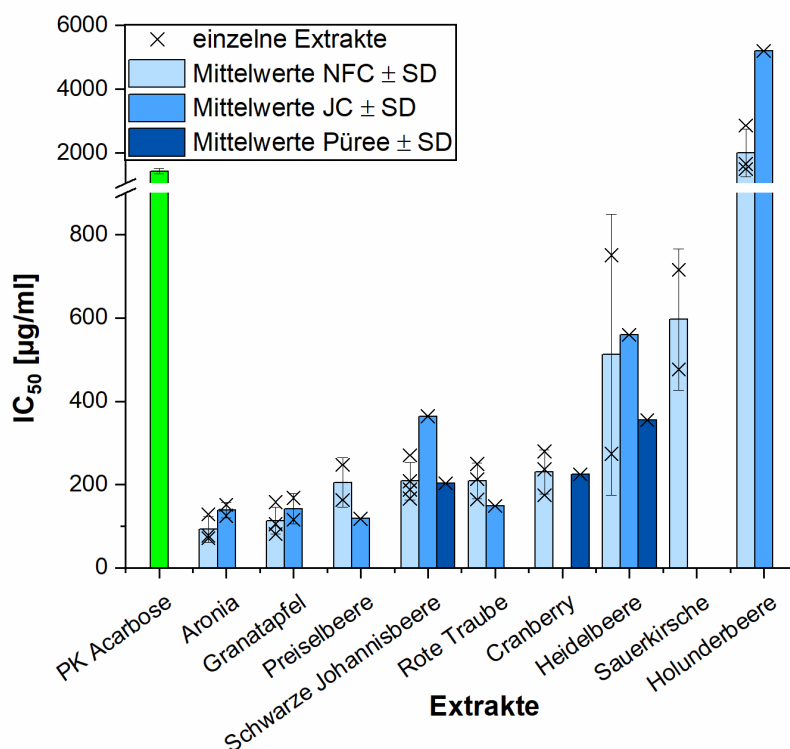


Abbildung 5-2:  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des  $\alpha$ -Glucosidase-Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur PK Acarbose ( $n = 3$ ).

Alle untersuchten Extrakte, außer die aus Holunderbeerdirektsaft ( $IC_{50} = 2014 \pm 743 \mu\text{g/mL}$ ) und -saftkonzentrat ( $IC_{50} = 5201 \pm 232 \mu\text{g/mL}$ ) gewonnenen, zeigten im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay geringere  $IC_{50}$ -Werte als die Positivkontrolle Acarbose ( $1439 \pm 85 \mu\text{g/mL}$ ) und somit eine höhere



inhibitorische Aktivität (vgl. Abbildung 5-2). Die Extrakte aus Püree wiesen ein mit den jeweiligen Extrakten aus Direktsaft vergleichbares Inhibitionspotential auf. Obwohl im  $\alpha$ -Amylase-Assay die Extrakte aus Saftkonzentraten überwiegend stärkere Inhibitoren waren als die dazugehörigen Extrakte aus Direktsaft, zeigte sich gegenüber der  $\alpha$ -Glucosidase ein gegenläufiger Trend. Nur die Extrakte aus Preiselbeer- und rotem Traubensaftkonzentrat zeigten die im anderen Testsystem bereits beobachtete Tendenz im Vergleich zu den Direktsaftextrakten. Im Allgemeinen waren die aktivsten Proben die Extrakte aus Aroniadirektsaft ( $IC_{50} = 92,6 \pm 30,8 \mu\text{g/mL}$ ), Granatapfeldirektsaft ( $IC_{50} = 114 \pm 32 \mu\text{g/mL}$ ) und rotem Traubensaftkonzentrat ( $IC_{50} = 148 \pm 2 \mu\text{g/mL}$ ), wohingegen Extrakte aus Holunderbeer-, Sauerkirsch- und Heidelbeerprodukten das geringste Inhibitionspotential zeigten.

Sauerkirschen und auch Cranberry zeigten sich bereits im Vergleich mit verschiedenen roten Früchten als weniger aktiv gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase wohingegen rote Trauben, schwarze Johannisbeeren und Granatapfel höheres Inhibitionspotential aufwiesen [Podsędek *et al.*, 2014]. Diese Tendenz konnte bestätigt werden.

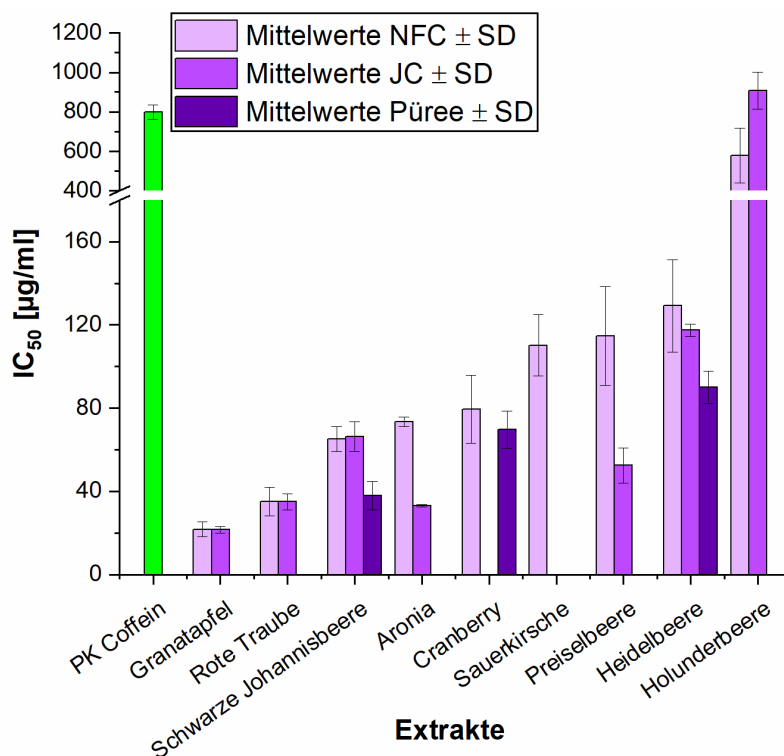


Abbildung 5-3:  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur PK Coffein ( $n = 3$ ).

Die Ergebnisse des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assays sind in Abbildung 5-3 dargestellt. Mit Ausnahme des Extraktes aus Holunderbeersaftkonzentrat ( $IC_{50}$ :  $908 \pm 93 \mu\text{g/mL}$ ), der somit auch der schwächste Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Inhibitor in diesem Testsystem war, zeigten alle Extrakte niedrigere  $IC_{50}$ -Werte als die Positivkontrolle Coffein ( $799 \pm 36 \mu\text{g/mL}$ ) und somit eine höhere inhibitorische Aktivität. Die potentesten Inhibitoren waren hierbei die Extrakte aus Granatapfel ( $IC_{50}$ :

NFC =  $21,7 \pm 3,6 \mu\text{g/mL}$ ; JC =  $21,5 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$ ), sowie Aroniasaftkonzentrat ( $\text{IC}_{50} = 33,1 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$ ), roter Traube (NFC:  $35,1 \pm 6,8 \mu\text{g/mL}$  und JC:  $34,9 \pm 3,8 \mu\text{g/mL}$ ) und dem Püree aus schwarzen Johannisbeeren ( $\text{IC}_{50} = 37,9 \pm 6,9 \mu\text{g/mL}$ ). Allgemein waren alle Extrakte aus Püree aktiver als die jeweiligen Extrakte aus Direktsaft oder Saftkonzentrat. Ein Unterschied in der Inhibitionsaktivität der Saftkonzentrate und der dazugehörigen Direktsäfte konnte jedoch nicht beobachtet werden.

In einer Untersuchung mit verschiedenen Extrakten aus Nebenprodukten der Weinherstellung konnte eine Inhibition der Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Aktivität beobachtet werden. Zurückzuführen war diese vor allem auf das darin enthaltene Quercetin [Kantsadi *et al.*, 2014]. In unserem Screening zeigten sich die Extrakte aus Granatapfel und roter Traube am aktivsten. Diese beiden Früchte enthalten große Mengen an Quercetinderivate [Neveu *et al.*, 2010]. Es lässt sich eine Korrelation zwischen den Inhaltsstoffen der Extrakte und der inhibitorischen Aktivität vermuten.

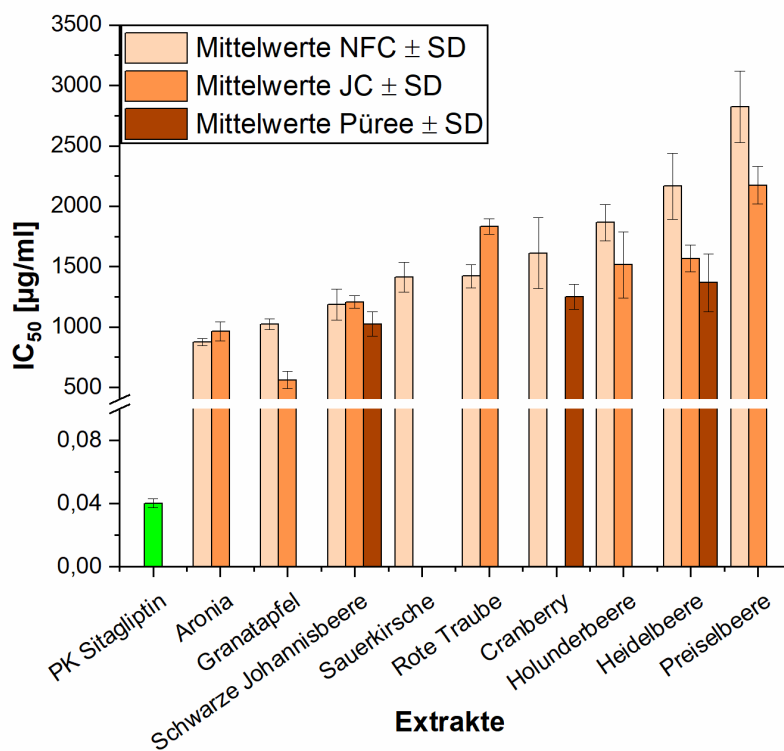


Abbildung 5-4:  $\text{IC}_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des Dipeptidylpeptidase-IV-Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur PK Sitagliptin ( $n = 3$ ).

Abbildung 5-4 zeigt die Ergebnisse des Dipeptidylpeptidase-IV-Inhibitions-Assays. Hier erreichte keiner der untersuchten Extrakte ein mit der Positivkontrolle Sitagliptin vergleichbares Inhibitionspotential, für die ein  $\text{IC}_{50}$ -Wert von  $40,2 \pm 2,9 \text{ ng/mL}$  ermittelt werden konnte. Auch hier wiesen die Extrakte aus Püree eine höhere inhibitorische Aktivität als die jeweiligen Direktsaftextrakte auf. Ein Trend beim Vergleich der Extrakte aus Direktsaft und Saftkonzentrat konnte nicht beobachtet werden. Die aktivsten Proben waren die Extrakte aus dem Direktsaft und dem Saftkonzentrat von Aronia ( $\text{IC}_{50}$ : NFC =  $874 \pm 31 \mu\text{g/mL}$ ; JC =  $963 \pm 78 \mu\text{g/mL}$ ) sowie aus

Granatapfel ( $IC_{50}$ : NFC =  $1022 \pm 46 \mu\text{g/mL}$ ; JC =  $560 \pm 72 \mu\text{g/mL}$ ). Wohingegen Extrakte aus Holunderbeer-, Heidelbeer- und Preiselbeerprodukten die schwächsten Dipeptidylpeptidase-IV-Inhibitoren in diesem Testsystem waren.

Für Cyanidin-3,5-diglucosid konnte bereits ein inhibitorisches Potential auf die DPP-IV-Aktivität *in vitro* nachgewiesen werden [Kozuka *et al.*, 2015]. Dieses Anthocyan ist sowohl in Aronia als auch Granatapfel enthalten. Das könnte erklären, warum die Extrakte aus diesen beiden Früchten in unserem Screening die höchste inhibitorische Aktivität zeigten.

Alle vier Inhibitionsassays zeigten, dass die Extrakte aus Pürees die potentesten Inhibitoren innerhalb der einzelnen Fruchtarten waren. Da es sich um ein Kooperationsprojekt handelt, wurden an der Technischen Universität Braunschweig die Gesamtpolyphenolgehalte der Extrakte bestimmt (vgl. Tabelle 5-2) [Berger *et al.*, 2020].

Tabelle 5-2: Gesamtpolyphenolgehalte [g GAE/100 g] der Fruchtsaftextrakte der neun Früchte [Berger *et al.*, 2020].

| Fruchtextrikte                | Gesamtpolyphenolgehalt [g GAE/100 g] |                |       |
|-------------------------------|--------------------------------------|----------------|-------|
|                               | Direktsaft                           | Saftkonzentrat | Püree |
| <b>Granatapfel</b>            | 71,3 ± 4,3                           | 60,1 ± 24,7    |       |
| <b>Aronia</b>                 | 69,9 ± 14,1                          | 65,4 ± 6,6     |       |
| <b>Rote Traube</b>            | 57,8 ± 6,3                           | 61,3           |       |
| <b>Heidelbeere</b>            | 56,6 ± 2,9                           | 59,1           | 48,3  |
| <b>Cranberry</b>              | 50,3 ± 5,7                           |                | 53,0  |
| <b>Preiselbeere</b>           | 49,3 ± 2,6                           | 51,6           |       |
| <b>Schwarze Johannisbeere</b> | 47,8 ± 4,4                           | 53,3           | 51,8  |
| <b>Holunderbeere</b>          | 47,8 ± 1,3                           | 61,8           |       |
| <b>Sauerkirsche</b>           | 41,2 ± 2,4                           |                |       |

Betrachtet man diese Werte, zeigt sich hier eine Korrelation. So konnte für die Pürees überwiegend ein höherer Gesamtpolyphenolgehalt als für die Direktsäfte ermittelt werden. Bei drei der untersuchten Enzyme waren die Extrakte aus Saftkonzentrat aktiver als die aus dem jeweiligen Direktsaft. Vergleicht man dies fällt auf, dass die Extrakte aus Saftkonzentrat auch einen höheren Gesamtpolyphenolgehalt aufwiesen. Diese Ergebnisse könnten darauf hinweisen, dass die Menge an Polyphenolen im Zusammenhang mit dem inhibitorischen Potential auf die verschiedenen Enzyme steht.

Auch bei der Betrachtung der Früchte untereinander ließ sich eine Korrelation der inhibitorischen Aktivität mit dem Gesamtgehalt an Polyphenolen teilweise feststellen. Zählten die Extrakte aus Sauerkirsche zu den tendenziell weniger aktiven Extrakten, wurde hier auch der niedrigste

Gesamtpolyphenolgehalt nachgewiesen. In allen vier zellfreien Testsystemen waren vor allem die Extrakte aus Aronia und Granatapfel besonders potente Inhibitoren der Enzymaktivität. Neben dem hohen Gesamtpolyphenolgehalt der Granatapfelextrakte kann die inhibitorische Aktivität aber auch auf die darin enthaltenen Ellagitannine zurückzuführen sein, für die bereits eine inhibitorische Aktivität, vor allem gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase, beobachtet werden konnte [Bellesia *et al.*, 2015]. Gleichzeitig waren dies auch die Extrakte mit dem höchsten Gehalt an Polyphenolen. Für Aroniaextrakte wurde bereits eine höhere inhibitorische Aktivität als für Extrakte aus anderen roten Früchten, wie z.B. Sauerkirsche, gegenüber den Verdauungsenzymen  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase beschrieben [Podsędek *et al.*, 2014]. Dies könnte auf den hohen Polyphenolgehalt zurückzuführen sein. Die Extrakte aus Heidelbeere und Holunderbeere gehörten in allen vier Enzym-Inhibitions-Assays zu den schwächsten Inhibitoren. Während in den Extrakten aus Holunderbeeren ebenfalls weniger Polyphenole bestimmt werden konnten, gehörten die Extrakte aus Heidelbeeren zu den vier Extrakten mit dem höchsten Gehalt an Polyphenolen. Die Extrakte aus Preiselbeere und Cranberry wiesen ebenfalls tendenziell höhere inhibitorische Aktivitäten auf trotz eines geringeren *Total phenolic content* (TPC). Daher lässt sich vermuten, dass die inhibitorische Aktivität der Fruchtsaftextrakte nicht nur auf den Gesamtpolyphenolgehalt, sondern auch auf spezifische Untergruppen der Polyphenole oder andere Substanzen zurückzuführen ist [Benzie *et al.*, 2011]. So wurde bereits beschrieben, dass Cyanidin-3-glucosid-haltige Extrakte, wie die aus Früchten der blauen Heckenkirsche oder der Montmorency-Kirsche, die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase besonders effektiv hemmen können [Silva und Rupasinghe, 2020; Kirakosyan *et al.*, 2018]. Diese Verbindung war beispielsweise in unseren Extrakten aus Aronia, Granatapfel und schwarzer Johannisbeere vorhanden, welche zu den aktivsten Extrakten in allen vier Enzymassays zählten. Für die untersuchten Preiselbeerproben konnte im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - sowie dem Dipeptidylpeptidase-IV-Assay ein relativ niedriges Inhibitionspotential ermittelt werden, während sie beim  $\alpha$ -Amylase- sowie  $\alpha$ -Glucosidase-Assay zu den aktiveren Extrakten zählten. Dieselben Extrakte und im Folgeschluss auch dieselben Polyphenole scheinen somit eine unterschiedlich stark ausgeprägte Inhibition der Aktivität der verschiedenen Enzyme zu zeigen. Dass die untersuchten Enzyme unterschiedlich durch Polyphenole beeinflusst werden, wurde bereits in der Literatur beschrieben. Hierbei zeigte sich, dass beispielsweise die  $\alpha$ -Glucosidase eher durch Anthocyane beeinflusst wird, während die  $\alpha$ -Amylase durch verschiedene Polyphenole inhibiert wird [Cheplick *et al.*, 2007]. Das Polyphenolprofil der Cranberry- und Preiselbeerextrakte wies aufgrund der Artverwandtschaft große Ähnlichkeiten auf. So wurde das Copigmentprofil von Chlorogensäure und Quercetin-3-galactosid geprägt, während bei den Anthocyanen vor allem Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-galactosid vorhanden waren. Die Extrakte aus Heidelbeere, die diese vier Substanzen ebenfalls enthielten, zeigten überwiegend eine vergleichbare inhibitorische Aktivität in den Inhibitionsassays. Die Unterschiede könnten sich

durch die restlichen Polyphenole sowie die Menge der einzelnen Substanzen und Verhältnisse zueinander erklären.

Insgesamt zeigten die Extrakte der untersuchten roten Fruchtsäfte ein deutlich höheres Inhibitionspotential als die jeweils verwendete Positivkontrolle bei  $\alpha$ -Glucosidase und Glykogenphosphorylase  $\alpha$ , während sie vergleichsweise eher schwächere Inhibitoren der  $\alpha$ -Amylase und deutlich schwächere der Dipeptidylpeptidase IV waren. Unsere Ergebnisse für Acarbose standen im Einklang mit Literaturdaten, in denen bereits eine große Bandbreite von  $IC_{50}$ -Werten beschrieben wurde. So reichte er beispielsweise für  $\alpha$ -Amylase von 50  $\mu$ g/ml bis 10 mg/ml [Sales *et al.*, 2012].

Wie bereits beschreiben zeigen Anthocyane eine sehr geringe Bioverfügbarkeit [Lila *et al.*, 2016]. Dies kann für die Beurteilung der Ergebnisse des  $\alpha$ -Amylase-,  $\alpha$ -Glucosidase- und Dipeptidylpeptidase-IV-Assays jedoch vernachlässigt werden, da diese Enzyme im Speichel, im Magen oder im Darm vorliegen und somit direkt mit den Polyphenolen aus der Nahrung interagieren und von diesen beeinflusst werden können. Für die Ergebnisse des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assays ist dies jedoch nicht der Fall. Dieses Enzym ist in Leber- und Adipozytenzellen lokalisiert und kann somit erst nach der Aufnahme der Polyphenole in diese Zellen und teilweise auch nur durch deren Abbauprodukte stimuliert werden. Damit Inhibitoren aus anthocyanreichen Säften an den Zielorten ankommen und eine signifikante Reduzierung der Enzymaktivität auslösen, müssten große Mengen der Saftprodukte verzehrt werden. Dass die Hemmung der Aktivität der Glykogenphosphorylase  $\alpha$  für die blutzuckersenkende Wirkung von roten Früchten eine große Relevanz spielt, ist somit eher ausgeschlossen. Stoffwechselwege, die unabhängig von der Bioverfügbarkeit potentieller Inhibitoren sind, werden hierbei einen größeren Einfluss nehmen.

Für die folgende aktivitätsgeleitete Fraktionierung wurde aufgrund dieser Ergebnisse je ein Extrakt aus Aroniadirektsaft sowie aus Granatapfeldirektsaft gewählt. Zusätzlich sollte mit einem Saftextrakt aus roten Trauben weitergearbeitet werden (vgl. Kapitel 5.1.2). Somit wurden ebenfalls drei Extrakte mit sehr unterschiedlichen Polyphenolprofilen gewählt. Aronia wies einen besonders hohen Gehalt an Anthocyanen und Proanthocyanidinen auf, hierbei handelte es sich vor allem um Cyanidin-Glykoside [Oszmiański und Lachowicz, 2016]. Rote Trauben wiederum zeigten ein breites Spektrum an unterschiedlichen Anthocyanidinen, die hauptsächlich als Glucoside vorlagen [Kammerer *et al.*, 2004]. Durch den Granatapfel konnte im weiteren Verlauf zusätzlich der Einfluss von Ellagitanninen, wie Punicalin und Punicalagin, untersucht werden [Fischer *et al.*, 2011].

### 5.1.2 Vergleich der Extrakte aus verschiedenen roten Traubensorten

An der TU Braunschweig wurden Extrakte aus sorten- oder herkunftsreinen roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC) (s. Tabelle 5-3) hergestellt. Dies diente der

Überprüfung, ob die jeweilige Traubensorte für die inhibitorische Aktivität gegenüber  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase eine Rolle spielte.

Tabelle 5-3: Übersicht der Extrakte aus verschiedenen roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC)

| Extrakt                | Sorte              | Herkunftsort  |
|------------------------|--------------------|---------------|
| <b>Accent, NFC</b>     | Accent             | Deutschland   |
| <b>Concord JC 1</b>    | Concord            | USA           |
| <b>Concord JC 2</b>    | Concord            | Nicht bekannt |
| <b>Deutschland NFC</b> | Nicht spezifiziert | Deutschland   |
| <b>Frankreich NFC</b>  | Nicht spezifiziert | Frankreich    |
| <b>Italien NFC</b>     | Nicht spezifiziert | Italien       |
| <b>Italien JC 1</b>    | Nicht spezifiziert | Italien       |
| <b>Italien JC2</b>     | Nicht spezifiziert | Italien       |
| <b>Lambrusco NFC</b>   | Lambrusco          | Italien       |
| <b>Lambrusco JC</b>    | Lambrusco          | Italien       |
| <b>Spanien JC</b>      | Nicht spezifiziert | Spanien       |

In der folgenden Abbildung sind die Ergebnisse der elf verschiedenen Traubenproben (5 NFC-Proben und 6 JC-Proben) im  $\alpha$ -Amylase-Assay und  $\alpha$ -Glucosidase-Assay dargestellt (Abbildung 5-5). Als Positivkontrolle (PK) wurde Acarbose, in Form des im Handel erwerblichen Medikamentes Glucobay® der Firma Bayer, verwendet.

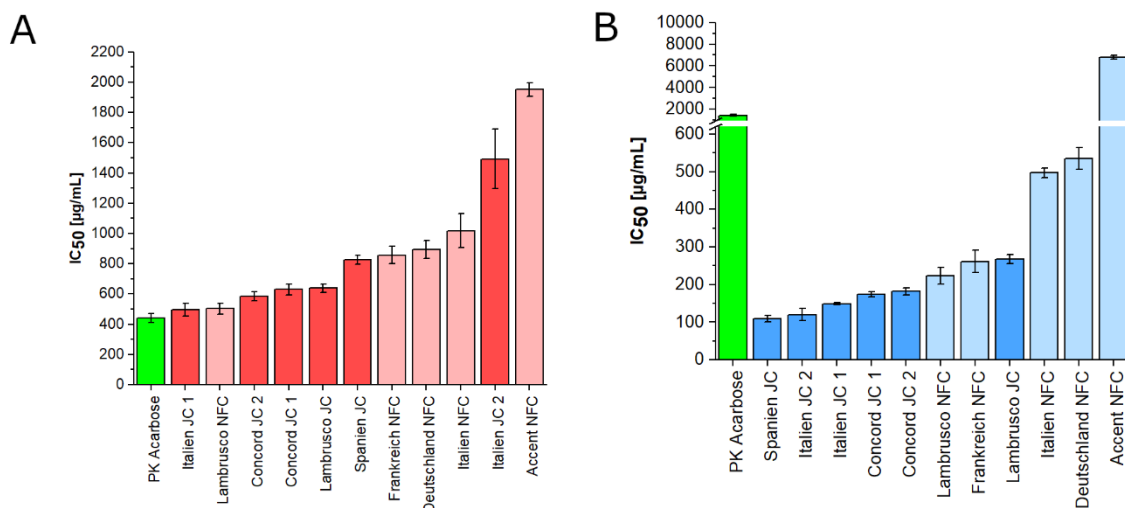


Abbildung 5-5: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des  $\alpha$ -Amylase- (A) und  $\alpha$ -Glucosidase-Assays (B). Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Extrakte aus roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC) als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n = 3).

Die elf Extrakte aus unterschiedlichen Traubensorten zeigten im  $\alpha$ -Amylase-Assay alle eine geringere inhibitorische Aktivität als die Positivkontrolle Acarbose mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von

440 ± 30 µg/mL. Vier Extrakte aus Saftkonzentraten (Italien JC 1, Concord JC 2, Concord JC 1 und Lambrusco JC) sowie Lambrusco NFC zeigten das größte inhibitorische Potential mit IC<sub>50</sub>-Werten zwischen 497 ± 42 µg/mL und 639 ± 28 µg/mL. In einem IC<sub>50</sub>-Bereich von 825 ± 30 µg/mL bis 1018 ± 112 µg/mL befand sich eine Gruppe mit drei Extrakten aus Direktsaft (Frankreich NFC, Deutschland NFC und Italien NFC) und einem Extrakt aus Saftkonzentrat aus spanischen Trauben. Weniger aktiv waren ein Extrakt aus Saftkonzentrat von italienischen Trauben (Italien JC 2: IC<sub>50</sub> = 1493 ± 198 µg/mL), sowie ein Extrakt aus Direktsaft der Traubensorte Accent (IC<sub>50</sub> = 1951 ± 45 µg/mL).

Im α-Glucosidase-Assay konnten die elf Extrakte aus unterschiedlichen Traubensorten ebenfalls in drei verschiedene Aktivitätsgruppen eingeteilt werden. Acht Extrakte (Lambrusco NFC, Frankreich NFC, sowie alle Konzentratproben) zeigten ein besonders hohes inhibitorisches Potential mit IC<sub>50</sub>-Werten im Bereich von 109 ± 9 µg/mL bis 268 ± 12 µg/mL. Eine geringfügig niedrigere Inhibitionsaktivität wiesen die Extrakte aus Italien NFC und Deutschland NFC auf mit IC<sub>50</sub>-Werten von 497 ± 12 µg/mL, respektive 535 ± 29 µg/mL. Der einzige Extrakt, der die Aktivität der α-Glucosidase weniger potent hemmte als die Positivkontrolle Acarbose (IC<sub>50</sub> = 1439 ± 85 µg/mL), war der Extrakt aus Direktsaft der Traubensorte Accent (IC<sub>50</sub> = 6775 ± 177 µg/mL).

Um die aktivste Probe in beiden Testsystemen bestimmen zu können, wurden die erzielten Ergebnisse normiert und anschließend in einem Streudiagramm gegeneinander aufgetragen (s. Abbildung 5-6). Der Extrakt, der den geringsten Abstand zum Ursprung aufwies, zeigte das größte inhibitorische Potential sowohl gegenüber α-Amylase als auch α-Glucosidase. Der Abstand zum Ursprung wurde mit Hilfe des Satzes des Pythagoras ermittelt.

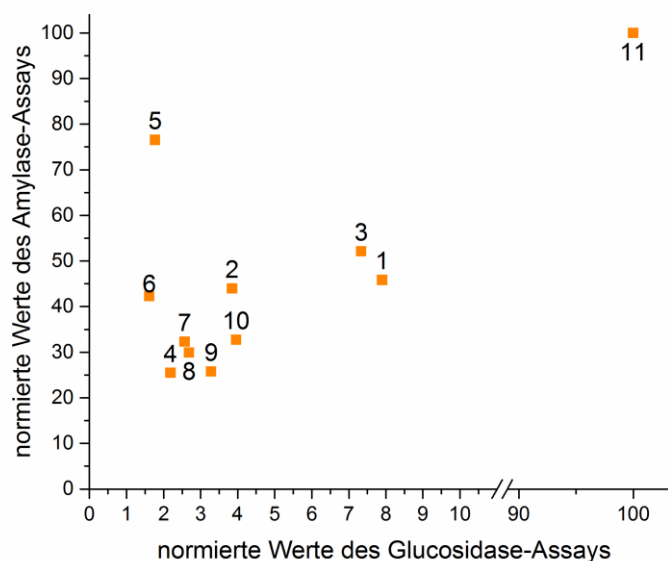


Abbildung 5-6: Normierung der Ergebnisse aus α-Glucosidase- und α-Amylase-Assay der Extrakte aus roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC). Probennummer 1 - 11: s. Tabelle 5-4.

Tabelle 5-4: Vergleich der Extrakte aus roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC). Sortiert nach aufsteigendem Abstand zum Ursprung

| Probe | Bezeichnung     | Abstand zum Ursprung |
|-------|-----------------|----------------------|
| 4     | Italien JC 1    | 25,5                 |
| 9     | Lambrusco NFC   | 26,0                 |
| 8     | Concord JC 2    | 30,0                 |
| 7     | Concord JC 1    | 32,4                 |
| 10    | Lambrusco JC    | 33,0                 |
| 6     | Spanien JC      | 42,3                 |
| 2     | Frankreich NFC  | 44,1                 |
| 1     | Deutschland NFC | 46,5                 |
| 3     | Italien NFC     | 52,7                 |
| 5     | Italien JC 2    | 76,5                 |
| 11    | Accent NFC      | 141                  |

Wie in Abbildung 5-6 gezeigt, bestätigten sich die Resultate der einzelnen Tests. Obwohl die Unterschiede in der inhibitorischen Aktivität der elf Traubensaftextrakte überwiegend nicht stark ausgeprägt waren, konnten verschiedene Aktivitätsgruppen eingeteilt werden. „Accent NFC“ war in beiden Einzeltests am wenigstens aktiv und hob sich auch bei der Normierung mit einem Abstand von 141 (vgl. Tabelle 5-4) deutlich von den anderen ab. Aufgrund des geringen Inhibitions potentials im  $\alpha$ -Amylase-Assay zählte auch „Italien JC 2“ zu den weniger aktiven Extrakten. Die restlichen getesteten Traubensaftextrakte wiesen insgesamt eine vergleichbare inhibitorische Aktivität aus, wobei die Probe „Italien JC 1“ insgesamt am potentesten die Aktivität der beiden Verdauungsenzyme hemmte, gefolgt von „Lambrusco NFC“. Einen Unterschied in der Aktivität zwischen Extrakten aus Direktsäften und Saftkonzentraten konnte hier nicht beobachtet werden.

Es lässt sich eine Tendenz erkennen, dass sowohl die Traubenvarietät als auch -herkunft keinen signifikanten Einfluss auf das Inhibitions potential gegenüber  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase hatte. So waren Extrakte aus italienischen Trauben sowohl unter den aktivsten, im mittleren Aktivitätsbereich als auch unter den weniger aktiven Extrakten anzufinden. Die beiden Extrakte aus Trauben der Sorte Lambrusco wiesen zwar ein eher höheres inhibitorische Potential auf, zeigten aber im Vergleich miteinander Unterschiede auf. So war es auch bei den beiden Extrakten aus deutschen Trauben (Deutschland NFC und Accent NFC). Beide zählten zu den weniger aktiven Extrakten, unterschieden sich jedoch stark in der jeweiligen, gemessenen Inhibition. Im Gegensatz dazu zeigten die beiden Extrakte aus Trauben der Sorte Concord eine eher höhere und dabei vergleichbare inhibitorische Aktivität.

Als aktivster Extrakt in beiden zellfreien Testsystemen wurde für die weiteren aktivitätsgeleiteten Fraktionierungen „Italien JC 1“ (Probennummer 4) vom projektbegleitenden Ausschuss ausgewählt.



## 5.2 Untersuchung der Fraktionen

Mit den drei aktivsten Extrakten (s. Kapitel 5.1.1), je ein Extrakt aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat, wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Peter Winterhalter der Technischen Universität Braunschweig eine Membranchromatographie sowie eine Hexanfällung durchgeführt, um die Extrakte in ihre Anthocyan-, Copigment- und Polymerfraktion aufzutrennen.

Für die drei Fraktionen der drei Fruchtsaftextrakte aus Aronia, Granatapfel und roter Traube wurde in den vier Enzym-Inhibitions-Assays der  $IC_{50}$ -Wert bestimmt, um ihre Aktivität untereinander zu vergleichen. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 5-7, 5-8, 5-9 und 5-10 dargestellt.

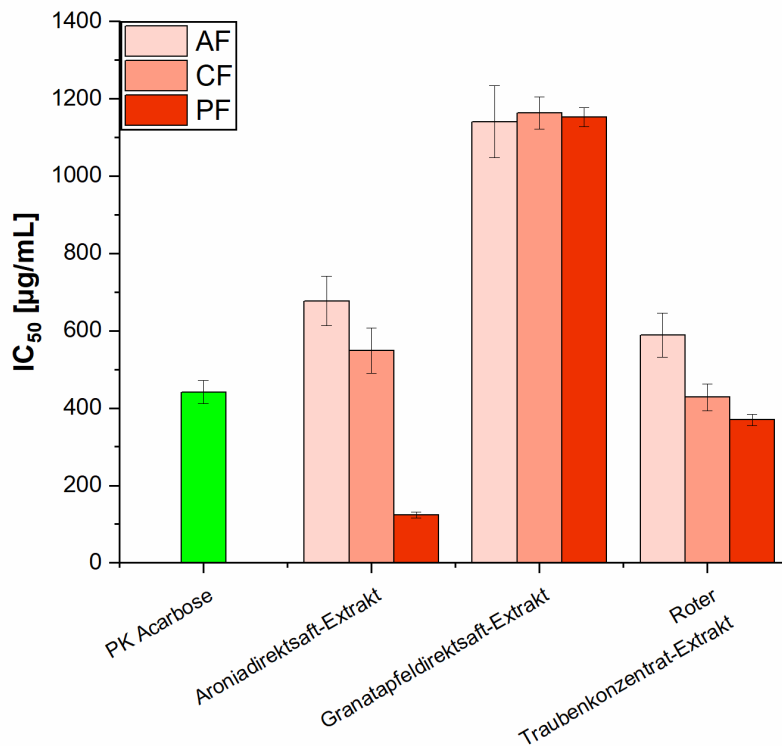


Abbildung 5-7:  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des  $\alpha$ -Amylase-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Acarbose ( $n = 3$ ). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion.

Im  $\alpha$ -Amylase-Assay (vgl. Abbildung 5-7) konnte bei den Fraktionen des Extrakts aus Aroniadirektsaft für die Polymerfraktion (PF) das größte inhibitorische Potential mit einem  $IC_{50}$  von  $123 \pm 8 \mu\text{g/mL}$  beobachtet werden. Die Anthocyanfraktion (AF) sowie die Copigmentfraktion (CF) zeigten vergleichbare inhibitorische Aktivitäten ( $IC_{50} = 677 \pm 63 \mu\text{g/mL}$  respektive  $548 \pm 58 \mu\text{g/mL}$ ) wie die Positivkontrolle Acarbose ( $IC_{50} = 441 \pm 30 \mu\text{g/mL}$ ). Zwischen den Fraktionen des Extrakts aus Granatapfeldirektsaft waren kaum Unterschiede in den Aktivitäten mit  $IC_{50}$ -Werten von  $1141 \pm 93 \mu\text{g/mL}$  (AF),  $1163 \pm 42 \mu\text{g/mL}$  (CF) und  $1152 \pm 24 \mu\text{g/mL}$  (PF) erkennbar. Außerdem waren sie im Gesamtvergleich aller Fraktionen am wenigsten aktiv. Die Polymerfraktion aus rotem Traubensaftkonzentrat war die aktivste Fraktion des Extraktes mit einem  $IC_{50}$ -Wert von

$369 \pm 14 \mu\text{g/mL}$ , gefolgt von der Copigmentfraktion ( $\text{IC}_{50} = 428 \pm 34 \mu\text{g/mL}$ ) und der Anthocyanfraktion ( $\text{IC}_{50} = 589 \pm 57 \mu\text{g/mL}$ ). In diesem Testsystem war die Polymerfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft insgesamt am aktivsten, gefolgt von der Polymerfraktion des roten Traubensaftkonzentrates, wohingegen die Copigmentfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft die geringste  $\alpha$ -Amylase-Inhibition aufwies.

Für die Inhibition der  $\alpha$ -Amylase zeigten sich vor allem Flavonoide wie Kaempferol und Isorhamnetin als besonders effektiv [Kim *et al.*, 2000]. Im Vergleich der drei hier untersuchten Früchte sind diese Verbindungen primär in roten Trauben zu finden. Die Fraktionen der roten Traube gehörten auch zu denen mit höheren inhibitorischen Aktivitäten. Ein Zusammenhang dieses Inhibitionspotential mit der Zusammensetzung der Fraktionen kann nicht ausgeschlossen werden.

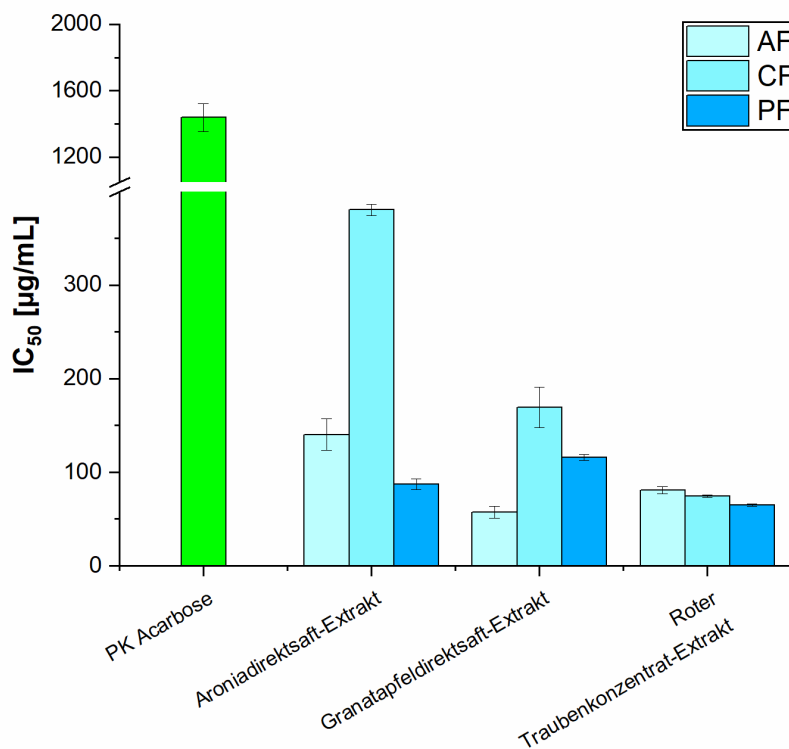


Abbildung 5-8:  $\text{IC}_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des  $\alpha$ -Glucosidase-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Acarbose ( $n = 3$ ). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion.

Im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay (s. Abbildung 5-8) zeigten alle getesteten Fraktionen ein höheres inhibitorisches Potential im Vergleich zur Positivkontrolle Acarbose ( $\text{IC}_{50} = 1438 \pm 85 \mu\text{g/mL}$ ). Bei den Einzelfractionen des Extrakts aus Aroniadirektsaft war die inhibitorische Aktivität der Polymerfraktion mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von  $87,2 \pm 5,9 \mu\text{g/mL}$  am höchsten, gefolgt von der Anthocyanfraktion und der Copigmentfraktion ( $\text{IC}_{50}$ :  $140 \pm 17 \mu\text{g/mL}$  (AF);  $380 \pm 6 \mu\text{g/mL}$  (CF)). Bei den Fraktionen aus dem Extrakt aus Granatapfeldirektsaft ließen sich ebenfalls Unterschiede erkennen. Hier war die Anthocyanfraktion am aktivsten ( $\text{IC}_{50} = 57,2 \pm 6,4 \mu\text{g/mL}$ ) und die Polymerfraktion mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von  $116 \pm 3 \mu\text{g/mL}$  ca. halb so aktiv. Die Copigmentfraktion

zeigte innerhalb der Fraktionen des Extraktes des Granatapfeldirektsaftes das geringste inhibitorische Potential ( $IC_{50} = 169 \pm 22 \mu\text{g/mL}$ ). Bei den Fraktionen aus rotem Traubensaftkonzentrat-Extrakt konnten für alle drei Fraktionen vergleichbare  $IC_{50}$ -Werte mit  $80,9 \pm 3,6 \mu\text{g/mL}$  (AF),  $74,5 \pm 1,4 \mu\text{g/mL}$  (CF) und  $64,9 \pm 1,4 \mu\text{g/mL}$  (PF) beobachtet werden. Insgesamt erwies sich die Anthocyanfraktion des Extrakts aus Granatapfeldirektsaft als potentester Inhibitor der Enzymaktivität, gefolgt von der Polymerfraktion des roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes. Die Copigmentfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft hingegen wies das geringste inhibitorische Potential im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay auf.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Fraktionen des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat zu den aktivsten Fraktionen zählten. Hier waren Flavonoide wie Quercetin und Kaempferol enthalten. Für diese Substanzen konnte bereits ein höheres inhibitorisches Potential im Vergleich mit anderen Polyphenolen nachgewiesen werden [Tadera *et al.*, 2006].

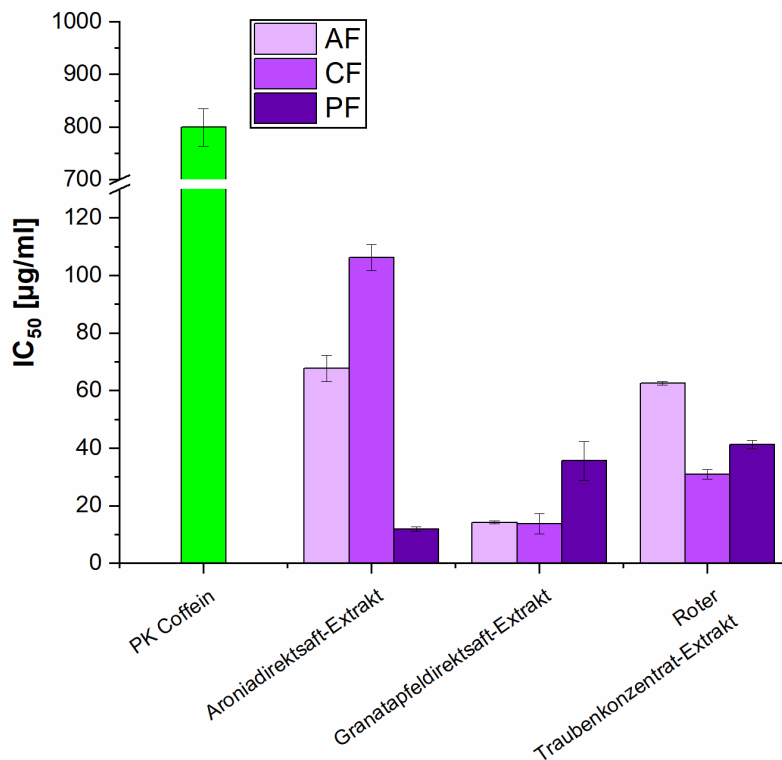


Abbildung 5-9:  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Coffein ( $n = 3$ ). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion.

