

# Das Vitamin-C-Analogon 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-Ascorbinsäure in Früchten aus der Familie Solanaceae (Nachtschattengewächse)

Carole Bubloz, Isabelle Udrisard, Wilfried Andlauer

## Abstract

Goji-Beeren aus der Familie der Nachtschattengewächse (*Solanaceae*) werden in der traditionellen Chinesischen Medizin (TCM) aufgrund ihrer bioaktiven Inhaltsstoffe eingesetzt. Überwiegend sind dies Antioxidanzien wie z. B. Ascorbinsäure. Aktuell wurde das Ascorbinsäure-Analogon 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-Ascorbinsäure in Goji-Beeren nachgewiesen. Im Tierversuch (Ratten) wurde dieses Analogon nachweislich in intakter Form und als freie Ascorbinsäure aufgenommen und daher als Provitamin C bezeichnet. Da die Synthese dieses Vitamin-C-Analogons wenig erfolgversprechend ist, gilt das Interesse verlässlichen natürlichen Quellen. Bislang ist über das Vorkommen des Analogons in anderen Vertretern der Nachtschattengewächse wenig bekannt. Die vorliegende Untersuchung analysiert die Gehalte in Kirschtomaten, Kapstachelbeere, verschiedenen Auberginen-Sorten und grünen Peperoni. Überraschenderweise wurde 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-Ascorbinsäure in allen untersuchten Früchten nachgewiesen, wenn auch in deutlich niedrigeren Gehalten als in Goji-Beeren. Damit wurde 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-Ascorbinsäure erstmals in weiteren Nachtschattengewächsen nachgewiesen.

**Schlüsselwörter:** Solanaceae, Nachtschattengewächse, Früchte, 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-Ascorbinsäure, Ascorbinsäure-Analogon, Vitamin-C-Analogon

## Zitierweise

Bubloz C, Udrisard I, Andlauer W: The vitamin C analogue 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid in fruits from the Solanaceae family. *Ernaehrungs Umschau* 2020; 67(8): 156–9.

The English version of this article is available online:

DOI: 10.4455/eu.2020.034

## Peer-Review-Verfahren

Manuskript (Original) eingereicht: 19.08.2019

Überarbeitung angenommen: 30.01.2020

## Korrespondierender Autor

Wilfried Andlauer

HES-SO Valais Wallis, Institute of Life Technologies, University of Applied Sciences and Arts Western Switzerland

Route du Rawyl 47, CH-1950 Sion, Switzerland

Wilfried.andlauer@hevs.ch

## Einleitung

Goji-Beeren (*Lycium* spp.) aus der Familie der Nachtschattengewächse (*Solanaceae*) werden seit Jahrhunderten aufgrund ihrer bioaktiven Inhaltsstoffe in der traditionellen Chinesischen Medizin (TCM) eingesetzt [1]. Meist handelt es sich dabei um Antioxidanzien wie Ascorbinsäure (*ascorbic acid*, AA), welche Proteine und Nukleinsäuren vor oxidativer Schädigung schützen können. Auch andere Nachtschattengewächse sind für ihre Gehalte an Antioxidanzien bekannt. Toor et al. [2] zeigten für Tomaten eine antioxidative Eigenschaft, die teilweise auf dem Ascorbinsäure-Gehalt beruht. Auch für Kapstachelbeeren [3], Peperoni [4, 5] und verschiedene Sorten der Aubergine [6] wurden antioxidative Eigenschaften nachgewiesen.

Aktuell richtet sich das Interesse auf 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-Ascorbinsäure (2- $\beta$ -gAA), ein stabiles AA-Analogon und zugleich einer der biologisch aktiven Hauptinhaltsstoffe der Goji-Beere [7]. Es zeigt antioxidative Eigenschaften und schützt vor oxidativem Stress [8, 9]. Toyoda-Ono et al. fanden erhöhte Spiegel von AA und intaktem 2- $\beta$ -gAA im Portalvenenblut von Ratten, wenn diese das Analogon oral aufnahmen [10]. Nach diesen Untersuchungen erhält 2- $\beta$ -gAA den AA-Spiegel im Gewebe der Ratten aufrecht und wirkt insofern als Provitamin C. Toyoda-Ono et al. sehen daher 2- $\beta$ -gAA als ein stabiles AA-Analogon für den klinischen Einsatz an. Da weder die chemische noch die enzymatische Synthese von 2- $\beta$ -gAA rentabel ist [11, 12], gilt das Interesse verlässlichen natürlichen Quellen. In Goji-Beeren wurde der Gehalt an 2- $\beta$ -gAA intensiv untersucht [12–15]. Bis auf einige nicht erfolgreiche Untersuchungen wurde allerdings das Auftreten der Substanz in anderen Nachtschattengewächsen bislang nicht bestätigt.

