

M. Xiong, C. Deser, M. Buchweitz

## Untersuchungen zur Interaktion ernährungsrelevanter Polyphenole mit Verdauungsenzymen mittels isothermer Titrationskalorimetrie

### Einleitung

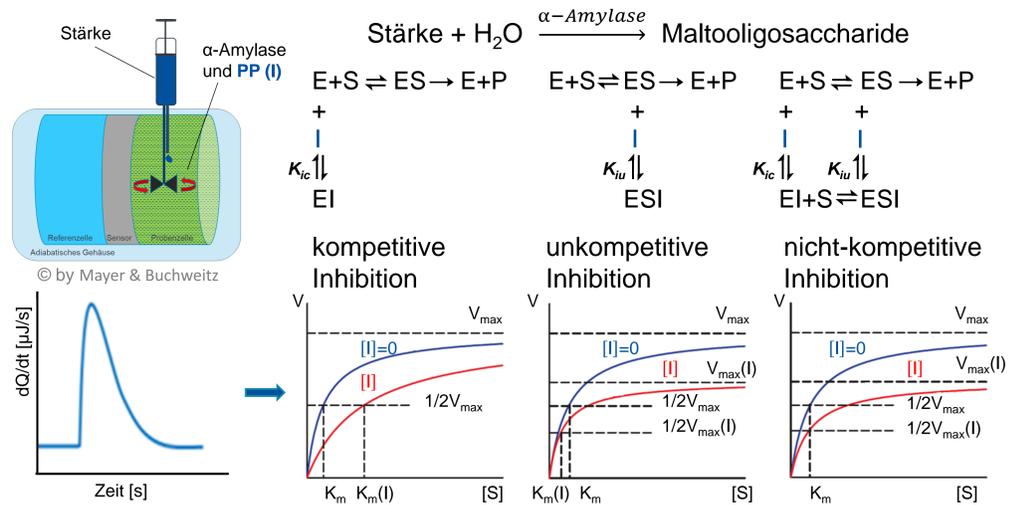
Laut der *International Diabetes Federation* litten im Jahr 2021 weltweit etwa 537 Millionen Menschen an Diabetes mellitus und Schätzungen zufolge soll die Zahl bis 2045 auf 783 Millionen steigen, wobei die überwiegende Anzahl von Diabetes mellitus Typ 2 betroffen ist.<sup>[1]</sup> Epidemiologische Studien weisen auf einen positiven Einfluss pflanzlicher Nahrung zur Vermeidung der Entwicklung von Diabetes mellitus Typ 2 hin. Für Polyphenole (PP) wird eine Hemmwirkung auf die intestinalen  $\alpha$ -Amylase und somit eine Verminderung der Blutzuckerspitzen nach Aufnahme von Nahrung postuliert. Insbesondere Äpfel, welche reich an diesen strukturell sehr unterschiedlichen, wasserlöslichen sekundären Pflanzenstoffe sind, können daher zu einem verringerten Risiko für die Entwicklung von Diabetes mellitus Typ 2 beitragen.<sup>[2]</sup> Die üblicherweise genutzten Enzymaktivitätsassays zur Untersuchung der Hemmung von  $\alpha$ -Amylase werden oft mit artifiziellen Substraten durchgeführt. Dies ist nicht nur aufwendig sondern auch auf klare und farblose Inhibitoren beschränkt. Im Gegensatz dazu erlaubt die isotherme Titrationskalorimetrie Untersuchungen zur Umsetzung des natürlichen Substrats Stärke in Gegenwart verschiedenster Inhibitoren und pflanzlicher Extrakte.

### Zielsetzung

- Bestimmung des Hemmmechanismus und der Hemmstärke von apfelrelevanten Polyphenolen auf  $\alpha$ -Amylase unter Einsatz des natürlichen Substrats Stärke.

### Methoden

#### Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC)<sup>[3,4]</sup>



$$\frac{dQ}{dt} = \frac{dP}{dt} V_{cell} \Delta_R H_{app}$$

$$\Delta_R H_{app} = \frac{\int_{t=0}^{\infty} \frac{dQ}{dt} dt}{n_s}$$

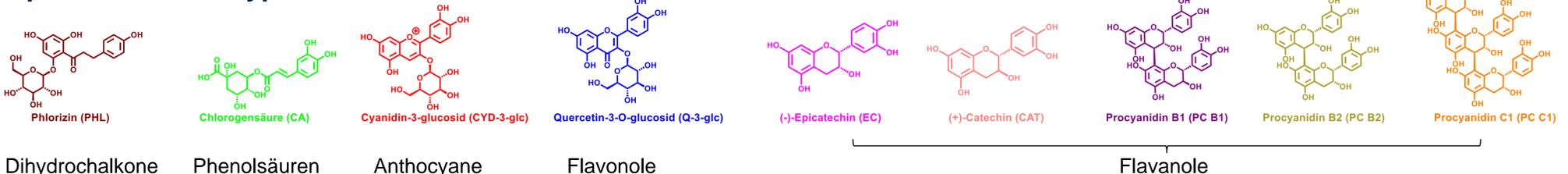
$$K_{ic} = \frac{V_{max}^{app}/K_m^{app}[I]}{V_{max}^{app}/K_m^{app} - V_{max}^{app}/K_m^{app}}$$

$$[S]_t = \frac{\int_0^{\infty} \frac{dQ}{dt} dt}{\int_0^{\infty} \frac{dQ}{dt} dt} [S]_{t=0}$$