Im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assay (vgl. Abbildung 5-9) waren alle getesteten Fraktionen potentere Inhibitoren als die Positivkontrolle Coffein ( $IC_{50} = 799 \pm 36 \mu\text{g/mL}$ ). Im Extrakt aus Aroniadirektsaft zeigte die Polymerfraktion die höchste inhibitorische Aktivität mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $11,8 \pm 0,8 \mu\text{g/mL}$ . Für die Anthocyanfraktion konnte eine fast sechsfach höhere mittlere inhibitorische Konzentration von  $67,7 \pm 4,6 \mu\text{g/mL}$  ermittelt werden. Die am wenigsten aktive Fraktion war die Copigmentfraktion ( $IC_{50} = 106 \pm 5 \mu\text{g/mL}$ ). Beim Granatapfeldirektsaft-Extrakt wiesen die

Anthocyan- und die Copigmentfraktion ein vergleichbares Inhibitionspotential ( $IC_{50}$ :  $14,2 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$  (AF);  $13,7 \pm 3,6 \mu\text{g/mL}$  (CF)) auf. Die Fraktion mit dem niedrigsten Inhibitionspotential war die Polymerfraktion mit einem im Vergleich zu den beiden anderen Fraktionen doppelt so hohen  $IC_{50}$ -Wert von  $35,6 \pm 6,7 \mu\text{g/mL}$ . Bei den Fraktionen des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat zeigte die Copigmentfraktion die höchste inhibitorische Aktivität mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $30,9 \pm 1,7 \mu\text{g/mL}$ , gefolgt von der Polymer- und der Anthocyanfraktion ( $IC_{50}$ :  $41,2 \pm 1,4 \mu\text{g/mL}$  (PF),  $62,5 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$  (AF)). Für die Polymerfraktion des Aroniadirektsaft-Extraktes zusammen mit der Anthocyan- und Copigmentfraktion des Granatapfeldirektsaft-Extraktes konnte die höchste inhibitorische Aktivität beobachtet werden, wohingegen die Copigmentfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft das niedrigste inhibitorische Potential aufwies.

In unseren Untersuchungen zeigte sich die jeweilige Copigmentfraktion als besonders potenter Inhibitor der Enzymaktivität. In einem Vergleich verschiedener Polyphenole zeigte sich, dass vor allem Copigmente, wie beispielsweise Quercetin, die Aktivität der Glykogenphosphorylase  $\alpha$  besonders effektiv hemmten [Jakobs *et al.*, 2006]. Hier konnte auch beobachtet werden, dass unter den Anthocyanidinen Cyanidin und Delphinidin die höchste inhibitorische Aktivität zeigten [Jakobs *et al.*, 2006]. Glykoside dieser Verbindungen fanden sich in der Anthocyanfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft, die in unseren Messungen die aktivste Anthocyanfraktion darstellte.

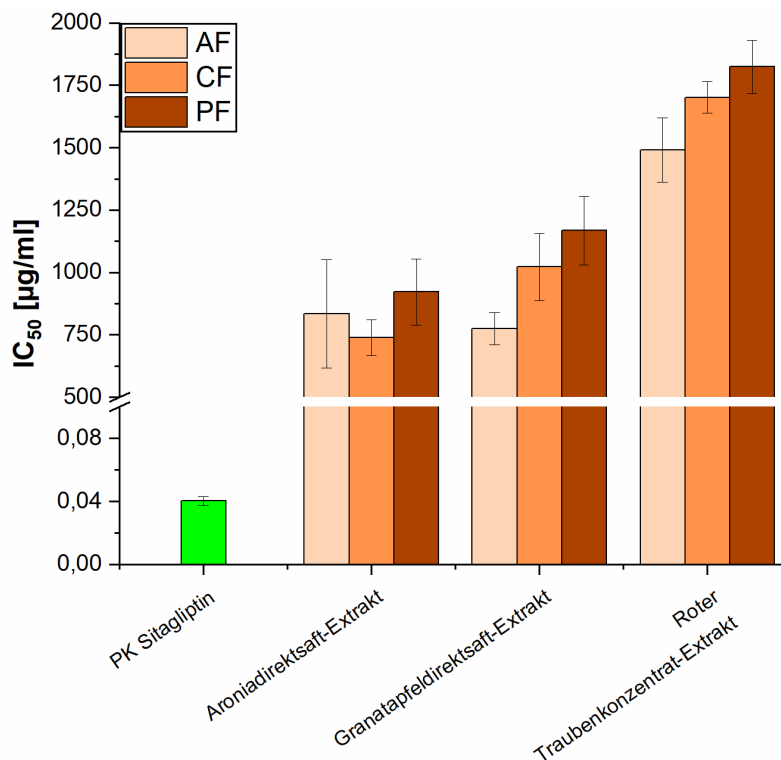


Abbildung 5-10:  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des Dipeptidylpeptidase-IV-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Sitagliptin ( $n = 3$ ). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion.

Im Dipeptidylpeptidase-IV-Assay (s. Abbildung 5-10) konnte für alle getesteten Fraktionen ein niedrigeres inhibitorisches Potential im Vergleich zur Positivkontrolle Sitagliptin ( $IC_{50} = 0,04 \pm 0,003 \mu\text{g/mL}$ ) beobachtet werden. Bei den Fraktionen des Extraktes aus Aroniadirektsaft zeigte die Copigmentfraktion die höchste inhibitorische Aktivität mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $739 \pm 70 \mu\text{g/mL}$ , gefolgt von der Anthocyanfraktion und der Polymerfraktion ( $IC_{50}$ :  $835 \pm 217 \mu\text{g/mL}$  (AF);  $922 \pm 133 \mu\text{g/mL}$  (PF)). Bei den Fraktionen aus dem Extrakt aus Granatapfeldirektsaft ließen sich ebenfalls Unterschiede erkennen. Hier war jedoch die Anthocyanfraktion am aktivsten ( $IC_{50} = 775 \pm 64 \mu\text{g/mL}$ ), während die Polymerfraktion mit einer mittleren inhibitorischen Konzentration von  $1168 \pm 137 \mu\text{g/mL}$  am wenigsten aktiv war. Die Copigmentfraktion ordnete sich innerhalb dieses Saftextraktes zwischen den anderen beiden Fraktionen ein ( $IC_{50} = 1022 \pm 134 \mu\text{g/mL}$ ). Der gleiche Trend zeigte sich bei den Fraktionen des roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes ( $IC_{50}$ :  $1492 \pm 129 \mu\text{g/mL}$  (AF);  $1702 \pm 63 \mu\text{g/mL}$  (CF);  $1824 \pm 106 \mu\text{g/mL}$  (PF)). Die höchste inhibitorische Aktivität konnte für die Copigmentfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft und der Anthocyanfraktion des Granatapfeldirektsaft-Extraktes gezeigt werden. Wohingegen die Fraktionen des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat das geringste Inhibitionspotential aufwiesen.

In einer Studie wurde die inhibitorische Aktivität verschiedener Polyphenole gegenüber der Dipeptidylpeptidase IV untereinander verglichen. Hierbei zeigten sich die Anthocyane als potenteste Gruppe [Fan *et al.*, 2013]. Diese Beobachtungen deckten sich mit unseren Ergebnissen. Die Anthocyanfraktion war überwiegend die aktivste Fraktion innerhalb der verschiedenen Saftextrakte.

Vergleichte man die Ergebnisse aller vier Enzym-Inhibitions-Assays fällt auf, dass sich die Fraktionen in drei Aktivitätsgruppen unterteilen ließen. Weniger aktiv waren hierbei die Anthocyan- und Copigmentfraktion von Aronia, sowie die Copigment- und Polymerfraktion von Granatapfel und die Anthocyanfraktion von roter Traube. Die Polymerfraktion von Aronia und die Anthocyanfraktion von Granatapfel wiesen die höchste Aktivität auf. Die Copigment- und Polymerfraktion von roter Traube ordnete sich zwischen diesen beiden Gruppen ein. Diese beiden Fraktionen zeigten vor allem im Dipeptidylpeptidase-IV-Assay ein geringes Inhibitionspotential.

Betrachtete man die Ergebnisse der einzelnen Fraktionen in Bezug auf die jeweils untersuchten Enzyme erkannte man, dass die  $\alpha$ -Amylase am aktivsten von der jeweiligen Polymerfraktion gehemmt wurde, während die Anthocyanfraktion meist zu den weniger aktiven zählte. Im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay zeigte sich ebenfalls eine Prävalenz der Polymerfraktion, während hier die Copigmentfraktion das geringste Inhibitionspotential zeigte. War die Copigmentfraktion im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assay die potenteste, zeigte sich keine Tendenz, welche Fraktion die Enzymaktivität am wenigsten hemmte. Interessanterweise hemmten die jeweiligen Polymerfraktion die Aktivität der Dipeptidylpeptidase IV am ineffizientesten, während sich hier die Anthocyanfraktion als potenter erwies.

Betrachtete man die einzelnen Früchte separat in allen vier Testsystemen ließ sich bei dem Extrakt aus Aroniadirektsaft die Polymerfraktion als aktivste ermitteln, während die Copigmentfraktion weniger aktiv war. Ein ähnliches Bild zeigte sich auch bei dem Extrakt aus rotem Traubensaftkonzentrat. Hier zählte jedoch die Anthocyanfraktion zu den weniger potenten Inhibitoren. Während sich diese Fraktion beim Granatapfeldirektsaft-Extrakt als am aktivsten erwies, war einem geringeren Inhibitionspotential keine Fraktion eindeutig zuordenbar.

An der Technischen Universität Braunschweig wurde ebenfalls der Anteil der Fraktionen am Gesamtextrakt bestimmt. So konnten die  $IC_{50}$ -Werte der Fraktionen entsprechend ihrem prozentualen Anteil zur Berechnung eines theoretischen  $IC_{50}$ -Wertes für den Gesamtextrakt genutzt werden. Durch den Vergleich dieses Wertes mit dem in den Testsystemen ermittelten  $IC_{50}$ -Wert des Gesamtextraktes könnten Rückschlüsse auf synergistische Effekte gezogen werden. In Tabelle 5-5 sind die  $IC_{50}$ -Werte der einzelnen Fraktionen für alle vier zellfreien Testsystemen dem theoretischen sowie dem ermittelten  $IC_{50}$ -Wert des jeweiligen Saftextraktes gegenübergestellt. Der theoretische  $IC_{50}$ -Werte berechnete sich, indem man die Ergebnisse der einzelnen Fraktionen entsprechend ihres Anteils am Gesamtextrakt zusammenrechnete:

$$\text{Gesamtextrakt, theoretisch} = IC_{50} \text{ AF} * \text{Anteil AF} + IC_{50} \text{ CF} * \text{Anteil CF} + IC_{50} \text{ PF} * \text{Anteil PF}$$

Es zeigte sich, dass die ermittelten  $IC_{50}$ -Werte vom Fruchtsaftextrakt als auch die theoretischen Werte meist in einem vergleichbaren Aktivitätsbereich lagen. Jedoch gab es auch Abweichungen. Dazu zählten die Ergebnisse des  $\alpha$ -Amylase- sowie  $\alpha$ -Glucosidase-Assays bei den Aroniadirektsaft-Fraktionen und die des  $\alpha$ -Amylase-Assays bei den Fraktionen des Granatapfeldirektsaft. Hier konnte für den Gesamtextrakt ein niedrigerer Wert als der theoretische Wert und somit eine höhere inhibitorische Aktivität ermittelt werden. Auch die Ergebnisse des Dipeptidylpeptidase-IV-Assays bei den Fraktionen des roten Traubensaftkonzentrates wichen voneinander ab. Hier war der theoretische Wert jedoch niedriger als der ermittelte  $IC_{50}$ -Wert des Extraktes aus Saftkonzentrat. Da sich die Werte der getrennt voneinander gemessenen und anschließend miteinander verrechneten Fraktionen vom jeweiligen Gesamtextrakt unterschieden, ließ sich vermuten, dass bei der Inhibition der verschiedenen Enzyme auch synergistische Effekte eine Rolle spielten.

Tabelle 5-5: Gegenüberstellung der IC<sub>50</sub>-Werte der einzelnen Fraktionen, dem theoretischen IC<sub>50</sub>-Wert (entsprechend dem Anteil am Gesamtextrakt) und dem ermittelten IC<sub>50</sub>-Wert des Gesamtextraktes für alle vier zellfreien Testsysteme. Mit: α-Amy = α-Amylase; α-Gluc = α-Glucosidase; AF = Anthocyanfraktion; CF = Copigmentfraktion; DPP IV = Dipeptidylpeptidase IV; GPα = Glykogenphosphorylase α; MW = Mittelwert; PF = Polymerfraktion. \* = Daten erhalten von der TU Braunschweig.

| Frucht                       | Fraktion                   | Anteil am Extrakt [%]* | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |            |            |            |
|------------------------------|----------------------------|------------------------|--------------------------|------------|------------|------------|
|                              |                            |                        | α-Amy                    | α-Gluc     | GPα        | DPP IV     |
| Aroniadirektsaft             | AF                         | 36,93                  | 677 ± 63                 | 140 ± 17   | 67,7 ± 4,6 | 835 ± 217  |
|                              | CF                         | 54,37                  | 548 ± 58                 | 380 ± 6    | 106 ± 5    | 739 ± 70   |
|                              | PF                         | 8,70                   | 123 ± 8                  | 87,2 ± 5,9 | 11,8 ± 0,8 | 922 ± 133  |
|                              | Gesamtextrakt, theoretisch |                        | 559                      | 266        | 84         | 790        |
|                              | Gesamtextrakt, ermittelt   |                        | 329 ± 49                 | 128 ± 8    | 73,4 ± 2,2 | 874 ± 31   |
| Granatapfel-direktsaft       | AF                         | 12,03                  | 1141 ± 93                | 57,2 ± 6,4 | 14,2 ± 0,5 | 775 ± 64   |
|                              | CF                         | 66,01                  | 1163 ± 42                | 169 ± 22   | 13,7 ± 3,6 | 1022 ± 134 |
|                              | PF                         | 21,96                  | 1152 ± 24                | 116 ± 3    | 35,6 ± 6,7 | 1168 ± 137 |
|                              | Gesamtextrakt, theoretisch |                        | 1158                     | 144        | 19         | 1024       |
|                              | Gesamtextrakt, ermittelt   |                        | 997 ± 103                | 106 ± 7    | 21,7 ± 3,6 | 1022 ± 46  |
| rotes Traubensaft-konzentrat | AF                         | 24,14                  | 589 ± 57                 | 80,9 ± 3,6 | 62,5 ± 0,6 | 1492 ± 129 |
|                              | CF                         | 48,75                  | 428 ± 34                 | 74,5 ± 1,4 | 30,9 ± 1,7 | 1702 ± 63  |
|                              | PF                         | 27,11                  | 369 ± 14                 | 64,9 ± 1,4 | 41,2 ± 1,4 | 1824 ± 106 |
|                              | Gesamtextrakt, theoretisch |                        | 451                      | 73         | 41         | 1684       |
|                              | Gesamtextrakt, ermittelt   |                        | 497 ± 42                 | 148 ± 2    | 36,0 ± 5,2 | 1831 ± 66  |

Tabelle 5-6: Zusammensetzung der Anthocyan- und Copigmentfraktionen der Extrakte aus Aroniadirektsaft (A), Granatapfeldirektsaft (G) und rotem Traubensaftkonzentrat (RT) [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019]. Mit Neg. = Negativ und Pos. = Positiv.

| Substanz                   | Modus [M + H] <sup>+/-</sup> | Ion m/z | Fragment m/z | Früchte |   |    |
|----------------------------|------------------------------|---------|--------------|---------|---|----|
|                            |                              |         |              | A       | G | RT |
| Anthocyane                 |                              |         |              |         |   |    |
| Cyanidinderivat 1          | Pos.                         | 737     | 575, 287     | X       |   |    |
| Cyanidinderivat 2          | Pos.                         | 707     | 575, 287     | X       |   |    |
| Cyanidin-3-galactosid      | Pos.                         | 449     | 287          | X       |   |    |
| Cyanidin-3-glucosid        | Pos.                         | 449     | 287          | X       | X | X  |
| Cyanidin-3-arabinosid      | Pos.                         | 419     | 287          | X       |   |    |
| Cyanidin-3-xylosid         | Pos.                         | 419     | 287          | X       |   |    |
| Delphinidin-3,5-diglucosid | Pos.                         | 627     | 465, 303     |         | X |    |
| Cyanidin-3,5-diglucosid    | Pos.                         | 611     | 449, 287     |         | X |    |
| Delphinidin-3-glucosid     | Pos.                         | 465     | 303          |         | X | X  |
| Petunidin-3-glucosid       | Pos.                         | 479     | 317          |         |   | X  |
| Peonidin-3-glucosid        | Pos.                         | 463     | 301          |         |   | X  |
| Malvidin-3-glucosid        | Pos.                         | 493     | 331          |         |   | X  |

| Substanz                 | Modus<br>[M + H] <sup>+/-</sup> | Ion<br>m/z | Fragment m/z       | Früchte |   |    |
|--------------------------|---------------------------------|------------|--------------------|---------|---|----|
|                          |                                 |            |                    | A       | G | RT |
| Copigmente               |                                 |            |                    |         |   |    |
| Protocatechusäure        | Neg.                            | 153        | 109                | X       |   |    |
| 3-Caffeoylchinasäure     | Neg.                            | 353        | 191, 179, 135      | X       |   |    |
| Chlorogensäure           | Neg.                            | 353        | 191, 179, 161      | X       |   |    |
| 4-Caffeoylchinasäure     | Neg.                            | 353        | 191, 179, 173, 135 | X       |   |    |
| Quercetin Dihexosid 1    | Neg.                            | 625        | 301                | X       |   |    |
| Quercetin Dihexosid 2    | Neg.                            | 625        | 301                | X       |   |    |
| Feruloylchinasäure       | Neg.                            | 367        | 191, 179, 135      | X       |   |    |
| Quercetin-3-vivianosid   | Neg.                            | 595        | 301                | X       |   |    |
| Quercetin-3-robinobiosid | Neg.                            | 609        | 301                | X       |   |    |
| Quercetin-3-rutinosid    | Neg.                            | 609        | 301                | X       |   |    |
| Quercetin-3-galactosid   | Neg.                            | 463        | 301                | X       |   |    |
| Quercetin-3-glucosid     | Neg.                            | 463        | 301                | X       |   |    |
| Punicalin                | Neg.                            | 781        | 601, 271           |         | X |    |
| Punicalagin 1            | Neg.                            | 1083       | 601, 299, 271      |         | X |    |
| Pedunculagin 1           | Neg.                            | 783        | 601, 301           |         | X |    |
| Punicalagin 2            | Neg.                            | 1083       | 601, 299, 271      |         | X |    |
| Pedunculagin 2           | Neg.                            | 783        | 601, 301           |         | X |    |
| Granatin B               | Neg.                            | 951        | 907, 301           |         | X |    |
| Pedunculagin 3           | Neg.                            | 783        | 601, 301           |         | X |    |
| Punicalagin 3            | Neg.                            | 1083       | 601, 301           |         | X |    |
| Ellagsäurederivat        | Neg.                            | 799        | 479, 301           |         | X |    |
| Ellagsäurehexosid        | Neg.                            | 463        | 301, 257, 163      |         | X |    |
| Ellagsäure               | Neg.                            | 301        | 258                |         | X |    |
| Gallussäure              | Neg.                            | 169        | 125                |         |   | X  |
| Caftarsäure              | Neg.                            | 311        | 179, 149           |         |   | X  |
| Cutarsäurehexosid        | Neg.                            | 325        | 175, 163           |         |   | X  |
| Isorhamnetin-3-glucosid  | Neg.                            | 295        | 163                |         |   | X  |
| Quercetinhexosid         | Neg.                            | 477        | 316                |         |   | X  |
| Quercetinglucuronid      | Neg.                            | 477        | 301                |         |   | X  |
| Isorhamnetin             | Neg.                            | 317        | 179                |         |   | X  |
| Quercetin                | Neg.                            | 301        | -                  |         |   | X  |
| Kaempferol               | Neg.                            | 285        | 151                |         |   | X  |

### 5.3 Untersuchung der Subfraktionen im $\alpha$ -Amylase- und $\alpha$ -Glucosidase-Assay

Zur Identifizierung von Schlüsselverbindungen wurden die Anthocyan- und Copigmentfraktionen von Aronia, Granatapfel und roter Traube mit Hilfe der *Countercurrent chromatography* (CCC) weiter subfraktioniert.

Die Subfraktionierung sowie die Identifizierung der enthaltenen Polyphenole wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Peter Winterhalter der Technischen Universität Braunschweig durchgeführt (vgl. Kapitel 4.2).



Die Subfraktionen wurden im zellfreien  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assay untersucht, um die aktivsten Verbindungen zu identifizieren. Die Ergebnisse sind nachfolgend dargestellt.

### 5.3.1 Subfraktionen der Anthocyan- und Copigmentfraktion des Aroniadirektsaft-Extraktes

In Abbildung 5-11 sind die Ergebnisse der Anthocyan- (AF) und Copigmentsubfraktionen (CF) des Extraktes aus Aroniadirektsaft (A) für den  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Assay dargestellt. Alle Subfraktionen zeigten ein höheres inhibitorisches Potential gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase als die Positivkontrolle Acarbose ( $IC_{50} = 1438 \pm 85 \mu\text{g/mL}$ ), während im  $\alpha$ -Amylase-Assay lediglich Subfraktion 6 der Anthocyanfraktion, sowie coil sowohl von A-AF als auch A-CF mit  $IC_{50}$ -Werten von jeweils  $408 \pm 66$ ,  $134 \pm 14$  und  $411 \pm 20 \mu\text{g/mL}$  eine höhere inhibitorische Aktivität im Vergleich zu Acarbose ( $IC_{50} = 441 \pm 30 \mu\text{g/mL}$ ) zeigten.

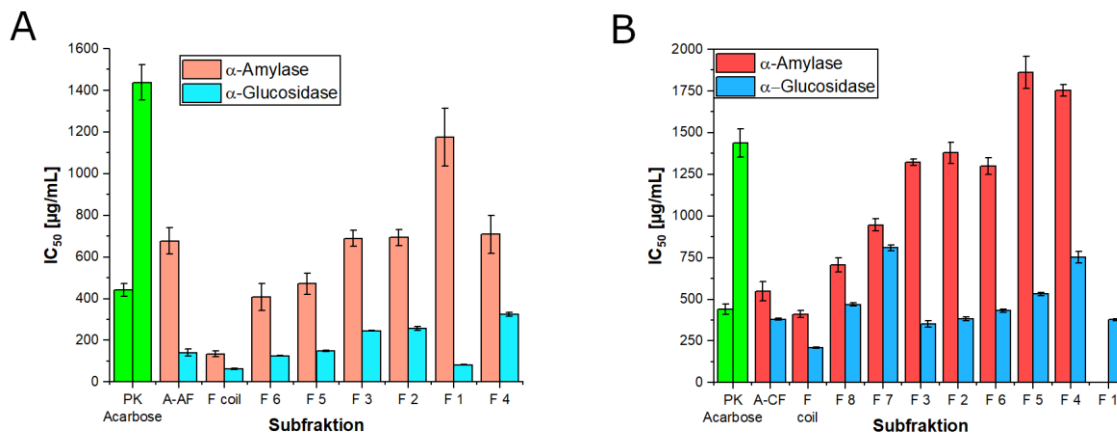


Abbildung 5-11:  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Subfraktionen (F 1 – F coil) der Anthocyan- (A) und Copigmentfraktion (B) des Aroniadirektsaft-Extraktes als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose ( $n=3$ ). Für F 1 der Copigmentfraktion konnte im  $\alpha$ -Amylase-Assay kein  $IC_{50}$ -Wert ermittelt werden. Mit A-AF = Aronia-Anthocyanfraktion und A-CF = Aronia-Copigmentfraktion.

Bei der Anthocyanfraktion zeigten sich die Subfraktionen coil, 6 und 5 am aktivsten von allen Subfraktionen. Subfraktionen coil und 6 enthielten jedoch einen geringen Rest an nicht vollständig abgetrennten Polymeren, wohingegen die Subfraktion 5 anthocyanrein war und Cyanidin-3-arabinosid, sowie Cyanidin-3-xylosid, Cyanidin-3-galactosid und ein weiteres unbekanntes Cyanidin-Derivat enthielt (vgl. Tabelle 5-7). Die mit den Anthocyanen verbundenen Zuckereinheiten spielen eine bedeutende Rolle bei der Inhibition der Aktivität der beiden Verdauungsenzyme  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase. Je kleiner der Zuckerrest, desto höher die inhibitorische Aktivität [Bräunlich *et al.*, 2013]. Für Subfraktionen, die Glykoside mit niedermolekularen Zuckerresten enthielten, wie beispielsweise F coil, F 6 und F5, konnten die niedrigsten  $IC_{50}$ -Werte ermittelt werden.

Tabelle 5-7: Anthocyanzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Anthocyanfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019].

| Anthocyan                                       | Subfraktion |     |     |     |     |     |        |
|---|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
|   | F 1         | F 2 | F 3 | F 4 | F 5 | F 6 | F coil |
| Cyanidin-3-galactosid                           | X           | X   | X   |     | X   | X   |        |
| Cyanidin-Derivat                                |             | X   |     |     |     |     |        |
| Cyanidin-3-glucosid                             |             |     | X   | X   |     |     | X      |
| Cyanidin-3-arabinosid                           |             |     | X   | X   | X   | X   | X      |
| Cyanidin-3-xylosid                              |             |     |     |     | X   |     |        |
| Cyanidin-Derivat                                |             |     |     |     | X   |     |        |
| Unbekannt                                       |             |     |     |     |     | X   | X      |
| Rest an nicht vollständig abgetrennten Polymere |             |     |     |     |     | X   | X      |

Für die Copigmentfraktion war die aktivste Subfraktion (coil) gleichzeitig diejenige mit der größten Varietät an unterschiedlichen Polyphenolen. Neben verschiedenen Coumarsäure-Derivaten sowie Quercetin und seinen Derivaten enthielt sie ebenfalls Protocatechusäure, 3-Caffeoylchinasäure sowie Feruloylchinasäure (vgl. Tabelle 5-8). In einem molekularen Docking-Screening wurden 26 Polyphenole verglichen. Hierbei zeigte sich, dass besonders Quercetin eine hohe Bindungsaffinität gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase aufwies [Rasouli *et al.*, 2017]. Die Subfraktion F coil war die Einzige, die dieses Polyphenol enthielt. Für die Subfraktion 1, die einen hohen Gehalt an DicaFFEoylchinasäure aufwies, konnte im  $\alpha$ -Amylase-Assay kein  $IC_{50}$ -Wert ermittelt werden.

Tabelle 5-8: Copigmentzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Copigmentfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019].

| Copigment                   | Subfraktion |     |     |     |     |     |     |     |        |
|-----------------------------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
|                             | F 1         | F 2 | F 3 | F 4 | F 5 | F 6 | F 7 | F 8 | F coil |
| Dicafeoylchinasäureester I  | X           |     |     |     |     |     |     |     |        |
| Dicafeoylchinasäureester II | X           | X   |     |     |     |     |     |     |        |
| Quercetin-Derivat           | X           |     |     |     |     |     |     |     |        |
| Kaffeensäure-Derivat        | X           |     |     |     |     |     |     |     |        |
| Unbekannt                   | X           | X   |     |     |     |     |     |     |        |
| Eriodictyol-7-glucoronid    |             |     | X   |     |     |     |     |     |        |
| Cumarsäure-Derivat I + II   |             |     | X   | X   |     |     |     |     | X      |
| Quercetin-3-vicianosid      |             |     | X   | X   |     |     |     |     |        |
| 3-Caffeoylchinasäure        |             |     |     | X   | X   |     |     |     | X      |
| Cumaroylchinasäureester     |             |     |     | X   |     |     |     |     |        |
| Quercetin-dihexosid I       |             |     |     | X   |     |     |     |     |        |
| Quercetin-dihexosid II      |             |     |     | X   |     |     |     |     |        |
| Feruloylchinasäure I        |             |     |     |     | X   | X   |     |     |        |
| Quercetin-3-robinobiosid    |             |     |     |     | X   |     |     |     |        |
| Quercetin-3-rutinosid       |             |     |     |     | X   |     |     |     |        |
| Chlorogensäure              |             |     |     |     |     | X   | X   |     |        |
| 4-Caffeoylchinasäure        |             |     |     |     |     | X   | X   | X   |        |
| Feruloylchinasäure II       |             |     |     |     |     |     |     | X   | X      |
| Quercetinpentosid           |             |     |     |     |     |     |     | X   | X      |
| Quercetinhexosid            |             |     |     |     |     |     |     | X   | X      |
| Protocatechusäure           |             |     |     |     |     |     |     |     | X      |
| Quercetin                   |             |     |     |     |     |     |     |     | X      |

### 5.3.2 Subfraktionen der Anthocyan- und Copigment-Fraktion des Granatapfeldirektsaft-Extraktes

Die Ergebnisse des  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assays der Anthocyan- (AF) und Copigmentsubfraktionen (CF) des Granatapfeldirektsaft-Extraktes (G) sind in Abbildung 5-12 dargestellt. Die verschiedenen Subfraktionen zeigten im Vergleich der beiden zellfreien Testsysteme im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay das höhere inhibitorische Potential. Hier waren sie auch deutlich aktiver als die Positivkontrolle Acarbose.

## Ergebnisse und Diskussion

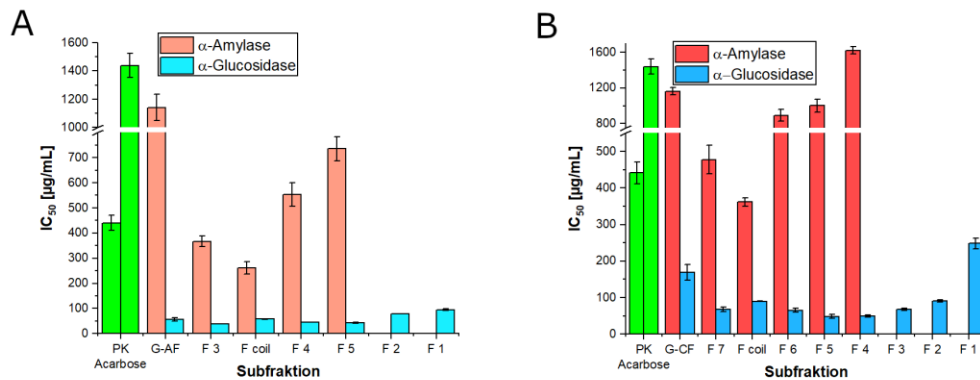


Abbildung 5-12:  $IC_{50}$ -Werte ( $\mu\text{g/mL}$ ) des  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Subfraktionen (F 1 – F coil) der Anthocyan- (A) und Copigmentfraktion (B) des Granatapfeldirektsaft-Extrakts als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose ( $n=3$ ). Für F 1 und F 2 der Anthocyanfraktion sowie für F 1, F 2 und F 3 der Copigmentfraktion konnte im  $\alpha$ -Amylase-Assay kein  $IC_{50}$ -Wert ermittelt werden. Mit G-AF = Granatapfel-Anthocyanfraktion und G-CF = Granatapfel-Copigmentfraktion.

Die Anthocyan-Subfraktion 3, die sich aus Cyanidin-3,5-diglucosid und Delphinidin-3,5-diglucosid zusammensetzte, zeigte die höchste inhibitorische Aktivität innerhalb der Anthocyan-Subfraktionen. Ein weiterer vergleichbar potenter Inhibitor stellte Subfraktion coil dar, welche aus Cyanidin-3-glucosid, Delphinidin-3-glucosid, Pelargonidin-3-glucosid und einem Cyanidin-3-pentosid bestand (vgl. Tabelle 5-9). In einem Vergleich verschiedener Anthocyane-3-glykoside konnte beobachtet werden, dass Pelargonidin-3-glucosid die Aktivität von  $\alpha$ -Amylase am effektivsten hemmte [Kaeswurm *et al.*, 2020]. Dies deckte sich mit unseren Ergebnissen. Der niedrigste  $IC_{50}$ -Wert im  $\alpha$ -Amylase-Assay konnte für F coil ermittelt werden. Diese Subfraktion enthielt als einzige Pelargonidin-3-glucosid. Für die im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay inaktivsten Fraktionen 1 und 2 konnte kein  $IC_{50}$ -Wert für die Hemmung der  $\alpha$ -Amylase bestimmt werden.

Tabelle 5-9: Anthocyanzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Anthocyanfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019].

| Anthocyan                   | Subfraktion |     |     |     |     |        |
|-----------------------------|-------------|-----|-----|-----|-----|--------|
|                             | F 1         | F 2 | F 3 | F 4 | F 5 | F coil |
| Delphinidin-3,5-diglucosid  |             | X   |     |     |     |        |
| Cyanidin-3,5-diglucosid     |             | X   | X   | X   |     |        |
| Cyanidin-3-glucosid         |             |     |     | X   | X   | X      |
| Pelargonidin-3,5-diglucosid |             |     |     |     | X   |        |
| Delphinidin-3-glucosid      |             |     |     |     |     | X      |
| Pelargonidin-3-glucosid     |             |     |     |     |     | X      |
| Cyanidin-pentosid           |             |     |     |     |     | X      |

Betrachtete man die Ergebnisse der Copigment-Subfraktionen, ließ sich feststellen, dass für die Punicalin-enthaltenden Subfraktionen 1, 2 und 3 kein  $IC_{50}$ -Wert im  $\alpha$ -Amylase-Assay ermittelt werden konnte, wobei diese auch im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay vergleichsweise keine hohe inhibitorische Aktivität aufwiesen. Subfraktion 7 zeigte das größte Potential, die Aktivität beider Verdauungsenzyme zu hemmen. Neben Puniculagin enthielt diese ebenfalls Punigluconin und ein

Hexosid der Kaffeesäure, welches nur in dieser Subfraktion enthalten war (vgl. Tabelle 5-10). Kaffeesäure konnte bereits als besonders potenter Inhibitor der  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität identifiziert werden [Rasouli *et al.*, 2017].

Tabelle 5-10: Copigmentzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Copigmentfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019].

| Copigment                            | Subfraktion |     |     |     |     |     |     |        |
|--------------------------------------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
|                                      | F 1         | F 2 | F 3 | F 4 | F 5 | F 6 | F 7 | F coil |
| Punicalin                            |             | X   | X   | X   |     |     |     |        |
| Ellagsäure                           |             | X   |     |     |     |     |     |        |
| Punicalagin I                        |             |     | X   |     |     |     |     |        |
| Ellagsäure-Derivat                   |             |     |     | X   | X   |     |     |        |
| Punicalagin II                       |             |     |     | X   | X   |     |     |        |
| Galloyl-Hexahydroxydiphenoyl-Hexosid |             |     |     | X   |     |     |     |        |
| Punicalagin III                      |             |     |     | X   | X   |     |     |        |
| Digalloylhexosid                     |             |     |     |     | X   | X   |     |        |
| Granatin B I                         |             |     |     |     | X   | X   |     |        |
| Pedunculagin I + II                  |             |     |     |     | X   |     | X   |        |
| Granatin B II + III                  |             |     |     |     |     | X   |     |        |
| Casuarinin                           |             |     |     |     |     | X   |     |        |
| Punigluconin                         |             |     |     |     |     | X   | X   |        |
| Ellagsäure-hexosid                   |             |     |     |     |     | X   |     | X      |
| Kaffeesäure-hexosid                  |             |     |     |     |     |     | X   |        |
| Galloyl-HHDP-hexosid-pentosid        |             |     |     |     |     |     | X   |        |
| Gallussäure                          |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Unbekannt                            |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Valonicsäure Dilacton                |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Ellagsäure-Deoxyhexosid              |             |     |     |     |     |     |     | X      |

### 5.3.3 Subfraktionen der Anthocyan- und Copigment-Fraktion des roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes

Alle Subfraktionen der Anthocyan- (AF) und Copigmentsubfraktion (CF) des roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes (RT) zeigten in den Enzym-Inhibitions-Assays eine höhere inhibitorische Aktivität gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase als die Positivkontrolle Acarbose, während dies im  $\alpha$ -Amylase-Assay lediglich für RT-CF Subfraktion 1 und 4 der Fall war (siehe Abbildung 5-13).

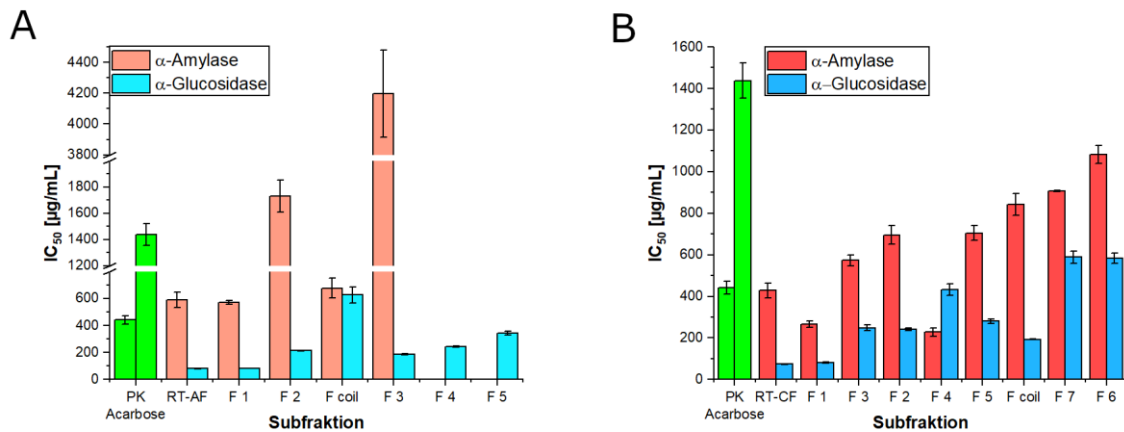


Abbildung 5-13: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des α-Amylase- und α-Glucosidase-Inhibitions-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Subfraktionen (F 1 – F coil) der Anthocyan- (A) und Copigmentfraktion (B) des roten Traubensaftkonzentrat-Extrakts als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n=3). Für F 4 und F 5 der Anthocyanfraktion konnte im α-Amylase-Assay kein IC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden. Mit RT-AF = rote Traube-Anthocyanfraktion und RT-CF = rote Traube-Copigmentfraktion.

Innerhalb der Anthocyan-Fraktion war Subfraktion 1 am aktivsten. Es konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die inhibitorische Aktivität durch die restlichen, nicht vollständig abgetrennten Polymere beeinflusst wurde. Subfraktion 2, ein Gemisch aus den Glucosiden von Malvidin, Petunidin und Cyanidin, zeigte sich ebenfalls als potenter Inhibitor der beiden Verdauungsenzyme (vgl. Tabelle 5-11). Kaeswurm *et al.* konnten bereits zeigen, dass Pelargonidin-3-glucosid, Malvidin-3-glucosid und Cyanidin-3-glucosid innerhalb der Anthocyane zu den potentesten Inhibitoren zählten [Kaeswurm *et al.*, 2020]. Diese Verbindungen waren in Subfraktion 2 zu finden und könnten somit die vergleichsweise höhere, inhibitorische Aktivität begründen. Für die Subfraktionen 4 und 5 konnte kein IC<sub>50</sub>-Wert im α-Amylase-Assay ermittelt werden.

Tabelle 5-11: Anthocyanzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Anthocyanfraktion des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019].

| Anthocyan                                       | Subfraktion |     |     |     |     |        |
|---|-------------|-----|-----|-----|-----|--------|
|   | F 1         | F 2 | F 3 | F 4 | F 5 | F coil |
| Delphinidin-3-glucosid                          | X           |     |     |     |     |        |
| Cyanidin-3-glucosid                             |             | X   |     |     |     |        |
| Petunidin-3-glucosid                            |             | X   |     |     |     |        |
| Malvidin-3-glucosid                             |             | X   | X   | X   | X   |        |
| Peonidin-3-glucosid                             |             |     | X   | X   | X   |        |
| Malvidin-3-acetylglucosid                       |             |     |     |     | X   |        |
| Peonidin-3-cumaroylhexosid I + II               |             |     |     |     |     | X      |
| Petunidin-3-cumaroylhexosid                     |             |     |     |     |     | X      |
| Malvidin-3-cumaroylhexosid                      |             |     |     |     |     | X      |
| Rest an nicht vollständig abgetrennten Polymere | X           |     |     |     |     |        |

RT-CF Subfraktion 6 und 7 wiesen in beiden Enzym-Inhibitions-Assays die geringste inhibitorische Aktivität auf. Ihre Zusammensetzung, die Caftar säure, Gallussäure und Cutarsäure umfasste, ähnelte sich. Eine Probe mit hohem inhibitorischen Potential gegenüber den beiden Verdauungsenzyme war Subfraktion 3, die verschiedene Hexoside der Coumarsäure und von Isorhamnetin enthielt. Subfraktion coil mit einer großen Variation an verschiedenen Copigmenten hemmte effektiv die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase, gehörte jedoch im  $\alpha$ -Amylase-Assay zu den weniger aktiven Subfraktionen (vgl. Tabelle 5-12). Das könnte auf das darin enthaltene Epicatechin, Resveratrol und die Syringasäure zurückzuführen sein [Rasouli *et al.*, 2017].

Tabelle 5-12: Copigmentzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Copigmentfraktion des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat [Ostberg-Potthoff *et al.*, 2019].

| Copigment                                       | Subfraktion |     |     |     |     |     |     |        |
|---|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
|   | F 1         | F 2 | F 3 | F 4 | F 5 | F 6 | F 7 | F coil |
| Cumaroyl-Iridoid                                |             | X   | X   |     |     |     |     |        |
| Unbekannt                                       |             | X   |     |     |     |     |     | X      |
| Cumarsäure-hexosid I                            |             |     | X   |     |     |     |     |        |
| Cumarsäure-hexosid II                           |             |     | X   |     |     |     |     |        |
| Isorhamnetin-hexosid                            |             |     | X   |     |     |     |     |        |
| Caftar säure                                    |             |     |     | X   | X   | X   | X   |        |
| Polydatin                                       |             |     |     | X   |     |     |     |        |
| Quercetin-3-galactosid                          |             |     |     | X   |     |     |     |        |
| Quercetin-3-glucosid                            |             |     |     | X   |     |     |     |        |
| Quercetin-Derivat                               |             |     |     | X   |     |     |     |        |
| Quercetin-3-glucuronid                          |             |     |     |     | X   |     | X   |        |
| Gallussäure                                     |             |     |     |     |     | X   |     |        |
| Cutarsäure                                      |             |     |     |     |     | X   | X   |        |
| Fertarsäure                                     |             |     |     |     |     | X   |     |        |
| Unbekannt                                       |             |     |     |     |     |     | X   |        |
| Protocatechusäure                               |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Resveratrol                                     |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Cumarsäure                                      |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Syringasäure                                    |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Epicatechin                                     |             |     |     |     |     |     |     | X      |
| Rest an nicht vollständig abgetrennten Polymere | X           | X   |     |     |     |     |     |        |

#### 5.3.4 Fazit

Mittels *in vitro* Inhibitionsassays gegenüber  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV wurden die drei aktivsten Fruchtsäfte identifiziert.

Die aktivitätsgeleitete Fraktionierung und die strukturelle Charakterisierung der verantwortlichen Saftinhaltsstoffe erfolgte an der TU Braunschweig mit Extrakten aus einem Aroniasaft (*Aronia melanocarpa*), einem Granatapfelsaft (*Punica granatum*) und roten Traubenkonzentrat (*Vitis vinifera*) aus Italien. Das Inhibierungspotenzial der erhaltenen Fraktionen wurde *in vitro* gegenüber  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV untersucht. Eine

anschließende Subfraktionierung der erhaltenen Anthocyan- und Copigmentfraktionen wurde an der TU Braunschweig durchgeführt. Bei den *in vitro* Untersuchungen der Fraktionen zeigte sich, dass alle Fraktionen potente Inhibitoren der vier Enzyme enthielten. Vor allem die Polymerfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft sowie die Anthocyanfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft zeigten ein großes Hemmpotential in den Assays. Die restlichen Fraktionen des Extraktes aus Granatapfelsaft waren hingegen weniger aktiv, ebenso wie die Anthocyanfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft. In dieser Fraktion waren lediglich Glykoside von Cyanidin enthalten, im Gegensatz zu den anderen beiden Anthocyanfraktionen, in denen Glykoside verschiedener Anthocyanidine vorlagen. Die vergleichsweise geringe inhibitorische Aktivität der Granatapfel-Copigmentfraktion könnte auf die darin enthaltenen Moleküle zurückzuführen sein. Hier lagen vor allem Ellagitannine, wie Punicalin, Pedunculagin und Granatin, vor, welche besonders große Moleküle sind und somit eventuell weniger effektiv an das katalytische Zentrum der Enzyme binden können.

Während Subfraktionen, die Peonidin-3-glucosid enthielten, tendenziell ein geringeres inhibitorisches Potential gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase und  $\alpha$ -Amylase zeigten, waren Delphinidin- und Petunidin-3-glucosid-haltige Subfraktionen aktiver. Diese Beobachtungen spiegelten sich auch in der Literatur wider. Hier wird beschrieben, dass Moleküle mit einem hohen Gehalt an Hydroxylgruppen und damit höherer Polarität effektiver die Aktivität der beiden Enzyme hemmten [Lo Piparo *et al.*, 2008]. Diese Tendenz ließ sich auch bei den Copigmenten beobachten, wobei Punicalin und andere Ellagitannine trotz einer hohen Anzahl an Hydroxylierungen nur geringe inhibitorische Aktivität zeigten. Dies könnte auf die Größe der Moleküle zurückzuführen sein. So könnten Moleküle mit einem niedrigeren Molekulargewicht in der Lage sein, spezifischere Interaktionen mit den Enzymen einzugehen. Cyanidin-3-galactosid wies eine geringe Inhibition der beiden Enzyme auf, in Kombination mit anderen Anthocyanen, wie z.B. Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-xylosid, war es jedoch sehr aktiv. Das lässt darauf schließen, dass die inhibitorische Aktivität nicht nur von einzelnen Polyphenolen abhängt, sondern auch von der Interaktion verschiedener phenolischer Substanzen.