Ziel der vorliegenden Studie ist die Ermittlung der Gehalte an 2- $\beta$ -gAA in Obst/Gemüse aus der Familie der Nachtschattengewächse. Untersucht



Abb. 1: Die Nachtschattengewächse Kapstachelbeere, weiße Thai-Aubergine, Türkenbeere und Peperoni-Arten wurden auf ihre 2- $\beta$ -gAA-Gehalte untersucht.

wurden Kirschtomaten (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), Kapstachelbeere (*Physalis peruviana*), Auberginen-Sorten wie die „weiße Thai-Aubergine“ (*Solanum xanthocarpum*) und Pea-Auberginen, auch Türkenbeere genannt (*Solanum torvum*), sowie verschiedene Peperoni-/Chili-Arten (*Capsicum annum*) (♦ Abbildung 1).

## Material und Methoden

### Material

Kapstachelbeeren (Herkunftsland: Kolumbien), rote Kirschtomaten (Italien) wurden im örtlichen Supermarkt erworben, rote Chili und grüne Peperoni (beide Vietnam) sowie die Auberginen-Sorten (beide Thailand) im örtlichen China-Markt. Die Kapstachelbeeren wurden unmittelbar nach dem Kauf analysiert, die anderen Früchte bis zur Analyse (maximal 12 Stunden) bei 4 °C gekühlt aufbewahrt.

### Reagenzien

Reagenzien nachstehender Hersteller kamen zum Einsatz: Ascorbinsäure AA (Fluka Analytical, Damstadt), Dithiolthreitol (DTT) (PanRec AppliChem, Damstadt), Schwefelsäure (Acros Organic, Geel, Belgien). Acetonitril für HPLC (Macron Fine Chemicals Avantor, Ankara, Türkei), Ameisensäure (Sigma Aldrich, Buchs, Schweiz). Deionisiertes Wasser wurde mit dem Milli-Q-System gewonnen. 200 mg DTT wurden in 5 mmol/L wässriger Schwefelsäure gelöst. DTT schützt AA vor Oxidation, die wässrige Schwefelsäure diente auch als Eluent für die Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC).

### Homogenisierung der Probe

Eine frische Kapstachelbeere ohne Kelch wurde für 1 Min bei 9 500 Umdrehungen/Min mit 5 mL DTT-Lösung homogenisiert (Ultraturax T25, IKA, Staufen, Deutschland), das entspricht 4 g Probe auf 20 mL Lösung. Zur Aufbereitung des Kapstachelbeer-Kelches kam ebenfalls der Ultraturax zum Einsatz (2 Min, 9 500 Umdrehungen/Min, 20 mL DTT-Lösung), das entspricht 600 mg/20 mL. Bei den Kirschtomaten (13 g/20 mL) kam der Ultraturax mit 20 500 Umdrehungen/Min für 2 min mit dem gleichen Volumen DTT-Lösung zum Einsatz. Von den Chilifrüchten und Auberginen wurden vor der weiteren Aufbereitung die Fruchtstiele entfernt. Die Chilifrüchte (rot: 2 g/20 mL; grün 1 g/20

mL) wurden im Ultraturax 3 Min bei 2 000 Umdrehungen/Min, die Auberginen (1 g/20 mL) bei 13 500 Umdrehungen/Min jeweils 2 Min behandelt. Für die Extraktion der weißen Thai-Auberginen (20 g/20 mL) wurde bei 20 500 Umdrehungen/Min 3 Min jeweils mit 10 mL DTT-Lösung behandelt. Um optimale Homogenisierung zu erreichen, wurden die Umdrehungszahl des Mixers und die Menge der DTT-Lösung an die jeweilige Probenmatrix angepasst (mehr Lösung bei trockener Matrix).