$$K_{iu} = \frac{V_{max}^{app} [I]}{V_{max}^{app} - V_{max}^{app}}$$

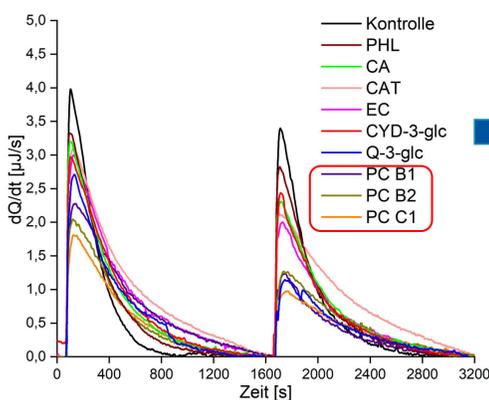
$$IC_{50} = \frac{(K_m + [S])}{\left(\frac{K_m}{K_{ic}}\right) + \left(\frac{[S]}{K_{iu}}\right)}$$

### Apfelrelevante Polyphenole

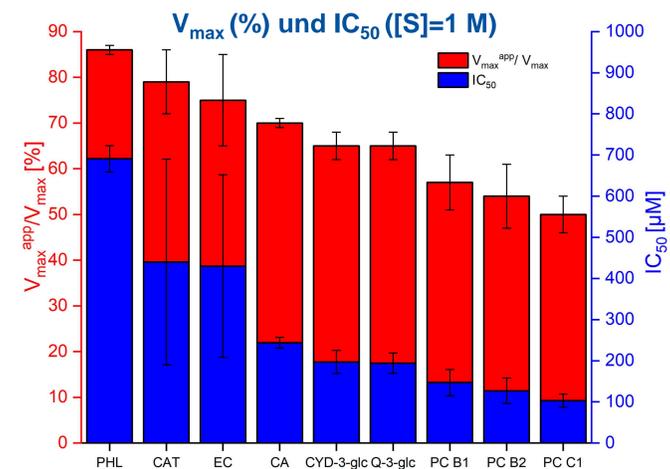
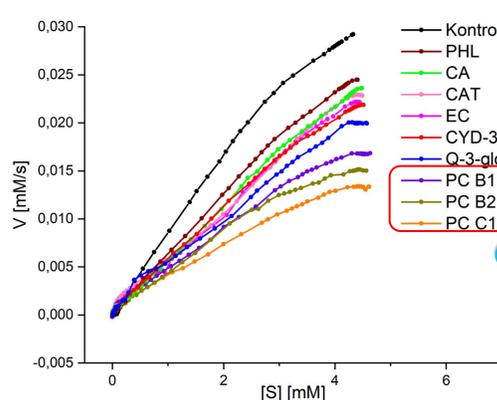


### Ergebnisse

#### Thermogramm aus ITC



#### Auftragung von V gegen Substratkonzentration



PP	$K_{ic}$ [ $\mu$ M]	$K_{iu}$ [ $\mu$ M]	$K_{iu}/K_{ic}$
PHL	520 $\pm$ 41	691 $\pm$ 32	1,3 $\pm$ 0,0
CAT	397 $\pm$ 217	440 $\pm$ 250	1,2 $\pm$ 0,5
EC	343 $\pm$ 166	430 $\pm$ 222	1,3 $\pm$ 0,2
CA	201 $\pm$ 33	244 $\pm$ 13	1,2 $\pm$ 0,1
CYD-3-glc	171 $\pm$ 20	197 $\pm$ 28	1,2 $\pm$ 0,3
Q-3-glc	138 $\pm$ 28	194 $\pm$ 25	1,4 $\pm$ 0,1
PC B1	103 $\pm$ 43	147 $\pm$ 32	1,4 $\pm$ 0,3
PC B2	122 $\pm$ 39	127 $\pm$ 31	1,1 $\pm$ 0,1
PC C1	94 $\pm$ 26	103 $\pm$ 16	1,1 $\pm$ 0,2

#### Hemmstärke:

➤ PC C1 > PC B2, PC B1 > Q-3-glc ~ CYD-3-glc > CA >> EC, CAT > PHL

#### Schlussfolgerung

- Alle PP zeigen eine nicht-kompetitive Inhibition mit einem höheren Anteil an kompetitiver Hemmung.
- PC C1, PC B2, PC B1 sind stärkste Inhibitoren.
- Flavanole entwickeln eine stärkere Hemmwirkung mit zunehmendem Polymerisationsgrad.

#### Ausblick

- ➔ Bestimmung des Wechselwirkungsmechanismus und der Wechselwirkungsstärke von apfelrelevanten Polyphenolen mit  $\alpha$ -Amylase.
- ➔ Hemmwirkung komplexer Polyphenolextrakte aus verschiedenen Apfelsorten.

### Referenzen

[1] IDF Diabetes Atlas 10th edition, *IDF*. 2021, <https://www.diabetesatlas.org>. [2] Boyer et al., *Nutr J*. 2004, 3, 5. [3] Wang et al., *Front. Mol. Biosci*. 2020, 7, 583826. [4] M. Völker, Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, 2013, 42 und 46.

Kontakt: mengyao.xiong@lc.uni-stuttgart.de

Nachwuchsgruppe von Dr. Maria Buchweitz: Polyphenol - Matrix Interaktionen  
Gefördert durch das Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg, die Dr. Leni Schöninger Stiftung und Fonds der chemischen Industrie.