Im Screening der Subfraktionen zeigte sich, dass sowohl für die anthocyan- als auch die copigmentreichen Subfraktionen im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay niedrigere  $IC_{50}$ -Werte ermittelt werden konnten als im  $\alpha$ -Amylase-Assay. Bei der Inhibition der  $\alpha$ -Amylase-Aktivität spielten unter den Copigmenten vor allem kondensierte Tannine eine bedeutende Rolle. Ziel der aktivitätsgeleiteten Fraktionierung war die Identifizierung von Einzelsubstanzen, die für das inhibitorische Potential der Fruchtsaftextrakte verantwortlich sind. Anhand unserer Ergebnisse war es noch nicht möglich die Inhibition auf bestimmte Substanzen zurückzuführen. Allerdings konnten relevante Struktureigenschaften identifiziert werden, wie die Menge an Hydroxylgruppen im Molekül oder die Molekülgröße. Die Hydroxylgruppen können über Wasserstoffbrückenbindungen besonders effektiv an das katalytische Zentrum der Enzyme binden [Lo Piparo *et al.*, 2008]. Um unsere Beobachtungen zu bestätigen und



eventuell doch eine Schlüsselsubstanz für die inhibitorische Aktivität zu ermitteln, wurden anschließend verschiedene Anthocyane und andere Polyphenole als Reinsubstanzen getestet.

## 5.4 Untersuchung von Reinsubstanzen

Um die aktiven Inhaltsstoffe eindeutig identifizieren zu können und um synergistische Effekte zu untersuchen, wurden verschiedene Anthocyane sowie Copigmente als Reinstoffe im  $\alpha$ -Amylase-,  $\alpha$ -Glucosidase-, Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - und Dipeptidylpeptidase-IV-Assay untersucht. Die Ergebnisse sind nachfolgend dargestellt.

### 5.4.1 Vergleich verschiedener Anthocyane

In Abbildung 5-14 sind die Ergebnisse der Untersuchungen von kommerziell erhältlichen Anthocyanen dargestellt. Anthocyane sowie deren Aglyka sind bekanntermaßen recht instabil, konnten in unseren Testsystemen jedoch durch die eingesetzten pH-Puffersysteme für die Messdauer ausreichend stabilisiert werden [Triebel *et al.*, 2012]. Für einige der getesteten Reinsubstanzen konnte kein  $IC_{50}$ -Wert ermittelt werden, da bei einer eingesetzten Konzentration von 2 mM die Aktivität der vier untersuchten Enzyme nicht zu 50 % gehemmt werden konnte. Daher wurde ein Vergleich der %-Inhibition bei 2 mM der Reinsubstanz vorgenommen.

Im Durchschnitt zeigten die Anthocyane die höchste Affinität gegenüber Dipeptidylpeptidase IV.

Im  $\alpha$ -Amylase-Assay zeigte Cyanidin-3-arabinosid das größte Inhibitionspotential, gefolgt von den Glucosiden von Delphinidin, Peonidin, Malvidin und Petunidin, sowie Cyanidin-3-rutinosid. Für insgesamt acht Substanzen (Cyanidin, Delphinidin-3,5-diglucosid, Cyanidin-3,5-glucosid, Cyanidin-3-galactosid, Delphinidin-3-galactosid, Cyanidin-3-glucosid, Pelargonidin-3-glucosid und Peonidin-3-arabinosid) konnte jedoch kein Inhibitionswert im  $\alpha$ -Amylase-Assay bestimmt werden.

Auffällig war, dass Cyanidin das größte Potential aufwies, die Aktivität von  $\alpha$ -Glucosidase zu hemmen. Die beobachtete Inhibition war circa doppelt so hoch wie die des zweitaktiven Anthocyan (Delphinidin-3-glucosid). Im Allgemeinen waren alle weiteren untersuchten Substanzen in etwa gleich aktiv (Inhibition:  $7,37 \pm 1,93$  %).

Für das Anthocyan Cyanidin-3-arabinosid und das Anthocyanidin Cyanidin konnte bei einer Konzentration von 2 mM im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assay eine Inhibition von nahezu 100 % ermittelt werden. Damit waren sie mit Abstand die aktivsten Substanzen in diesem Testsystem. Die weiteren Verbindungen zeigten alle ein deutlich niedrigeres Inhibitionspotential. Im Vergleich zu den ersten beiden Assays, lag die gemessene %-Inhibition jedoch relativ hoch.

Im Dipeptidylpeptidase-IV-Assay zählten zur Gruppe der weniger aktiven Anthocyane (Inhibition:  $41,3 \pm 0,8$  %) sowohl die Diglucoside von Cyanidin und Delphinidin als auch kleinere Moleküle, wie Petunidin-3-glucosid, Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin. Die drei weiteren getesteten Cyanidin-

Derivate (Glucosid, Rutinosid und Galactosid) gehörten wiederum zusammen mit Malvidin-3-glucosid zu den vier aktivsten Anthocyanen.

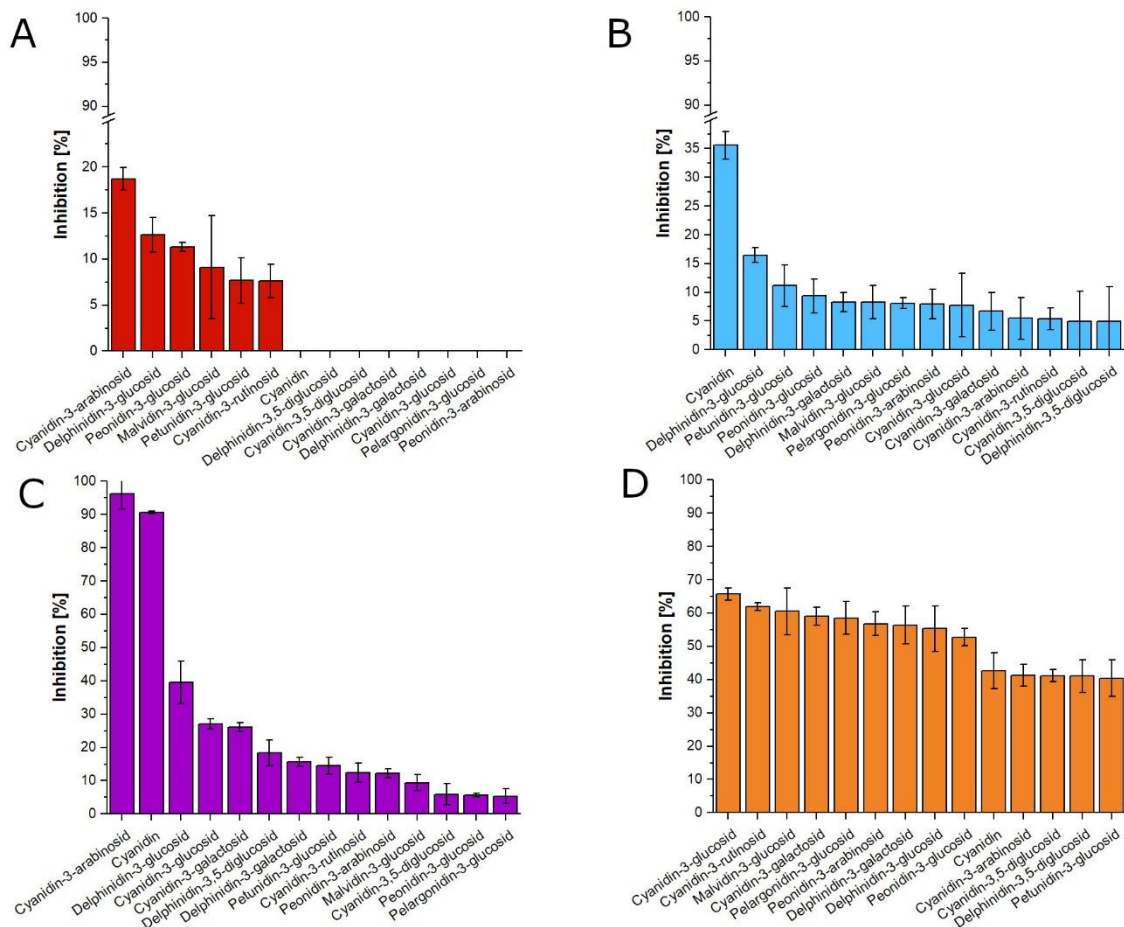


Abbildung 5-14: Inhibition (%) des  $\alpha$ -Amylase- (A),  $\alpha$ -Glucosidase- (B), Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - (C) und Dipeptidylpeptidase-IV-Assays (D). Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Anthocyan-Reinsubstanzen (c = 2 mM) als Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3).

### 5.4.2 Vergleich verschiedener Copigmente

In Abbildung 5-15 sind die Ergebnisse der Untersuchungen der kommerziell erhältlichen Copigmente dargestellt. Für einige der getesteten Reinsubstanzen konnte kein  $IC_{50}$ -Wert ermittelt werden, da bei einer eingesetzten Konzentration von 2 mM die Aktivität beider Verdauungsenzyme nicht zu 50 % gehemmt werden konnte. Daher wurde das inhibitorische Potential anhand der %-Inhibition bei 2 mM der Reinsubstanz verglichen.

Verglich man alle vier Enzym-Inhibitions-Assays, zeigte sich, dass im Dipeptidylpeptidase-IV-Assay für die untersuchten Copigmente die höchste %-Inhibition ermittelt werden konnte.

Das aktivste Copigment im  $\alpha$ -Amylase-Assay war Kaempferol-3-glucosid ( $30,2 \pm 2,2$  %), gefolgt von Quercetin-3-galactosid ( $28,0 \pm 0,9$  %). Caftarinsäure ( $11,5 \pm 2,5$  %) hingegen war ein weniger potenter Inhibitor dieses Verdauungsenzyms. Ellagsäure ( $10,9 \pm 0,8$  %), Punicalin ( $3,8 \pm 0,2$  %) und Punicalagin ( $4,8 \pm 2,6$  %), sowie Chlorogensäure ( $20,3 \pm 2,3$  %), 3-Caffeoylchinasäure ( $13,8 \pm 1,4$  %)

und 4-Caffeoylchinasäure ( $16,0 \pm 3,1$  %) zeigten jeweils vergleichbare Aktivitäten, was auf ihre strukturellen Ähnlichkeiten zurückzuführen sein könnte. Punicalin und Punicalagin sowie die beiden Caffeoylchinasäuren zeigten hierbei eine marginal niedrigere inhibitorische Aktivität als Ellagsäure respektive Chlorogensäure.

Auch im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay war das aktivste Copigment Kaempferol-3-glucosid ( $13,2 \pm 0,7$  %). Wie zuvor waren die beobachteten Aktivitäten von Ellagsäure ( $6,0 \pm 0,8$  %), Punicalin ( $8,7 \pm 0,6$  %) und Punicalagin ( $11,5 \pm 1,0$  %), sowie Chlorogensäure ( $3,3 \pm 1,9$  %), 3-Caffeoylchinasäure ( $3,6 \pm 2,2$  %) und 4-Caffeoylchinasäure ( $4,5 \pm 3,3$  %) vergleichbar. Jedoch waren hier die beiden Caffeoylchinasäuren sowie Punicalin und Punicalagin etwas aktiver als Chlorogensäure bzw. Ellagsäure. Während die Gruppe der Chlorogensäure-Isomere im  $\alpha$ -Amylase-Assay noch aktiver war als die der Ellagitannine, war das Gegenteil im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay der Fall.

Im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assay zeigte die Ellagsäure ( $86,5 \pm 0,2$  %) das größte Inhibitionspotential, gefolgt von den strukturverwandten Verbindungen Punicalagin ( $67,6 \pm 4,9$  %) und Punicalin ( $35,8 \pm 6,9$  %). Chlorogensäure ( $12,9 \pm 5,0$  %) sowie 3-Caffeoylchinasäure ( $12,9 \pm 2,1$  %) und 4-Caffeoylchinasäure ( $9,5 \pm 3,6$  %) zeigten eine deutlich niedrigere inhibitorische Aktivität, was auf die Strukturähnlichkeit zurückzuführen sein könnte. Das am wenigsten aktive getestete Copigment war die Caftarinsäure ( $4,4 \pm 1,3$  %).

Der potenteste Inhibitor von DPP IV war die Ellagsäure ( $72,5 \pm 2,9$  %), wohingegen die Caftarinsäure ( $33,3 \pm 12,7$  %) auch hier das geringste Inhibitionspotential zeigte. Chlorogensäure ( $40,4 \pm 11,4$  %), 3-Caffeoylchinasäure ( $42,9 \pm 3,3$  %) und 4-Caffeoylchinasäure ( $52,1 \pm 3,9$  %) zeigten auch hier vergleichbare Aktivitäten und hemmten im Vergleich zu den Ellagitanninen die Enzymaktivität ebenfalls, wie auch schon bei  $\alpha$ -Glucosidase und Glykogenphosphorylase  $\alpha$  beobachtet, weniger potent.

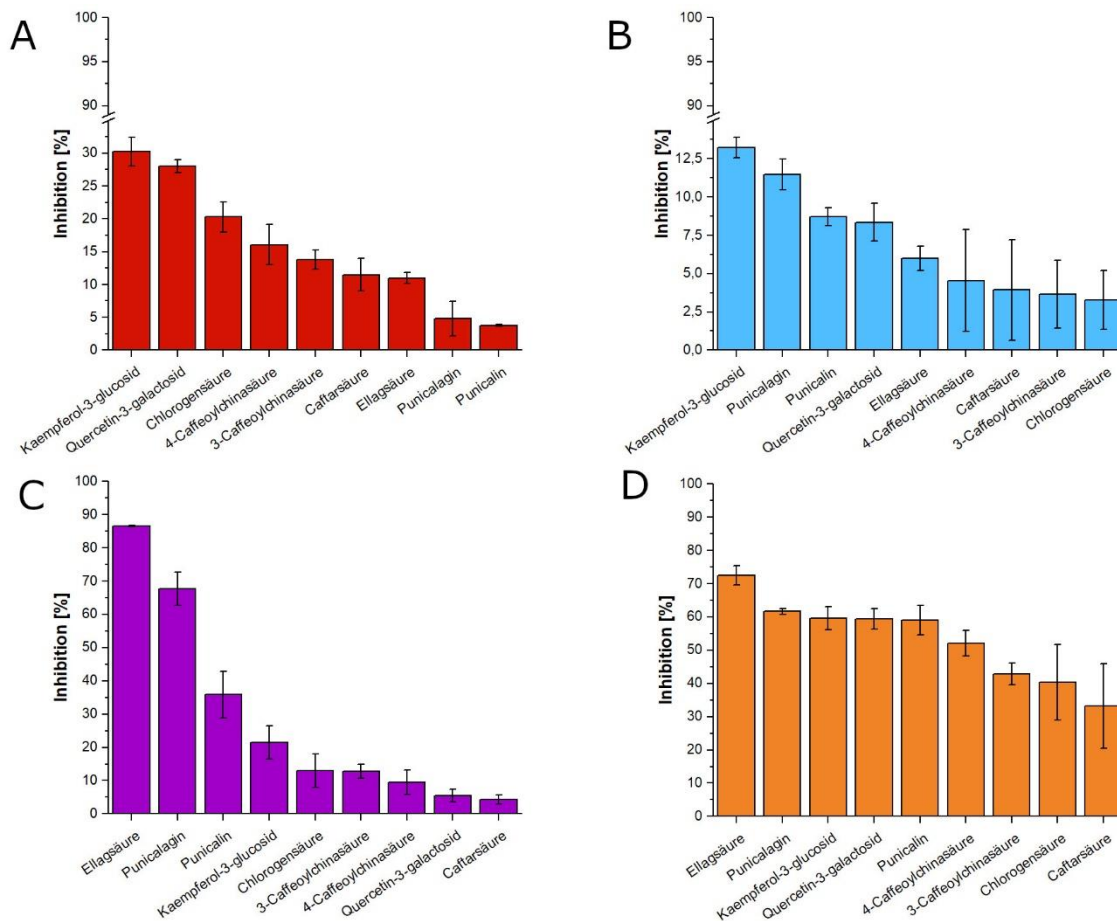


Abbildung 5-15: Inhibition (%) des  $\alpha$ -Amylase- (A),  $\alpha$ -Glucosidase- (B), Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - (C) und Dipeptidylpeptidase-IV-Assays (D). Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Copigment-Reinsubstanzen (c = 2 mM) als Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3).

### 5.4.3 Fazit der Untersuchung von Anthocyanen und Copigmenten als Reinsubstanzen

Allgemein konnten sowohl für Anthocyane und Copigmente nur geringe %-Inhibitionen gegenüber  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase ermittelt werden. Im Amylase-Assay konnte für einige Anthocyane sogar keine inhibitorische Aktivität bestimmt werden. Gegenüber Glykogenphosphorylase  $\alpha$  sowie Dipeptidylpeptidase IV zeigten die getesteten Substanzen ein vergleichsweise höheres Inhibitionspotential.

Die Untersuchung der kommerziell erhältlichen Anthocyane zeigte eine gewisse Strukturabhängigkeit der inhibitorischen Aktivität. Je mehr Hydroxylgruppen das Molekül hatte, desto größer war das beobachtete Inhibitionspotential. Die Copigmente zeigten dieselbe Tendenz. Diese Beobachtung kann darauf zurückzuführen sein, dass die Hydroxylgruppen in der Lage sind effektiv an das katalytische Zentrum der Enzyme zu binden und es dementsprechend aktiver zu hemmen [Lo Piparo *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009; Martinez-Gonzalez *et al.*, 2019]. Zusätzlich spielte aber auch die Position der Hydroxylgruppe und auch der Methylgruppe eine entscheidende Rolle. War der B-Ring der Anthocyane beispielsweise nicht methyliert, führte das zu einem höheren

Bindungspotential an die Enzyme und infolgedessen zu einer höheren inhibitorischen Aktivität [Yuan *et al.*, 2014]. Als Beispiel sind hier die Glykoside von Delphinidin zu nennen. Sie zeigten ein vergleichsweise höheres Inhibitionspotential als andere Anthocyane. Die Ausnahme bildete hierbei Delphinidin-3,5-diglucosid. Das wies darauf hin, dass Anthocyane mit einem Monosaccharid als Zucker die Enzyme effektiver hemmen könnten. Diese Ergebnisse stimmten mit der in der Literatur für verschiedene Cyanidin-Glykoside beschriebenen Beobachtung überein, dass die Zuckereinheit, die an das Anthocyan gebunden ist, das Inhibitionspotential beeinflusste [Gowd *et al.*, 2017]. Diese Größenabhängigkeit konnte auch für die Copigmente beobachtet werden. Punicalin sowie andere Ellagitannine inhibierten die Enzymaktivität relativ schwach trotz ihrer hohen Anzahl an Hydroxylgruppen. Allgemein konnte ein Trend beobachtet werden, dass je niedriger das Molekulargewicht einer Substanz war, desto höher war das Inhibitionspotential, was ebenfalls bereits in der Literatur beschrieben wurde [Kaeswurm *et al.*, 2019]. Nach Chen *et al.* beeinflussen auch van-der-Waals-Kräfte die inhibitorische Aktivität von Substanzen, vor allem gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase [Chen *et al.*, 2020a]. Cyanidin zeigte die höchste %-Inhibition gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase und ist bekannt dafür starke van-der-Waals-Kräfte aufbauen zu können. Malvidin-3-glucosid zählte in unseren Untersuchungen ebenfalls zu den aktiveren Anthocyanen. Dies könnte über die Bildung stabiler Wasserstoffbrückenbindungen an die katalytischen Schlüsselreste der Enzyme erklärt werden, die bereits für Malvidin-3-arabinosid beschrieben werden konnten [Xie *et al.*, 2020]. Da für einige Anthocyane keine Inhibition der  $\alpha$ -Amylase-Aktivität beobachtet werden konnte, lässt sich eine Präferenz zu den anderen Enzymen vermuten. So konnte auch bereits beim einem Vergleich der hypoglykämischen Wirkung von Extrakten aus schwarzen und grünen Johannisbeeren festgestellt werden, dass die grünen Johannisbeer-Extrakte lediglich gegenüber  $\alpha$ -Amylase eine inhibitorische Aktivität zeigten, während die anthocyanreichen, schwarzen Johannisbeer-Extrakte auch aktiv gegenüber der  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität waren [Barik *et al.*, 2020]. Dies wurde auch in weiteren Untersuchungen mit Extrakten aus Traubenschalen und -fruchtfleisch beobachtet [Tkacz *et al.*, 2019]. Eine Tendenz in Richtung der  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibition konnte ebenfalls für die Ellagitannine des Granatapfels beobachtet werden. So lag die ermittelte %-Inhibition im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay ungefähr doppelt so hoch wie im  $\alpha$ -Amylase-Assay. Diese höhere Sensitivität der  $\alpha$ -Glucosidase gegenüber wurde ebenfalls bereits in der Literatur beschrieben [Bellesia *et al.*, 2015].

Für die einzelnen Fruchtsaftextrakte und -fraktionen konnten, auch im Vergleich zu den jeweiligen Positivkontrollen, überwiegend niedrige  $IC_{50}$ -Werte und damit ein hohes inhibitorisches Potential ermittelt werden. Bei der Testung der Reinsubstanzen jedoch konnte selbst bei einer eingesetzten Konzentration von 2 mM teilweise keine 50-%ige Hemmung beobachtet werden. Dies lässt darauf schließen, dass die inhibitorische Aktivität der Extrakte nicht auf eine einzelne Substanz zurückgeführt werden kann. Vielmehr ist es möglich, dass durch Interaktion der einzelnen

phenolischen Substanzen untereinander die jeweilige Enzyminhibition gesteigert werden kann. Ein ähnlicher synergistischer Effekt konnte bereits für Cyanidin-3-rutinosid beobachtet werden. Die Inhibition der Aktivität von  $\alpha$ -Amylase konnte gesteigert werden, wenn dieses Anthocyan mit Acarbose kombiniert wurde [Akkarachiyasit *et al.*, 2011].

Um unsere Beobachtungen zu bestätigen, sollten in weiteren Studien Mischungen aus verschiedenen Polyphenolen (Anthocyane mit Anthocyanen, Anthocyane mit Copigmente und Copigmente mit Copigmente) in unterschiedlichen Verhältnissen durchgeführt werden, um die Kombination ermitteln zu können, die die höchste inhibitorische Aktivität aufweist. Hierbei kann sich sowohl an den hier dargestellten Ergebnissen der Reinsubstanzen orientiert werden als auch eine Mischung hergestellt werden, die den untersuchten Extrakten aus Fruchtsäften und daraus gewonnenen Fraktionen der vorliegenden Arbeit entsprechen. Vielversprechend könnten hierbei Mischungen sein, die in den Extrakten und Fraktionen aus Aroniasaft vorkommen, da diese im Vergleich beständig zu den effektivsten Inhibitoren der Aktivität der verschiedenen untersuchten Enzyme zählten. Daher wurde die Humanstudie, die dazu dienen sollte zu überprüfen, ob die *in vitro* beobachteten Ergebnisse auch auf die *in vivo* Situation im Menschen übertragbar ist, mit einem Extrakt aus einem Aroniadirektsaft durchgeführt. Da sich auch die Extrakte und Fraktionen aus rotem Traubensaft vergleichsweise aktiv zeigten, wurde zusätzlich ein Extrakt aus rotem Traubensaftkonzentrat in der Humanstudie getestet.

### 5.5 Ergebnisse der Kinetikmessungen

Um sicherzustellen, dass die beobachteten Inhibitionsaktivitäten spezifisch waren, wurden mit ausgewählten Saftextrakten (Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotes Traubensaftkonzentrat) sowie deren drei Fraktionen Kinetikstudien für  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase durchgeführt.

Die in den Enzym-Inhibitions-Assays ermittelten  $v_0$ -Werte wurden in einem Lineweaver-Burk-Plot gegen die eingesetzten Substratkonzentrationen aufgetragen, einmal ohne Zusatz der Testsubstanz und einmal mit der Probe, in einer Konzentration dem  $IC_{50}$ -Wert entsprechend. Durch die Stellung der beiden Geraden zueinander konnte der Inhibitionsmechanismus bestimmt werden.

In den folgenden Abbildungen ist je ein Beispiel für die drei reversiblen Hemmmechanismen dargestellt: kompetitiv (Abbildung 5-16), unkompetitiv (Abbildung 5-17) und nicht-kompetitiv (Abbildung 5-18). Die vollständige graphische Auswertung ist in Kapitel 10.8 zu finden.

Ergebnisse und Diskussion

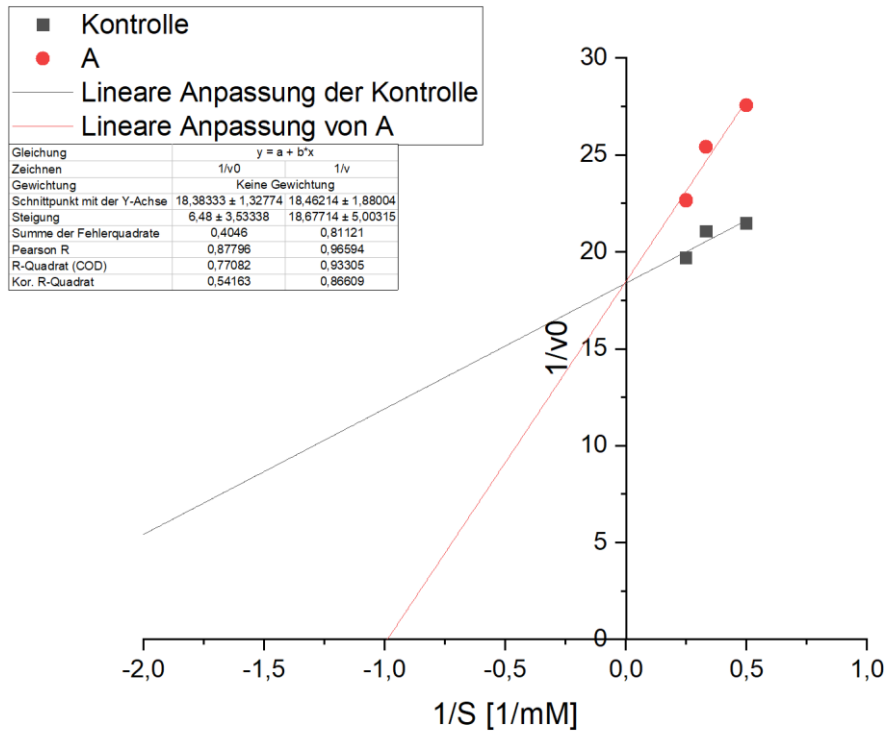


Abbildung 5-16: Lineweaver-Burk-Plot für den Extrakt aus Aroniadirektsaft (A) im  $\alpha$ -Amylase-Assay als Beispiel für einen kompetitiven Inhibitionsmechanismus.

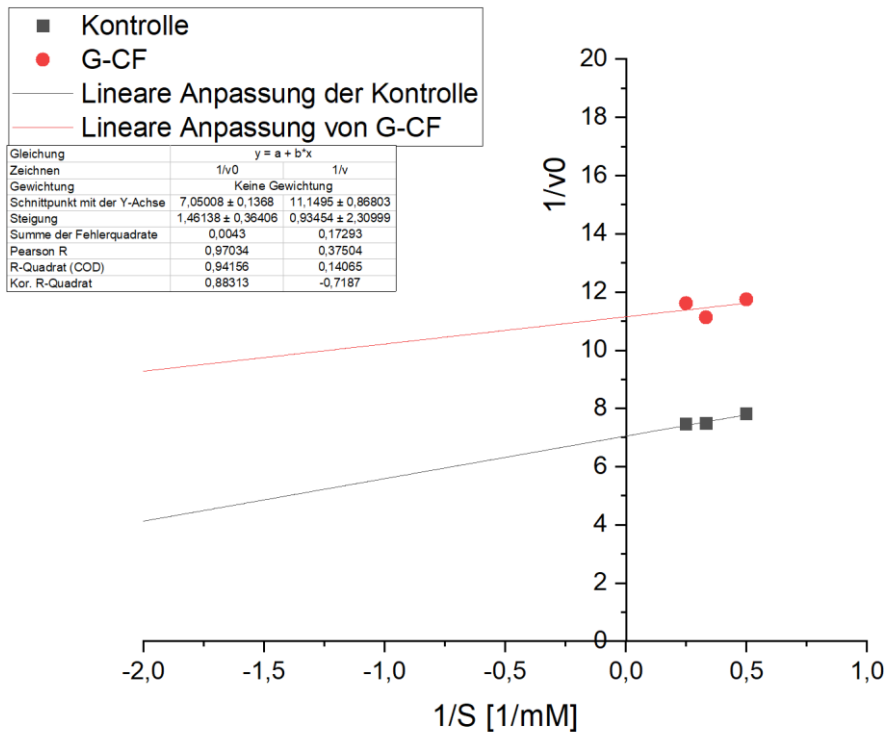


Abbildung 5-17: Lineweaver-Burk-Plot für die Copigmentfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft (G-CF) im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay als Beispiel für einen unkompetitiven Inhibitionsmechanismus.

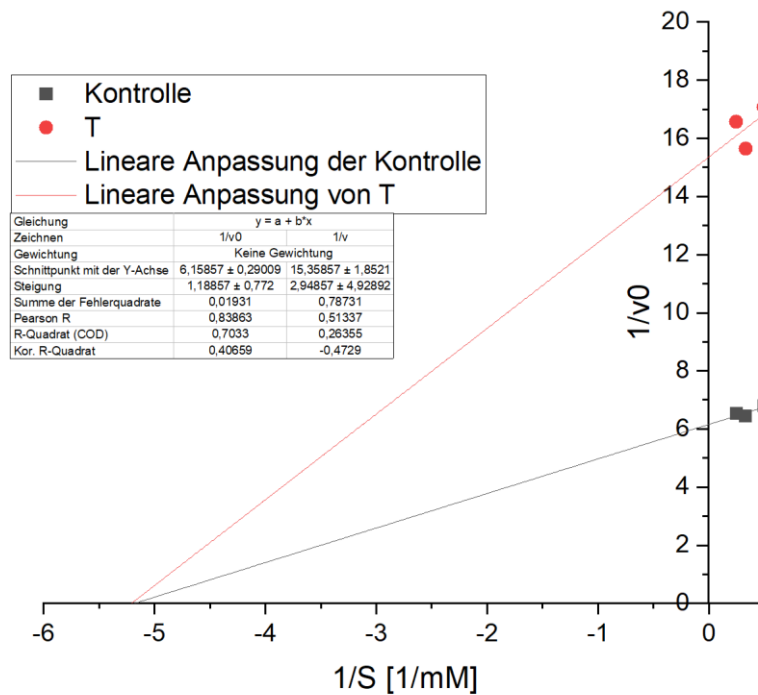


Abbildung 5-18: Lineweaver-Burk-Plot für den Extrakt aus rotem Traubensaftkonzentrat (T) im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay als Beispiel für einen nicht-kompetitiven Inhibitionsmechanismus.

### 5.5.1 Ergebnisse des $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assays

In Tabelle 5-13 sind die Ergebnisse der Testung der Extrakte aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat sowie ihrer Fraktionen aufgeführt. Die vollständige graphische Auswertung ist in Kapitel 10.8.1 zu finden.

Tabelle 5-13: Ermittelte Hemmmechanismen der Extrakte aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat sowie ihrer Fraktionen für den  $\alpha$ -Amylase-Assay.

| Fruchtsaftextrakt                  | Fraktion  | Mechanismus      |
|------------------------------------|-----------|------------------|
| <b>Aroniadirektsaft</b>            | Gesamt    | Kompetitiv       |
|                                    | Anthocyan | Kompetitiv       |
|                                    | Copigment | Kompetitiv       |
|                                    | Polymer   | Nicht-Kompetitiv |
| <b>Granatapfeldirektsaft</b>       | Gesamt    | Kompetitiv       |
|                                    | Anthocyan | Kompetitiv       |
|                                    | Copigment | Kompetitiv       |
|                                    | Polymer   | Kompetitiv       |
| <b>Roter Traubensaftkonzentrat</b> | Gesamt    | Kompetitiv       |
|                                    | Anthocyan | Kompetitiv       |
|                                    | Copigment | Unkompetitiv     |
|                                    | Polymer   | Kompetitiv       |



Der Extrakt aus Aroniadirektsaft zeigte auf die  $\alpha$ -Amylase einen kompetitiven Hemmmechanismus. Dieser konnte auch für die Anthocyan- und die Copigmentfraktion bestimmt werden. Die Polymerfraktion hemmte die Aktivität nicht-kompetitiv. Da diese lediglich ca. 9 % des Gesamtextraktes ausmacht, wurde der Mechanismus des Gesamtextraktes dadurch jedoch nicht signifikant beeinflusst. Für die Cyanidinderivate Cyanidin-3-glucosid und Cyanidin-3-rutinosid, die ebenfalls in Aronia enthalten sind, wurde bereits ein kompetitiver Mechanismus beschrieben [Homoki *et al.*, 2016]. Eine Mischung von Polyphenolen aus jungen, unreifen Äpfeln, die wie Aronia Quercetin, Chlorogensäure und Epicatechin enthielten, zeigte ebenfalls eine kompetitive Hemmung auf die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase [Sun *et al.*, 2016].

Alle Fraktionen des Granatapfeldirektsaft-Extraktes sowie der Saftextrakt selbst hemmten die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase kompetitiv. Auch hier könnte der Mechanismus der Anthocyanfraktion auf die hierin enthaltenen Cyanidinglykoside zurückzuführen sein, während die Beobachtungen der Copigmentfraktion auf Zimtsäure zurückgehen könnte, die in Granatapfel enthalten war [Homoki *et al.*, 2016; Moein *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2015].

Sowohl der Extrakt des roten Traubensaftkonzentrat als auch die daraus gewonnene Anthocyan- und Polymerfraktion zeigten einen kompetitiven Hemmmechanismus, während die Copigmentfraktion die Enzymaktivität unkompetitiv hemmte. Für Malvidin-3-glucosid sowie Cyanidin-3-glucosid, die beide zu den Hauptanthocyanen in roten Trauben zählten, wurde bereits ein kompetitiver Hemmmechanismus beschrieben [Homoki *et al.*, 2016].

### 5.5.2 Ergebnisse des $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assays

Tabelle 5-14 zeigt die Ergebnisse der Testung der Extrakte aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat sowie ihrer Fraktionen. Die vollständige graphische Auswertung ist in Kapitel 10.8.2 zu finden.

Tabelle 5-14: Ermittelte Hemmmechanismen der Extrakte aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat sowie ihrer Fraktionen für den  $\alpha$ -Glucosidase-Assay.

| Fruchtsaftextrakt                  | Fraktion  | Mechanismus      |
|------------------------------------|-----------|------------------|
| <b>Aroniadirektsaft</b>            | Gesamt    | Kompetitiv       |
|                                    | Anthocyan | Kompetitiv       |
|                                    | Copigment | Kompetitiv       |
|                                    | Polymer   | Nicht-kompetitiv |
| <b>Granatapfeldirektsaft</b>       | Gesamt    | Nicht-kompetitiv |
|                                    | Anthocyan | Nicht-kompetitiv |
|                                    | Copigment | Unkompetitiv     |
|                                    | Polymer   | Kompetitiv       |
| <b>Roter Traubensaftkonzentrat</b> | Gesamt    | Nicht-kompetitiv |
|                                    | Anthocyan | Unkompetitiv     |
|                                    | Copigment | Nicht-kompetitiv |
|                                    | Polymer   | Unkompetitiv     |

Während die Polymerfraktion die  $\alpha$ -Glucosidase nicht-kompetitiv hemmte, zeigte sowohl der Extrakt aus Aroniadirektsaft sowie die daraus hergestellte Anthocyan- und Copigmentfraktion einen kompetitiven Hemmmechanismus. Das Aglykon Cyanidin, dessen Glykoside das Anthocyanprofil von Aroniafrüchten dominierten, hemmte die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase kompetitiv [Chen *et al.*, 2020b]. Die kompetitive Hemmung der Copigmentfraktion lässt sich durch die darin enthaltenen Quercetinderivate erklären [Şöhretoğlu und Sari, 2019].

Der Extrakt des Granatapfeldirektsaftes sowie die daraus gewonnene Anthocyanfraktion hemmten die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase nicht-kompetitiv, die Copigmentfraktion hingegen unkompetitiv und die Polymerfraktion kompetitiv. Adisakwattana *et al.* ermittelten für Cyanidin-3-galactosid ebenfalls einen nicht-kompetitiven Hemmmechanismus [Adisakwattana *et al.*, 2009]. Verschiedene andere Flavonoide, wie beispielsweise Catechine, zeigten eine unkompetitive Hemmung der Enzymaktivität [Şöhretoğlu und Sari, 2019; Indrianingsih *et al.*, 2015].

Sowohl der rote Traubensaftkonzentrat-Extrakt als auch die Copigmentfraktion zeigten einen nicht-kompetitiven Hemmmechanismus, während die Anthocyan- und die Polymerfraktion die Enzymaktivität unkompetitiv hemmten. Dies konnte bereits für andere anthocyanhaltige Extrakte beobachtet werden [Rouzbehan *et al.*, 2017]. Der beobachtete Mechanismus für die Copigmentfraktion könnte auf die anwesenden Kaempferolderivate zurückzuführen sein. Für diese konnte bereits eine nicht-kompetitive Hemmung der  $\alpha$ -Glucosidase nachgewiesen werden [Indrianingsih *et al.*, 2015].

### 5.5.3 Fazit

Für den Extrakt aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat konnte gegenüber der  $\alpha$ -Amylase ein kompetitiver Hemmmechanismus ermittelt werden, welcher sich weitestgehend auch in den einzelnen Fraktionen widerspiegelte. Die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase wurde durch den Extrakt aus Granatapfeldirektsaft und den aus rotem Traubensaftkonzentrat jeweils nicht-kompetitiv gehemmt und durch den Extrakt aus Aroniadirektsaft kompetitiv. Somit konnten für alle Extrakte und Fraktionen reversible Mechanismen nachgewiesen werden.

Gegenüber  $\alpha$ -Amylase konnte bereits für verschiedene Anthocyane, wie beispielsweise Cyanidin-3-glucosid, Cyaidin-3-rutinosid und Malvidin-3-glucosid ein kompetitiver Hemmmechanismus beobachtet werden [Homoki *et al.*, 2016]. Dies deckt sich mit unseren Beobachtungen. Alle Anthocyanfraktionen hemmten die Aktivität dieses Enzyms kompetitiv. Auch für andere Polyphenole wie Quercetin, Chlorogensäure, Epicatechin oder Zimtsäure ist ein kompetitiver Hemmmechanismus bekannt [Sun *et al.*, 2016; Moein *et al.*, 2017]. Die von uns für die meisten Copigmentfraktionen beobachteten Inhibitionsmechanismen könnten auf diese Substanzen zurückzuführen sein.

Die Ergebnisse des  $\alpha$ -Glucosidase-Assays zeigten größere Unterschiede im beobachteten Hemmmechanismus der einzelnen Fraktionen. Dies kann jedoch auf die jeweilige Polyphenolzusammensetzung zurückzuführen sein. Während Cyanidin, das Hauptglykon in Aroniafrüchten, die Aktivität des Enzyms kompetitiv hemmte, zeigten andere anthocyanhaltige Extrakte auch eine unkompetitive Inhibition [Chen *et al.*, 2020b; Rouzbehan *et al.*, 2017]. Auch durch andere Polyphenole wurde die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase unterschiedlich gehemmt. Während für Quercetinderivate eine kompetitive Hemmung beobachtet werden konnte, hemmte Catechin die Enzymaktivität unkompetitiv und Kaempferolderivate nicht-kompetitiv [Şöhretoğlu und Sari, 2019; Indrianingsih *et al.*, 2015]. Diese Beobachtungen aus der Literatur spiegelten sich auch in unseren Ergebnissen wieder.

Die für die Gesamtextrakte beobachteten Hemmmechanismen spiegelten sich auch in den Fraktionen wieder und ließen sich durch deren Anteile am Gesamtextrakt erklären. So zeigte beispielsweise die Anthocyan- und Copigmentfraktion des Aronia-Extraktes im  $\alpha$ -Amylase-Assay eine kompetitive Hemmung, die Polymerfraktion jedoch eine nicht-kompetitive. Obwohl der Gesamtextrakt alle Hemmmechanismen der einzelnen Bestandteile aufweisen sollte, konnte ihm ebenfalls eine kompetitive Hemmung zugeordnet werden. Der Effekt der Copigment- und Anthocyanfraktion überwiegte somit und die Wirkung der Polymerfraktion, die zusätzlich nur einen geringen Anteil am Gesamtextrakt ausmachte, beeinflusste das Ergebnis nicht. Da die Bestimmung des Hemmmechanismus graphisch erfolgte und auf dem Vergleich von  $K_M$  und  $v_{max}$  beruhte, unterlag die Zuordnung auch gewissen Ungenauigkeiten.

## 5.6 Pilotstudie

Die bisher erhaltenen Ergebnisse stammten aus zellfreien, photometrischen Inhibitionsassays. Um die Relevanz dieser Beobachtungen bestimmen zu können, war eine Humanstudie nötig. Diese ermöglichte die Ergebnisse auf die *in vivo* Situation zu übertragen. Aufbauend auf den *in vitro* Resultaten wurden in einer humanen Interventionsstudie zwei Extrakte – Extrakt aus Aroniadirektsaft und Extrakt aus rotem Traubensaftkonzentrat – untersucht. Nach Konsum eines Testgetränkes, das entweder nur aus 400 mL Wasser und 75 g Maltodextrin bestand oder zusätzlich einen der beiden Extrakte (100 mg Aroniadirektsaft- oder 120 mg rotem Traubensaftkonzentrat-Extrakt) enthielt, wurde der Blutzuckerspiegel, die Insulinkonzentration und der Gewebsglucosespiegel in zehn gesunden, männlichen Probanden gemessen. Während die ersten beiden Parameter in Blutproben der Probanden im Westfalzklinikum (Institut für Laboratoriumsmedizin, Chefarzt Prof. Dr. Axel Stachon) ermittelt wurden, wurde für den Gewebsglucosespiegel das Flash Glukose Messsystem FreeStyle Libre der Firma Abbott Diabetes Care Inc. verwendet. Die Konzentration der Plasmaparameter (Blutzuckerspiegel und Insulinkonzentration) wurde vor Gabe der Getränke bzw. 30, 60, 90, 120, 180, 240 und 360 Minuten danach bestimmt. Die Erfassung des Gewebsglucosespiegels erfolgte vor der Gabe der Getränke und dann alle 15 Minuten bis 360 Minuten nach Aufnahme. Die Menge der Extrakte wurde entsprechend ihrer inhibitorischen Aktivität *in vitro* gewählt. Auf der Grundlage ihrer Ergebnisse in den Enzym-Inhibitions-Assays wurde die Menge so gewählt, dass sie der Aktivität einer Tablette Glucobay® und somit 50 mg Acarbose entsprach. Die Ergebnisse sind nachfolgend dargestellt.

### 5.6.1 Einfluss der Extrakte auf den Blutglucosespiegel

Die Blutproben der humanen Interventionsstudie, die an der Technischen Universität Kaiserslautern durchgeführt wurde (s. Kapitel 4.10), wurden im Westfalzklinikum (Institut für Laboratoriumsmedizin, Chefarzt Prof. Dr. Axel Stachon) auf ihren Glucosegehalt untersucht. Zum besseren Vergleich der Studiengetränke wurde die AUC (*area under curve*) der einzelnen Probanden über den gesamten Erfassungszeitraum (0 – 360 Minuten) ermittelt. In Abbildung 5-19 sind die Ergebnisse der beiden Extrakte im Vergleich zur Kontrolle als Box plots dargestellt.

Für das Getränk mit Aroniaextrakt (Extrakt aus Aroniadirektsaft und Maltodextrin in Wasser) konnte eine signifikante Reduzierung der AUC und damit eine Senkung des Blutzuckerwertes im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden. Beim Getränk mit Traubenextrakt (Extrakt aus Traubensaftkonzentrat und Maltodextrin in Wasser) konnte kein Effekt beobachtet werden. Bei beiden Extrakten zeigten sich deutliche interindividuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden.