### Extraktion

Die Extraktion von AA und 2- $\beta$ -gAA erfolgte nach der Methode von Toyodo-Ono et al. [12] mit den von Kosińska-Cagnazzo et al. [7] vorgeschlagenen Änderungen: Die homogenisierte Probe wurde mit Ultraschall behandelt (10 Min mit 35 kHz, VWR, Dietikon, Schweiz). Nach 15 Min Zentrifugation bei 2 800 g (NUVE, Ankara, Türkei), wurde der Überstand abgenommen. Zum Zentrifugations-Pellet wurden 2,5 mL DTT-Lösung hinzugegeben und im Vortex genius 3 (IKA, Chavannes-de-Bois, Schweiz) durchmischt. Für die Proben der weißen Aubergine und des Kelchmaterials kamen aufgrund der trockeneren Matrix 5 bzw. 10 mL Lösung zum Einsatz. Das Zentrifugationspellet wurde 2-mal unter gleichen Bedingungen extrahiert und die Zentrifugations-Überstände der jeweiligen Proben vereint und auf 20 mL Lösungsvolumen eingestellt (20 bzw. 50 mL im Falle der weißen Aubergine und des Kelchmaterials). Nach Filtration (0,45  $\mu$ m Nylon-Spritzenfilter ChromafilR, Machery-Nagel, Düren) wurden die Extrakte unmittelbar mittels HPLC analysiert.

### HPLC-Analyse

Zum Einsatz kam ein Agilent 1220 Infinity series Flüssig-Chromatograph (Agilent Technologies,

CA, USA) mit Auto-Sampler, Binärpumpe und einem G4294B UV-DAD Detektor (Agilent Technologies 110 Series, Agilent Technologies, CA, USA). Die Methode ist bei [13] beschrieben. 5  $\mu$ L Probe wurden auf eine Amino-Säule gegeben (Aminex HPX-87H Ion exclusion, 300  $\times$  7,8 mm i.d., particle size 5  $\mu$ m, Bio-Rad, Hercules, CA, USA), die mit einer Vorsäule (30  $\times$  4,6 mm, cation H cartridge for amino column) ausgestattet war. Mobile Phase: 5 mmol/L Schwefelsäure, isokratische Trennung mit einer Flussrate von 0,5 mL/Min; Säulentemperatur 40 °C. AA und 2- $\beta$ -gAA wurden bei 254 nm detektiert.

Die chromatografischen Peaks wurden durch Vergleich der Retentionszeiten und der UV-Spektren mit denen des Standards (AA) verglichen. Die Retentionszeit betrug 8,6 Min für AA and 11,3 Min für 2- $\beta$ -gAA bei einer totalen Laufzeit von 30 Min. Die AA-Menge wurde mittels externer Kalibrierung bestimmt. Der Gehalt an 2- $\beta$ -gAA wurde anhand der AA-Kalibrationskurve über einen Umrechnungsfaktor (Tai und Godha [16]) ermittelt.

### Trockenmasse-Bestimmung und Darstellung der Messergebnisse

Die Trockenmasse (TM) des Ausgangsmaterials wurde mit dem Halogen moisture analyzer (Mettler Toledo, Greifensee, Schweiz) bei 110 °C bestimmt. Alle Proben wurden dreifach untersucht. Die Trockenmasse der Früchte und des Kelchmaterials sowie die AA- und 2- $\beta$ -gAA-Gehalte werden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung der Dreifachbestimmungen dargestellt.

## Ergebnisse und Diskussion

In einer aktuellen Untersuchung linderte das Vitamin-C-Analogon 2- $\beta$ -gAA im Tierversuch an Mäusen eine zuvor induzierte entzündliche Darmerkrankung, erhöhte die Synthese kurzkettiger Fettsäuren und beeinflusste die Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms [17]. Eine In-vitro-Studie [9] mit 2- $\beta$ -gAA, das aus *L. barbarum* isoliert wurde, belegte die starken Radikalfänger-Eigenschaften. Die zukünftige pharmakologische Untersuchung des Pflanzen-Inhaltsstoffes 2- $\beta$ -gAA scheint also vielversprechend. Aus diesem Grund, und da das Vitamin-C-Analogon nur aufwendig synthetisch zu gewinnen ist, besteht ein Interesse an natürlichen Quellen für 2- $\beta$ -gAA.