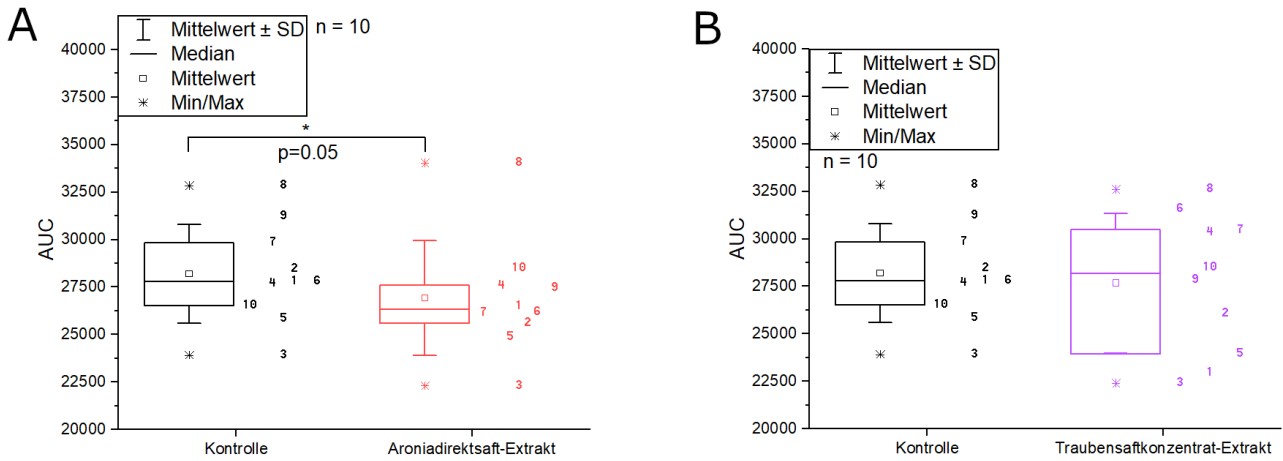


Abbildung 5-19: Blutglucosespiegel der einzelnen Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als Einzelwerte und als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal- und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadireksaft (A) bzw. rotem Traubensaftkonzentrat (B) im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) (n = 10). Die Zahlen 1 – 10 stehen für die AUC der einzelnen Probanden.

### 5.6.2 Einfluss der Extrakte auf den Gewebsglucosespiegel

Der Gewebsglucosespiegel wurde mittels Flash Glukose Messsystem FreeStyle Libre der Firma Abbott Diabetes Care Inc. kontinuierlich alle 15 min erfasst. Dabei handelt es sich um einen minimalinvasiven Sensor am Oberarm, der mit Hilfe eines Messfühlers kontinuierlich die Glucosewerte in der Zwischenzellflüssigkeit bestimmt. Auch hier wurde anschließend über den gesamten Erfassungszeitraum (0 – 360 Minuten) die AUC (*area under curve*) der einzelnen Probanden ermittelt. Abbildung 5-20 zeigt exemplarisch ein Beispiel für eine Kurve der Messung der Gewebsglucosekonzentration mit Hilfe des FreeStyle Libre.

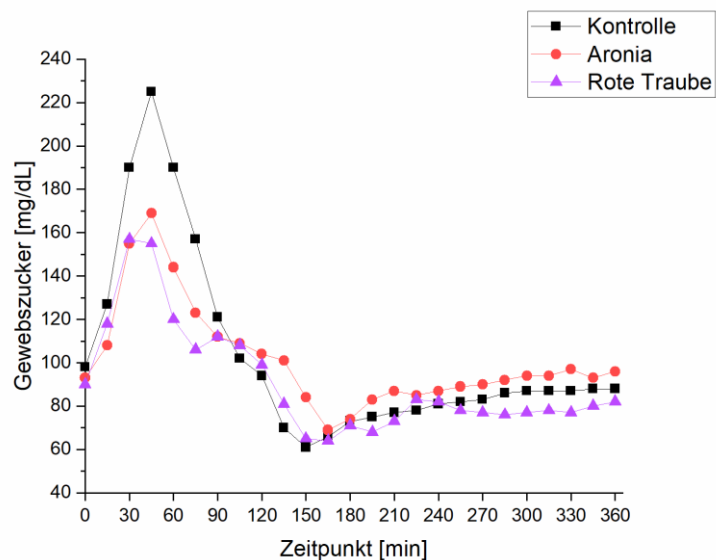


Abbildung 5-20: Beispiel einer Kurve für die Messung der Gewebsglucosekonzentration mittels FreeStyle Libre.

In Abbildung 5-21 sind die Ergebnisse der Bestimmung des Gewebsglucosespiegels für die beiden Extrakte im Vergleich zur Kontrolle dargestellt. Während nach Aufnahme des Getränkes mit Traubenextrakt (Extrakt aus Traubensaftkonzentrat und Maltodextrin in Wasser) keine Abnahme der AUC und somit auch kein blutzuckersenkender Effekt beobachtet werden konnte, reduzierte sich der Wert für das Getränk mit Aroniaextrakt (Extrakt aus Aroniadirektsaft und Maltodextrin in Wasser) signifikant. Auch hier konnten durch Aufnahme der beiden Extrakte mit Maltodextrin interindividuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden beobachtet werden.

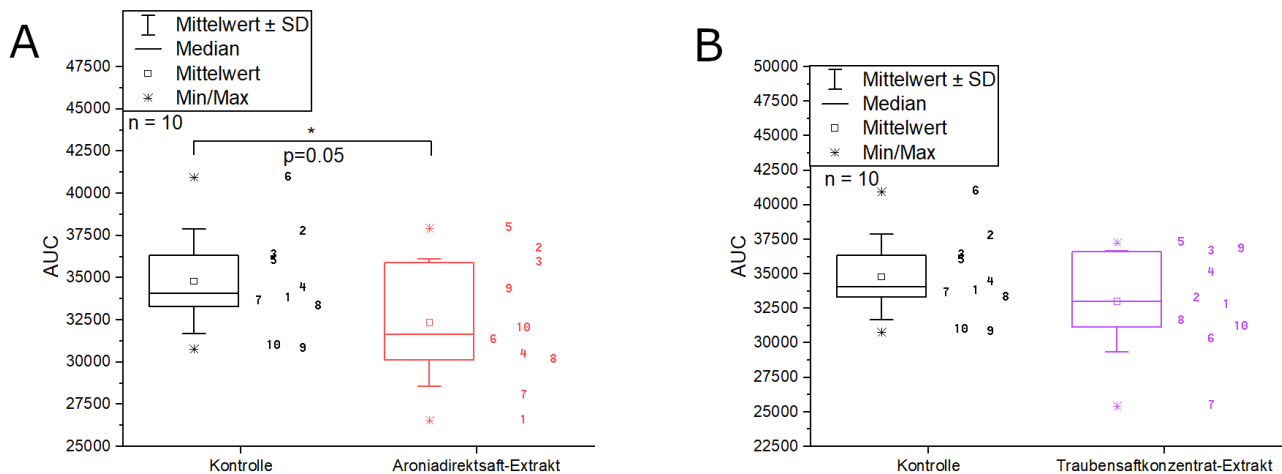


Abbildung 5-21: Gewebsglucosespiegel der einzelnen Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als Einzelwerte und als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadirektsaft (A) bzw. rotem Traubensaftkonzentrat (B) im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) (n = 10). Die Zahlen 1 – 10 stehen für die AUC der einzelnen Probanden.

### 5.6.3 Einfluss der Extrakte auf die Insulinkonzentration

Die Blutproben der humanen Interventionsstudie, die an der Technischen Universität Kaiserslautern durchgeführt wurde (s. Kapitel 4.10), wurden im Westpfalzkrankenhaus (Institut für Laboratoriumsmedizin, Chefarzt Prof. Dr. Axel Stachon) auf ihre Insulinkonzentration untersucht. Über den gesamten Erfassungszeitraum (0 – 360 Minuten) wurde die AUC (*area under curve*) der einzelnen Probanden bestimmt. In Abbildung 5-22 sind die Ergebnisse der beiden getesteten Extrakte im Vergleich zur Kontrolle dargestellt.

Nach dem Konsum des Getränkes mit Traubenextrakt (Extrakt aus Traubensaftkonzentrat und Maltodextrin in Wasser) konnte ein signifikanter Anstieg der Insulinkonzentration in den Blutproben der Probanden gemessen werden. Anders als bei den anderen Parametern, konnte für das Getränk mit Aroniaextrakt (Extrakt aus Aroniadirektsaft und Maltodextrin in Wasser) hier kein Effekt festgestellt werden. Jedoch konnten auch hier wieder interindividuelle Unterschiede zwischen den Probanden beobachtet werden.

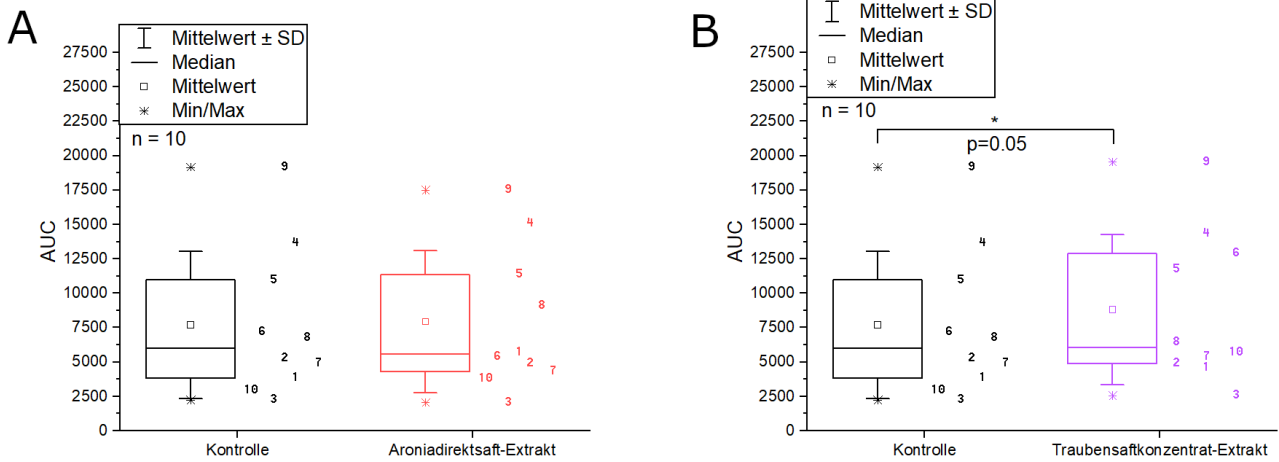


Abbildung 5-22: Insulinkonzentration der einzelnen Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als Einzelwerte und als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadirektsaft (A) bzw. rotem Traubensaftkonzentrat (B) im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) (n = 10). Die Zahlen 1 – 10 stehen für die AUC der einzelnen Probanden.

#### 5.6.4 „Responder“ und „Nicht-Responder“

Betrachtete man die Ergebnisse der einzelnen Probanden, konnten für alle drei Parameter (Blutglucose-, Gewebsglucose- und Insulinspiegel) interindividuelle Unterschiede beobachtet werden. Wir konnten drei Personen identifizieren, bei denen der Glucosespiegel nach Einnahme des Aroniaextraktes sehr signifikant reduziert wurde, während bei den anderen keine Beeinflussung zu beobachten war (s. Abbildung 5-23). Die Probanden konnten somit in „Responder“ und „Nicht-Responder“ unterteilt werden.

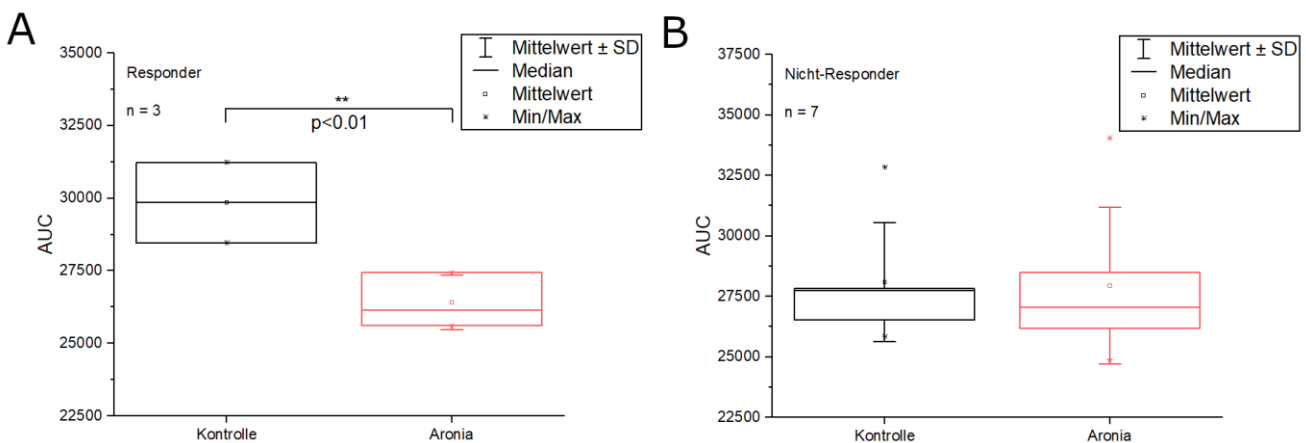


Abbildung 5-23: Blutglucosespiegel der Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal- und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadirektsaft im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) für die „Responder“ (A, n = 3) und die „Nicht-Responder“ (B, n = 7).

Es zeigte sich, dass der beobachtete Effekt mit dem *Body Mass Index* korreliert. Während die „Responder“ einen BMI von  $25,3 \pm 0,4 \text{ kg/m}^2$  ( $n = 3$ ) aufwiesen, lag der BMI der „Nicht-Responder“ bei  $21,0 \pm 1,1 \text{ kg/m}^2$  ( $n = 7$ ).

### 5.6.5 Einfluss von Acarbose auf den Gewebsglucosespiegel

Wie bereits erwähnt, wurde die Menge der Extrakte aufgrund ihrer *in vitro* Ergebnisse im  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Assay gewählt und so angepasst, dass sie der *in vitro* Aktivität von 50 mg Acarbose (äquivalent zu einer Tablette Glucobay®) gegenüber  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase entsprachen. Der Vergleich der Extrakte mit diesem Wirkstoff aus Diabetesmedikamenten sollte auch *in vivo* erfolgen. Daher nahmen zusätzlich zu den bereits beschriebenen Untersuchungen zwei Probanden (P1 und P2) Maltodextrin mit 50 mg Acarbose (in Form des Diabetesmedikamentes Glucobay® von Bayer) ein und ihr Gewebsglucosespiegel wurde für die nächsten drei Stunden mit dem Sensor FreeStyle Libre der Firma Abbott Diabetes Care Inc. erfasst. Diese beiden Probanden wurden ausgewählt, da sie für die drei zuvor beobachteten Parametern als „Responder“ (P2, BMI =  $25,2 \text{ kg/m}^2$ ) bzw. „Nicht-Responder“ (P1, BMI =  $20,7 \text{ kg/m}^2$ ) identifiziert werden konnten. In Abbildung 5-24 sind die Ergebnisse für die beiden Probanden dargestellt. Sie zeigten sowohl bei der Höhe ihrer Maxima, als auch bei dem Zeitpunkt der Maxima Unterschiede. Dies zeigt ebenfalls die hohen interindividuellen Unterschiede des Glucosemetabolismus. Acarbose reduzierte den Gewebsglucosespiegel des „Responders“ P2 auf dasselbe Level wie die beiden Studienextrakte. Für diesen Probanden konnten sowohl für den Aroniadirektsaft-Extrakt als auch für den Extrakt aus rotem Traubensaftkonzentrat blutzuckerregulierende Effekte beobachtet werden. Wie bereits bei den beiden Extrakten zeigte auch der Konsum von Acarbose bei dem „Nicht-Responder“ P1 keinen Effekt auf den Gewebsglucosespiegel.

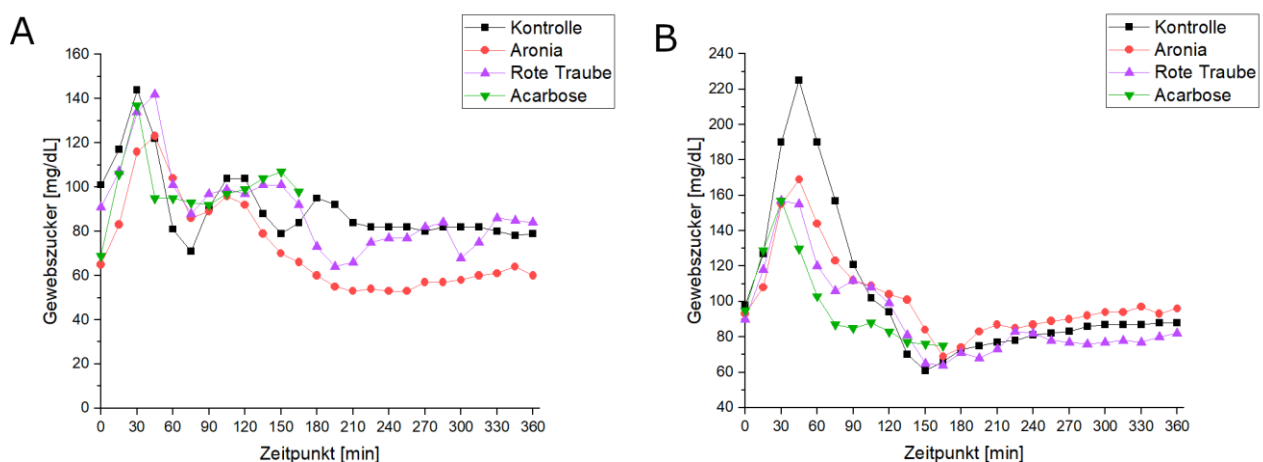


Abbildung 5-24: Gewebsglucosespiegel [mg/dL] nach Aufnahme von 75 g reinem Maltodextrin (schwarz), 75 g Maltodextrin mit 100 mg Aroniadirektsaft-Extrakt (rot), 120 mg roten Traubensaftkonzentrat-Extrakt (lila) oder 50 mg Acarbose (grün) für P1 (A) und P2 (B).



### 5.6.6 Fazit

Die Reduzierung des Blutglucosespiegels durch Extrakte aus roten Früchten konnte schon in verschiedenen Studien nachgewiesen werden [Castro-Acosta *et al.*, 2017; Törrönen *et al.*, 2010]. In einer humanen Interventionsstudie mit 16 Probanden beobachteten Kerimi *et al.* für einen Extrakt aus Granatapfelsaft sowie für die entsprechenden Fruchtsäuren (Äpfel- und Citronensäure) keine blutzuckersenkende Wirkung. Der Verzehr des Granatapfelsaftes selbst jedoch führte zu einer signifikanten Reduzierung des Blutglucosespiegels [Kerimi *et al.*, 2017]. Das könnte bedeuten, dass für eine blutzuckersenkende Wirkung *in vivo* nicht nur Polyphenole, sondern ein Zusammenspiel aus allen Fruchtsaftkomponenten verantwortlich sein könnte. In einer weiteren Studie konsumierten Patienten mit insulinabhängigem und nicht-insulinabhängigem *Diabetes mellitus* 200 mL eines zuckerfreien Aroniasaftes, sowohl pur als auch in Kombination mit einem Standardfrühstück. In beiden Fällen wurde der Nüchtern-Blutzuckerwert gesenkt. Auch der tägliche Konsum des Getränkes durch diese Patienten über drei Monate hinweg führte zu einem dauerhaft gesenkten Blutzuckerspiegel [Simeonov *et al.*, 2002]. Dies bestätigt unsere Ergebnisse, die einen blutzuckersenkenden Effekt für einen Aroniaextrakt zeigten. Allerdings wurde hier ebenfalls der gesamte Fruchtsaft untersucht, wie es bereits bei Kerimi *et al.* für einen Granatapfelsaft der Fall war [Kerimi *et al.*, 2017].

Aufgrund der hohen Enzyminhibition, die *in vitro* für die eingesetzten Extrakte beobachtet wurde, wurde den Probanden in der vorliegenden Studie eine recht geringe Menge der Extrakte (100 mg Aroniadirektsaft-Extrakt bzw. 120 mg roter Traubensaftkonzentrat-Extrakt) verabreicht. Das lässt die Frage offen, ob eine höhere Gabe zu einem signifikanteren Effekt geführt hätte. Diese Korrelation konnte bereits in einer Studie, in der Probanden ein Testgetränk mit schwarzem Johannisbeer-Extrakt bekamen, ermittelt werden. Hier zeigte sich ein Effekt auf den Blutzuckerspiegel erst bei der höchsten verabreichten Dosis (600 mg in 200 mL) [Castro-Acosta *et al.*, 2016]. Dies konnte auch in einer anderen Studie beobachtet werden, bei der ein Beerenpüree aus schwarzer Johannisbeere, Heidelbeere, Cranberry und Erdbeere getestet wurde. Nach Verzehr von 150 g dieses Pürees zeigte sich in den zwölf gesunden Probanden ein blutzuckersenkender Effekt [Törrönen *et al.*, 2010]. In einer weiteren Studie wurden die Nüchtern-Blutzuckerwerte von 58 männlichen Diabetespatienten ermittelt, nachdem sie zwölf Wochen lang entweder 240 ml eines Cranberrysaftes oder eines Placebogetränkes zu sich genommen hatten. Auch hier zeigte sich eine Abnahme des Blutglucosespiegels [Shidfar *et al.*, 2012]. Allerdings wurden hier mit 240 ml des Saftes ebenfalls eine deutlich höhere Menge an Fruchtsaft verabreicht als bei unserer Studie, bei der 100 mg Aroniadirektsaft-Extrakt (entspricht ca. 10 ml des Direktsaftes) bzw. 120 mg roten Traubensaftkonzentrat-Extrakt (entspricht ca. 22 ml des Saftkonzentrates) konsumiert wurden. Trotzdem deckte sich der in diesen Studien festgestellte Trend, dass anthocyanreiche Fruchtsäfte in der Lage sind den Blutzuckerspiegel zu senken, mit unseren Ergebnissen.

Für alle drei Parameter konnten bei beiden Extrakten interindividuelle Unterschiede festgestellt werden, die eine Einteilung der Probanden in „Responder“ und „Nicht-Responder“ ermöglichte. Eine Korrelation der Resonanzen mit dem BMI zeigte deutliche Unterschiede. Während die „Responder“ einen BMI von  $25,3 \pm 0,3 \text{ kg/m}^2$  aufwiesen, lag er bei den „Nicht-Respondern“ bei  $21,0 \pm 1,1 \text{ kg/m}^2$ . Eine ähnliche Beobachtung machten auch Takei *et al.* In einer Studie mit leicht übergewichtigen *Diabetes mellitus* Typ II Patienten (BMI über  $24 \text{ kg/m}^2$ ), denen über einen Zeitraum von drei Monaten täglich 150 mg Acarbose verabreicht wurden, stellten sie fest, dass Probanden mit einem höheren BMI ( $28,2 \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$ ) dazu tendierten, nach Gabe von Acarbose einen stärkeren blutzuckersenkenden Effekt zu zeigen, im Vergleich zu den Probanden mit einem leicht geringeren BMI ( $27,1 \pm 2,4 \text{ kg/m}^2$ ) [Takei *et al.*, 2001]. Eine Verifizierung der beobachteten Effekte mit Acarbose wurde mit je einem Probanden der „Responder“- und der „Nicht-Responder“-Gruppe durchgeführt. P1 (Nicht-Responder, BMI =  $20,7 \text{ kg/m}^2$ ) und P2 (Responder, BMI =  $25,2 \text{ kg/m}^2$ ) zeigten mit Glucobay® dieselben Effekte wie zuvor bereits mit den Extrakten. Somit war die blutzuckerregulierende Wirkung auch hier nur bei dem „Responder“ zu beobachten. Dieses Ergebnis zeigte zudem, dass die Extrakte eventuell eine natürliche Alternative zu bereits bestehenden Medikamenten darstellen könnten.

Um die Ergebnisse unserer Pilotstudie zu bestätigen, sollte eine Folgestudie mit einer größeren Anzahl von Probanden und einer höheren Menge an konsumiertem Extrakt, beispielsweise entsprechend 100 ml oder 200 ml Saft, durchgeführt werden. Aufgrund der Beobachtungen von Kerimi *et al.* könnte in einer Folgestudie beispielsweise auch reiner Aroniadirektsaft konsumiert werden, um die Auswirkungen der restlichen Fruchtsaftkomponenten zu untersuchen. Alles in allem kann der Verzehr polyphenol- und vor allem anthocyanreicher Lebensmittel einen regulierenden Effekt auf den Blutzuckerspiegel nach Verzehr einer kohlenhydratreichen Mahlzeit leisten. Wobei die Frage bleibt, welche Rolle der hohe Zuckergehalt der Beeren spielt. Um diese Annahmen zu bestätigen sollten weitere *in vivo* Studien durchgeführt werden.

## 6 Fazit und Ausblick

*Diabetes mellitus* ist eine Stoffwechselerkrankung, die mit 463 Millionen Betroffenen weltweit ein globales Gesundheitsproblem mit steigender Tendenz darstellt [Gorban de Lapertosa *et al.*, 2019]. Personen, die an *Diabetes mellitus* erkrankt sind, haben ein erhöhtes Risiko schwerwiegende Folgeerkrankungen, wie beispielsweise kardiovaskuläre Beschwerden, Neuro- und Retinopathien oder Schlaganfälle, zu entwickeln [International Diabetes Federation, 2013]. Die Ursachen für die Entwicklung von *Diabetes mellitus* sind vielfältig. Die Behandlung von Diabeteserkrankungen kann durch die Regulation des Glucose-, Glykogen- und Insulinstoffwechsels erfolgen, was zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels führt. Neben der Hemmung des Glucosetransports ins Blut, kann auch die Aktivität der beiden Hauptverdauungsenzyme des Glucosstoffwechsels  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase gehemmt werden [Ali *et al.*, 2006; Sands *et al.*, 2015]. Aber auch eine verminderte Glucosefreisetzung ins Blut aus der Leber durch Hemmung des Enzyms Glykogenphosphorylase  $\alpha$  oder ein erhöhtes Insulinlevel im Blut durch Inhibition der Dipeptidylpeptidase-IV-Aktivität sind möglich [Ablat *et al.*, 2014; Connolly *et al.*, 2014]. Therapeutisch eingesetzte synthetische Wirkstoffe wie Acarbose, Voglibose, Miglitol oder Gliptine bedienen sich dieser Mechanismen [DiNicolantonio *et al.*, 2015; Vichayanrat *et al.*, 2002; Ueno *et al.*, 2015; Cahn und Raz, 2013]. Auch bei der Entwicklung neuartiger Wirkstoffe wird sich auf diese therapeutische Targets fokussiert [Loughlin *et al.*, 2008]. Aber auch sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, wie Polyphenole, werden im Zusammenhang mit einer Reduzierung des Blutglucosespiegels und dadurch mit einer langfristigen Reduzierung des Diabetesrisikos diskutiert. Vor allem die Gruppe der Flavonoide, insbesondere die Flavonole und Anthocyane, zeigte hier ein hohes Inhibitionspotential [Lo Piparo *et al.*, 2008; Jakobs *et al.*, 2006]. Diese inhibitorische Aktivität gegenüber den vier Enzymen  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV konnte auch schon in verschiedenen polyphenolreichen Extrakten nachgewiesen werden [Adisakwattana *et al.*, 2012; Kantsadi *et al.*, 2014; Power *et al.*, 2014; Kozuka *et al.*, 2015].

Aufgrund der bisherigen Hinweise aus der Literatur, dass Anthocyane eine blutzuckersenkende Wirkung, über beispielsweise die Hemmung der Aktivität von  $\alpha$ -Amylase, zeigten, wurden in dieser Arbeit der Einfluss verschiedener anthocyanreicher Extrakte aus neun roten Früchten bzw. aus daraus hergestellten Säften auf den Glucosstoffwechsel *in vitro* und *in vivo* untersucht. Des Weiteren sollten die hierfür verantwortlichen Inhaltsstoffe identifiziert werden.

Sowohl im  $\alpha$ -Amylase- als auch im  $\alpha$ -Glucosidase-, Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - und Dipeptidylpeptidase-IV-Assay zeigten innerhalb der getesteten Extrakte die Extrakte aus Püree die höchste Enzyminhibierung. Die im Vergleich zu Extrakten aus Direktsaft erhöhte inhibitorische Aktivität spiegelte sich auch in einem erhöhten Gesamtpolyphenolgehalt der Pürees wider. Während Extrakte aus Saftkonzentraten die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase überwiegend stärker hemmten als die

jeweiligen Extrakte aus Direktsäften, zeigte sich im  $\alpha$ -Glucosidase-Assay ein gegenläufiger Trend. Im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - und Dipeptidylpeptidase-IV-Assay konnte kein Unterschied zwischen Fruchtsaftkonzentraten und den dazugehörigen Direktsäften beobachtet werden. Extrakte aus Sauerkirsch-, Holunderbeer- und Heidelbeer-Direktsaft und -Saftkonzentrat wiesen eine vergleichsweise schwache  $\alpha$ -Amylase-Inhibition auf, während die aus Aronia-, Preiselbeere- und Cranberry-Direktsaft und -Saftkonzentrat gewonnenen Extrakte potenter waren. Die aktivsten  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitoren waren die Extrakte aus Aronia-, Granatapfel- und rotem Traubensaft, während Extrakte aus Holunderbeere, Sauerkirsche und Heidelbeere weniger aktiv waren. Im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assay zeigten die Extrakte aus Holunderbeerprodukten ein niedriges Inhibitionspotential, während Granatapfel-, Aronia-, rote Trauben- und schwarze Johannisbeeren-Extrakte die potentesten Inhibitoren darstellten. Auch bei der Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Dipeptidylpeptidase IV waren die Extrakte aus Aronia- und Granatapfelsaft am aktivsten. Extrakte aus Holunderbeer-, Heidelbeer- und Preiselbeer-Direktsaft bzw. -Saftkonzentrat waren die schwächsten Inhibitoren in diesem Testsystem. Während die hohe inhibitorische Aktivität der Extrakte aus Aronia- und Granatapfelsaftprodukten mit einem hohen Gesamtpolyphenolgehalt korrelierte, wiesen beispielsweise Extrakte aus Preiselbeer- und Cranberrysaftprodukten bei effektiver Enzyminhibition einen geringen Gesamtpolyphenolgehalt auf und Extrakte mit hohen Polyphenolgehalten wie Heidelbeere und Holunderbeere nur ein geringes inhibitorisches Potential. Daraus lässt sich schließen, dass die inhibitorische Aktivität nicht nur vom Gesamtgehalt an Polyphenolen, sondern auch von der Anwesenheit spezifischer Verbindungen beeinflusst wird. Bei der Untersuchung verschiedener Traubensorten im  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Assay wiesen die Extrakte eine untereinander vergleichbare inhibitorische Aktivität auf. Die Varietät scheint also keinen Einfluss auf das inhibitorische Potential von Extrakten aus roten Traubendirektsäften und -saftkonzentraten genommen zu haben.

Aufgrund der erhaltenen Ergebnisse und um ein möglichst umfangreiches Spektrum an unterschiedlichen Polyphenolen untersuchen zu können, wurde je ein Extrakt aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat aus Italien durch unseren Kooperationspartner fraktioniert. Die Saftextrakte wurden zuerst in ihre Anthocyan-, Copigment- und Polymerfraktion getrennt und anschließend wurden die beiden erst genannten Fraktionen weiter aufgetrennt. Es zeigte sich, dass alle Fraktionen potente Inhibitoren der untersuchten Enzyme enthalten. Vor allem die Polymerfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft zeigte ein großes Hemmpotential in allen vier Enzymassays. Während die Fraktionen des roten Traubensaftkonzentrates die Aktivität der  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase besonders potent hemmten, zählten sie im Glykogenphosphorylase- $\alpha$ - sowie Dipeptidylpeptidase-IV-Assay zu den weniger aktiven Fraktionen. Die Copigment- sowie die Polymerfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft zählten allgemein zu den weniger potenten Inhibitoren der untersuchten

Enzyme. Die aktivste Fraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft war die Polymerfraktion. Die Anthocyanfraktion des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat war diejenige mit dem geringsten Inhibitionspotential, wenn man alle Testsysteme betrachtet, während die des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft am aktivsten war. Während Subfraktionen, die Peonidin-3-glucosid enthalten, tendenziell ein geringeres inhibitorisches Potential gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase und  $\alpha$ -Amylase zeigten, waren Delphinidin- und Petunidin-3-glucosid-haltige Subfraktionen aktiver. Dies könnte auf den hohen Gehalt an Hydroxylgruppen und damit verbunden die höhere Polarität der Moleküle zurückzuführen sein. Diese Tendenz ließ sich auch bei den Copigmentfraktionen beobachten, wobei Punicalin und andere Ellagitannine trotz einer hohen Anzahl an Hydroxylgruppen nur geringe inhibitorische Aktivität zeigten. Dies zeigte, dass auch die Größe der Moleküle Einfluss auf das inhibitorische Potential haben könnte. Fraktionen, die lediglich Cyanidin-3-galactosid enthielten, wiesen eine geringere Inhibition der Aktivität der beiden Enzyme auf. In Kombination mit anderen Anthocyanen, wie z.B. Cyanidin-3-arabinosid und Cyanidin-3-xylosid, waren sie jedoch sehr aktiv. Das lässt darauf schließen, dass die inhibitorische Aktivität auch durch synergistische Effekte beeinflusst wird. Diese Annahme wird auch durch die Testung der Einzelsubstanzen bestätigt, die als Reinstoff gemessen nicht dieselbe Aktivität wie in den Subfraktionen aufwiesen. Generell konnten nur geringe prozentuale Inhibitionen gegenüber  $\alpha$ -Amylase und  $\alpha$ -Glucosidase ermittelt werden, wobei einige Anthocyane die Amylase-Aktivität gar nicht beeinflussten. Hingegen zeigten die getesteten Substanzen ein vergleichsweise höheres Inhibitionspotential gegenüber Glykogenphosphorylase  $\alpha$  sowie Dipeptidylpeptidase IV. Auch bei der Testung der Einzelsubstanzen konnte eine Korrelation zwischen der Anzahl an Hydroxylgruppen im Molekül und inhibitorischer Aktivität festgestellt werden. Aber auch die Methylierung, vor allem des B-Rings der Anthocyane, beeinflusste das Bindungspotential an die Enzyme. Das inhibitorische Potential der Substanzen wurde zusätzlich von der allgemeinen Molekülgröße und damit auch von der Größe des Zuckerrestes beeinflusst. Zusammengenommen konnte man jedoch sagen, dass die inhibitorische Aktivität der Extrakte und Fraktionen vermutlich nicht auf einzelne Substanzen zurückgeführt werden kann. Zahlreiche Polyphenole wurden im Zusammenhang mit einer Reduzierung des Blutglucosespiegels durch Hemmung der  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität diskutiert. In verschiedenen zellfreien *in vitro*-Studien wurde dieses Inhibitionspotential bereits untersucht. Hierbei zeigten vor allem die Gruppe der Flavonoide ein hohes Potential. Eine Untersuchung von Extrakten aus der Montmorency-Kirsche zeigte eine signifikante Hemmung der Aktivität von  $\alpha$ -Amylase sowie eine leichte Hemmung der  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität. Diese Beobachtung konnte vor allem auf die darin enthaltenen Anthocyane wie Cyanidin-3-rutinosid und Cyanidin-3-glucosid zurückgeführt werden [Kirakosyan *et al.*, 2018]. Die Untersuchung von Anthocyanen aus Heidelbeeren und schwarzen Johannisbeeren zeigte ein hohes Potential auf die  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität zu hemmen mit  $IC_{50}$ -Werten von 0,232 und 0,133 mg/ml für die Heidelbeer-Anthocyane und 0,152 und 0,005 mg/ml für die aus schwarzen Johannisbeeren [Zhang *et al.*, 2019]. Um zu ermitteln, welche

Verbindung für die hypoglykämische Wirkung von schwarzen Johannisbeeren zuständig war, wurde die enzymhemmende Wirkung eines Extraktes aus schwarzen als auch eines aus grünen Johannisbeeren untersucht. Hierbei zeigte sich, dass der Extrakt aus schwarzen Johannisbeeren sowohl die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase als auch der  $\alpha$ -Amylase signifikant hemmte, während der Extrakt aus grünen Johannisbeeren lediglich gegenüber  $\alpha$ -Amylase wirkte. Diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass die Inhibition der  $\alpha$ -Glucosidase eher spezifisch durch Anthocyane beeinflusst wurde, während die Inhibition der  $\alpha$ -Amylase verschiedenen, anderen Polyphenolen zugeschrieben werden konnte [Barik *et al.*, 2020]. Dies bestätigte sich auch bei der Untersuchung verschiedener Extrakte aus Traubenschalen und -fruchtfleisch. Hier war die inhibitorische Aktivität aller Proben gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase höher als gegen  $\alpha$ -Amylase [Tkacz *et al.*, 2019]. Den u.a. in Muskatellertrauben vorkommenden Anthocyanen konnte ebenfalls ein Inhibitionspotential gegenüber  $\alpha$ -Glucosidase nachgewiesen werden. Für Cyanidin und das Cyanidin-3,5-diglucosid konnte ein  $IC_{50}$  von 0,04 bzw. 6,01 mg/ml ermittelt werden [You *et al.*, 2011]. Auch für Extrakte aus Früchten der blauen Heckenkirsche konnte bereits eine enzymhemmende Wirkung beobachtet werden. So konnte die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase mit  $IC_{50}$ -Werten von 1130 bis 2120  $\mu$ g/ml und die der  $\alpha$ -Amylase mit  $IC_{50}$ -Werten zwischen 2380 und 5080  $\mu$ g/ml gehemmt werden. Das Hauptanthocyan dieser Früchte ist Cyanidin-3-glucosid [Silva und Rupasinghe, 2020]. Xie und Mitarbeiter betrachteten verschiedene Anthocyane in einem strukturbasierten Designansatz, um strukturelle Voraussetzungen für die Eignung als Inhibitor des Verdauungsenzyms  $\alpha$ -Amylase zu ermitteln. Hierbei zeigte sich vor allem Malvidin-3-arabinosid als potenter Inhibitor. Die Erklärung hierfür lag in der Struktur dieser Verbindung. Sowohl der Anthocyanidinkern als auch der Glykosylrest nahmen Einfluss auf die aktivitätshemmende Wirkung. So band Malvidin-3-arabinosid über stabile Wasserstoffbrückenbindungen an die katalytischen Schlüsselreste des Enzyms. Außerdem wurde die  $\alpha$ -Helix-Fraktion des Enzyms durch Anwesenheit des Anthocyan reduziert und die  $\beta$ -Faltblatt-Fraktion erhöht [Xie *et al.*, 2020]. Untersuchungen der Ellagitannine des Granatapfels haben ergeben, dass auch diese Polyphenole potente Inhibitoren der beiden Verdauungsenzyme sind. So waren Extrakte aus Granatapfel starke Inhibitoren der  $\alpha$ -Glucosidase ( $IC_{50} = 922,8 \mu$ M) und schwache Inhibitoren der  $\alpha$ -Amylase (42% Hemmung bei einer Konzentration von 3 mM) [Bellesia *et al.*, 2015].

Um eine irreversible Inaktivierung der Enzyme auszuschließen, wurde der Hemmmechanismus der Extrakte sowie der Fraktionen ebenfalls untersucht. Sowohl der Extrakt aus Aroniadirektsaft, als auch der aus Granatapfeldirektsaft und aus rotem Traubensaftkonzentrat wiesen eine kompetitive Hemmung der  $\alpha$ -Amylase-Aktivität auf. Diese spiegelte sich auch überwiegend in den Ergebnissen der Testung der einzelnen Fraktionen wider. Während die Aktivität der  $\alpha$ -Glucosidase durch den Extrakt aus Granatapfel und roter Traube nicht-kompetitiv gehemmt wurde, konnte für den

Aroniaextrakt eine kompetitive Hemmung ermittelt werden. Alle Tests mit Extrakten und Fraktionen wirkten also über reversible Mechanismen.

Um zu überprüfen, ob die gewonnenen *in vitro* Ergebnisse auch auf die *in vivo* Situation im Menschen übertragbar waren, wurde eine Humanstudie an zehn gesunden, männlichen Probanden durchgeführt. Hierbei sollte der Einfluss von zwei Extrakten (aus Aroniadirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat) auf den Blutzucker-, den Blutinsulin- und den Gewebsglucosespiegel untersucht werden. Die Probanden konsumierten hierfür einen Bolus verschiedener Testgetränke, die neben Maltodextrin entweder den Extrakt aus Aroniadirektsaft oder rotem Traubensaftkonzentrat enthielten. Als Kontrolle diente ein Maltodextrin-Wasser-Gemisch. Da es sich hierbei um eine Pilotstudie mit einer geringen Anzahl an Probanden handelte, können die Ergebnisse lediglich als vorläufig angesehen werden. Es konnte eine signifikante Senkung des Blut- und Gewebsglucosespiegels durch die Einnahme von 100 mg Aroniaextrakt, was etwa 10 mL des reinen Aroniasaftes entspricht, beobachtet werden. Dies könnte auf einen Einfluss der im Aroniaextrakt enthaltenen Polyphenole auf die  $\alpha$ -Glucosidase zurückzuführen sein, wie sie in unseren vorangegangenen *in vitro* Untersuchungen beobachtet wurde. Der Extrakt aus rotem Traubensaftkonzentrat erhöhte die Insulinkonzentration signifikant. Für beide Extrakte wurden bei allen drei Parametern interindividuelle Unterschiede in den Probanden festgestellt, wodurch eine Einteilung der Probanden in „Responder“ und „Nicht-Responder“ möglich war. Auffällig war hier vor allem, dass die „Responder“ durchschnittlich einen höheren BMI besaßen als die „Nicht-Responder“ („Responder“:  $25,3 \pm 0,4 \text{ kg/m}^2$ , „Nicht-Responder“:  $21,0 \pm 1,1 \text{ kg/m}^2$ ).

Die vorliegende Arbeit wies das inhibitorische Potential verschiedener Extrakte von Säften aus roten Früchten auf  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, Glykogenphosphorylase  $\alpha$  und Dipeptidylpeptidase IV nach. Außerdem konnte für einige phenolische Einzelsubstanzen eine Inhibition der Aktivität dieser vier Enzyme beobachtet werden. Dabei zeigte sich eine Strukturabhängigkeit der inhibitorischen Aktivität. Die zentrale Hypothese dieser Arbeit war die Frage, ob sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe aus Fruchtsäften – insbesondere aus Buntsäften – in der Lage sind den Kohlenhydratstoffwechsel zu regulieren. Da für die Anthocyane insgesamt eine höhere Inhibition als für die anderen untersuchten polyphenolische Bestandteile beobachtet werden konnte, legt das den Schluss nahe, dass die Anthocyane für diese Wirkung zuständig sind. Die hier vorliegenden Ergebnisse ließen ebenfalls den Schluss zu, dass die Hemmung der verschiedenen Schlüsselenzyme des Glucose-, Glykogen- und Insulinstoffwechsels ein grundlegender Wirkmechanismus der blutzuckersenkenden Eigenschaft von polyphenolreichen Früchten ist. Wie bereits beschreiben zeigen Anthocyane eine sehr geringe Bioverfügbarkeit [Lila *et al.*, 2016]. Dies konnte für die Beurteilung der Ergebnisse des  $\alpha$ -Amylase-,  $\alpha$ -Glucosidase- und Dipeptidylpeptidase-IV-Assays jedoch vernachlässigt werden, da diese Enzyme im Speichel, im Magen oder im Darm vorliegen und somit direkt mit den Polyphenolen

aus der Nahrung interagieren und von diesen beeinflusst werden können. Für die Ergebnisse des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assays war dies jedoch nicht der Fall. Dieses Enzym ist in Leber- und Adipozytenzellen lokalisiert und kann somit erst nach der Aufnahme der Polyphenole in diese Zellen und teilweise auch nur durch deren Abbauprodukte stimuliert werden. Damit Inhibitoren aus anthocyanreichen Säften an den Zielorten ankommen und eine signifikante Reduzierung der Enzymaktivität auslösen, müssten große Mengen der Saftprodukte verzehrt werden. Dass die Hemmung der Aktivität der Glykogenphosphorylase  $\alpha$  für die blutzuckersenkende Wirkung von roten Früchten eine große Relevanz spielt, ist somit eher ausgeschlossen. Stoffwechselwege, die unabhängig von der Bioverfügbarkeit potentieller Inhibitoren sind, werden hierbei einen größeren Einfluss nehmen.

Die *in vitro* beobachteten Effekte konnten im Rahmen einer humanen Interventionsstudie für den Extrakt aus Aroniadirektsaft bestätigt werden. Um die Ergebnisse der Pilotstudie zu bestätigen, sollte eine Folgestudie mit einer höheren Menge an konsumiertem Extrakt und eventuell auch mit einer größeren Anzahl an Probanden durchgeführt werden. Ein weiterer wichtiger Punkt bei der Bewertung der Ergebnisse spielt die Metabolisierung. Polyphenole, insbesondere Anthocyane, zeigen eine hohe molekulare Instabilität. Diese Biotransformation kann sowohl durch externe Faktoren, wie Licht, Temperatur oder pH-Wert, als auch durch die Darmmikrobiota beeinflusst werden. Durch diese chemische Umwandlung wird die Bioaktivität der Anthocyane gemindert. Daher wäre es interessant, weitere Untersuchungen mit verkapselten oder mit Nanobiopolymeren verkapselten Extrakten durchzuführen. Die Nanoverkapselung zeigte sich bereits als effektive Methode im Einsatz von Anthocyanen in Lebensmittel, wo sie half diese Verbindungen stabiler und widerstandsfähiger gegen äußere Faktoren sowie Verdauung zu machen [Rosales *et al.*, 2022]. Alles in allem kann der Verzehr polyphenol- und vor allem anthocyanreicher Lebensmittel einen regulatorischen Einfluss auf die Aktivität verschiedener Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsel haben und damit indirekt den Glucosespiegel nach Aufnahme einer kohlenhydratreichen Mahlzeit positiv beeinflussen. Wobei die Frage bleibt, welche Rolle der hohe Zuckergehalt der Beeren spielt. Um dies zu klären sollten weitere *in vivo* Studien durchgeführt werden.



## 7 Literaturverzeichnis

- Ablat**, Abdulwali; Mohamad, Jamaludin; Awang, Khalijah; Shilpi, Jamil A.; Arya, Aditya (2014): Evaluation of antidiabetic and antioxidant properties of *Brucea javanica* seed. In: *The scientific world journal* 2014, S. 786130. DOI: 10.1155/2014/786130.
- Adeva-Andany**, María M.; González-Lucán, Manuel; Donapetry-García, Cristóbal; Fernández-Fernández, Carlos; Ameneiros-Rodríguez, Eva (2016): Glycogen metabolism in humans. In: *BBA clinical* 5, S. 85–100. DOI: 10.1016/j.bbacli.2016.02.001.
- Adisakwattana**, Sirichai; Charoenlertkul, Piyawan; Yibchok-Anun, Sirintorn (2009): alpha-Glucosidase inhibitory activity of cyanidin-3-galactoside and synergistic effect with acarbose. In: *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry* 24 (1), S. 65–69. DOI: 10.1080/14756360801906947.
- Adisakwattana**, Sirichai; Ruengsamran, Thanyachanok; Kampa, Patcharaporn; Sompong, Weerachat (2012): In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic  $\alpha$ -amylase. In: *BMC complementary and alternative medicine* 12, S. 110. DOI: 10.1186/1472-6882-12-110.
- Adisakwattana**, Sirichai; Yibchok-Anun, Sirintorn; Charoenlertkul, Piyawan; Wongsasiripat, Natthakarn (2011): Cyanidin-3-rutinoside alleviates postprandial hyperglycemia and its synergism with acarbose by inhibition of intestinal  $\alpha$ -glucosidase. In: *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 49 (1), S. 36–41. DOI: 10.3164/jcbn.10-116.
- Akkarachiyasit**, Sarinya; Charoenlertkul, Piyawan; Yibchok-Anun, Sirintorn; Adisakwattana, Sirichai (2010): Inhibitory activities of cyanidin and its glycosides and synergistic effect with acarbose against intestinal  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic  $\alpha$ -amylase. In: *International journal of molecular sciences* 11 (9), S. 3387–3396. DOI: 10.3390/ijms11093387.
- Akkarachiyasit**, Sarinya; Yibchok-Anun, Sirintorn; Wacharasindhu, Sumrit; Adisakwattana, Sirichai (2011): In vitro inhibitory effects of cyanidin-3-rutinoside on pancreatic  $\alpha$ -amylase and its combined effect with acarbose. In: *Molecules (Basel, Switzerland)* 16 (3), S. 2075–2083. DOI: 10.3390/molecules16032075.
- Al Kazaz**, M.; Desseaux, V.; Marchis-Mouren, G.; Prodanov, E.; Santimone, M. (1998): The mechanism of porcine pancreatic alpha-amylase. Inhibition of maltopentaose hydrolysis by acarbose, maltose and maltotriose. In: *European journal of biochemistry / FEBS* 252 (1), S. 100–107.
- Ali**, Hasenah; Houghton, P. J.; Soumyanath, Amala (2006): alpha-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. In: *Journal of ethnopharmacology* 107 (3), S. 449–455. DOI: 10.1016/j.jep.2006.04.004.
- Andersen**, Gaby; Souci, Siegfried Walter; Fachmann, Walter; Kraut, Heinrich (2011): *Lebensmitteltabelle für die Praxis. Der kleine Souci-Fachmann-Kraut*. 5. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.
- Anderson**, Oyvind M.; Jordheim, Monica (2013): Basic Anthocyanin Chemistry and Dietary Sources. In: Taylor Wallace und M. Giusti (Hg.): *Anthocyanins in Health and Disease*: CRC Press, S. 13–90.
- Anton**, A. M.; Pinteá, A. M.; Rugină, D. O.; Sconța, Z. M.; Hanganu, D.; Vlase, L.; Benedec, D. (2013): Preliminary studies on the chemical characterization and antioxidant capacity of polyphenols from *Sambucus* sp. In: *Digest journal of nanomaterials and biostructures* 8 (3), S. 973–980.

- Appel**, Kurt; Meiser, Peter; Millán, Estrella; Collado, Juan Antonio; Rose, Thorsten; Gras, Claudia C.; Carle, Reinhold; Muñoz, Eduardo (2015): Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF- $\kappa$ B and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. In: *Fitoterapia* 105, S. 73–82. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.06.009.
- Ashok Kumar**, B. S.; Lakshman, K.; Nandeesh, R.; Arun Kumar, P. A.; Manoj, B.; Kumar, Vinod; Sheshadri Shekar, D. (2011): In vitro alpha-amylase inhibition and in vivo antioxidant potential of *Amaranthus spinosus* in alloxan-induced oxidative stress in diabetic rats. In: *Saudi journal of biological sciences* 18 (1), S. 1–5. DOI: 10.1016/j.sjbs.2010.08.002.
- Ataie-Jafari**, Asal; Hosseini, Saeed; Karimi, Farzaneh; Pajouhi, Mohammad (2008): Effects of sour cherry juice on blood glucose and some cardiovascular risk factors improvements in diabetic women. In: *Nutrition & Food Science* 38 (4), S. 355–360. DOI: 10.1108/00346650810891414.
- Atkinson**, Mark D.; Atkinson, Elaine (2002): *Sambucus nigra* L. In: *Journal of Ecology* 90 (5), S. 895–923. DOI: 10.1046/j.1365-2745.2002.00698.x.
- Bakuradze**, Tamara; Becker, Daniela; Reischmann, Julia; Meiser, Peter; Galan, Jens; Richling, Elke (2019a): Protection from DNA Damage by Use of an *Aronia* Food Supplement—Results from a Pilot Human Intervention Study. In: *Curr Pharmacol Rep* 5 (3), S. 188–195. DOI: 10.1007/s40495-019-00178-5.
- Bakuradze**, Tamara; Tausend, Angelina; Galan, Jens; Groh, Isabel Anna Maria; Berry, David; Tur, Josep A.; Marko, Doris; Richling, Elke (2019b): Antioxidative activity and health benefits of anthocyanin-rich fruit juice in healthy volunteers. In: *Free radical research* 53 (sup1), S. 1045–1055. DOI: 10.1080/10715762.2019.1618851.
- Bao**, Li; Abe, Keiichi; Tsang, Philip; Xu, Jie-Kun; Yao, Xin-Sheng; Liu, Hong-Wei; Kurihara, Hiroshi (2010): Bilberry extract protect restraint stress-induced liver damage through attenuating mitochondrial dysfunction. In: *Fitoterapia* 81 (8), S. 1094–1101. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.07.004.
- Barak**, Vivian; Birkenfeld, Shlomo; Halperin, Tal; Kalickman, Inna (2002): The effect of herbal remedies on the production of human inflammatory and anti-inflammatory cytokines. In: *The Israel Medical Association journal : IMAJ* 4 (11 Suppl), S. 919–922.
- Barik**, Sisir Kumar; Russell, Wendy R.; Moar, Kim M.; Cruickshank, Morven; Scobbie, Lorraine; Duncan, Gary; Hoggard, Nigel (2020): The anthocyanins in black currants regulate postprandial hyperglycaemia primarily by inhibiting  $\alpha$ -glucosidase while other phenolics modulate salivary  $\alpha$ -amylase, glucose uptake and sugar transporters. In: *The Journal of nutritional biochemistry* 78, S. 108325. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2019.108325.
- Belitz**, Hans-Dieter; Grosch, Werner; Schieberle, Peter (2008): *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 6. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Bellesia**, Andrea; Verzelloni, Elena; Tagliazucchi, Davide (2015): Pomegranate ellagitannins inhibit  $\alpha$ -glucosidase activity in vitro and reduce starch digestibility under simulated gastrointestinal conditions. In: *International journal of food sciences and nutrition* 66 (1), S. 85–92. DOI: 10.3109/09637486.2014.953455.
- Benzie**, Iris F. F.; Wachtel-Galor, Sissi; Packer, Lester (2011): *Herbal Medicine. Biomolecular and Clinical Aspects*. 2nd ed. Hoboken: CRC Press (Oxidative Stress and Disease).
- Berg**, Jeremy M.; Tymoczko, John L.; Stryer, Lubert (2013): *Stryer Biochemie*. 7. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

- Berger**, Kirsten; Ostberg Potthoff, Johanna Josefine; Bakuradze, Tamara; Winterhalter, Peter; Richling, Elke (2021): Blood Glucose Lowering Effect by an Extract from Aronia (*Aronia melanocarpa*) - A Pilot Intervention Study. In: *CNT* 2 (3), S. 223–229. DOI: 10.2174/2665978602666210709103232.
- Berger**, Kirsten; Ostberg-Potthoff, Johanna Josefine; Bakuradze, Tamara; Winterhalter, Peter; Richling, Elke (2020): Carbohydrate Hydrolase-Inhibitory Activity of Juice-Based Phenolic Extracts in Correlation to Their Anthocyanin/Copigment Profile. In: *Molecules* 25 (22), S. 5224. DOI: 10.3390/molecules25225224.
- Bhattacharya**, Sumangala; Christensen, Kathrine B.; Olsen, Louise C. B.; Christensen, Lars P.; Grevsen, Kai; Færgeman, Nils J.; Kristiansen, Karsten; Young, Jette F.; Oksbjerg, Niels (2013): Bioactive components from flowers of *Sambucus nigra* L. increase glucose uptake in primary porcine myotube cultures and reduce fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 61 (46), S. 11033–11040. DOI: 10.1021/jf402838a.
- Biesalski**, Hans Konrad; Grimm, Peter (2011): Taschenatlas Ernährung. 5. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Bjornsson**, Thorir D.; Callaghan, John T.; Einolf, Heidi J.; Fischer, Volker; Gan, Lawrence; Grimm, Scott; Kao, John; King, S. Peter; Miwa, Gerald; Ni, Lan; Kumar, Gondi; McLeod, James; Obach, R. Scott; Roberts, Stanley; Roe, Amy; Shah, Anita; Snikeris, Fred; Sullivan, John T.; Tweedie, Donald; Vega, Jose M.; Walsh, John; Wrighton, Steven A. (2003): The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: a Pharmaceutical Research and Manufacturers of America (PhRMA) perspective. In: *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 31 (7), S. 815–832. DOI: 10.1124/dmd.31.7.815.
- Blando**, Federica; Calabriso, Nadia; Berland, Helge; Maiorano, Gabriele; Gerardi, Carmela; Carluccio, Maria Annunziata; Andersen, Øyvind M. (2018): Radical Scavenging and Anti-Inflammatory Activities of Representative Anthocyanin Groupings from Pigment-Rich Fruits and Vegetables. In: *International journal of molecular sciences*. DOI: 10.3390/ijms19010169.
- Bluestone**, Jeffrey A.; Herold, Kevan; Eisenbarth, George (2010): Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. In: *Nature* 464 (7293), S. 1293–1300. DOI: 10.1038/nature08933.
- Blumberg**, Jeffrey B.; Camesano, Terri A.; Cassidy, Aedin; Kris-Etherton, Penny; Howell, Amy; Manach, Claudine; Ostertag, Luisa M.; Sies, Helmut; Skulas-Ray, Ann; Vita, Joseph A. (2013): Cranberries and their bioactive constituents in human health. In: *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)* 4 (6), S. 618–632. DOI: 10.3945/an.113.004473.
- Bobadilla**, Miriam; Hernández, Carlos; Ayala, María; Alonso, Ixone; Iglesias, Ana; García-Sanmartín, Josune; Mirpuri, Eduardo; Barriobero, José Ignacio; Martínez, Alfredo (2021): A Grape Juice Supplemented with Natural Grape Extracts Is Well Accepted by Consumers and Reduces Brain Oxidative Stress. In: *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 10 (5). DOI: 10.3390/antiox10050677.
- Bodet**, C.; Chandad, F.; Grenier, D. (2006): Anti-inflammatory activity of a high-molecular-weight cranberry fraction on macrophages stimulated by lipopolysaccharides from periodontopathogens. In: *Journal of dental research* 85 (3), S. 235–239. DOI: 10.1177/154405910608500306.
- Borges**, Gina; Roowi, Suri; Rouanet, Jean-Max; Duthie, Garry G.; Lean, Michael E. J.; Crozier, Alan (2007): The bioavailability of raspberry anthocyanins and ellagitannins in rats. In: *Molecular nutrition & food research* 51 (6), S. 714–725. DOI: 10.1002/mnfr.200700024.

- Brandt**, Inger; Joossens, Jurgen; Chen, Xin; Maes, Marie-Berthe; Scharpé, Simon; Meester, Ingrid de; Lambeir, Anne-Marie (2005): Inhibition of dipeptidyl-peptidase IV catalyzed peptide truncation by Vildagliptin ((2S)-{(3-hydroxyadamantan-1-yl)aminoacetyl}-pyrrolidine-2-carbonitrile). In: *Biochemical pharmacology* 70 (1), S. 134–143. DOI: 10.1016/j.bcp.2005.04.009.
- Bräunlich**, Marie; Slimestad, Rune; Wangensteen, Helle; Brede, Cato; Malterud, Karl E.; Barsett, Hilde (2013): Extracts, anthocyanins and procyanidins from *Aronia melanocarpa* as radical scavengers and enzyme inhibitors. In: *Nutrients* 5 (3), S. 663–678. DOI: 10.3390/nu5030663.
- Burkhardt**, S.; Tan, D. X.; Manchester, L. C.; Hardeland, R.; Reiter, R. J. (2001): Detection and quantification of the antioxidant melatonin in Montmorency and Balaton tart cherries (*Prunus cerasus*). In: *Journal of agricultural and food chemistry* 49 (10), S. 4898–4902. DOI: 10.1021/jf010321.
- Cahn**, Avivit; Raz, Itamar (2013): Emerging gliptins for type 2 diabetes. In: *Expert opinion on emerging drugs* 18 (2), S. 245–258. DOI: 10.1517/14728214.2013.807796.
- Cardeñosa**, Vanessa; Girones-Vilaplana, Amadeo; Muriel, José Luis; Moreno, Diego A.; Moreno-Rojas, José M. (2016): Influence of genotype, cultivation system and irrigation regime on antioxidant capacity and selected phenolics of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). In: *Food chemistry* 202, S. 276–283. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.118.
- Castro-Acosta**, Monica L.; Smith, Leanne; Miller, Rosalind J.; McCarthy, Danielle I.; Farrimond, Jonathan A.; Hall, Wendy L. (2016): Drinks containing anthocyanin-rich blackcurrant extract decrease postprandial blood glucose, insulin and incretin concentrations. In: *The Journal of nutritional biochemistry* 38, S. 154–161. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.09.002.
- Castro-Acosta**, Monica L.; Stone, Stephanie G.; Mok, Jonathan E.; Mhajan, Rhia K.; Fu, Chi-leng; Lenihan-Geels, Georgia N.; Corpe, Christopher P.; Hall, Wendy L. (2017): Apple and blackcurrant polyphenol-rich drinks decrease postprandial glucose, insulin and incretin response to a high-carbohydrate meal in healthy men and women. In: *The Journal of nutritional biochemistry* 49, S. 53–62. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2017.07.013.
- Chen**, Ji-Guang; Wu, Shao-Fu; Zhang, Qing-Feng; Yin, Zhong-Ping; Zhang, Lu (2020a):  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory effect of anthocyanins from *Cinnamomum camphora* fruit: Inhibition kinetics and mechanistic insights through in vitro and in silico studies. In: *International journal of biological macromolecules* 143, S. 696–703. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.091.
- Chen**, Ji-Guang; Wu, Shao-Fu; Zhang, Qing-Feng; Yin, Zhong-Ping; Zhang, Lu (2020b):  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory effect of anthocyanins from *Cinnamomum camphora* fruit: Inhibition kinetics and mechanistic insights through in vitro and in silico studies. In: *International journal of biological macromolecules* 143, S. 696–703. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.091.
- Chen**, Jihua; Uto, Takuhiro; Tanigawa, Shunsuke; Kumamoto, Takuma; Fujii, Makoto; Hou, De-Xing (2008): Expression profiling of genes targeted by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) in macrophages through DNA microarray. In: *Nutrition and cancer* 60 Suppl 1, S. 43–50. DOI: 10.1080/01635580802381279.
- Chen**, William W.; Niepel, Mario; Sorger, Peter K. (2010): Classic and contemporary approaches to modeling biochemical reactions. In: *Genes & development* 24 (17), S. 1861–1875. DOI: 10.1101/gad.1945410.
- Cheplick**, Susan; Kwon, Young-In; Bhowmik, Prasanta; Shetty, Kalidas (2007): Clonal variation in raspberry fruit phenolics and relevance for diabetes and hypertension management. In: *J Food Biochemistry* 31 (5), S. 656–679. DOI: 10.1111/j.1745-4514.2007.00136.x.

- Christensen**, Lars P.; Kaack, Karl; Fretté, Xavier C. (2008): Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best suited for the preparation of elderflower extracts rich in flavonoids and phenolic acids. In: *European Food Research and Technology* 227 (1), S. 293–305. DOI: 10.1007/s00217-007-0723-8.
- Chu**, Wing-kwan; Cheung, Sabrina C. M.; Lau, Roxanna A. W.; Benzie, Iris F. F. (2011): Herbal medicine. Biomolecular and clinical aspects. Chapter 4 Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). 2nd ed. Hg. v. Iris F. F. Benzie und Sissi Wachtel-Galor. Boca Raton: Taylor & Francis (Oxidative Stress and Disease, 28).
- Ciocioiu**, Manuela; Badescu, Laur; Badulescu, Oana; Badescu, Magda (2012): Intervention Of *Sambucus Nigra* Polyphenolic Extract In Experimental Arterial Hypertension. In: *International journal of medical and health sciences* 6 (4). DOI: 10.5281/ZENODO.1055287.
- Concannon**, Patrick; Rich, Stephen S.; Nepom, Gerald T. (2009): Genetics of type 1A diabetes. In: *The New England journal of medicine* 360 (16), S. 1646–1654. DOI: 10.1056/NEJMra0808284.
- Connolly**, Alan; Piggott, Charles O.; FitzGerald, Richard J. (2014): In vitro  $\alpha$ -glucosidase, angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory properties of brewers' spent grain protein hydrolysates. In: *Food Research International* 56, S. 100–107. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.12.021.
- Cortez**, Regina E.; Gonzalez de Mejia, Elvira (2019): Blackcurrants (*Ribes nigrum*): A Review on Chemistry, Processing, and Health Benefits. In: *Journal of food science*, S. 2387–2401. DOI: 10.1111/1750-3841.14781.
- Czank**, Charles; Cassidy, Aedín; Zhang, Qingzhi; Morrison, Douglas J.; Preston, Tom; Kroon, Paul A.; Botting, Nigel P.; Kay, Colin D. (2013): Human metabolism and elimination of the anthocyanin, cyanidin-3-glucoside: a (13)C-tracer study. In: *The American journal of clinical nutrition* 97 (5), S. 995–1003. DOI: 10.3945/ajcn.112.049247.
- Dani**, Caroline; Dias, Karen Moura; Trevizol, Lucieli; Bassôa, Luisa; Fraga, Iasmin; Proença, Isabel Cristina Teixeira; Pochmann, Daniela; Elsner, Viviane Rostirola (2021): The impact of red grape juice (*Vitis labrusca*) consumption associated with physical training on oxidative stress, inflammatory and epigenetic modulation in healthy elderly women. In: *Physiology & behavior* 229, S. 113215. DOI: 10.1016/j.physbeh.2020.113215.
- Dashty**, Monireh (2013): A quick look at biochemistry: carbohydrate metabolism. In: *Clinical biochemistry* 46 (15), S. 1339–1352. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027.
- Deacon**, Carolyn F. (2019): Physiology and Pharmacology of DPP-4 in Glucose Homeostasis and the Treatment of Type 2 Diabetes. In: *Frontiers in endocrinology* 10, S. 80. DOI: 10.3389/fendo.2019.00080.
- Dell'Agli**, Mario; Galli, Germana V.; Vrhovsek, Urska; Mattivi, Fulvio; Bosisio, Enrica (2005): In vitro inhibition of human cGMP-specific phosphodiesterase-5 by polyphenols from red grapes. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 53 (6), S. 1960–1965. DOI: 10.1021/jf048497.
- Deutsche Diabetes Gesellschaft** (2008): Diabetes und Schwangerschaft. Evidenzbasierte Leitlinie der Deutschen Diabetes-Gesellschaft. Unter Mitarbeit von W. A. Scherbaum und T. Haak.
- DiNicolantonio**, James J.; Bhutani, Jaikrit; O'Keefe, James H. (2015): Acarbose: safe and effective for lowering postprandial hyperglycaemia and improving cardiovascular outcomes. In: *Open heart* 2 (1), S. e000327. DOI: 10.1136/openhrt-2015-000327.

- Doggrell**, Sheila A.; Dimmitt, Simon B. (2014): Gliptins - do they increase cardiovascular risk or benefit? In: *Expert opinion on drug safety* 13 (5), S. 675–680. DOI: 10.1517/14740338.2014.904284.
- Drossard**, Claudia; Bolzenius, Katja; Kunz, Clemens; Kersting, Mathilde (2013): Anthocyanins in the diet of children and adolescents: intake, sources and trends. In: *European journal of nutrition* 52 (2), S. 667–676. DOI: 10.1007/s00394-012-0371-z.
- Drózdź**, Paulina; Šežienė, Vaida; Wójcik, Józef; Pyrżyńska, Krystyna (2017): Evaluation of Bioactive Compounds, Minerals and Antioxidant Activity of Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) Fruits. In: *Molecules* 23 (1). DOI: 10.3390/molecules23010053.
- Drucker**, Daniel J. (2003): Therapeutic potential of dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of type 2 diabetes. In: *Expert opinion on investigational drugs* 12 (1), S. 87–100. DOI: 10.1517/13543784.12.1.87.
- Drucker**, Daniel J.; Nauck, Michael A. (2006): The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. In: *The Lancet* 368 (9548), S. 1696–1705. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)69705-5.
- Duez**, Hélène; Cariou, Bertrand; Staels, Bart (2012): DPP-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. In: *Biochemical pharmacology* 83 (7), S. 823–832. DOI: 10.1016/j.bcp.2011.11.028.
- Durinx**, C.; Lambeir, A. M.; Bosmans, E.; Falmagne, J. B.; Berghmans, R.; Haemers, A.; Scharpé, S.; Meester, I. de (2000): Molecular characterization of dipeptidyl peptidase activity in serum: soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV is responsible for the release of X-Pro dipeptides. In: *European journal of biochemistry / FEBS* 267 (17), S. 5608–5613. DOI: 10.1046/j.1432-1327.2000.01634.x.
- Edirisinghe**, Indika; Banaszewski, Katarzyna; Cappozzo, Jack; Sandhya, Krishnankutty; Ellis, Collin L.; Tadapaneni, Ravi; Kappagoda, Chulani T.; Burton-Freeman, Britt M. (2011): Strawberry anthocyanin and its association with postprandial inflammation and insulin. In: *The British journal of nutrition* 106 (6), S. 913–922. DOI: 10.1017/S0007114511001176.
- Ezeh**, Uche; Chen, Ida Y-D; Chen, Yen-Hao; Azziz, Ricardo (2020): Adipocyte Insulin Resistance in PCOS: Relationship With GLUT-4 Expression and Whole-Body Glucose Disposal and  $\beta$ -Cell Function. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 105 (7). DOI: 10.1210/clinem/dgaa235.
- Fan**, Junfeng; Johnson, Michelle H.; Lila, Mary Ann; Yousef, Gad; Mejia, Elvira Gonzalez de (2013): Berry and Citrus Phenolic Compounds Inhibit Dipeptidyl Peptidase IV: Implications in Diabetes Management. In: *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* 2013, S. 479505. DOI: 10.1155/2013/479505.
- Fanzone**, Martín; González-Manzano, Susana; Pérez-Alonso, Joaquín; Escribano-Bailón, María Teresa; Jofré, Viviana; Assof, Mariela; Santos-Buelga, Celestino (2015): Evaluation of dihydroquercetin-3-O-glucoside from Malbec grapes as copigment of malvidin-3-O-glucoside. In: *Food chemistry* 175, S. 166–173. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.11.123.
- Fernandes**, Iva; Freitas, Victor de; Reis, Celso; Mateus, Nuno (2012): A new approach on the gastric absorption of anthocyanins. In: *Food & function* 3 (5), S. 508–516. DOI: 10.1039/c2fo10295a.
- Fischer**, Ulrike A.; Carle, Reinhold; Kammerer, Dietmar R. (2011): Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS(n). In: *Food chemistry* 127 (2), S. 807–821. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.12.156.

- Forester**, Sarah C.; Choy, Ying Y.; Waterhouse, Andrew L.; Oteiza, Patricia I. (2014): The anthocyanin metabolites gallic acid, 3-O-methylgallic acid, and 2,4,6-trihydroxybenzaldehyde decrease human colon cancer cell viability by regulating pro-oncogenic signals. In: *Molecular Carcinogenesis* 53 (6), S. 432–439. DOI: 10.1002/mc.21974.
- Fröhling**, B.; Patz, C.; Dietrich, H.; Will, F. (2012): Anthocyane, Gesamtphenole und antioxidative Kapazität in kommerziellen roten Traubensäften, schwarzen Johannisbeer- und Sauerkirschnektaren. In: *Flüssiges Obst* 7, S. 260–264.
- Gerich**, John (2010): DPP-4 inhibitors: what may be the clinical differentiators? In: *Diabetes research and clinical practice* 90 (2), S. 131–140. DOI: 10.1016/j.diabres.2010.07.006.
- Ghosh**, Dilip; Konishi, Tetsuya (2007): Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. In: *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 16 (2), S. 200–208.
- Glorie**, Lorenzo; D'Haese, Patrick C.; Verhulst, Anja (2016): Boning up on DPP4, DPP4 substrates, and DPP4-adipokine interactions: Logical reasoning and known facts about bone related effects of DPP4 inhibitors. In: *Bone* 92, S. 37–49. DOI: 10.1016/j.bone.2016.08.009.
- Goodman**, Barbara E. (2010): Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. In: *Advances in physiology education* 34 (2), S. 44–53. DOI: 10.1152/advan.00094.2009.
- Gorban de Lapertosa**, Silvia; Ferreira de Moura, Andreia; Decroux, Chani; Duke, Lisa; Hammond, Lucy; Jacobs, Esther; Kaundal, Abha; Li, Jing; Liu, Jinnan; Ohlrogge, Anne Wiebke; Petersohn, Inga; Piemonte, Lorenzo; Prosser, Sue; Riley, Phil; Rivas Gonzalesz, Merry; Sung, Els; Wilson, Mike; Yáñez Jiménez, Beatriz; Yang, Wen; Ysebaert, Margaux (2019): IDF Diabetes Atlas. 9. Auflage.
- Gowd**, Vemana; Jia, Zhenquan; Chen, Wei (2017): Anthocyanins as promising molecules and dietary bioactive components against diabetes – A review of recent advances. In: *Trends in Food Science & Technology* 68, S. 1–13. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.07.015.
- Grunberger**, George (2014): Clinical utility of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: a descriptive summary of current efficacy trials. In: *European journal of clinical pharmacology* 70 (11), S. 1277–1289. DOI: 10.1007/s00228-014-1727-5.
- Han**, Lingling; Yuan, Zhaohe; Feng, Lijuan; Yin, Yanlei (2015): Changes In The Composition And Contents Of Pomegranate Polyphenols During Fruit Development. In: *Acta Horti*. (1089), S. 53–61. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1089.5.
- Hanhineva**, Kati; Törrönen, Riitta; Bondia-Pons, Isabel; Pekkinen, Jenna; Kolehmainen, Marjukka; Mykkänen, Hannu; Poutanen, Kaisa (2010): Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. In: *International journal of molecular sciences* 11 (4), S. 1365–1402. DOI: 10.3390/ijms11041365.
- Hansotia**, Tanya; Drucker, Daniel J. (2005): GIP and GLP-1 as incretin hormones: lessons from single and double incretin receptor knockout mice. In: *Regulatory peptides* 128 (2), S. 125–134. DOI: 10.1016/j.regpep.2004.07.019.
- Havsteen**, B. (1983): Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. In: *Biochemical pharmacology* 32 (7), S. 1141–1148.
- Hensen**, J.; Thomas, T.; Müller-Ziehm, J. (2006): Diabetische Ketoazidose und nicht-ketoazidotisches hyperosmolares diabetisches Koma - Therapiemöglichkeiten. In: *Arzneimitteltherapie* (24), S. 432–443.
- Hettiarachchi**, Kalindi D.; Zimmet, Paul Z.; Myers, Mark A. (2006): The effects of repeated exposure to sub-toxic doses of plecomacrolide antibiotics on the endocrine pancreas. In: *Food*

*and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 44 (12), S. 1966–1977. DOI: 10.1016/j.fct.2006.06.023.

- Heyman-Lindén**, Lovisa; Kotowska, Dorota; Sand, Elin; Bjursell, Mikael; Plaza, Merichel; Turner, Charlotta; Holm, Cecilia; Fåk, Frida; Berger, Karin (2016): Lingonberries alter the gut microbiota and prevent low-grade inflammation in high-fat diet fed mice. In: *Food & Nutrition Research* 60, S. 29993. DOI: 10.3402/fnr.v60.29993.
- Ho**, K. Y.; Tsai, C. C.; Huang, J. S.; Chen, C. P.; Lin, T. C.; Lin, C. C. (2001): Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea* L. In: *The Journal of pharmacy and pharmacology* 53 (2), S. 187–191. DOI: 10.1211/0022357011775389.
- Homoki**, Judit R.; Nemes, Andrea; Fazekas, Erika; Gyémánt, Gyöngyi; Balogh, Péter; Gál, Ferenc; Al-Asri, Jamil; Mortier, Jérémie; Wolber, Gerhard; Babinszky, László; Remenyik, Judit (2016): Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and  $\alpha$ -amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.). In: *Food chemistry* 194, S. 222–229. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.07.130.
- Hong**, Su Hee; Heo, Jee-In; Kim, Jeong-Hyeon; Kwon, Sang-Oh; Yeo, Kyung-Mok; Bakowska-Barczak, Anna M.; Kolodziejczyk, Paul; Ryu, Ok-Hyun; Choi, Moon-Ki; Kang, Young-Hee; Lim, Soon Sung; Suh, Hong-Won; Huh, Sung-Oh; Lee, Jae-Yong (2013): Antidiabetic and Beta cell-protection activities of purple corn anthocyanins. In: *Biomolecules & therapeutics* 21 (4), S. 284–289. DOI: 10.4062/biomolther.2013.016.
- Howatson**, Glyn; Bell, Phillip G.; Tallent, Jamie; Middleton, Benita; McHugh, Malachy P.; Ellis, Jason (2012): Effect of tart cherry juice (*Prunus cerasus*) on melatonin levels and enhanced sleep quality. In: *European journal of nutrition*, S. 909–916. DOI: 10.1007/s00394-011-0263-7.
- Howell**, Amy B.; Reed, Jess D.; Krueger, Christian G.; Winterbottom, Rane; Cunningham, David G.; Leahy, Marge (2005): A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. In: *Phytochemistry* 66 (18), S. 2281–2291. DOI: 10.1016/j.phytochem.2005.05.022.
- Hung**, Hsin-Yi; Qian, Keduo; Morris-Natschke, Susan L.; Hsu, Chau-Shin; Lee, Kuo-Hsiung (2012): Recent discovery of plant-derived anti-diabetic natural products. In: *Natural product reports* 29 (5), S. 580–606. DOI: 10.1039/c2np00074a.
- Iizuka**, Yuzuru; Ozeki, Aoi; Tani, Tsubasa; Tsuda, Takanori (2018): Blackcurrant Extract Ameliorates Hyperglycemia in Type 2 Diabetic Mice in Association with Increased Basal Secretion of Glucagon-Like Peptide-1 and Activation of AMP-Activated Protein Kinase. In: *Journal of nutritional science and vitaminology* 64 (4), S. 258–264. DOI: 10.3177/jnsv.64.258.
- Indrianingsih**, Anastasia Wheni; Tachibana, Sanro; Dewi, Rizna Triana; Itoh, Kazutaka (2015): Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activities of natural compounds isolated from *Quercus gilva* Blume leaves. In: *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5 (9), S. 748–755. DOI: 10.1016/j.apjtb.2015.07.004.
- International Diabetes Federation** (2013): IDF Diabetes Atlas. 6. Auflage.
- Jacobs**, Esther; Rathmann, Wolfgang (2019): Epidemiologie des Diabetes in Deutschland. In: *Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2019*.
- Jafri**, M.A; Aslam, M.; Javed, Kalim; Singh, Surender (2000): Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. In: *Journal of ethnopharmacology* 70 (3), S. 309–314. DOI: 10.1016/S0378-8741(99)00170-1.



- Jakobek**, Lidija; Drenjančević, Mato; Jukić, Vladimir; Šeruga, Marijan (2012): Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of “Nero”, “Viking”, “Galicianka” and wild chokeberries. In: *Scientia Horticulturae* 147, S. 56–63. DOI: 10.1016/j.scienta.2012.09.006.
- Jakobs**, Sandra; Fridrich, Diana; Hofem, Sabine; Pahlke, Gudrun; Eisenbrand, Gerhard (2006): Natural flavonoids are potent inhibitors of glycogen phosphorylase. In: *Molecular nutrition & food research* 50 (1), S. 52–57. DOI: 10.1002/mnfr.200500163.
- Jayaprakasam**, Bolleddula; Olson, L. Karl; Schutzki, Robert E.; Tai, Mei-Hui; Nair, Muraleedharan G. (2006): Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (*Cornus mas*). In: *Journal of agricultural and food chemistry* 54 (1), S. 243–248. DOI: 10.1021/jf0520342.
- Jayaprakasam**, Bolleddula; Vareed, Shaiju K.; Olson, L. Karl; Nair, Muraleedharan G. (2005): Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 53 (1), S. 28–31. DOI: 10.1021/jf049018.
- Jennings**, Amy; Welch, Ailsa A.; Spector, Tim; Macgregor, Alex; Cassidy, Aedín (2014): Intakes of anthocyanins and flavones are associated with biomarkers of insulin resistance and inflammation in women. In: *The Journal of nutrition* 144 (2), S. 202–208. DOI: 10.3945/jn.113.184358.
- Joseph**, Shama V.; Edirisinghe, Indika; Burton-Freeman, Britt M. (2014): Berries: anti-inflammatory effects in humans. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 62 (18), S. 3886–3903. DOI: 10.1021/jf4044056.
- Jurikova**, Tunde; Mlcek, Jiri; Skrovankova, Sona; Sumczynski, Daniela; Sochor, Jiri; Hlavacova, Irena; Snopek, Lukas; Orsavova, Jana (2017): Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases. In: *Molecules* 22 (6). DOI: 10.3390/molecules22060944.
- Kaeswurm**, Julia A. H.; Claasen, Birgit; Fischer, Max-Philipp; Buchweitz, Maria (2019): Interaction of Structurally Diverse Phenolic Compounds with Porcine Pancreatic  $\alpha$ -Amylase. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 67 (40), S. 11108–11118. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b04798.
- Kaeswurm**, Julia A. H.; Könighofer, Lisa; Hogg, Melanie; Scharinger, Andreas; Buchweitz, Maria (2020): Impact of B-Ring Substitution and Acylation with Hydroxy Cinnamic Acids on the Inhibition of Porcine  $\alpha$ -Amylase by Anthocyanin-3-Glycosides. In: *Foods* 9 (3). DOI: 10.3390/foods9030367.
- Kam**, Antony; Li, Kong M.; Razmovski-Naumovski, Valentina; Nammi, Srinivas; Shi, Jeffrey; Chan, Kelvin; Li, George Q. (2013): A comparative study on the inhibitory effects of different parts and chemical constituents of pomegranate on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. In: *Phytotherapy research : PTR* 27 (11), S. 1614–1620. DOI: 10.1002/ptr.4913.
- Kamiyama**, Ogusa; Sanae, Fujiko; Ikeda, Kyoko; Higashi, Yasuhiko; Minami, Yasuhiro; Asano, Naoki; Adachi, Isao; Kato, Atsushi (2010): In vitro inhibition of  $\alpha$ -glucosidases and glycogen phosphorylase by catechin gallates in green tea. In: *Food chemistry* 122 (4), S. 1061–1066. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.03.075.
- Kammerer**, Dietmar; Claus, Achim; Carle, Reinhold; Schieber, Andreas (2004): Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 52 (14), S. 4360–4367. DOI: 10.1021/jf049613b.
- Kantsadi**, Anastassia L.; Apostolou, Anna; Theofanous, Stavroula; Stravodimos, George A.; Kyriakis, Efthimios; Gorgogietas, Vyron A.; Chatzileontiadou, Demetra S. M.; Pegiou, Kalliope; Skamnaki, Vassiliki T.; Stagos, Dimitrios; Kouretas, Dimitrios; Psarra, Anna-Maria G.;

- Haroutounian, Serkos A.; Leonidas, Demetres D. (2014): Biochemical and biological assessment of the inhibitory potency of extracts from vinification byproducts of *Vitis vinifera* extracts against glycogen phosphorylase. In: *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 67, S. 35–43. DOI: 10.1016/j.fct.2014.01.055.
- Kashima**, Y.; Miki, T.; Shibasaki, T.; Ozaki, N.; Miyazaki, M.; Yano, H.; Seino, S. (2001): Critical role of cAMP-GEFII--Rim2 complex in incretin-potentiated insulin secretion. In: *The Journal of biological chemistry* 276 (49), S. 46046–46053. DOI: 10.1074/jbc.M108378200.
- Katsube**, Naomi; Iwashita, Keiko; Tsushida, Tojiro; Yamaki, Koji; Kobori, Masuko (2003): Induction of apoptosis in cancer cells by Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 51 (1), S. 68–75. DOI: 10.1021/jf025781x.
- Kawaii**, Satoru; Lansky, Ephraim P. (2004): Differentiation-promoting activity of pomegranate (*Punica granatum*) fruit extracts in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. In: *Journal of medicinal food* 7 (1), S. 13–18. DOI: 10.1089/109662004322984644.
- Kedzierska**, Magdalena; Olas, Beata; Wachowicz, Barbara; Glowacki, Rafal; Bald, Edward; Czernek, Urszula; Szydłowska-Pazera, Katarzyna; Potemski, Piotr; Piekarski, Janusz; Jeziorski, Arkadiusz (2012): Effects of the commercial extract of aronia on oxidative stress in blood platelets isolated from breast cancer patients after the surgery and various phases of the chemotherapy. In: *Fitoterapia* 83 (2), S. 310–317. DOI: 10.1016/j.fitote.2011.11.007.
- Kellett**, George L.; Brot-Laroche, Edith; Mace, Oliver J.; Leturque, Armelle (2008): Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. In: *Annual review of nutrition* 28, S. 35–54. DOI: 10.1146/annurev.nutr.28.061807.155518.
- Kelley**, Darshan S.; Adkins, Yuriko; Laugero, Kevin D. (2018): A Review of the Health Benefits of Cherries. In: *Nutrients* 10 (368). DOI: 10.3390/nu10030368.
- Kerimi**, Asimina; Nyambe-Silavwe, Hilda; Gauer, Julia S.; Tomás-Barberán, Francisco A.; Williamson, Gary (2017): Pomegranate juice, but not an extract, confers a lower glycemic response on a high-glycemic index food: randomized, crossover, controlled trials in healthy subjects. In: *The American journal of clinical nutrition* 106 (6), S. 1384–1393. DOI: 10.3945/ajcn.117.161968.
- Khanal**, Ramesh C.; Rogers, Theodore J.; Wilkes, Samuel E.; Howard, Luke R.; Prior, Ronald L. (2010): Effects of dietary consumption of cranberry powder on metabolic parameters in growing rats fed high fructose diets. In: *Food & function* 1 (1), S. 116–123. DOI: 10.1039/c0fo00089b.
- Khoo**, Hock Eng; Azlan, Azrina; Tang, Sou Teng; Lim, See Meng (2017): Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. In: *Food & Nutrition Research* 61 (1), S. 1361779. DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779.
- Kim**, J. S.; Kwon, C. S.; Son, K. H. (2000): Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. In: *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 64 (11), S. 2458–2461. DOI: 10.1271/bbb.64.2458.
- Kim**, Jong Hun; Auger, Cyril; Kurita, Ikuko; Anselm, Eric; Rivoarilala, Lalainasoa Odile; Lee, Hyong Joo; Lee, Ki Won; Schini-Kerth, Valérie B. (2013): Aronia melanocarpa juice, a rich source of polyphenols, induces endothelium-dependent relaxations in porcine coronary arteries via the redox-sensitive activation of endothelial nitric oxide synthase. In: *Nitric oxide : biology and chemistry* 35, S. 54–64. DOI: 10.1016/j.niox.2013.08.002.

- Kim**, Nam Deuk; Mehta, Rajendra; Yu, Weiping; Neeman, Ishak; Livney, Talia; Amichay, Akiva; Poirier, Donald; Nicholls, Paul; Kirby, Andrew; Jiang, Wenguo; Mansel, Robert; Ramachandran, Cheppail; Rabi, Thangaiyan; Kaplan, Boris; Lansky, Ephraim (2002): Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. In: *Breast cancer research and treatment* 71 (3), S. 203–217. DOI: 10.1023/a:1014405730585.
- Kinoshita**, Emiko; Hayashi, Kyoko; Katayama, Hiroshi; Hayashi, Toshimitsu; Obata, Akio (2012): Anti-influenza virus effects of elderberry juice and its fractions. In: *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 76 (9), S. 1633–1638. DOI: 10.1271/bbb.120112.
- Kirakosyan**, Ara; Gutierrez, Enrique; Ramos Solano, Beatriz; Seymour, E. Mitchell; Bolling, Steven F. (2018): The inhibitory potential of Montmorency tart cherry on key enzymes relevant to type 2 diabetes and cardiovascular disease. In: *Food chemistry* 252, S. 142–146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.084.
- Kirsch**, Jack F. (2008): Enzyme kinetics and mechanism, by Paul F. Cook and W.W. Cleland. In: *Protein Sci.* 17 (2), S. 380–381. DOI: 10.1110/ps.073353008.
- Koeslag**, Johan H.; Saunders, Peter T.; Terblanche, Elmarie (2003): A reappraisal of the blood glucose homeostat which comprehensively explains the type 2 diabetes mellitus-syndrome X complex. In: *The Journal of physiology* 549 (Pt 2), S. 333–346. DOI: 10.1113/jphysiol.2002.037895.
- Kozuka**, Miyuki; Yamane, Takuya; Nakano, Yoshihisa; Nakagaki, Takenori; Ohkubo, Iwao; Ariga, Hiroyoshi (2015): Identification and characterization of a dipeptidyl peptidase IV inhibitor from aronia juice. In: *Biochemical and biophysical research communications* 465 (3), S. 433–436. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.031.
- Krawitz**, Christian; Mraheil, Mobarak Abu; Stein, Michael; Imirzalioglu, Can; Domann, Eugen; Pleschka, Stephan; Hain, Torsten (2011): Inhibitory activity of a standardized elderberry liquid extract against clinically-relevant human respiratory bacterial pathogens and influenza A and B viruses. In: *BMC complementary and alternative medicine* 11, S. 16. DOI: 10.1186/1472-6882-11-16.
- Kropat**, Christopher; Mueller, Dolores; Boettler, Ute; Zimmermann, Kristin; Heiss, Elke H.; Dirsch, Verena M.; Rogoll, Dorothee; Melcher, Ralph; Richling, Elke; Marko, Doris (2013): Modulation of Nrf2-dependent gene transcription by bilberry anthocyanins in vivo. In: *Molecular nutrition & food research* 57 (3), S. 545–550. DOI: 10.1002/mnfr.201200504.
- Kuntz**, Sabine; Kunz, Clemens; Herrmann, Johannes; Borsch, Christian H.; Abel, Georg; Fröhling, Bettina; Dietrich, Helmut; Rudloff, Silvia (2014): Anthocyanins from fruit juices improve the antioxidant status of healthy young female volunteers without affecting anti-inflammatory parameters: results from the randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over ANTHONIA (ANTHOcyanins in Nutrition Investigation Alliance) study. In: *The British journal of nutrition* 112 (6), S. 925–936. DOI: 10.1017/S0007114514001482.
- Kuntz**, Sabine; Rudloff, Silvia; Asseburg, Heike; Borsch, Christian; Fröhling, Bettina; Unger, Franziska; Dold, Sebastian; Spengler, Bernhard; Römpp, Andreas; Kunz, Clemens (2015): Uptake and bioavailability of anthocyanins and phenolic acids from grape/blueberry juice and smoothie in vitro and in vivo. In: *The British journal of nutrition* 113 (7), S. 1044–1055. DOI: 10.1017/S0007114515000161.
- Laaksonen**, Oskar A.; Salminen, Juha-Pekka; Mäkilä, Leenamajja; Kallio, Heikki P.; Yang, Baoru (2015): Proanthocyanidins and Their Contribution to Sensory Attributes of Black Currant Juices. In: *Journal of agricultural and food chemistry*, S. 5373–5380. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01287.

- Labun, P.**; Fejér, J.; Šalamon, I.; Ragác, P. (2011): Study of content and composition of anthocyanins in selected plants species. In: *Planta medica* 77 (12). DOI: 10.1055/s-0031-1282717.
- Lala, Geeta**; Malik, Minnie; Zhao, Cuiwei; He, Jian; Kwon, Youngjoo; Giusti, M. Monica; Magnuson, Bernadene A. (2006): Anthocyanin-rich extracts inhibit multiple biomarkers of colon cancer in rats. In: *Nutrition and cancer* 54 (1), S. 84–93. DOI: 10.1207/s15327914nc5401\_10.
- Lambeir, Anne-Marie**; Durinx, Christine; Scharpé, Simon; Meester, Ingrid de (2003): Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: an update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV. In: *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 40 (3), S. 209–294. DOI: 10.1080/713609354.
- Landrault, Nicolas**; Poucheret, Patrick; Azay, Jacqueline; Krosniak, Mirosław; Gasc, Francis; Jenin, Cédric; Cros, Gérard; Teissedre, Pierre-Louis (2003): Effect of a polyphenols-enriched chardonnay white wine in diabetic rats. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 51 (1), S. 311–318. DOI: 10.1021/jf020219s.
- Lätti, Anja K.**; Riihinen, Kaisu R.; Kainulainen, Pirjo S. (2008): Analysis of anthocyanin variation in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 56 (1), S. 190–196. DOI: 10.1021/jf072857m.
- Lawall, Holger**; Lobmann, Ralf (2019): Diabetisches Fuß-Syndrom: Aktuelle Entwicklungen, Therapieziele und Zweitmeinungen. In: *Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2019*.
- Lee, H-S**; Briese, T.; Winkler, C.; Rewers, M.; Bonifacio, E.; Hyoty, H.; Pflueger, M.; Simell, O.; She, J. X.; Hagopian, W.; Lernmark, A.; Akolkar, B.; Krischer, J. P.; Ziegler, A. G. (2013): Next-generation sequencing for viruses in children with rapid-onset type 1 diabetes. In: *Diabetologia* 56 (8), S. 1705–1711. DOI: 10.1007/s00125-013-2924-y.
- Lee, I. T.**; Chan, Y. C.; Lin, C. W.; Lee, W. J.; Sheu, W. H-H (2008): Effect of cranberry extracts on lipid profiles in subjects with Type 2 diabetes. In: *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 25 (12), S. 1473–1477. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2008.02588.x.
- Lee, Jungmin**; Finn, Chad E. (2007): Anthocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars. In: *Journal of the science of food and agriculture* 87 (14), S. 2665–2675. DOI: 10.1002/jsfa.3029.
- Lee, Mi-Hyang**; Kwon, Hyun Ae; Kwon, Dong-Yeul; Park, Hyun; Sohn, Dong-Hwan; Kim, Youn-Chul; Eo, Seong-Kug; Kang, Ho-Young; Kim, Sam-Woong; Lee, John Hwa (2006): Antibacterial activity of medicinal herb extracts against Salmonella. In: *International journal of food microbiology* 111 (3), S. 270–275. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.004.
- Lee, Sang Gil**; Vance, Terrence M.; Nam, Tae-Gyu; Kim, Dae-Ok; Koo, Sung I.; Chun, Ock K. (2015): Contribution of Anthocyanin Composition to Total Antioxidant Capacity of Berries. In: *Plant foods for human nutrition* 70 (4), S. 427–432. DOI: 10.1007/s11130-015-0514-5.
- Leone, Antonella**; Longo, Cristiano; Gerardi, Carmela; Trosko, James E. (2019): Pro-Apoptotic Effect of Grape Seed Extract on MCF-7 Involves Transient Increase of Gap Junction Intercellular Communication and Cx43 Up-Regulation: A Mechanism of Chemoprevention. In: *International journal of molecular sciences* 20 (13). DOI: 10.3390/ijms20133244.
- Levers, Kyle**; Dalton, Ryan; Galvan, Elfego; O'Connor, Abigail; Goodenough, Chelsea; Simbo, Sunday; Mertens-Talcott, Susanne U.; Rasmussen, Christopher; Greenwood, Mike; Riechman, Steven; Crouse, Stephen; Kreider, Richard B. (2016): Effects of powdered Montmorency tart cherry supplementation on acute endurance exercise performance in aerobically trained

- individuals. In: *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, S. 22. DOI: 10.1186/s12970-016-0133-z.
- Li, Wei; Huang, Edgar; Gao, Sujuan** (2017): Type 1 Diabetes Mellitus and Cognitive Impairments: A Systematic Review. In: *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 57 (1), S. 29–36. DOI: 10.3233/JAD-161250.
- Li, Yan Qin; Zhou, Feng Chao; Gao, Fei; Bian, Jun Sheng; Shan, Fang** (2009): Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of alpha-glucosidase. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 57 (24), S. 11463–11468. DOI: 10.1021/jf903083h.
- Liao, Wen-Ling; Lee, Wen-Jane; Chen, Ching-Chu; Lu, Chieh Hsiang; Chen, Chien-Hsiun; Chou, Yi-Chun; Lee, I-Te; Sheu, Wayne H-H; Wu, Jer-Yuarn; Yang, Chi-Fan; Wang, Chung-Hsing; Tsai, Fuu-Jen** (2017): Pharmacogenetics of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in a Taiwanese population with type 2 diabetes. In: *Oncotarget* 8 (11), S. 18050–18058. DOI: 10.18632/oncotarget.14951.
- Liepina, Inga; Nikolajevy, Vizma; Jakobson, Ida** (2013): Antimicrobial activity of extracts from fruits of *Aronia melanocarpa* and *Sorbus aucuparia*. In: *Environmental and Experimental Biology* 11, S. 195–199.
- Lihan, M.-Y.; Li, G.-L.; Li, L.-F.; Su, X.-D.** (2014): Crystal structure of putative glycogen phosphorylase from *Streptococcus mutans*.
- Lila, Mary Ann; Burton-Freeman, Britt; Grace, Mary; Kalt, Wilhelmina** (2016): Unraveling Anthocyanin Bioavailability for Human Health. In: *Annual review of food science and technology*. DOI: 10.1146/annurev-food-041715-033346.
- Lin, Ling; Meng, Xin; Liu, Pengfu; Hong, Yuzhi; Wu, Gaobing; Huang, Xiaolu; Li, Congcong; Dong, Junli; Xiao, Liang; Liu, Ziduo** (2009): Improved catalytic efficiency of endo-beta-1,4-glucanase from *Bacillus subtilis* BME-15 by directed evolution. In: *Applied microbiology and biotechnology* 82 (4), S. 671–679. DOI: 10.1007/s00253-008-1789-3.
- Liu, Shuxun; Marsol-Vall, Alexis; Laaksonen, Oskar; Kortensniemi, Maaria; Yang, Baoru** (2020): Characterization and Quantification of Nonanthocyanin Phenolic Compounds in White and Blue Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) Juices and Wines Using UHPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and UHPLC-DAD. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 68 (29), S. 7734–7744. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c02842.
- Livanova, N. B.; Chebotareva, N. A.; Eronina, T. B.; Kurganov, B. I.** (2002): Pyridoxal 5'-phosphate as a catalytic and conformational cofactor of muscle glycogen phosphorylase B. In: *Biochemistry. Biokhimiia* 67 (10), S. 1089–1098. DOI: 10.1023/a:1020978825802.
- Lo Piparo, Elena; Scheib, Holger; Frei, Nathalie; Williamson, Gary; Grigorov, Martin; Chou, Chieh Jason** (2008): Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. In: *Journal of medicinal chemistry* 51 (12), S. 3555–3561. DOI: 10.1021/jm800115x.
- Löffler, Georg; Petrides, Petro; Heinrich, Peter** (2006): *Biochemie und Pathobiochemie*. 8. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Loughlin, Wendy A.; Pierens, Gregory K.; Petersson, Maria J.; Henderson, Luke C.; Healy, Peter C.** (2008): Evaluation of novel hyphodermin derivatives as glycogen phosphorylase a inhibitors. In: *Bioorganic & medicinal chemistry* 16 (11), S. 6172–6178. DOI: 10.1016/j.bmc.2008.04.047.
- Ludwig, Iziar A.; Mena, Pedro; Calani, Luca; Borges, Gina; Pereira-Caro, Gema; Bresciani, Letizia; Del Rio, Daniele; Lean, Michael E.J.; Crozier, Alan** (2015): New insights into the

- bioavailability of red raspberry anthocyanins and ellagitannins. In: *Free Radical Biology and Medicine* 89, S. 758–769. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.400.
- Lutty**, Gerard A. (2013): Effects of diabetes on the eye. In: *Investigative ophthalmology & visual science* 54 (14), S. 7. DOI: 10.1167/iovs.13-12979.
- MacDonald**, Patrick E.; El-Kholy, Wasim; Riedel, Michael J.; Salapatek, Anne Marie F.; Light, Peter E.; Wheeler, Michael B. (2002): The multiple actions of GLP-1 on the process of glucose-stimulated insulin secretion. In: *Diabetes* 51 Suppl 3, S434-42. DOI: 10.2337/diabetes.51.2007.s434.
- Maid-Kohnert**, Udo (2001): Lexikon der Ernährung. Blutzuckerregulation. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Malik**, Minnie; Zhao, Cuiwei; Schoene, Norberta; Guisti, M. Monica; Moyer, Mary P.; Magnuson, Bernadene A. (2003): Anthocyanin-rich extract from *Aronia melanocarpa* E induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. In: *Nutrition and cancer* 46 (2), S. 186–196. DOI: 10.1207/S15327914NC4602\_12.
- Malinowska**, Joanna; Babicz, Karolina; Olas, Beata; Stochmal, Anna; Oleszek, Wieslaw (2012): *Aronia melanocarpa* extract suppresses the biotoxicity of homocysteine and its metabolite on the hemostatic activity of fibrinogen and plasma. In: *Nutrition* 28 (7-8), S. 793–798. DOI: 10.1016/j.nut.2011.10.012.
- Mane**, Carine; Loonis, Michele; Juhel, Christine; Dufour, Claire; Malien-Aubert, Celine (2011): Food grade lingonberry extract: polyphenolic composition and in vivo protective effect against oxidative stress. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 59 (7), S. 3330–3339. DOI: 10.1021/jf103965b.
- Martin**, K. R.; Bopp, J.; Burrell, L.; Hook, G. (2011): The effect of 100% tart cherry juice on serum uric acid levels, biomarkers of inflammation and cardiovascular disease risk factors. In: *The FASEB Journal* 25.
- Martineau**, Louis C.; Couture, Audrey; Spoor, Danielle; Benhaddou-Andaloussi, Ali; Harris, Cory; Meddah, Bouchra; Leduc, Charles; Burt, Andrew; Vuong, Tri; Mai Le, Phuong; Prentki, Marc; Bennett, Steffany A.; Arnason, John T.; Haddad, Pierre S. (2006): Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. In: *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 13 (9-10), S. 612–623. DOI: 10.1016/j.phymed.2006.08.005.
- Martinez-Gonzalez**, A. I.; Díaz-Sánchez, Á. G.; La Rosa, L. A. de; Bustos-Jaimes, I.; Alvarez-Parrilla, E. (2019): Inhibition of  $\alpha$ -amylase by flavonoids: Structure activity relationship (SAR). In: *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy* 206, S. 437–447. DOI: 10.1016/j.saa.2018.08.057.
- Matsui**, T.; Ueda, T.; Oki, T.; Sugita, K.; Terahara, N.; Matsumoto, K. (2001):  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 49 (4), S. 1948–1951.
- Matsunaga**, Nozomu; Tsuruma, Kazuhiro; Shimazawa, Masamitsu; Yokota, Shigeru; Hara, Hideaki (2010): Inhibitory actions of bilberry anthocyanidins on angiogenesis. In: *Phytotherapy research : PTR* 24 Suppl 1, S42-7. DOI: 10.1002/ptr.2895.
- Mazewski**, Candice; Liang, Katie; Gonzalez de Mejia, Elvira (2018): Comparison of the effect of chemical composition of anthocyanin-rich plant extracts on colon cancer cell proliferation and their potential mechanism of action using in vitro, in silico, and biochemical assays. In: *Food chemistry* 242, S. 378–388. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.09.086.

- McMullan**, Ciaran J.; Schernhammer, Eva S.; Rimm, Eric B.; Hu, Frank B.; Forman, John P. (2013): Melatonin secretion and the incidence of type 2 diabetes. In: *Journal of the american medical association* 309 (13), S. 1388–1396. DOI: 10.1001/jama.2013.2710.
- Merker**, Ludwig (2019): Diabetes und Nierenerkrankungen. In: *Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2019*.
- Mikulic-Petkovsek**, Maja; Schmitzer, Valentina; Slatnar, Ana; Stampar, Franci; Veberic, Robert (2012): Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. In: *Journal of food science* 77 (10), C1064-70. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02896.x.
- Moein**, Soheila; Pimoradloo, Elham; Moein, Mahmoodreza; Vessal, Mahmood (2017): Evaluation of Antioxidant Potentials and  $\alpha$ -Amylase Inhibition of Different Fractions of Labiatae Plants Extracts: As a Model of Antidiabetic Compounds Properties. In: *BioMed research international* 2017, S. 7319504. DOI: 10.1155/2017/7319504.
- Moroşanu**, A. I.; Ciocoiu, M.; Bădescu, L.; Bădescu, M. (2011): Antioxidant effect of aronia versus sambucus on murine model with or without arterial hypertension. In: *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 16, S. 222–227.
- Mueller**, Dolores; Jung, Kathrin; Winter, Manuel; Rogoll, Dorothee; Melcher, Ralph; Kulozik, Ulrich; Schwarz, Karin; Richling, Elke (2018): Encapsulation of anthocyanins from bilberries - Effects on bioavailability and intestinal accessibility in humans. In: *Food chemistry* 248, S. 217–224. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.12.058.
- Mueller**, Dolores; Jung, Kathrin; Winter, Manuel; Rogoll, Dorothee; Melcher, Ralph; Richling, Elke (2017): Human intervention study to investigate the intestinal accessibility and bioavailability of anthocyanins from bilberries. In: *Food chemistry* 231, S. 275–286. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.03.130.
- Müller**, Dolores; Schantz, Markus; Richling, Elke (2012): High performance liquid chromatography analysis of anthocyanins in bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.), blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.), and corresponding juices. In: *Journal of food science* 77 (4), S. 5. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02605.x.
- Müller**, Lena; Weever, Fabian; Hübner, Florian; Humpf, Hans-Ulrich; Esselen, Melanie (2021): Characterization of Oligomeric Proanthocyanidin-Enriched Fractions from *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott via High-Resolution Mass Spectrometry and Investigations on Their Inhibitory Potential on Human Topoisomerases. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 69 (37), S. 11053–11064. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c04761.
- Nakamura**, Yuko; Matsumoto, Hitoshi; Todoki, Kazuo (2002): Endothelium-dependent vasorelaxation induced by black currant concentrate in rat thoracic aorta. In: *Japanese journal of pharmacology* 89 (1), S. 29–35.
- Nanashima**, Naoki; Horie, Kayo; Maeda, Hayato; Tomisawa, Toshiko; Kitajima, Maiko; Nakamura, Toshiya (2018): Blackcurrant Anthocyanins Increase the Levels of Collagen, Elastin, and Hyaluronic Acid in Human Skin Fibroblasts and Ovariectomized Rats. In: *Nutrients*. DOI: 10.3390/nu10040495.
- Neveu**, V.; Perez-Jiménez, J.; Vos, F.; Crespy, V.; Du Chaffaut, L.; Mennen, L.; Knox, C.; Eisner, R.; Cruz, J.; Wishart, D.; Scalbert, A. (2010): Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. In: *Database : the journal of biological databases and curation* 2010 (0), bap024. DOI: 10.1093/database/bap024.

- Nguyen, Vy; Tang, Jessica; Oroudjev, Emin; Lee, Choong Jae; Marasigan, Cecilia; Wilson, Leslie; Ayoub, George** (2010): Cytotoxic effects of bilberry extract on MCF7-GFP-tubulin breast cancer cells. In: *Journal of medicinal food* 13 (2), S. 278–285. DOI: 10.1089/jmf.2009.0053.
- Nielsen, Inge Lise F.; Dragsted, Lars O.; Ravn-Haren, Gitte; Freese, Riitta; Rasmussen, Salka E.** (2003): Absorption and excretion of black currant anthocyanins in humans and watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 51 (9), S. 2813–2820. DOI: 10.1021/jf025947u.
- Nizamutdinova, Irina Tsoy; Jin, Yong Chun; Chung, Jong Il; Shin, Sung Chul; Lee, Sung Joong; Seo, Han Geuk; Lee, Jae Heun; Chang, Ki Churl; Kim, Hye Jung** (2009): The anti-diabetic effect of anthocyanins in streptozotocin-induced diabetic rats through glucose transporter 4 regulation and prevention of insulin resistance and pancreatic apoptosis. In: *Molecular nutrition & food research* 53 (11), S. 1419–1429. DOI: 10.1002/mnfr.200800526.
- Nour, Violeta; Stampar, Franci; Veberic, Robert; Jakopic, Jerneja** (2013): Anthocyanins profile, total phenolics and antioxidant activity of black currant ethanolic extracts as influenced by genotype and ethanol concentration. In: *Food chemistry*, S. 961–966. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.03.105.
- Oefner, C.; D'Arcy, A.; Mac Sweeney, A.; Pierau, S.; Gardiner, R.; Dale, G. E.** (2003): crystal structure of human apo dipeptidyl peptidase IV / CD26.
- Ogata, S.; Misumi, Y.; Ikehara, Y.** (1989): Primary structure of rat liver dipeptidyl peptidase IV deduced from its cDNA and identification of the NH<sub>2</sub>-terminal signal sequence as the membrane-anchoring domain. In: *The Journal of biological chemistry* 264 (6), S. 3596–3601.
- Oikonomakos, N. G.; Tsitsanou, K. E.; Zographos, S. E.; Skamnaki, V. T.; Goldmann, S.; Bischoff, H.** (1999): Allosteric inhibition of glycogen phosphorylase a by the potential antidiabetic drug 3-isopropyl 4-(2-chlorophenyl)-1,4-dihydro-1-ethyl-2-methyl-pyridine-3,5,6-tricarboxylate. In: *Protein science : a publication of the Protein Society* 8 (10), S. 1930–1945. DOI: 10.1110/ps.8.10.1930.
- Oikonomakos, Nikos G.; Skamnaki, Vicky T.; Tsitsanou, Katerina E.; Gavalas, Nikos; Johnson, Louise N.** (2000): A new allosteric site in glycogen phosphorylase b as a target for drug interactions. In: *Structure* 8 (6), S. 575–584. DOI: 10.1016/S0969-2126(00)00144-1.
- Olsson, Marie E.; Gustavsson, Karl-Erik; Andersson, Staffan; Nilsson, Ake; Duan, Rui-Dong** (2004): Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 52 (24), S. 7264–7271. DOI: 10.1021/jf030479p.
- Ostberg-Potthoff, Johanna Josefine; Berger, Kirsten; Richling, Elke; Winterhalter, Peter** (2019): Activity-Guided Fractionation of Red Fruit Extracts for the Identification of Compounds Influencing Glucose Metabolism. In: *Nutrients* 11 (5). DOI: 10.3390/nu11051166.
- Oszmiański, Jan; Lachowicz, Sabina** (2016): Effect of the Production of Dried Fruits and Juice from Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) on the Content and Antioxidative Activity of Bioactive Compounds. In: *Molecules* 21 (8). DOI: 10.3390/molecules21081098.
- Padhi, Santwana; Nayak, Amit Kumar; Behera, Anindita** (2020): Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. In: *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 131, S. 110708. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110708.
- Pandey, Kanti Bhooshan; Rizvi, Syed Ibrahim** (2014): Role of red grape polyphenols as antidiabetic agents. In: *Integrative medicine research* 3 (3), S. 119–125. DOI: 10.1016/j.imr.2014.06.001.



- Panzella**, Lucia; Napolitano, Alessandra (2017): Natural Phenol Polymers: Recent Advances in Food and Health Applications. In: *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 6 (2). DOI: 10.3390/antiox6020030.
- Park**, Sehee; Kim, Jin Il; Lee, Ilseob; Lee, Sangmoo; Hwang, Min-Woong; Bae, Joon-Yong; Heo, Jun; Kim, Donghwan; Han, Sang-Zin; Park, Man-Seong (2013): Aronia melanocarpa and its components demonstrate antiviral activity against influenza viruses. In: *Biochemical and biophysical research communications* 440 (1), S. 14–19. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.08.090.
- Parkar**, Shanthi G.; Redgate, Emma L.; McGhie, Tony K.; Hurst, Roger D. (2014): In vitro studies of modulation of pathogenic and probiotic bacterial proliferation and adhesion to intestinal cells by blackcurrant juices. In: *Journal of Functional Foods* 8, S. 35–44. DOI: 10.1016/j.jff.2014.02.021.
- Petrella**, Carla; Carito, Valentina; Carere, Claudio; Ferraguti, Giampiero; Ciafrè, Stefania; Natella, Fausta; Bello, Cristiano; Greco, Antonio; Ralli, Massimo; Mancinelli, Rosanna; Messina, Marisa Patrizia; Fiore, Marco; Ceccanti, Mauro (2020): Oxidative stress inhibition by resveratrol in alcohol-dependent mice. In: *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 79-80, S. 110783. DOI: 10.1016/j.nut.2020.110783.
- Podsędek**, Anna; Majewska, Iwona; Redzyna, Małgorzata; Sosnowska, Dorota; Koziółkiewicz, Maria (2014): In vitro inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 62 (20), S. 4610–4617. DOI: 10.1021/jf5008264.
- Power**, Orla; Nongonierma, A. B.; Jakeman, P.; FitzGerald, R. J. (2014): Food protein hydrolysates as a source of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides for the management of type 2 diabetes. In: *The Proceedings of the Nutrition Society* 73 (1), S. 34–46. DOI: 10.1017/S0029665113003601.
- Ramasubbu**, N. (1996): Human Salivary Amylase. In: *Protein Data Bank*. DOI: 10.2210/pdb1smd/pdb.
- Rasouli**, Hassan; Hosseini-Ghazvini, Seyed Mohammad-Bagher; Adibi, Hadi; Khodarahmi, Reza (2017): Differential  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. In: *Food & function* 8 (5), S. 1942–1954. DOI: 10.1039/c7fo00220c.
- Rehner**, Gertrud; Daniel, Hannelore (2010): *Biochemie der Ernährung*. 3. Auflage. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag. Online verfügbar unter <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10404466>.
- Röhrig**, T.; Scherer, K.; Headley, L.; Eilers, L.; Müller-Albers, J.; Engel, A.; Weckbecker, C.; Richling, E. (2020): Black currant anthocyanins and their metabolites inhibit 5-lipoxygenase and low density lipoprotein oxidation. In: *Current Topics in Phytochemistry* (15), S. 107–117.
- Rop**, Otakar; Mlcek, Jiri; Jurikova, Tunde; Valsikova, Magdalena; Sochor, Jiri; Reznicek, Vojtech; Kramarova, Daniela (2010): Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) cultivars. In: *Journal of Medical Plants Research* 4 (22), S. 2431–2437.
- Rosales**, Thiécla Katiane Osvaldt; Hassimotto, Neuza Mariko Aymoto; Lajolo, Franco Maria; Fabi, João Paulo (2022): Nanotechnology as a Tool to Mitigate the Effects of Intestinal Microbiota on Metabolization of Anthocyanins. In: *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 11 (3). DOI: 10.3390/antiox11030506.

- Rouzbehan**, Sahere; Moein, Soheila; Homaei, Ahmad; Moein, Mahmood Reza (2017): Kinetics of  $\alpha$ -glucosidase inhibition by different fractions of three species of Labiatae extracts: a new diabetes treatment model. In: *Pharmaceutical biology* 55 (1), S. 1483–1488. DOI: 10.1080/13880209.2017.1306569.
- Róžańska**, Dorota; Regulska-Illow, Bożena (2018): The significance of anthocyanins in the prevention and treatment of type 2 diabetes. In: *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University* 27 (1), S. 135–142. DOI: 10.17219/acem/64983.
- Ruel**, Guillaume; Pomerleau, Sonia; Couture, Patrick; Lamarche, Benoît; Couillard, Charles (2005): Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low-density lipoprotein levels in men after short-term cranberry juice consumption. In: *Metabolism: clinical and experimental* 54 (7), S. 856–861. DOI: 10.1016/j.metabol.2005.01.031.
- Ryyti**, Riitta; Hämäläinen, Mari; Peltola, Rainer; Moilanen, Eeva (2020): Beneficial effects of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) supplementation on metabolic and inflammatory adverse effects induced by high-fat diet in a mouse model of obesity. In: *Public library of science ONE* 15 (5), e0232605. DOI: 10.1371/journal.pone.0232605.
- Sahebkar**, Amirhossein; Ferri, Claudio; Giorgini, Paolo; Bo, Simona; Nachtigal, Petr; Grassi, Davide (2017): Effects of pomegranate juice on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. In: *Pharmacological research* 115, S. 149–161. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.11.018.
- Said**, Gérard (2013): Diabetic neuropathy. In: *Handbook of clinical neurology* 115, S. 579–589. DOI: 10.1016/B978-0-444-52902-2.00033-3.
- Sales**, Paloma Michelle; Souza, Paula Monteiro; Simeoni, Luiz Alberto; Silveira, Damaris (2012):  $\alpha$ -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. In: *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques* 15 (1), S. 141–183. DOI: 10.18433/j35s3k.
- Sanders**, L. M. (2016): Carbohydrate: Digestion, Absorption and Metabolism. In: *Encyclopedia of Food and Health*: Elsevier, S. 643–650.
- Sands**, Arthur T.; Zambrowicz, Brian P.; Rosenstock, Julio; Lapuerta, Pablo; Bode, Bruce W.; Garg, Satish K.; Buse, John B.; Banks, Phillip; Heptulla, Rubina; Rendell, Marc; Cefalu, William T.; Strumph, Paul (2015): Sotagliflozin, a Dual SGLT1 and SGLT2 Inhibitor, as Adjunct Therapy to Insulin in Type 1 Diabetes. In: *Diabetes care* 38 (7), S. 1181–1188. DOI: 10.2337/dc14-2806.
- Sargsyan**, Ashot; Herman, Mark A. (2019): Regulation of Glucose Production in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. In: *Current diabetes reports* 19 (9), S. 77. DOI: 10.1007/s11892-019-1195-5.
- Sarić**, Ana; Sobocanec, Sandra; Balog, Tihomir; Kusić, Borka; Sverko, Visnja; Dragović-Uzelac, Verica; Levaj, Branka; Cosić, Zrinka; Macak Safranko, Zeljka; Marotti, Tatjana (2009): Improved antioxidant and anti-inflammatory potential in mice consuming sour cherry juice (*Prunus Cerasus* cv. Maraska). In: *Plant foods for human nutrition (Dordrecht, Netherlands)* 64 (4), S. 231–237. DOI: 10.1007/s11130-009-0135-y.
- Scazzocchio**, Beatrice; Vari, Rosaria; Filesi, Carmelina; D'Archivio, Massimo; Santangelo, Carmela; Giovannini, Claudio; Iacovelli, Annunziata; Silecchia, Gianfranco; Li Volti, Giovanni; Galvano, Fabio; Masella, Roberta (2011): Cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside and protocatechuic acid exert insulin-like effects by upregulating PPAR $\gamma$  activity in human omental adipocytes. In: *Diabetes* 60 (9), S. 2234–2244. DOI: 10.2337/db10-1461.

- Scirica**, Benjamin M.; Bhatt, Deepak L.; Braunwald, Eugene; Steg, P. Gabriel; Davidson, Jaime; Hirshberg, Boaz; Ohman, Peter; Frederich, Robert; Wiviott, Stephen D.; Hoffman, Elaine B.; Cavender, Matthew A.; Udell, Jacob A.; Desai, Nihar R.; Mosenzon, Ofri; McGuire, Darren K.; Ray, Kausik K.; Leiter, Lawrence A.; Raz, Itamar (2013): Saxagliptin and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. In: *The New England journal of medicine* 369 (14), S. 1317–1326. DOI: 10.1056/NEJMoa1307684.
- Sebaugh**, J. L. (2011): Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation. In: *Pharmaceutical statistics* 10 (2), S. 128–134. DOI: 10.1002/pst.426.
- Seeram**, Navindra P.; Aviram, Michael; Zhang, Yanjun; Henning, Susanne M.; Feng, Lydia; Dreher, Mark; Heber, David (2008): Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 56 (4), S. 1415–1422. DOI: 10.1021/jf073035s.
- Sharifi-Rad**, Javad; Quispe, Cristina; Castillo, Carla Marina Salgado; Caroca, Rodrigo; Lazo-Vélez, Marco A.; Antonyak, Halyna; Polishchuk, Alexandr; Lysiuk, Roman; Oliinyk, Petro; Masi, Luigi de; Bontempo, Paola; Martorell, Miquel; Daştan, Sevgi Durna; Rigano, Daniela; Wink, Michael; Cho, William C. (2022): Ellagic Acid: A Review on Its Natural Sources, Chemical Stability, and Therapeutic Potential. In: *Oxidative medicine and cellular longevity* 2022, S. 3848084. DOI: 10.1155/2022/3848084.
- Shaw**, Odette M.; Nyanhanda, Tafadzwa; McGhie, Tony K.; Harper, Jacquie L.; Hurst, Roger D. (2017): Blackcurrant anthocyanins modulate CCL11 secretion and suppress allergic airway inflammation. In: *Molecular nutrition & food research*. DOI: 10.1002/mnfr.201600868.
- Shaygannia**, Erfaneh; Bahmani, Mahmoud; Zamanzad, Behnam; Rafieian-Kopaei, Mahmoud (2016): A Review Study on Punica granatum L. In: *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine* 21 (3), S. 221–227. DOI: 10.1177/2156587215598039.
- Shen**, Y.; Qin, X. H.; Ren, L. M. (2011): Crystal Structure of the C-terminal Subunit of Human Maltase-Glucoamylase.
- Shidfar**, Farzad; Heydari, Iraj; Hajimiresmaiel, Seyed Javed; Hosseini, Sharieh; Shidfar, Shahrzad; Amiri, Fariba (2012): The effects of cranberry juice on serum glucose, apoB, apoA-I, Lp(a), and Paraoxonase-1 activity in type 2 diabetic male patients. In: *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 17 (4), S. 355–360.
- Shih**, Ping-Hsiao; Yeh, Chi-Tai; Yen, Gow-Chin (2005): Effects of anthocyanidin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human gastric adenocarcinoma cells. In: *Food and Chemical Toxicology* 43 (10), S. 1557–1566. DOI: 10.1016/j.fct.2005.05.001.
- Shukla**, Meenakshi; Gupta, Kalpana; Rasheed, Zafar; Khan, Khursheed A.; Haqqi, Tariq M. (2008): Consumption of hydrolyzable tannins-rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. In: *Nutrition* 24 (7-8), S. 733–743. DOI: 10.1016/j.nut.2008.03.013.
- Sidor**, Andrzej; Gramza-Michałowska, Anna (2015): Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (*Sambucus nigra*) in food – a review. In: *Journal of Functional Foods* 18, S. 941–958. DOI: 10.1016/j.jff.2014.07.012.
- Silva**, A. Kithma H.B. de; Rupasinghe, H. VasanthaP. (2020): Polyphenols composition and anti-diabetic properties in vitro of haskap (*Lonicera caerulea* L.) berries in relation to cultivar and harvesting date. In: *Journal of Food Composition and Analysis* 88, S. 103402. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.103402.

- Simeonov**, Simeon B.; Botushanov, Nikolai P.; Karahanian, Eksapet B.; Pavlova, Maria B.; Husianitis, Haralambos K.; Troev, Dimitar M. (2002): Effects of Aronia melanocarpa juice as part of the dietary regimen in patients with diabetes mellitus. In: *Folia medica* 44 (3), S. 20–23.
- Şöhretoğlu**, Didem; Sari, Suat (2019): Flavonoids as alpha-glucosidase inhibitors: mechanistic approaches merged with enzyme kinetics and molecular modelling. In: *Phytochemistry Reviews*. DOI: 10.1007/s11101-019-09610-6.
- Somerville**, Vaughan; Bringans, Cameron; Braakhuis, Andrea (2017): Erratum to: Polyphenols and Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis. In: *Sports medicine* 47 (8), S. 1601. DOI: 10.1007/s40279-017-0702-6.
- Song**, Hyung-Nam; Jung, Tae-Yang; Park, Jong-Tae; Park, Byung-Chul; Myung, Pyung Keun; Boos, Winfried; Woo, Eui-Jeon; Park, Kwan-Hwa (2010): Structural rationale for the short branched substrate specificity of the glycogen debranching enzyme GlgX. In: *Proteins* 78 (8), S. 1847–1855. DOI: 10.1002/prot.22697.
- Stoilova**, I.; Wilker, M.; Stoyanova, A.; Krastanov, A.; Stanchev, V. (2007): Antioxidant activity of extract from elder flower (*Sambucus nigra* L.). In: *Herba Polonica* 53, S. 45–54.
- Strauss**, Juliette A.; Willems, Mark E. T.; Shepherd, Sam O. (2018): New Zealand blackcurrant extract enhances fat oxidation during prolonged cycling in endurance-trained females. In: *European journal of applied physiology*, S. 1265–1272. DOI: 10.1007/s00421-018-3858-3.
- Stull**, April J.; Cash, Katherine C.; Johnson, William D.; Champagne, Catherine M.; Cefalu, William T. (2010): Bioactives in blueberries improve insulin sensitivity in obese, insulin-resistant men and women. In: *The Journal of nutrition* 140 (10), S. 1764–1768. DOI: 10.3945/jn.110.125336.
- Subramanian**, Rammohan; Asmawi, M. Zaini; Sadikun, Amirin (2008): In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. In: *Acta biochimica Polonica* 55 (2), S. 391–398.
- Sun**, Chong-De; Zhang, Bo; Zhang, Jiu-Kai; Xu, Chang-Jie; Wu, Yu-Lian; Li, Xian; Chen, Kun-Song (2012): Cyanidin-3-glucoside-rich extract from Chinese bayberry fruit protects pancreatic  $\beta$  cells and ameliorates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. In: *Journal of medicinal food* 15 (3), S. 288–298. DOI: 10.1089/jmf.2011.1806.
- Sun**, Lijun; Chen, Weiqi; Meng, Yonghong; Yang, Xingbin; Yuan, Li; Guo, Yurong; Warren, Frederick J.; Gidley, Michael J. (2016): Interactions between polyphenols in thinned young apples and porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase: Inhibition, detailed kinetics and fluorescence quenching. In: *Food chemistry* 208, S. 51–60. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.03.093.
- Svobodová**, Alena; Zdarilová, Adéla; Vostálová, Jitka (2009): *Lonicera caerulea* and *Vaccinium myrtillus* fruit polyphenols protect HaCaT keratinocytes against UVB-induced phototoxic stress and DNA damage. In: *Journal of dermatological science* 56 (3), S. 196–204. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2009.08.004.
- SwissHealthMed** (2016): Cortisol - Stress, Insulin & Diabetes. Online verfügbar unter <http://www.swisshealthmed.de/index.php/cortisol-stress-und-diabetes.html>, zuletzt geprüft am 04.01.2016.
- Tadera**, Kenjiro; Minami, Yuji; Takamatsu, Kouta; Matsuoka, Tomoko (2006): Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. In: *Journal of nutritional science and vitaminology* 52 (2), S. 149–153.
- Takayama**, Shuzo; Kawamoto, Ryuichi; Kusunoki, Tomo; Abe, Masanori; Onji, Morikazu (2012): Uric acid is an independent risk factor for carotid atherosclerosis in a Japanese elderly

- population without metabolic syndrome. In: *Cardiovascular diabetology* 11, S. 2. DOI: 10.1186/1475-2840-11-2.
- Takei, I.**; Miyamoto, K.; Funae, O.; Ohashi, N.; Meguro, S.; Tokui, M.; Saruta, T. (2001): Secretion of GIP in responders to acarbose in obese Type 2(NIDDM) patients. In: *Journal of diabetes and its complications* 15 (5), S. 245–249. DOI: 10.1016/s1056-8727(01)00148-9.
- The HAPO Study Cooperative Research Group** (2008): Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes 358 (19), S. 1991–2002.
- This, Patrice**; Lacombe, Thierry; Thomas, Mark R. (2006): Historical origins and genetic diversity of wine grapes. In: *Trends in genetics : TIG* 22 (9), S. 511–519. DOI: 10.1016/j.tig.2006.07.008.
- Tkacz, Karolina**; Wojdyło, Aneta; Nowicka, Paulina; Turkiewicz, Igor; Golis, Tomasz (2019): Characterization in vitro potency of biological active fractions of seeds, skins and flesh from selected *Vitis vinifera* L. cultivars and interspecific hybrids. In: *Journal of Functional Foods* 56, S. 353–363. DOI: 10.1016/j.jff.2019.03.029.
- Törrönen, Riitta**; Kolehmainen, Marjukka; Sarkkinen, Essi; Mykkänen, Hannu; Niskanen, Leo (2012): Postprandial glucose, insulin, and free fatty acid responses to sucrose consumed with blackcurrants and lingonberries in healthy women. In: *The American journal of clinical nutrition* 96 (3), S. 527–533. DOI: 10.3945/ajcn.112.042184.
- Törrönen, Riitta**; Sarkkinen, Essi; Tapola, Niina; Hautaniemi, Elina; Kilpi, Kyllikki; Niskanen, Leo (2010): Berries modify the postprandial plasma glucose response to sucrose in healthy subjects. In: *The British journal of nutrition* 103 (8), S. 1094–1097. DOI: 10.1017/S0007114509992868.
- Triebel, Sven**; Trieu, Hai-Linh; Richling, Elke (2012): Modulation of inflammatory gene expression by a bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract and single anthocyanins considering their limited stability under cell culture conditions. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 60 (36), S. 8902–8910. DOI: 10.1021/jf3028842.
- Trouillas, Patrick**; Sancho-García, Juan C.; Freitas, Victor de; Gierschner, Johannes; Otyepka, Michal; Dangles, Olivier (2016): Stabilizing and Modulating Color by Copigmentation: Insights from Theory and Experiment. In: *Chemical reviews* 116 (9), S. 4937–4982. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00507.
- Tschöpe, Diethelm**; Ringelstein, E. Bernd; Motz, Wolfgang (2019): Diabetes mellitus - Herzerkrankungen - Schlaganfall.
- Tsuda, Takanori**; Ueno, Yuki; Aoki, Hiromitsu; Koda, Takatoshi; Horio, Fumihiko; Takahashi, Nobuyuki; Kawada, Teruo; Osawa, Toshihiko (2004): Anthocyanin enhances adipocytokine secretion and adipocyte-specific gene expression in isolated rat adipocytes. In: *Biochemical and biophysical research communications* 316 (1), S. 149–157. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.02.031.
- Ueno, Hiroaki**; Tsuchimochi, Wakaba; Wang, Hong-Wei; Yamashita, Eiichiro; Tsubouchi, Chikako; Nagamine, Kazuhiro; Sakoda, Hideyuki; Nakazato, Masamitsu (2015): Effects of Miglitol, Acarbose, and Sitagliptin on Plasma Insulin and Gut Peptides in Type 2 Diabetes Mellitus: A Crossover Study. In: *Diabetes therapy : research, treatment and education of diabetes and related disorders* 6 (2), S. 187–196. DOI: 10.1007/s13300-015-0113-3.
- Valcheva-Kuzmanova, S.**; Marazova, K.; Krasnaliev, I.; Galunska, B.; Borisova, P.; Belcheva, A. (2005): Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. In: *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie* 56 (6), S. 385–392. DOI: 10.1016/j.etp.2005.01.001.

- Vichayanrat**, Apichati; Ploybutr, Sirirat; Tunlakit, Monchaya; Watanakejorn, Praneet (2002): Efficacy and safety of voglibose in comparison with acarbose in type 2 diabetic patients. In: *Diabetes research and clinical practice* 55 (2), S. 99–103.
- Voet**, Donald; Voet, Judith G.; Pratt, Charlotte W. (2019): Lehrbuch der Biochemie. Dritte, vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage.
- Vogiatzoglou**, Anna; Mulligan, Angela A.; Lentjes, Marleen A. H.; Luben, Robert N.; Spencer, Jeremy P. E.; Schroeter, Hagen; Khaw, Kay-Tee; Kuhnle, Gunter G. C.; Wang, Dong (2015): Flavonoid Intake in European Adults (18 to 64 Years). In: *Public library of science ONE* 10 (5), S. e0128132. DOI: 10.1371/journal.pone.0128132.
- Waldrop**, Grover L. (2009): A qualitative approach to enzyme inhibition. In: *Biochemistry and molecular biology education : a bimonthly publication of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* 37 (1), S. 11–15. DOI: 10.1002/bmb.20243.
- Wallace**, Taylor C.; Giusti, M. Monica (2015): Anthocyanins. In: *Advances in nutrition* 6 (5), S. 620–622. DOI: 10.3945/an.115.009233.
- Wang**, Shioh Y.; Feng, Rentian; Bowman, Linda; Penhallegon, Ross; Ding, Min; Lu, Y. (2005): Antioxidant activity in lingonberries (*Vaccinium vitis-idaea* L.) and its inhibitory effect on activator protein-1, nuclear factor-kappaB, and mitogen-activated protein kinases activation. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 53 (8), S. 3156–3166. DOI: 10.1021/jf048379m.
- Wehmeier**, U. F.; Piepersberg, W. (2004): Biotechnology and molecular biology of the alpha-glucosidase inhibitor acarbose. In: *Applied microbiology and biotechnology* 63 (6), S. 613–625. DOI: 10.1007/s00253-003-1477-2.
- Weisel**, Tamara; Baum, Matthias; Eisenbrand, Gerhard; Dietrich, Helmut; Will, Frank; Stockis, Jean-Pierre; Kulling, Sabine; Rüfer, Corinna; Johannes, Christian; Janzowski, Christine (2006): An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. In: *Biotechnology journal* 1 (4), S. 388–397. DOI: 10.1002/biot.200600004.
- Wojdyło**, Aneta; Nowicka, Paulina; Laskowski, Piotr; Oszmiański, Jan (2014): Evaluation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruits for their polyphenol content, antioxidant properties, and nutritional components. In: *Journal of agricultural and food chemistry*, S. 12332–12345. DOI: 10.1021/jf504023z.
- World Health Organization** (2014): Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: a World Health Organization Guideline. In: *Diabetes research and clinical practice* 103 (3), S. 341–363. DOI: 10.1016/j.diabres.2013.10.012.
- Wright**, E. M. (1998): Genetic Disorders of Membrane Transport. I. Glucose galactose malabsorption. In: *The American journal of physiology* 275 (5 Pt 1), S. 82.
- Wu**, Xianli; Beecher, Gary R.; Holden, Joanne M.; Haytowitz, David B.; Gebhardt, Susan E.; Prior, Ronald L. (2006): Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 54 (11), S. 4069–4075. DOI: 10.1021/jf060300l.
- Xia**, En-Qin; Deng, Gui-Fang; Guo, Ya-Jun; Li, Hua-Bin (2010): Biological activities of polyphenols from grapes. In: *International journal of molecular sciences* 11 (2), S. 622–646. DOI: 10.3390/ijms11020622.
- Xie**, Lianghua; Mo, Jianling; Ni, Jingdan; Xu, Yang; Su, Hongming; Xie, Jiahong; Chen, Wei (2020): Structure-based design of human pancreatic amylase inhibitors from the natural

- anthocyanin database for type 2 diabetes. In: *Food Funct.* 11 (4), S. 2910–2923. DOI: 10.1039/c9fo02885d.
- Xie**, Liyang; Lee, Sang Gil; Vance, Terrence M.; Wang, Ying; Kim, Bohkyung; Lee, Ji-Young; Chun, Ock K.; Bolling, Bradley W. (2016): Bioavailability of anthocyanins and colonic polyphenol metabolites following consumption of aronia berry extract. In: *Food chemistry* 211, S. 860–868. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.05.122.
- Xu**, Jin; Mojsoska, Biljana (2013): The immunomodulation effect of Aronia extract lacks association with its antioxidant anthocyanins. In: *Journal of medicinal food* 16 (4), S. 334–342. DOI: 10.1089/jmf.2012.0151.
- Yamane**, Takuya; Kozuka, Miyuki; Konda, Daisuke; Nakano, Yoshihisa; Nakagaki, Takenori; Ohkubo, Iwao; Ariga, Hiroyoshi (2016): Improvement of blood glucose levels and obesity in mice given aronia juice by inhibition of dipeptidyl peptidase IV and  $\alpha$ -glucosidase. In: *The Journal of nutritional biochemistry* 31, S. 106–112. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.02.004.
- Yan**, Qiuli; Zhang, Linhan; Zhang, Xiaofei; Liu, Xuan; Yuan, Fang; Hou, Zhanqun; Gao, Yanxiang (2013): Stabilization of grape skin anthocyanins by copigmentation with enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) as a copigment. In: *Food Research International* 2 (50), S. 603–609. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.04.007.
- You**, Qi; Chen, Feng; Wang, Xi; Luo, Pengju G.; Jiang, Yueming (2011): Inhibitory effects of muscadine anthocyanins on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase activities. In: *Journal of agricultural and food chemistry* 59 (17), S. 9506–9511. DOI: 10.1021/jf201452v.
- Yousuf**, Basharat; Gul, Khalid; Wani, Ali Abas; Singh, Preeti (2016): Health Benefits of Anthocyanins and Their Encapsulation for Potential Use in Food Systems: A Review. In: *Critical reviews in food science and nutrition* 56 (13), S. 2223–2230. DOI: 10.1080/10408398.2013.805316.
- Yuan**, Erdong; Liu, Benguo; Wei, Qingyi; Yang, Jiguo; Chen, Lei; Li, Qiong (2014): Structure Activity Relationships of Flavonoids as Potent  $\alpha$ -Amylase Inhibitors. In: *Natural Product Communications* 9 (8), 1934578X1400900. DOI: 10.1177/1934578X1400900829.
- Yung-Chi**, Cheng; Prusoff, William H. (1973): Relationship between the inhibition constant (KI) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. In: *Biochemical pharmacology* 22 (23), S. 3099–3108. DOI: 10.1016/0006-2952(73)90196-2.
- Zakay-Rones**, Z.; Thom, E.; Wollan, T.; Wadstein, J. (2004): Randomized study of the efficacy and safety of oral elderberry extract in the treatment of influenza A and B virus infections. In: *The Journal of international medical research* 32 (2), S. 132–140.
- Zamora-Ros**, Raul; Knaze, Viktoria; Luján-Barroso, Leila; Slimani, Nadia; Romieu, Isabelle; Touillaud, Marina; Kaaks, Rudolf; Teucher, Birgit; Mattiello, Amalia; Grioni, Sara; Crowe, Francesca; Boeing, Heiner; Förster, Jana; Quirós, J. Ramón; Molina, Esther; Huerta, José María; Engeset, Dagrun; Skeie, Guri; Trichopoulou, Antonia; Dilis, Vardis; Tsiotas, Konstantinos; Peeters, Petra H. M.; Khaw, Kay-Thee; Wareham, Nicholas; Bueno-de-Mesquita, Bas; Ocké, Marga C.; Olsen, Anja; Tjønneland, Anne; Tumino, Rosario; Johansson, Gerd; Johansson, Ingegerd; Ardanaz, Eva; Sacerdote, Carlotta; Sonestedt, Emily; Ericson, Ulrika; Clavel-Chapelon, Françoise; Boutron-Ruault, Marie-Christine; Fagherazzi, Guy; Salvini, Simonetta; Amiano, Pilar; Riboli, Elio; González, Carlos A. (2011): Estimation of the intake of anthocyanidins and their food sources in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. In: *The British journal of nutrition* 106 (7), S. 1090–1099. DOI: 10.1017/S0007114511001437.

- Zhang**, Jiangtao; Sun, Lijun; Dong, Yushan; Fang, Zhongxiang; Nisar, Tanzeela; Zhao, Ting; Wang, Zi-Chao; Guo, Yurong (2019): Chemical compositions and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of anthocyanidins from blueberry, blackcurrant and blue honeysuckle fruits. In: *Food chemistry* 299, S. 125102. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125102.
- Zhang**, Xin-Ke; He, Fei; Zhang, Bo; Reeves, Malcolm J.; Liu, Yue; Zhao, Xu; Duan, Chang-Qing (2018): The effect of prefermentative addition of gallic acid and ellagic acid on the red wine color, copigmentation and phenolic profiles during wine aging. In: *Food research international (Ottawa, Ont.)* 106, S. 568–579. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.12.054.
- Zhou**, Shuo; an Zhao; Wu, Yangyang; Mi, Yuling; Zhang, Caiqiao (2022): Protective Effect of Grape Seed Proanthocyanidins on Oxidative Damage of Chicken Follicular Granulosa Cells by Inhibiting FoxO1-Mediated Autophagy. In: *Frontiers in cell and developmental biology* 10, S. 762228. DOI: 10.3389/fcell.2022.762228.
- Ziegler**, Dan (2019): Diabetes und Nervenerkrankungen. In: *Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2019*.
- Zipitis**, C. S.; Akobeng, A. K. (2008): Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. In: *Archives of disease in childhood* 93 (6), S. 512–517. DOI: 10.1136/adc.2007.128579.



## 8 Tabellenverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| Tabelle 2-1: Die Untergruppen der Flavonoide [modifiziert nach [Havsteen, 1983].   | 25 |
| Tabelle 2-2: Die sechs häufigsten Anthocyane [modifiziert nach [Wu <i>et al.</i> , 2006].  | 26 |
| Tabelle 2-3: Anthocyanengehalt verschiedener Lebensmittel [modifiziert nach [Neveu <i>et al.</i> , 2010].  | 27 |
| Tabelle 2-4: Durchschnittliche Aufnahmemenge (mg/d) verschiedener Anthocyane in Erwachsenen (18 - 64 Jahre) in Europa [Vogiatzoglou <i>et al.</i> , 2015].   | 27 |
| Tabelle 5-1: Auswahl an Anthocyanen und Copigmenten, die in den neun untersuchten roten Früchten enthalten sind [Berger <i>et al.</i> , 2020]. A = Aronia, C = Cranberry, G = Granatapfel, HB = Heidelbeere, HolB = Holunderbeere, P = Preiselbeere, RT = Rote Traube, S = Sauerkirsche, SJ = Schwarze Johannisbeere.  | 66 |
| Tabelle 5-2: Gesamtpolyphenolgehalte [g GAE/100 g] der Fruchtsaftextrakte der neun Früchte [Berger <i>et al.</i> , 2020].  | 71 |
| Tabelle 5-3: Übersicht der Extrakte aus verschiedenen roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC)   | 74 |
| Tabelle 5-4: Vergleich der Extrakte aus roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC). Sortiert nach aufsteigendem Abstand zum Ursprung   | 76 |
| Tabelle 5-5: Gegenüberstellung der IC <sub>50</sub> -Werte der einzelnen Fraktionen, dem theoretischen IC <sub>50</sub> -Wert (entsprechend dem Anteil am Gesamtextrakt) und dem ermittelten IC <sub>50</sub> -Wert des Gesamtextraktes für alle vier zellfreien Testsysteme. Mit: $\alpha$ -Amy = $\alpha$ -Amylase; $\alpha$ -Gluc = $\alpha$ -Glucosidase; AF = Anthocyanfraktion; CF = Copigmentfraktion; DPP IV = Dipeptidylpeptidase IV; GP $\alpha$ = Glykogenphosphorylase $\alpha$ ; MW = Mittelwert; PF = Polymerfraktion. * = Daten erhalten von der TU Braunschweig. | 83 |
| Tabelle 5-6: Zusammensetzung der Anthocyan- und Copigmentfraktionen der Extrakte aus Aroniadirektsaft (A), Granatapfeldirektsaft (G) und rotem Traubensaftkonzentrat (RT) [Ostberg-Potthoff <i>et al.</i> , 2019].   | 83 |
| Tabelle 5-7: Anthocyanzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Anthocyanfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft [Ostberg-Potthoff <i>et al.</i> , 2019].  | 86 |
| Tabelle 5-8: Copigmentzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Copigmentfraktion des Extraktes aus Aroniadirektsaft [Ostberg-Potthoff <i>et al.</i> , 2019].  | 87 |
| Tabelle 5-9: Anthocyanzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Anthocyanfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft [Ostberg-Potthoff <i>et al.</i> , 2019].   | 88 |
| Tabelle 5-10: Copigmentzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Copigmentfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft [Ostberg-Potthoff <i>et al.</i> , 2019].  | 89 |

Tabelle 5-11: Anthocyanzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Anthocyanfraktion des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat [Ostberg-Potthoff et al., 2019]. 90

Tabelle 5-12: Copigmentzusammensetzung der verschiedenen Subfraktionen der Copigmentfraktion des Extraktes aus rotem Traubensaftkonzentrat [Ostberg-Potthoff et al., 2019]. 91

Tabelle 5-13: Ermittelte Hemmmechanismen der Extrakte aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat sowie ihrer Fraktionen für den  $\alpha$ -Amylase-Assay. 100

Tabelle 5-14: Ermittelte Hemmmechanismen der Extrakte aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat sowie ihrer Fraktionen für den  $\alpha$ -Glucosidase-Assay. 102

## 9 Abbildungsverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 2-1: Die Rolle von Insulin bei der Aufnahme von Glucose über GLUT 4 [modifiziert nach [SwissHealthMed, 2016].   | 4  |
| Abbildung 2-2: Mechanismus von Typ-I-Diabetes [modifiziert nach SwissHealthMed, 2016].  | 4  |
| Abbildung 2-3: Mechanismus von Typ-II-Diabetes [modifiziert nach SwissHealthMed, 2016].   | 6  |
| Abbildung 2-4: Die häufigsten Spätfolgen von Diabetes [modifiziert nach [International Diabetes Federation, 2013].  | 8  |
| Abbildung 2-5: Prinzip des Stärkeabbaus [modifiziert nach Goodman, 2010].   | 10 |
| Abbildung 2-6: Röntgenstruktur der $\alpha$ -Amylase (A, PDB 1SMD) [Ramasubbu, 1996] und der $\alpha$ -Glucosidase (B, PDB 3TON) [Shen <i>et al.</i> , 2011].   | 11 |
| Abbildung 2-7: Modell der Glucoseabsorption durch die Enterozyten im Dünndarm [modifiziert nach [Wright, 1998]].  | 12 |
| Abbildung 2-8: Modell der Glucosehomöostase [nach [Biesalski und Grimm, 2011].  | 13 |
| Abbildung 2-9.: $\alpha$ -Amylase- und $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitoren als Wirkstoffe in Diabetesmedikamenten.  | 14 |
| Abbildung 2-10: Die schematische Darstellung der ersten drei Schritte der Glykogenolyse [nach [Berg <i>et al.</i> , 2013]. Die Kreise stehen für einzelne Glucoseeinheiten. Farblich hervorgehobene Kreise markieren die Glucoseeinheiten, die durch diesen Schritt abgespalten werden. | 17 |
| Abbildung 2-11: Röntgenstruktur der Glykogenphosphorylase $\alpha$ (PDB 4L22) [Lihan <i>et al.</i> , 2014].   | 18 |
| Abbildung 2-12: Röntgenstruktur der Dipeptidylpeptidase IV (PDB 1PFQ) [Oefner <i>et al.</i> , 2003].  | 21 |
| Abbildung 2-13: Mechanismus der Insulinfreisetzung aus den $\beta$ -Zellen mit ATP = Adenosintriphosphat, GLP-1 = Glucagon-like Peptide 1 und GLUT-2 = Glucosetransporter Typ 2 [nach [Rehner und Daniel, 2010].  | 22 |
| Abbildung 2-14: Dipeptidylpeptidase-IV-Inhibitoren als Wirkstoffe in Diabetesmedikamenten.  | 23 |
| Abbildung 2-15: Die Grundstruktur der Flavonoide, Flavan (2-Phenylchroman) [nach Belitz <i>et al.</i> , 2008].  | 24 |
| Abbildung 2-16: Die Grundstruktur der Anthocyane [nach [Wallace und Giusti, 2015].  | 26 |
| Abbildung 2-17: Beispiele für Flavonoide, die als Copigmente wirken können.   | 33 |
| Abbildung 2-18: Beispiele für phenolische Polymere.   | 34 |
| Abbildung 2-19: <i>Aronia melanocarpa</i> , Strauch und Frucht [eigene Aufnahme].   | 35 |

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 2-20: <i>Punica granatum</i> , Baum und Frucht [eigene Aufnahme].   | 36 |
| Abbildung 2-21: <i>Vitis vinifera</i> . Strauch und Frucht [eigene Aufnahme].   | 38 |
| Abbildung 2-22: <i>Vaccinium vitis-idea</i> , Strauch und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].   | 39 |
| Abbildung 2-23: <i>Vaccinium macrocarpon</i> . Strauch und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].  | 40 |
| Abbildung 2-24: <i>Ribes nigrum</i> , Strauch [eigene Aufnahme] und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].   | 42 |
| Abbildung 2-25: <i>Vaccinium myrtillus</i> , Strauch [lizenzfrei, pixabay.com] und Frucht [eigene Aufnahme].  | 43 |
| Abbildung 2-26: <i>Sambucus nigra</i> , Strauch und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].   | 44 |
| Abbildung 2-27: <i>Prunus cerasus</i> , Baum und Frucht [lizenzfrei, pixabay.com].  | 45 |
| Abbildung 2-28: Reaktionsschema der Enzymkatalyse erster Ordnung [Yung-Chi und Prusoff, 1973].  | 47 |
| Abbildung 2-29: Lineweaver-Burk-Plot.   | 47 |
| Abbildung 2-30: Schematische Darstellung der kompetitiven Hemmung und Reaktionsschema mit E = Enzym, EI = Enzym-Inhibitor-Komplex, ES = Enzym-Substrat-Komplex, I = Inhibitor, P = Produkt und S = Substrat [nach [Voet <i>et al.</i> , 2019].  | 48 |
| Abbildung 2-31: Schematische Darstellung der unkompetitiven Hemmung und Reaktionsschema mit E = Enzym, ES = Enzym-Substrat-Komplex, ESI = Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplex, I = Inhibitor, P = Produkt und S = Substrat [nach Voet <i>et al.</i> , 2019].                                   | 49 |
| Abbildung 2-32: Schematische Darstellung der nicht-kompetitiven Hemmung und Reaktionsschema mit E = Enzym, EI = Enzym-Inhibitor-Komplex, ES = Enzym-Substrat-Komplex, ESI = Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplex, I = Inhibitor, P = Produkt und S = Substrat [nach Voet <i>et al.</i> , 2019]. | 50 |
| Abbildung 2-33: Schematische Beispiele für die Lineweaver-Burk-Auftragung eines kompetitiven (A), nicht-kompetitiven (B) und unkompetitiven (C) reversiblen Inhibitors jeweils mit und ohne Inhibitor [nach [Waldrop, 2009]].   | 51 |
| Abbildung 4-1: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assays mit CNPG3 als Substrat mit $\alpha$ -Amy = $\alpha$ -Amylase und CNPG3 = 2-Chloro-4-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotriosid.   | 59 |
| Abbildung 4-2: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assays mit Stärke als Substrat mit $\alpha$ -Amy = $\alpha$ -Amylase und 3,5-DNS = 3,5-Dinitrosalicylsäure.   | 60 |
| Abbildung 4-3: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assays mit $\alpha$ -Glu = $\alpha$ -Glucosidase und <i>p</i> NPG = <i>p</i> -Nitrophenyl- $\alpha$ -D-Glucopyranosid.  | 60 |

- Abbildung 4-4: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Inhibitions-Assays mit AM = Ammoniummolybdat, GP $\alpha$  = Glykogenphosphorylase  $\alpha$ , H<sup>+</sup> = Säure (HCl), MG = Malachitgrün, Mo = Molybdat und P<sub>i</sub> = Orthophosphat. 61
- Abbildung 4-5: Zugrundeliegender Reaktionsmechanismus des Dipeptidylpeptidase-4-Inhibitions-Assays mit AMC = 7-Amido-4-Methylcoumarin, DPP IV = Dipeptidylpeptidase IV und H-Gly-Pro = Aminosäuresequenz Glycin-Prolin. 62
- Abbildung 4-6: Studiendesign der Humanstudie. 64
- Abbildung 5-1: IC<sub>50</sub>-Werte ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des  $\alpha$ -Amylase-Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n = 3). 67
- Abbildung 5-2: IC<sub>50</sub>-Werte ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des  $\alpha$ -Glucosidase-Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur PK Acarbose (n = 3). 68
- Abbildung 5-3: IC<sub>50</sub>-Werte ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des Glykogenphosphorylase- $\alpha$ -Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur PK Coffein (n = 3). 69
- Abbildung 5-4: IC<sub>50</sub>-Werte ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des Dipeptidylpeptidase-IV-Assays. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die Einzelergebnisse der getesteten Extrakte aus Fruchtdirektsäften (NFC), -saftkonzentraten (JC) und -pürees neun verschiedener Früchte im Vergleich zur PK Sitagliptin (n = 3). 70
- Abbildung 5-5: IC<sub>50</sub>-Werte ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des  $\alpha$ -Amylase- (A) und  $\alpha$ -Glucosidase-Assays (B). Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Extrakte aus roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC) als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n = 3). 74
- Abbildung 5-6: Normierung der Ergebnisse aus  $\alpha$ -Glucosidase- und  $\alpha$ -Amylase-Assay der Extrakte aus roten Traubendirektsäften (NFC) und -konzentraten (JC). Probennummer 1 - 11: s. Tabelle 5-4. 75
- Abbildung 5-7: IC<sub>50</sub>-Werte ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des  $\alpha$ -Amylase-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Acarbose (n = 3). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion. 77
- Abbildung 5-8: IC<sub>50</sub>-Werte ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) des  $\alpha$ -Glucosidase-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Acarbose (n = 3). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion. 78

Abbildung 5-9: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des Glykogenphosphorylase-α-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Coffein (n = 3). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion. 79

Abbildung 5-10: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des Dipeptidylpeptidase-IV-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Fraktionen aus Extrakten aus Aroniadirektsaft, Granatapfeldirektsaft und rotem Traubensaftkonzentrat als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur PK Sitagliptin (n = 3). Mit: AF = Anthocyanfraktion, CF = Copigmentfraktion und PF = Polymerfraktion. 80

Abbildung 5-11: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des α-Amylase- und α-Glucosidase-Inhibitions-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Subfraktionen (F 1 – F coil) der Anthocyan- (A) und Copigmentfraktion (B) des Aroniadirektsaft-Extrakts als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n=3). Für F 1 der Copigmentfraktion konnte im α-Amylase-Assay kein IC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden. Mit A-AF = Aronia-Anthocyanfraktion und A-CF = Aronia-Copigmentfraktion. 85

Abbildung 5-12: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des α-Amylase- und α-Glucosidase-Inhibitions-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Subfraktionen (F 1 – F coil) der Anthocyan- (A) und Copigmentfraktion (B) des Granatapfeldirektsaft-Extrakts als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n=3). Für F 1 und F2 der Anthocyanfraktion sowie für F 1, F 2 und F 3 der Copigmentfraktion konnte im α-Amylase-Assay kein IC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden. Mit G-AF = Granatapfel-Anthocyanfraktion und G-CF = Granatapfel-Copigmentfraktion. 88

Abbildung 5-13: IC<sub>50</sub>-Werte (µg/mL) des α-Amylase- und α-Glucosidase-Inhibitions-Assays. Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Subfraktionen (F 1 – F coil) der Anthocyan- (A) und Copigmentfraktion (B) des roten Traubensaftkonzentrat-Extrakts als Mittelwerte mit Standardabweichung im Vergleich zur Positivkontrolle (PK) Acarbose (n=3). Für F 4 und F 5 der Anthocyanfraktion konnte im α-Amylase-Assay kein IC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden. Mit RT-AF = rote Traube-Anthocyanfraktion und RT-CF = rote Traube-Copigmentfraktion. 90

Abbildung 5-14: Inhibition (%) des α-Amylase- (A), α-Glucosidase- (B), Glykogenphosphorylase-α- (C) und Dipeptidylpeptidase-IV-Assays (D). Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Anthocyan-Reinsubstanzen (c = 2 mM) als Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3). 94

Abbildung 5-15: Inhibition (%) des α-Amylase- (A), α-Glucosidase- (B), Glykogenphosphorylase-α- (C) und Dipeptidylpeptidase-IV-Assays (D). Dargestellt sind die Ergebnisse der getesteten Copigment-Reinsubstanzen (c = 2 mM) als Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3). 96

Abbildung 5-16: Lineweaver-Burk-Plot für den Extrakt aus Aroniadirektsaft (A) im α-Amylase-Assay als Beispiel für einen kompetitiven Inhibitionsmechanismus. 99

Abbildung 5-17: Lineweaver-Burk-Plot für die Copigmentfraktion des Extraktes aus Granatapfeldirektsaft (G-CF) im α-Glucosidase-Assay als Beispiel für einen unkompetitiven Inhibitionsmechanismus. 99

Abbildung 5-18: Lineweaver-Burk-Plot für den Extrakt aus rotem Traubensaftkonzentrat (T) im α-Glucosidase-Assay als Beispiel für einen nicht-kompetitiven Inhibitionsmechanismus. 100

Abbildung 5-19: Blutglucosespiegel der einzelnen Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als Einzelwerte und als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal- und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadirektsaft (A) bzw. rotem Traubensaftkonzentrat (B) im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) (n = 10). Die Zahlen 1 – 10 stehen für die AUC der einzelnen Probanden. 105

Abbildung 5-20: Beispiel einer Kurve für die Messung der Gewebsglucosekonzentration mittels FreeStyle Libre. 105

Abbildung 5-21: Gewebsglucosespiegel der einzelnen Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als Einzelwerte und als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadirektsaft (A) bzw. rotem Traubensaftkonzentrat (B) im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) (n = 10). Die Zahlen 1 – 10 stehen für die AUC der einzelnen Probanden. 106

Abbildung 5-22: Insulinkonzentration der einzelnen Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als Einzelwerte und als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadirektsaft (A) bzw. rotem Traubensaftkonzentrat (B) im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) (n = 10). Die Zahlen 1 – 10 stehen für die AUC der einzelnen Probanden. 107

Abbildung 5-23: Blutglucosespiegel der Probanden angegeben als *area under curve* (AUC) als box-plot (Mittelwert und Median; Minimal- und Maximalwerte) nach Konsum eines Extraktes aus Aroniadirektsaft im Vergleich zur Kontrolle (Maltodextrin in Wasser) für die „Responder“ (A, n = 3) und die „Nicht-Responder“ (B, n = 7). 107

Abbildung 5-24: Gewebsglucosespiegel [mg/dL] nach Aufnahme von 75 g reinem Maltodextrin (schwarz), 75 g Maltodextrin mit 100 mg Aroniadirektsaft-Extrakt (rot), 120 mg roten Traubensaftkonzentrat-Extrakt (lila) oder 50 mg Acarbose (grün) für P1 (A) und P2 (B). 108

## 10 Anhang

### 10.1 Untersuchung der Extrakte aus neun verschiedenen Fruchtsaftsorten

#### 10.1.1 Aronia

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 216 ± 13                 | 78,2 ± 1,9    |                         |                        |
| NFC 2 | 274 ± 10                 | 71,6 ± 3,8    |                         |                        |
| NFC 3 | 329 ± 49                 | 128 ± 8       | 73,4 ± 2,2              | 874 ± 31,2             |
| JC 1  | 340 ± 23                 | 152 ± 8       |                         |                        |
| JC 2  | 421 ± 13                 | 125 ± 13      | 33,1 ± 0,7              | 963 ± 77,6             |

#### 10.1.2 Granatapfel

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 719 ± 66                 | 81,5 ± 6,8    |                         |                        |
| NFC 2 | 705 ± 15                 | 105 ± 19      |                         |                        |
| NFC 3 | 1359 ± 103               | 158 ± 7       |                         |                        |
| NFC 4 | 997 ± 103                | 106 ± 7       | 21,7 ± 3,6              | 1022 ± 46              |
| JC 1  | 490 ± 44                 | 168 ± 11      |                         |                        |
| JC 2  | 777 ± 60                 | 116 ± 12      | 21,5 ± 1,5              | 560 ± 72               |

#### 10.1.3 Rote Traube

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 792 ± 41                 | 164 ± 4       | 35,1 ± 6,8              | 1420 ± 95              |
| NFC 2 | 672 ± 51                 | 213 ± 14      |                         |                        |
| NFC 3 | 648 ± 51                 | 250 ± 10      |                         |                        |
| JC 1  | 497 ± 42                 | 148 ± 2       | 36,0 ± 5,2              | 1831 ± 66              |

#### 10.1.4 Preiselbeere

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 630 ± 60                 | 163 ± 7       | 115 ± 24                | 2822 ± 295             |
| NFC 2 | 691 ± 47                 | 247 ± 22      |                         |                        |
| JC 1  | 361 ± 33                 | 118 ± 8       | 52,5 ± 8,4              | 2174 ± 155             |



## 10.1.5 Cranberry

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 528 ± 38                 | 174 ± 13      | -                       |                        |
| NFC 2 | 547 ± 41                 | 236 ± 23      | 79,4 ± 16,4             | 1612 ± 293             |
| NFC 3 | 810 ± 64                 | 280 ± 2       | -                       |                        |
| Püree | 424 ± 31                 | 224 ± 11      | 69,7 ± 9,0              | 1251 ± 103             |

## 10.1.6 Schwarze Johannisbeere

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 943 ± 68                 | 167 ± 8       | 65,5 ± 6,3              | 1185 ± 130             |
| NFC 2 | 1117 ± 75                | 188 ± 16      |                         |                        |
| NFC 3 | 1208 ± 65                | 208 ± 5       |                         |                        |
| NFC 4 | 616 ± 17                 | 270 ± 19      |                         |                        |
| JC 1  | 564 ± 21                 | 364 ± 18      | 66,4 ± 7,1              | 1207 ± 54              |
| Püree | 501 ± 8                  | 203 ± 3       | 38,0 ± 6,9              | 1024 ± 101             |

## 10.1.7 Heidelbeere

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 952 ± 46                 | 750 ± 33      |                         |                        |
| NFC 2 | 1224 ± 69                | 273 ± 18      | 129 ± 22                | 2166 ± 274             |
| JC 1  | 722 ± 27                 | 560 ± 35      | 117 ± 3                 | 1566 ± 111             |
| Püree | 655 ± 71                 | 355 ± 14      | 90,1 ± 7,8              | 1367 ± 240             |

## 10.1.8 Holunderbeere

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 1008 ± 95                | 1509 ± 67     |                         |                        |
| NFC 2 | 1604 ± 167               | 2867 ± 129    |                         |                        |
| NFC 3 | 1508 ± 128               | 1666 ± 86     | 580 ± 139               | 1866 ± 150             |
| JC 1  | 916 ± 69                 | 5201 ± 232    | 908 ± 93                | 1514 ± 273             |

## 10.1.9 Sauerkirsche

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| NFC 1 | 1508 ± 22                | 476 ± 38      | 110 ± 15                | 1412 ± 123             |
| NFC 2 | 2378 ± 100               | 716 ± 62      |                         |                        |

## 10.2 Untersuchung der Extrakte aus verschiedenen roten Traubensorten

|                 | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |
|-----------------|--------------------------|---------------|
|                 | α-Amylase                | α-Glucosidase |
| Acarbose        | 440 ± 30                 | 1438 ± 85     |
| Accent NFC      | 1951 ± 45                | 6775 ± 177    |
| Concord JC 1    | 631 ± 36                 | 174 ± 7       |
| Concord JC 2    | 584 ± 31                 | 182 ± 9       |
| Deutschland NFC | 895 ± 58                 | 535 ± 29      |
| Frankreich NFC  | 858 ± 57                 | 261 ± 30      |
| Italien JC 1    | 497 ± 42                 | 148 ± 2       |
| Italien JC 2    | 1493 ± 198               | 120 ± 16      |
| Italien NFC     | 1018 ± 112               | 497 ± 12      |
| Lambrusco JC    | 639 ± 28                 | 268 ± 12      |
| Lambrusco NFC   | 503 ± 35                 | 222 ± 22      |
| Spanien JC      | 825 ± 30                 | 109 ± 8       |

## 10.3 Untersuchung der Fraktionen

|       | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |                         |                        |
|-------|--------------------------|---------------|-------------------------|------------------------|
|       | α-Amylase                | α-Glucosidase | Glykogenphosphorylase α | Dipeptidylpeptidase IV |
| PK    | 440 ± 30                 | 1438 ± 85     | 799 ± 36                | 0,0402 ± 0,0029        |
| A-AF  | 677 ± 63                 | 140 ± 17      | 67,7 ± 4,6              | 835 ± 217              |
| A-CF  | 548 ± 58                 | 380 ± 6       | 106 ± 5                 | 739 ± 70               |
| A-PF  | 123 ± 8                  | 84,2 ± 5,9    | 11,8 ± 0,8              | 922 ± 133              |
| G-AF  | 1141 ± 93                | 57,2 ± 6,4    | 14,2 ± 0,5              | 775 ± 64               |
| G-CF  | 1163 ± 42                | 169 ± 22      | 13,7 ± 3,6              | 1022 ± 134             |
| G-PF  | 1152 ± 24                | 116 ± 3       | 35,6 ± 6,7              | 1168 ± 137             |
| RT-AF | 589 ± 57                 | 80,9 ± 3,6    | 62,5 ± 0,6              | 1492 ± 129             |
| RT-CF | 428 ± 35                 | 74,5 ± 1,4    | 30,9 ± 1,7              | 1702 ± 63              |
| RT-PF | 369 ± 14                 | 64,9 ± 1,4    | 41,2 ± 1,4              | 1824 ± 106             |

### 10.4 Untersuchung der Subfraktionen des Aroniadirektsaft-Extraktes

|          | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |
|----------|--------------------------|---------------|
|          | α-Amylase                | α-Glucosidase |
| Acarbose | 440 ± 30                 | 1438 ± 85     |
| A-AF     | 677 ± 63                 | 140 ± 17      |
| F 1      | 1175 ± 140               | 82,4 ± 2,2    |
| F 2      | 693 ± 37                 | 257 ± 8       |
| F 3      | 690 ± 40                 | 245 ± 1       |
| F 4      | 709 ± 91                 | 324 ± 9       |
| F 5      | 471 ± 50                 | 150 ± 3       |
| F 6      | 408 ± 66                 | 125 ± 2       |
| F coil   | 134 ± 14                 | 63,7 ± 2,4    |
| A-CF     | 548 ± 58                 | 380 ± 6       |
| F 1      | -                        | 377 ± 6       |
| F 2      | 1379 ± 64                | 382 ± 11      |
| F 3      | 1323 ± 20                | 350 ± 19      |
| F 4      | 1753 ± 36                | 753 ± 35      |
| F 5      | 1862 ± 96                | 531 ± 10      |
| F 6      | 1299 ± 49                | 431 ± 10      |
| F 7      | 947 ± 38                 | 809 ± 17      |
| F 8      | 706 ± 42                 | 469 ± 11      |
| F coil   | 411 ± 20                 | 209 ± 5       |

### 10.5 Untersuchung der Subfraktionen des Granatapfeldirektsaft-Extraktes

|          | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |
|----------|--------------------------|---------------|
|          | α-Amylase                | α-Glucosidase |
| Acarbose | 440 ± 30                 | 1438 ± 85     |
| G-AF     | 1141 ± 93                | 57,2 ± 6,4    |
| F 1      | -                        | 95,2 ± 2,9    |
| F 2      | -                        | 78,3 ± 0,4    |
| F 3      | 367 ± 21                 | 37,8 ± 0,2    |
| F 4      | 554 ± 46                 | 45,4 ± 0,8    |
| F 5      | 736 ± 48                 | 43,1 ± 2,7    |
| F coil   | 262 ± 24                 | 58,2 ± 0,8    |
| G-CF     | 1163 ± 42                | 169 ± 22      |
| F 1      | -                        | 248 ± 15      |
| F 2      | -                        | 90,9 ± 3,2    |
| F 3      | -                        | 67,7 ± 3,1    |
| F 4      | 1621 ± 42                | 49,9 ± 2,9    |
| F 5      | 1001 ± 74                | 48,5 ± 5,5    |
| F 6      | 892 ± 66                 | 65,4 ± 5,7    |
| F 7      | 477 ± 39                 | 68,1 ± 5,7    |
| F coil   | 362 ± 12                 | 90,1 ± 1,2    |

## 10.6 Untersuchung der Subfraktionen des roten Traubensaftkonzentrat-Extraktes

|          | IC <sub>50</sub> [µg/mL] |               |
|----------|--------------------------|---------------|
|          | α-Amylase                | α-Glucosidase |
| Acarbose | 440 ± 30                 | 1438 ± 85     |
| RT-AF    | 588 ± 57                 | 80,6 ± 3,6    |
| F 1      | 571 ± 14                 | 82,8 ± 1,9    |
| F 2      | 1730 ± 120               | 213 ± 1       |
| F 3      | 4198 ± 283               | 187 ± 5       |
| F 4      | -                        | 244 ± 6       |
| F 5      | -                        | 343 ± 12      |
| F coil   | 677 ± 72                 | 626 ± 59      |
| RT-CF    | 428 ± 35                 | 74,5 ± 1,4    |
| F 1      | 266 ± 15                 | 80,7 ± 2,8    |
| F 2      | 695 ± 45                 | 241 ± 7       |
| F 3      | 574 ± 26                 | 249 ± 14      |
| F 4      | 228 ± 20                 | 433 ± 28      |
| F 5      | 705 ± 36                 | 280 ± 11      |
| F 6      | 1082 ± 42                | 582 ± 25      |
| F 7      | 907 ± 4                  | 588 ± 29      |
| F coil   | 841 ± 52                 | 192 ± 1       |

## 10.7 Untersuchung von Reinsubstanzen

### 10.7.1 Vergleich verschiedener Anthocyane

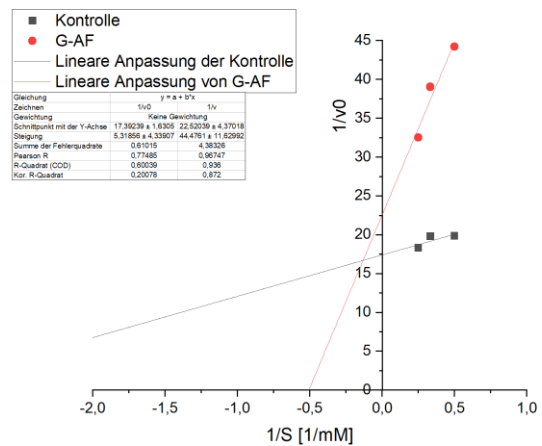
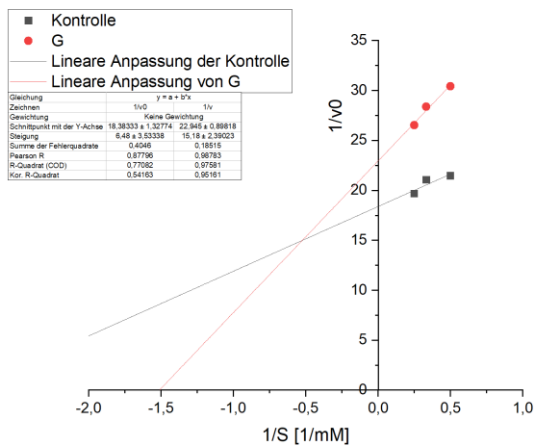
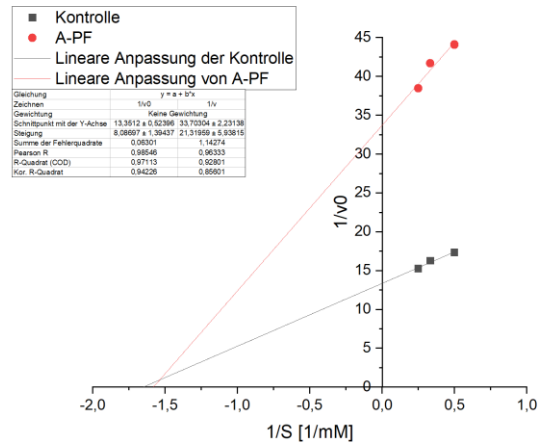
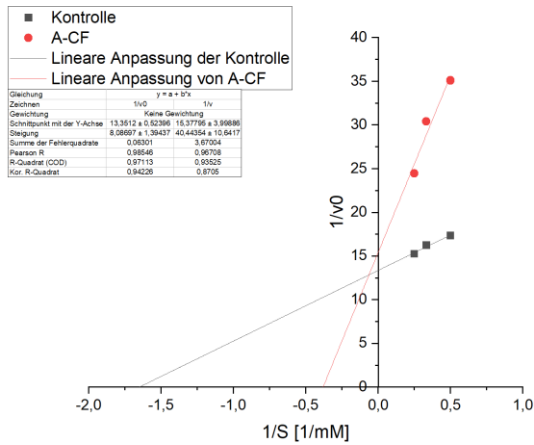
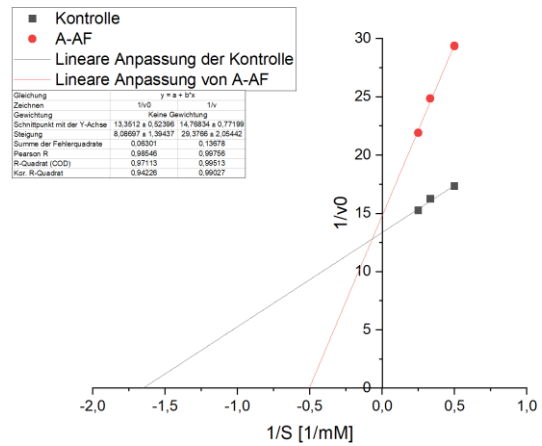
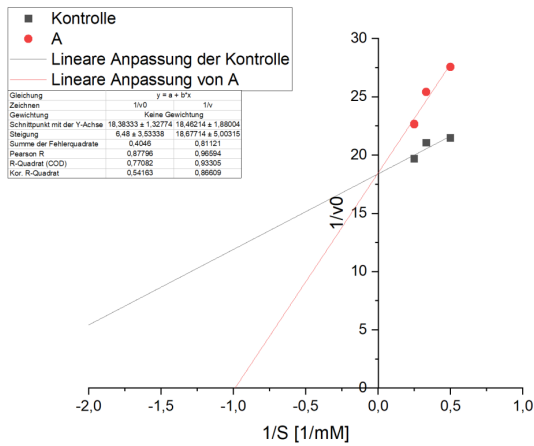
| Anthocyan                  | Inhibition [%]    |                       |                                |                        |
|----------------------------|-------------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------|
|                            | $\alpha$ -Amylase | $\alpha$ -Glucosidase | Glykogenphosphorylase $\alpha$ | Dipeptidylpeptidase IV |
| Cyanidin                   | -                 | 35,5 $\pm$ 2,4        | 90,6 $\pm$ 0,39                | 42,6 $\pm$ 5,4         |
| Cyanidin-3,5-diglucosid    | -                 | 4,97 $\pm$ 5,19       | 5,89 $\pm$ 3,20                | 41,2 $\pm$ 1,8         |
| Cyanidin-3-arabinosid      | 18,7 $\pm$ 1,2    | 5,48 $\pm$ 3,59       | 96,2 $\pm$ 4,6                 | 41,3 $\pm$ 3,3         |
| Cyanidin-3-galactosid      | -                 | 6,70 $\pm$ 3,30       | 26,1 $\pm$ 1,4                 | 58,9 $\pm$ 2,7         |
| Cyanidin-3-glucosid        | -                 | 7,77 $\pm$ 5,54       | 27,1 $\pm$ 1,6                 | 65,7 $\pm$ 1,8         |
| Cyanidin-3-rutinosid       | 7,62 $\pm$ 1,83   | 5,40 $\pm$ 1,87       | 12,4 $\pm$ 2,9                 | 61,9 $\pm$ 1,1         |
| Delphinidin-3,5-diglucosid | -                 | 4,92 $\pm$ 6,03       | 18,4 $\pm$ 3,8                 | 41,0 $\pm$ 4,9         |
| Delphinidin-3-galactosid   | -                 | 8,32 $\pm$ 1,70       | 15,6 $\pm$ 1,3                 | 56,3 $\pm$ 5,7         |
| Delphinidin-3-glucosid     | 12,6 $\pm$ 1,9    | 16,5 $\pm$ 1,3        | 39,6 $\pm$ 6,3                 | 55,3 $\pm$ 6,9         |
| Malvidin-3-glucosid        | 9,12 $\pm$ 5,58   | 8,30 $\pm$ 2,86       | 9,32 $\pm$ 2,40                | 60,5 $\pm$ 6,9         |
| Pelargonidin-3-glucosid    | -                 | 8,09 $\pm$ 0,92       | 5,32 $\pm$ 2,21                | 58,5 $\pm$ 4,9         |
| Peonidin-3-arabinosid      | -                 | 7,95 $\pm$ 2,58       | 12,2 $\pm$ 1,3                 | 56,8 $\pm$ 3,5         |
| Peonidin-3-glucosid        | 11,3 $\pm$ 0,5    | 9,39 $\pm$ 2,94       | 5,68 $\pm$ 0,61                | 52,7 $\pm$ 2,5         |
| Petunidin-3-glucosid       | 7,66 $\pm$ 2,46   | 11,2 $\pm$ 3,6        | 14,5 $\pm$ 2,5                 | 40,4 $\pm$ 5,5         |

### 10.7.2 Vergleich verschiedener Copigmente

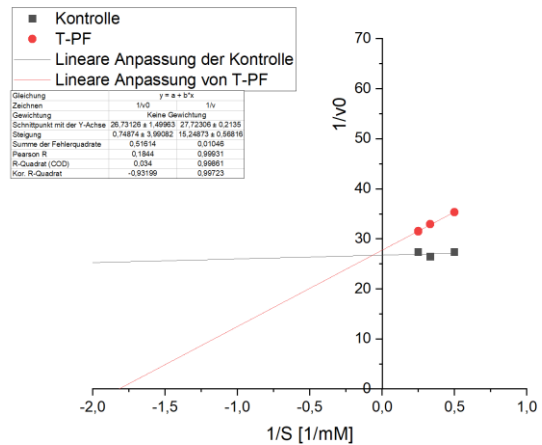
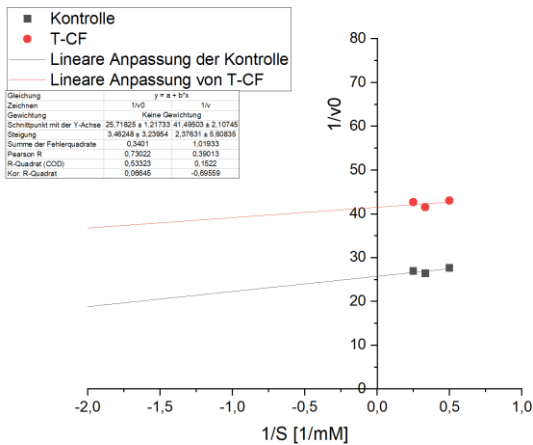
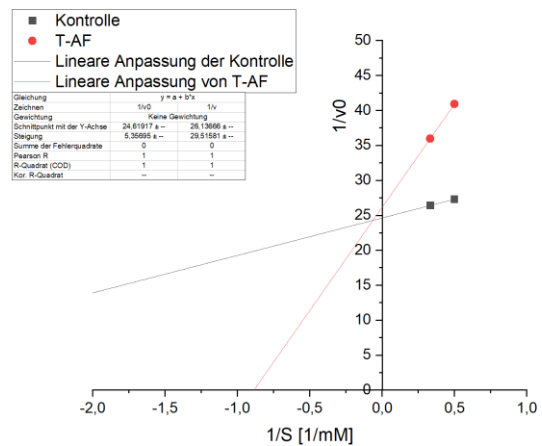
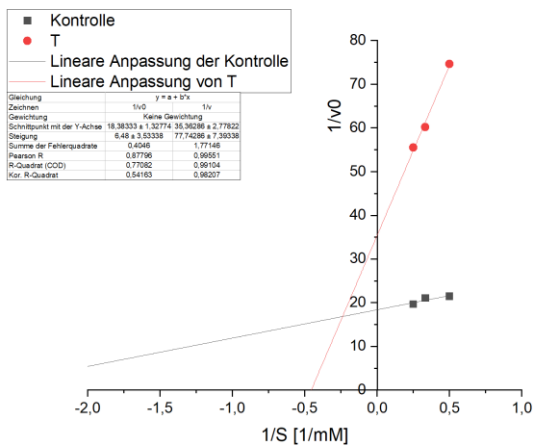
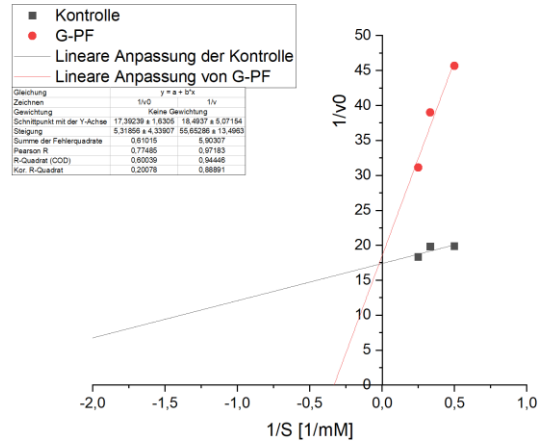
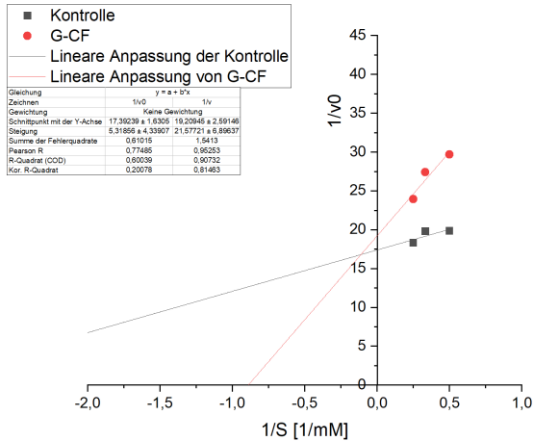
| Copigmente             | Inhibition [%]    |                       |                                |                        |
|------------------------|-------------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------|
|                        | $\alpha$ -Amylase | $\alpha$ -Glucosidase | Glykogenphosphorylase $\alpha$ | Dipeptidylpeptidase IV |
| 3-Caffeoylchinasäure   | 13,8 $\pm$ 1,4    | 3,64 $\pm$ 2,21       | 12,9 $\pm$ 2,1                 | 42,9 $\pm$ 3,3         |
| 4-Caffeoylchinasäure   | 16,0 $\pm$ 3,1    | 4,55 $\pm$ 3,33       | 9,52 $\pm$ 3,61                | 52,1 $\pm$ 3,9         |
| Caftarinsäure          | 11,5 $\pm$ 2,5    | 3,93 $\pm$ 3,29       | 4,36 $\pm$ 1,31                | 33,3 $\pm$ 12,7        |
| Chlorogensäure         | 20,3 $\pm$ 2,3    | 1,65 $\pm$ 3,15       | 12,9 $\pm$ 5,0                 | 40,4 $\pm$ 11,4        |
| Ellagsäure             | 10,9 $\pm$ 0,8    | 6,00 $\pm$ 0,79       | 86,5 $\pm$ 0,2                 | 72,5 $\pm$ 2,9         |
| Kaempferol-3-glucosid  | 30,2 $\pm$ 2,2    | 13,2 $\pm$ 0,7        | 21,5 $\pm$ 5,0                 | 59,6 $\pm$ 3,5         |
| Punicalagin            | 4,81 $\pm$ 2,59   | 11,5 $\pm$ 1,0        | 67,6 $\pm$ 4,9                 | 61,6 $\pm$ 0,9         |
| Punicalin              | 3,77 $\pm$ 0,16   | 8,71 $\pm$ 0,57       | 35,8 $\pm$ 6,9                 | 59,0 $\pm$ 4,5         |
| Quercetin-3-galactosid | 28,0 $\pm$ 0,9    | 8,34 $\pm$ 1,23       | 5,43 $\pm$ 1,94                | 59,3 $\pm$ 3,1         |

## 10.8 Ergebnisse der Kinetikmessungen

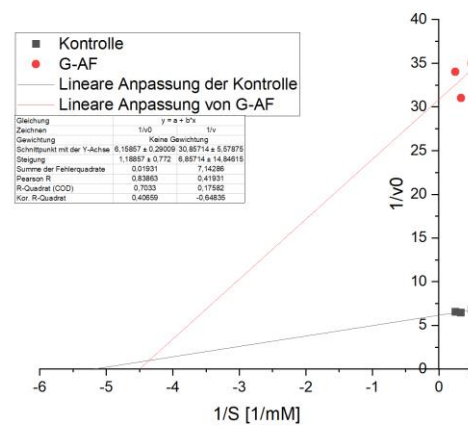
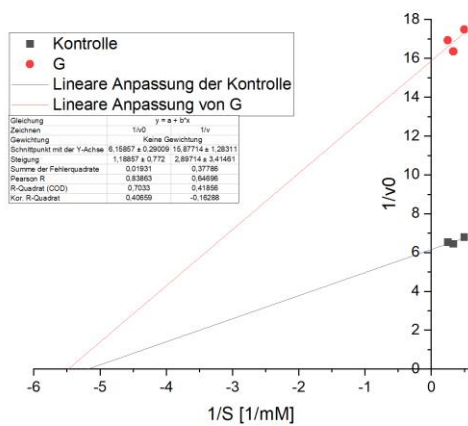
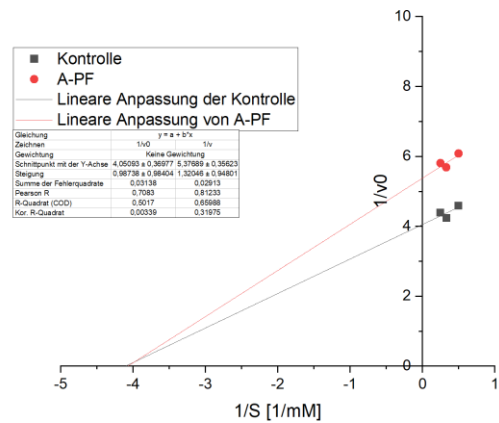
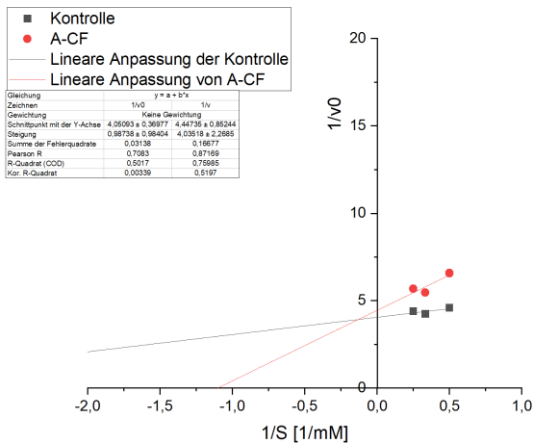
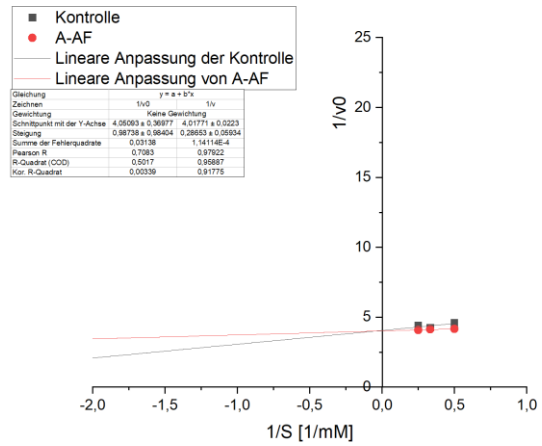
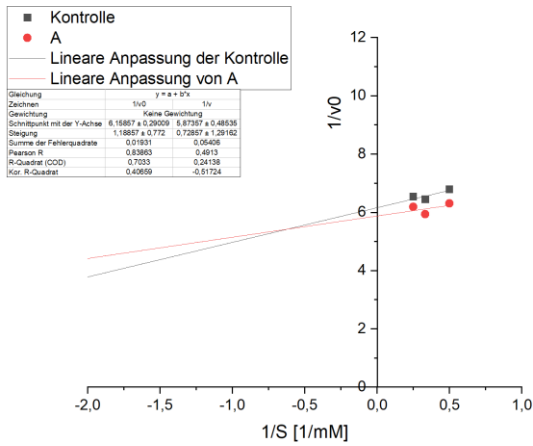
### 10.8.1 $\alpha$ -Amylase-Inhibitions-Assay



# Anhang

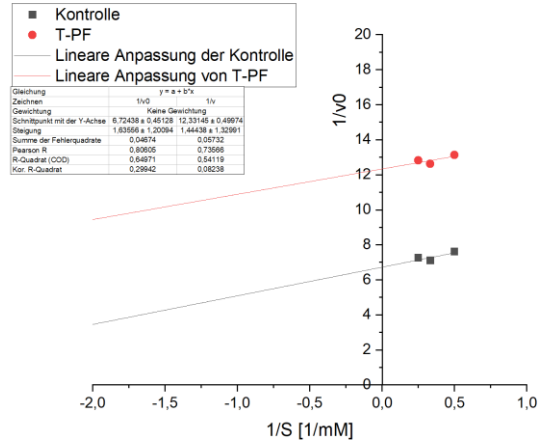
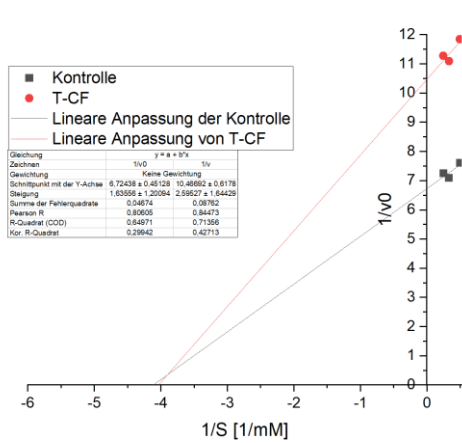
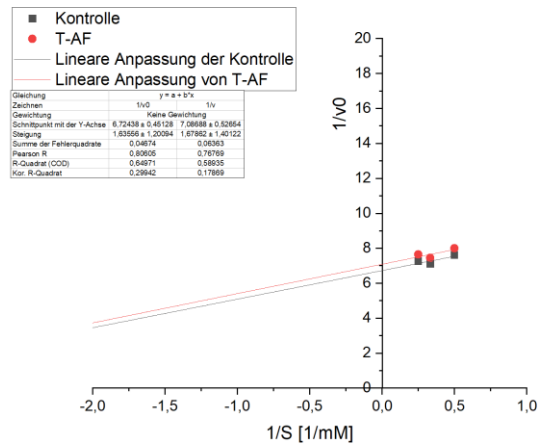
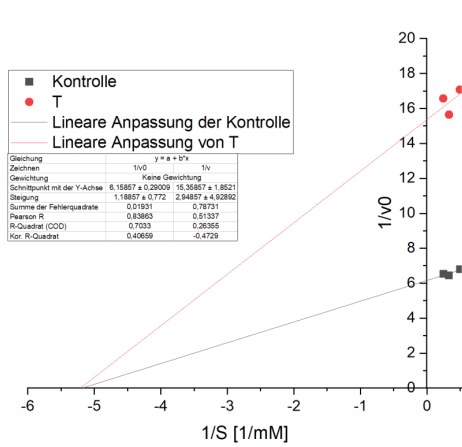
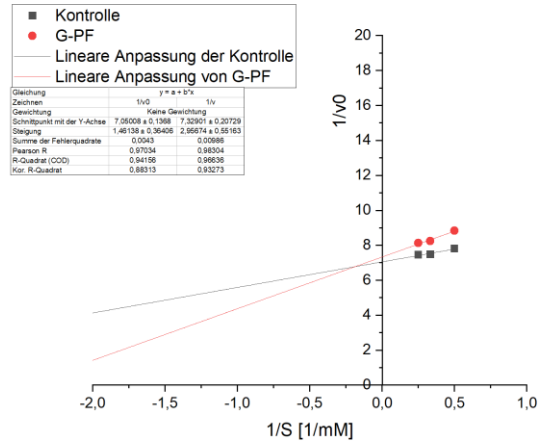
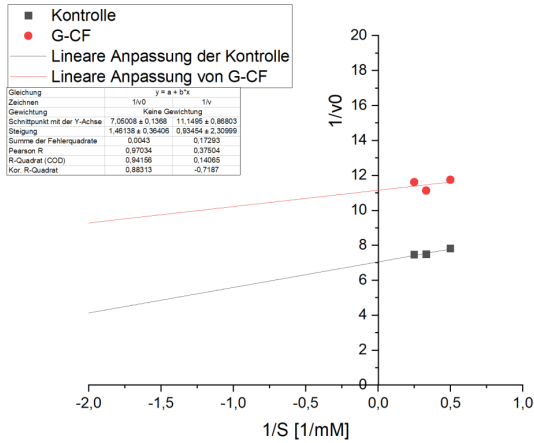


### 10.8.2 $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitions-Assay



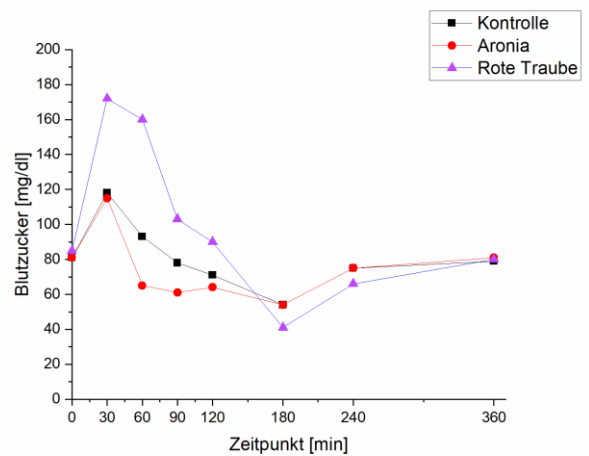
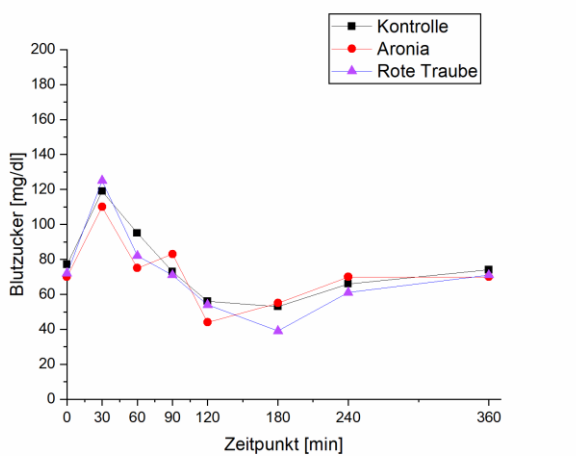
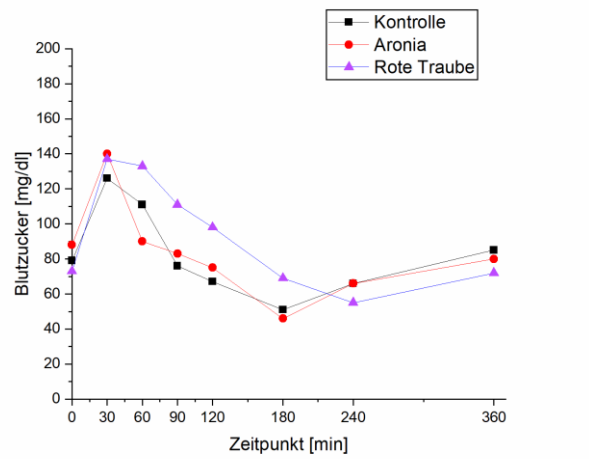
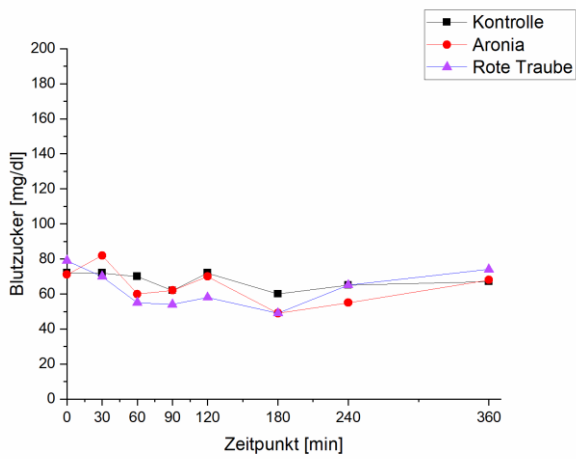
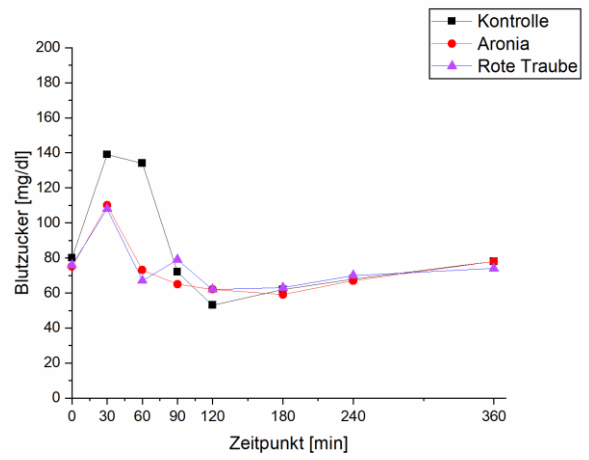
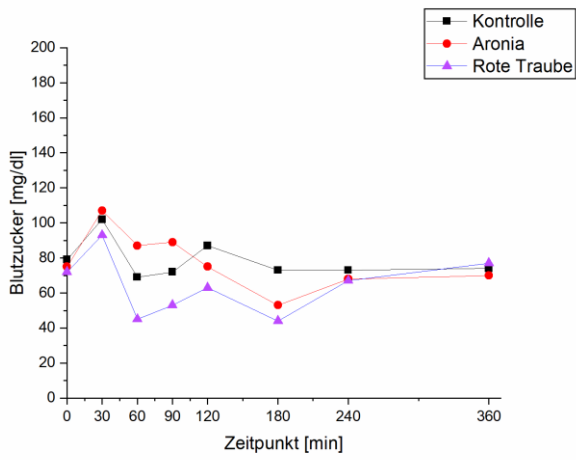


# Anhang

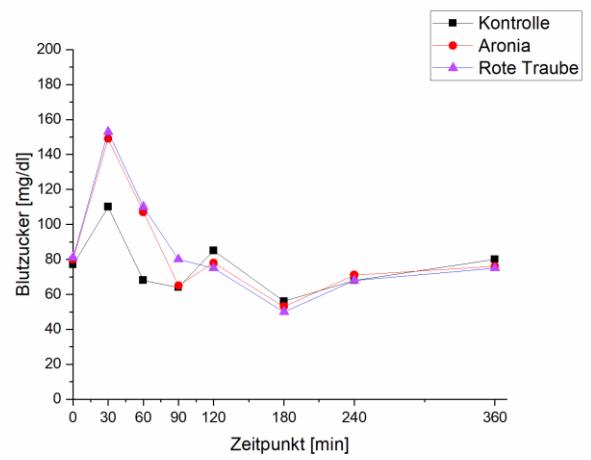
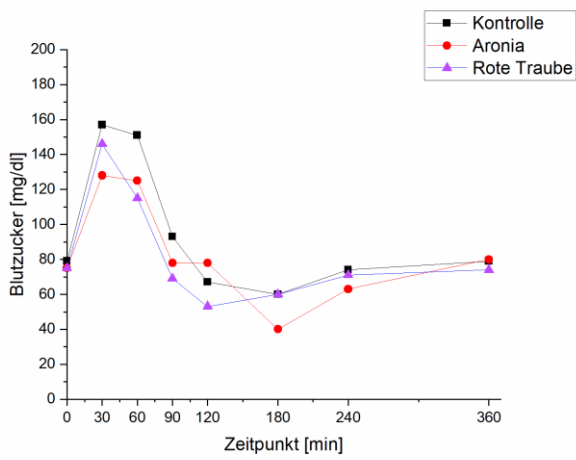
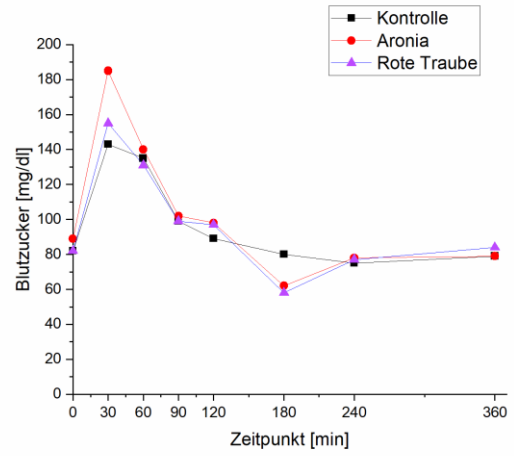
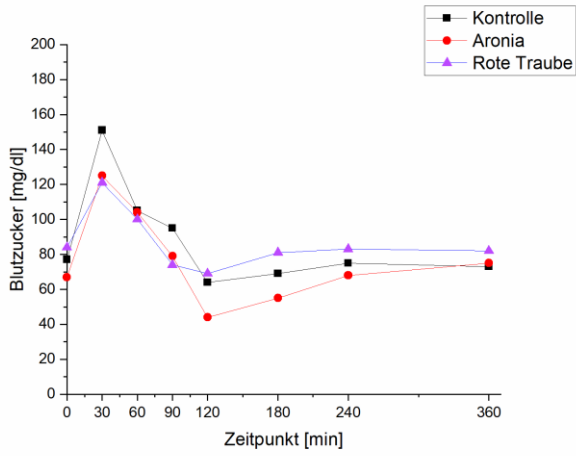


## 10.9 Ergebnisse der Humanstudie

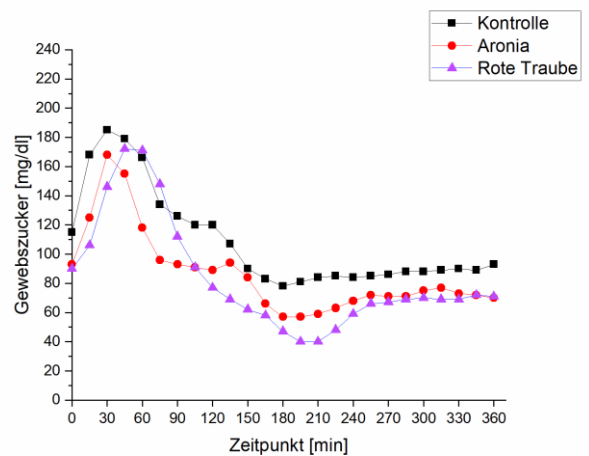
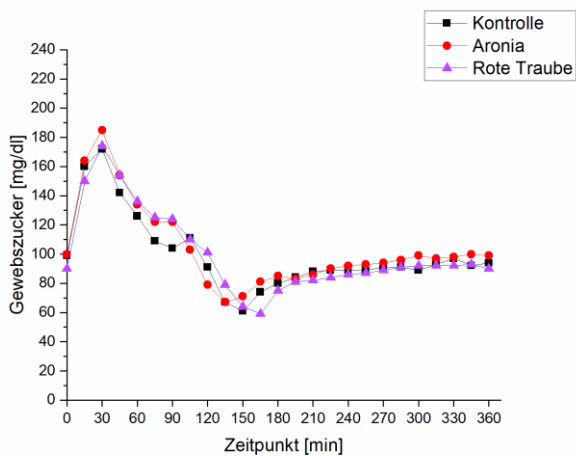
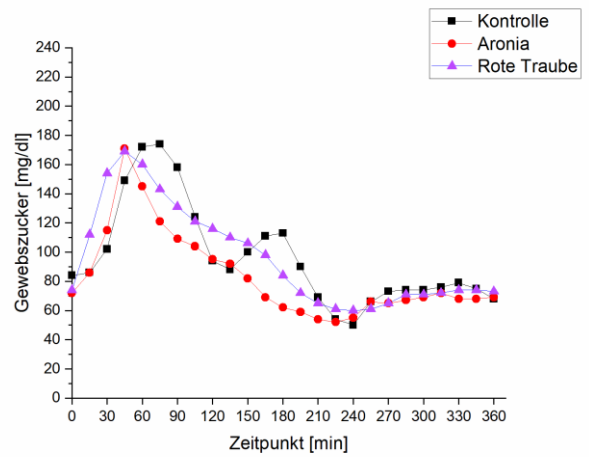
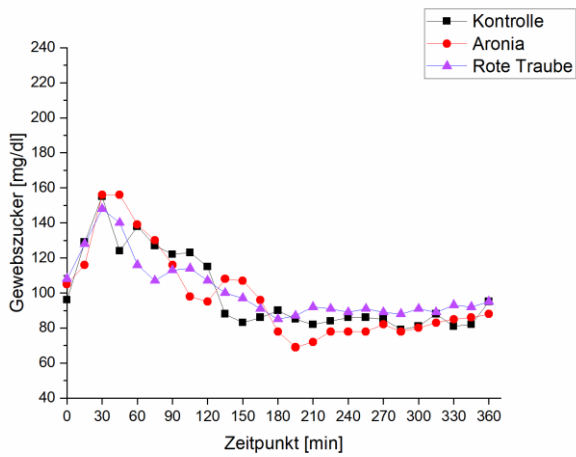
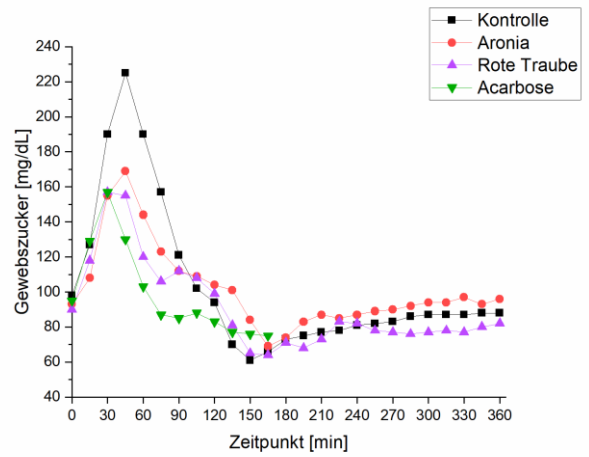
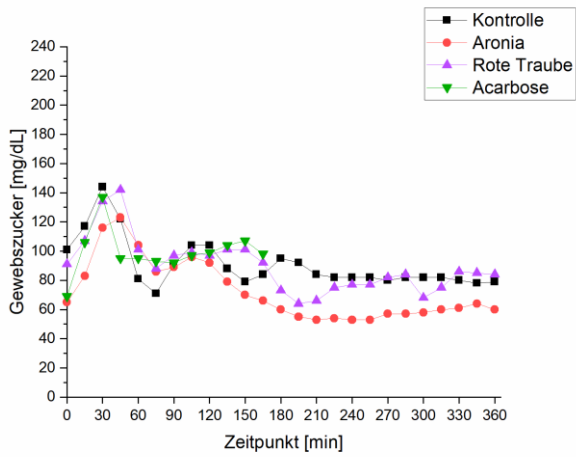
### 10.9.1 Einfluss auf den Blutglucosespiegel



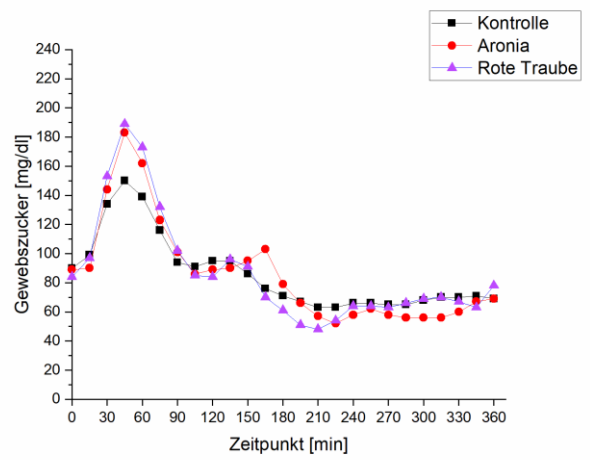
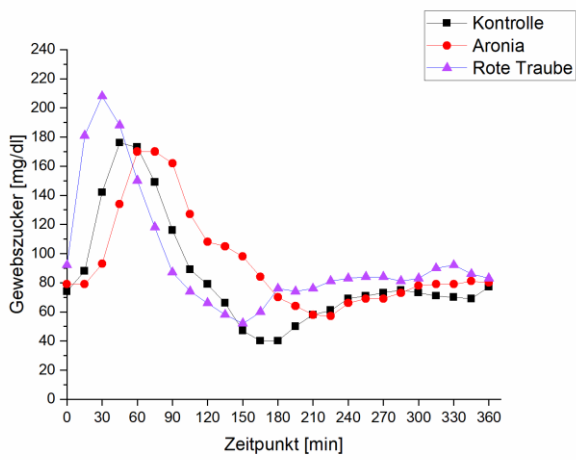
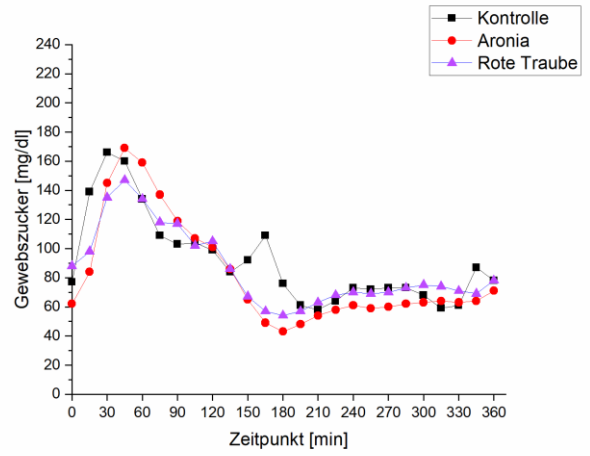
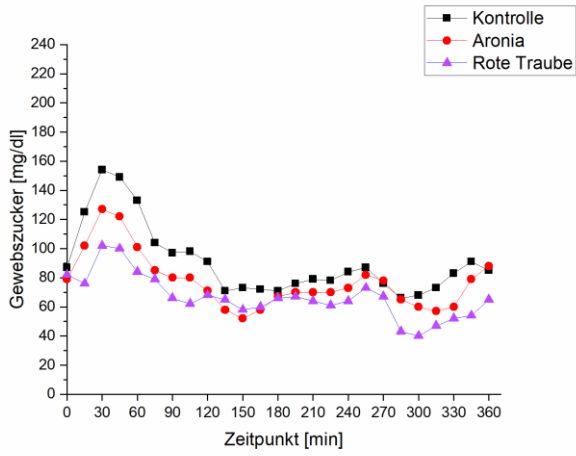
Anhang



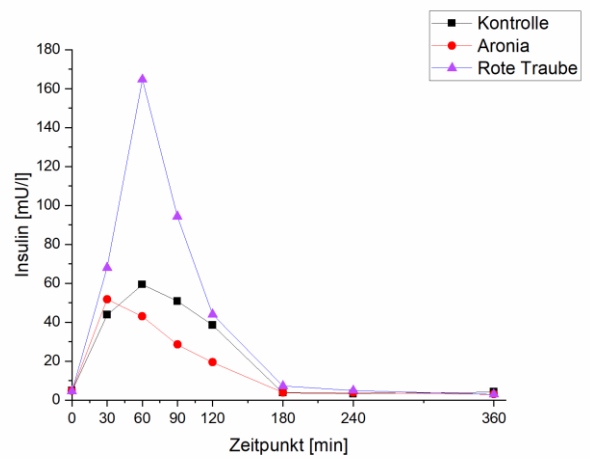
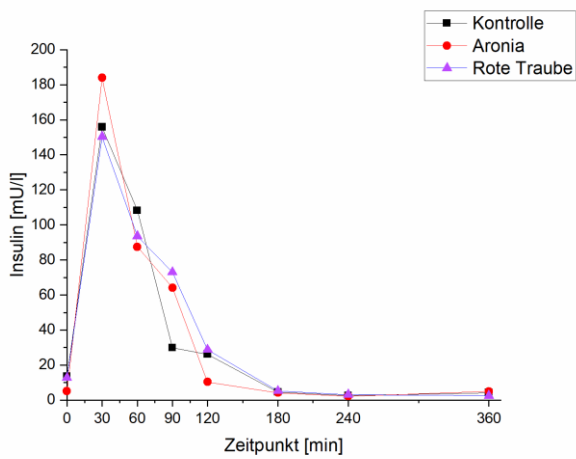
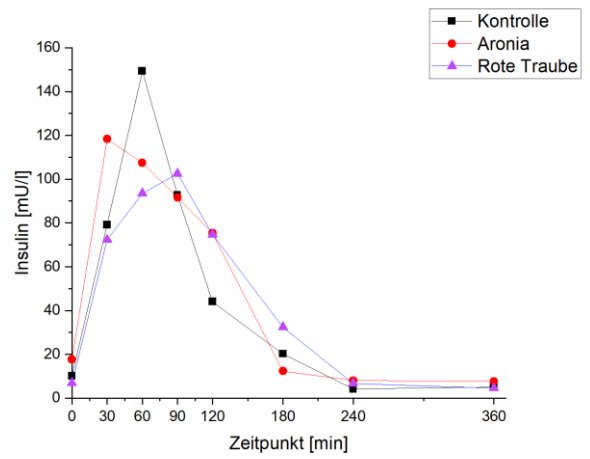
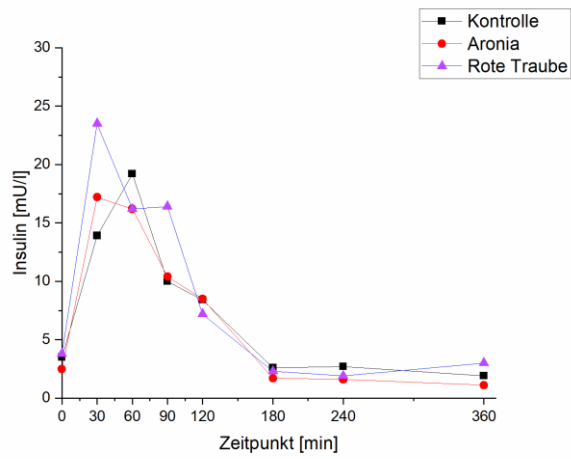
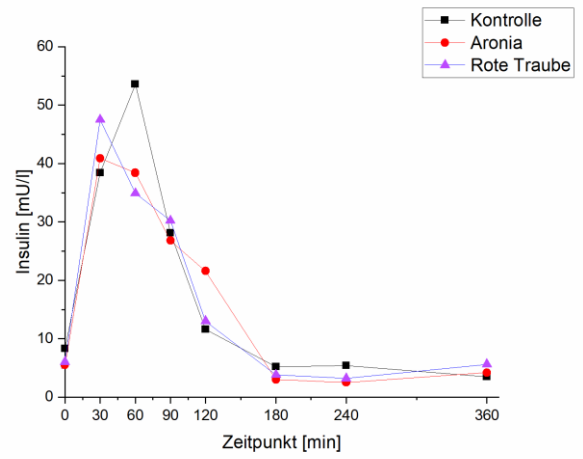
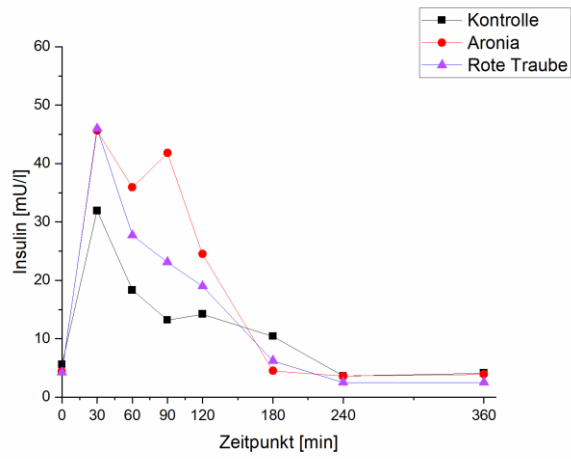
### 10.9.2 Einfluss auf den Gewebsglucosespiegel

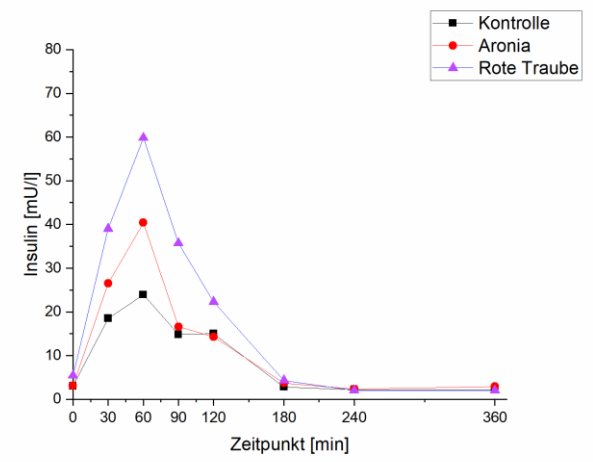
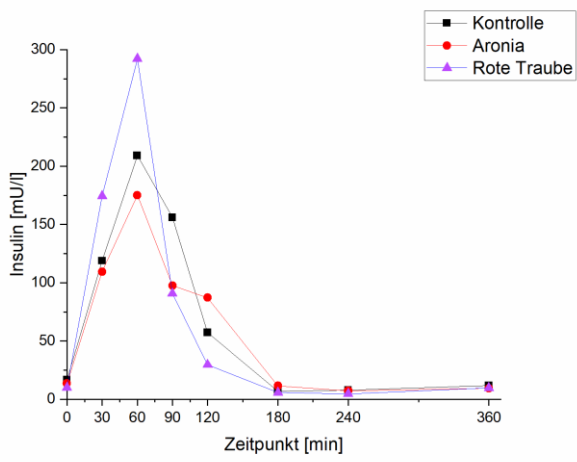
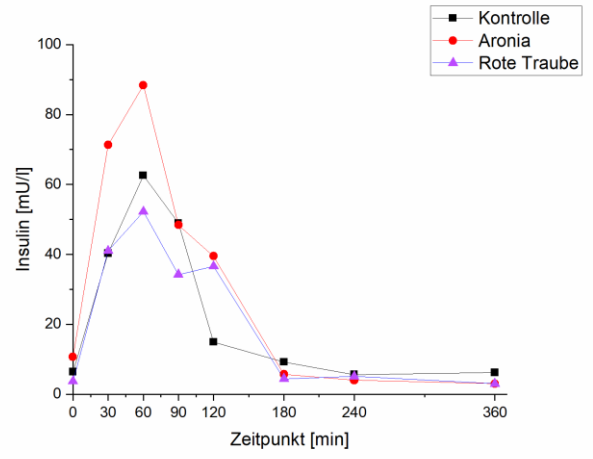
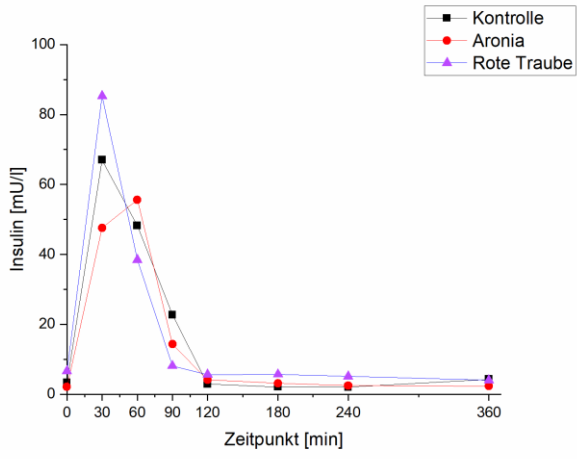


Anhang



### 10.9.3 Einfluss auf die Insulinkonzentration





## Danksagung

An erster Stelle möchte ich Frau Prof. Richling, die mir die Bearbeitung dieser Arbeit in ihrem Arbeitskreis ermöglicht hat, danken für die Betreuung, die hilfreichen Diskussionen und das entgegengebrachte Vertrauen.

Ich danke Herr Prof. Winterhalter für die Übernahme der Zweitkorrektur und die tolle, konstruktive Zusammenarbeit.

Außerdem danke ich Frau Apl. Prof. Hornung für die Übernahme des Prüfungskommissionvorsitzes. Weiterhin bedanke ich mich beim Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (via AiF), dem FEI (Forschungskreis der Ernährungsindustrie) und allen Mitgliedern des Projektbetreuenden Ausschusses (PbA) für die finanzielle Unterstützung und anregenden Diskussionen.

Außerdem danke ich Dr. med. Jens Galan, Karlos Kespohl und allen Probanden der Humanstudie für die erfolgreiche und reibungslose Durchführung.

Ein besonderer Dank geht an Josi. Unsere Zusammenarbeit war toll und mit dir gab es immer was zu lachen.

Bedanken möchte ich mich auch bei Tamara für ihre Hilfe bei der Organisation und Durchführung der Humanstudie sowie für ihr immer offenes Ohr und ihre guten Ratschläge.

Jonathan - Du warst der beste Büropartner, den ich mir wünschen konnte. Vielen Dank für alles!

Meinen Kolleginnen Christine, Daniela und Meike – Vielen Dank für die schöne Zeit, all die lustigen Momente, aber auch für die hilfreichen Diskussionen.

Großer Dank geht an meine Forschungspraktikanten Hannah, Vanessa, Heiko und Vera und meinen Hiwi Daniel.

Ingrid – Ich möchte mich für alles, was du getan hast (nicht nur für das Administrative), bei dir bedanken.

Außerdem danke ich allen Freunden, die mich auf meinem Weg begleitet und unterstützt haben.

Zum Schluss bedanke ich mich bei meinen Eltern. Ihr habt mir immer den Rücken freigehalten und an mich geglaubt. Ohne euch hätte ich es nicht geschafft!



# Lebenslauf

## Beruflicher Werdegang

seit 08/2020                      Specialist Global Quality Operations NonPharma, STADA Arzneimittel  
AG, Bad Vilbel

## Ausbildung

05/2019 – 04/2020              Ausbildung zur staatlich geprüften Lebensmittelchemikerin,  
Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, Trier und Mainz, Abschluss:  
2. Staatsexamen

04/2016 – 04/2019              Dissertation, Technische Universität Kaiserslautern, Kaiserslautern

10/2010 – 03/2016              Studium der Lebensmittelchemie, Technische Universität Kaiserslautern,  
Kaiserslautern, Abschluss: 1. Staatsexamen und Diplom

## Schulbildung

08/2001 – 03/2010              Allgemeine Hochschulreife, Max-Planck-Gymnasium, Ludwigshafen am  
Rhein

## Veröffentlichungen

### Publikationen

**K. Berger**; J.J. Ostberg-Potthoff; T. Bakuradze; P. Winterhalter; E. Richling (2021): Blood Glucose Lowering Effect by an Extract from Aronia (*Aronia melanocarpa*) – a pilot intervention study, *Current Nutraceuticals* 2 (3), S. 223 - 229. DOI: 10.2174/2665978602666210709103232

**K. Berger**; J.J. Ostberg-Potthoff; T. Bakuradze; P. Winterhalter; E. Richling (2020): Carbohydrate Hydrolase-Inhibitory Activity of Juice-Based Phenolic Extracts in Correlation to Their Anthocyanin/Copigment Profile, *Molecules* 25 (22), S. 5224. DOI: 10.3390/molecules25225224.

J.J. Ostberg-Potthoff; **K. Berger**; E. Richling; P. Winterhalter (2019): Activity-guided Fractionation of Red Fruit Extracts for the Identification of Compounds Influencing Glucose Metabolism, *Nutrients* 11 (5). DOI: 10.3390/nu11061166.

**K. Berger**; J.J. Ostberg-Potthoff; T. Bakuradze; P. Winterhalter; E. Richling (2019): Untersuchung der blutzuckersenkenden Wirkung ausgewählter Fruchtsaftextrakte im Rahmen einer humanen Interventionsstudie, *Lebensmittelchemie* 73 (3), S. 69.

J.J. Ostberg-Potthoff; **K. Berger**; T. Bakuradze, E. Richling, P. Winterhalter (2018): Aktivitätsgeleitete Fraktionierung von Fruchtsaftextrakten zur Identifizierung von Wirkstoffen zur Beeinflussung der Glucoseresorption im Menschen, *Lebensmittelchemie* 72 (1), S. 13.

**K. Berger**; J.J. Ostberg-Potthoff; T. Bakuradze; P. Winterhalter; E. Richling (2017): Einfluss von Extrakten aus roten Buntsäften auf die  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität *in vitro*, *Lebensmittelchemie* 71 (5), S. 144 - 145.

### Diskussionsvorträge

**K. Berger**, J.J. Ostberg-Potthoff, T. Bakuradze, P. Winterhalter, E. Richling; Untersuchung der blutzuckersenkenden Wirkung ausgewählter Fruchtsaftextrakte im Rahmen einer humanen Interventionsstudie. *Regionalverbandstagung Südwest* in Hohenheim, 05. – 06.03.2019.

**K. Berger**, J.J. Ostberg-Potthoff, P. Winterhalter, E. Richling; Activity guided fractioning of red fruit juices for the identification of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors *in vitro*. International Society of Antioxidants in Nutrition and Health (ISANH), *12<sup>th</sup> World Congress on Polyphenols Applications* in Bonn, 25. – 28.09.2018.

**K. Berger**, J.J. Ostberg-Potthoff, T. Bakuradze, P. Winterhalter, E. Richling; Einfluss von Extrakten aus roten Buntsäften auf die  $\alpha$ -Amylase- und  $\alpha$ -Glucosidase-Aktivität *in vitro*. *Regionalverbandstagung Südwest* in Sigmaringen, 07. – 08.03.2017.

## Posterbeiträge

**K. Berger**, J.J. Ostberg-Potthoff, T. Bakuradze, P. Winterhalter, E. Richling; Einfluss ausgewählter Fruchtsaftextrakte auf den Glucosestoffwechsel *in vitro*. *46. Deutscher Lebensmittelchemikertag* in Würzburg, 25. – 27.09.2017.

**K. Berger**, J.J. Ostberg-Potthoff, T. Bakuradze, P. Winterhalter, E. Richling; Aktivitätsgeleitete Fraktionierung von Fruchtsaftextrakten zur Identifizierung von Wirkstoffen zur Beeinflussung des Glucosestoffwechsels (AiF 18506 N). *FEI-Jahrestagung 2017* in Hohenheim, 04. – 06.09.2017.

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und die für die Arbeit genutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben habe.

Kaiserslautern, den