♦ Tabelle 1 zeigt die 2- $\beta$ -gAA-Gehalte der Früchte verschiedener Nachtschattengewächse und des Kelchs der Kapstachelbeere. Überraschenderweise wurde 2- $\beta$ -gAA in allen untersuchten Früchten und sogar in den Kelchproben nachgewiesen. Die Gehalte lagen zwischen 3,27 mg/100 g (weiße Thai-Aubergine) und 19,5 mg/100 g (grüne Peperoni), immer bezogen auf die Trockenmasse (TM). Allerdings liegen diese Gehalte deutlich unter denen von Goji-Beeren mit 35–280 mg/100 g TM [13]. Generell lagen bei allen untersuchten Früchten die Gehalte an Ascorbinsäure höher als die für 2- $\beta$ -gAA, mit Ausnahme der weißen Thai-Aubergine. Die von uns gefundenen Werte für Ascorbinsäure für Kapstachelbeere und rote Chili liegen im Bereich der Literaturangaben [3, 18]. Hanson et al. [6] fanden bei ihren Untersuchungen von Auberginen-Sorten für die weiße Thai-Aubergine höhere Werte. In unserer Untersuchung fanden wir für grüne Peperoni und Kirschtomaten deutlich höhere AA-Gehalte als in der Literatur angegeben [5, 18–21]. Diese Abweichungen können durch unterschiedliche geografische Herkunft der Proben, Sortenunterschiede und Anbaubedingungen oder Unterschiede im Reifegrad und der Lagerung vor Aufbereitung bedingt sein [4, 22, 23]. Auch unterschiedliche Extraktions- und Detektionsmethoden könnten zu den Abweichungen beitragen.

Die größte relative Standardabweichung fanden wir für grüne Peperoni, weiße Thai-Aubergine und Kirschtomaten. Dies liegt daran, dass die Extraktion der Pflanzenmatrix – auch aufgrund der harten Fruchtschale – schlecht reproduzierbar ist. Die Gefahr des Ascorbinsäure-Abbaus wurde durch den stabilisierenden Effekt der DTT-Lösung beherrscht. Der Pflanzenaufschluss mit Ultraturax führt zur Erwärmung, was aber höchstwahrscheinlich keinen Effekt auf den Gehalt von 2- $\beta$ -gAA hat: Seine hohe Temperaturstabilität wurde aktuell beschrieben [7]. Diese hohe Stabilität wird auch untermauert durch das Vorkommen von 2- $\beta$ -gAA im bei Reife trockenen Blütenkelch der Kapstachelbeere, welcher hingegen keinerlei Ascorbinsäure enthält.

Spuren von 2- $\beta$ -gAA wurden auch in Vertretern anderer Pflanzenfamilien gefunden, z. B. in Weintrauben (*Vitis vinifera*) und Heidelbeeren (*Vaccinium myrtillus*), jedoch nicht in Himbeeren (*Rubus idaeus*) (Daten nicht gezeigt). Von daher sind weitere Untersuchungen anderer Früchte wünschenswert, um neue Quellen des Ascorbinsäure-Analogons zu identifizieren.

Probe	2- $\beta$ -gAA	AA	AA-Literaturwerte	Literatur
Kapstachelbeere, Frucht ohne Kelch	9,94 $\pm$ 0,60	149 $\pm$ 3,7	90–195	[3, 21]
nur Kelch	8,63 $\pm$ 0,23	nd	–	
Grüne Peperoni	19,5 $\pm$ 3,7	10 740 $\pm$ 3 580	413	[24]
Rote Chili	7,45 $\pm$ 0,43	501 $\pm$ 49,0	476–933	[5, 18]
Weißer Thai-Aubergine	3,27 $\pm$ 0,55	4,06 $\pm$ 0,89	56–129	[25]
Türkenbeere	16,7 $\pm$ 2,7	nd	56–129	[25]
Kirschtomate	4,82 $\pm$ 0,84	275,6 $\pm$ 54,7	24–233	[2, 18, 19]
Goji-Beeren	35–280	na	–	[13]

Tab. 1: Gehalte von Ascorbinsäure (AA) und 2- $\beta$ -gAA sowie Literaturwerte. Angaben in mg/100 g Trockenmasse, Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, n = 3. nd = nicht nachweisbar (< 0,5 mg/100 g), na = nicht untersucht

## Schlussfolgerung

Diese Untersuchung belegte erstmals, dass auch andere Früchte der Nachtschattengewächse und nicht nur Goji-Beeren 2- $\beta$ -gAA enthalten, allerdings in niedrigerer Konzentration [13]. Ascorbinsäure ist eine empfindliche Substanz und kann während der Lagerung leicht durch Oxidation zerstört werden. Daher ist das Vorkommen des stabileren Analogons entscheidend für das Nährstoffprofil dieser Früchte und daraus hergestellter Produkte. Ergänzend zu der vorliegenden Untersuchung ist es nötig, die Bioverfügbarkeit und biologische Aktivität und damit die physiologische Relevanz von 2- $\beta$ -gAA im menschlichen Organismus zu untersuchen. Solche Studien wurden bereits begonnen.

### Interessenkonflikt

Die AutorInnen erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

### Korrespondierender Autor

Wilfried Andlauer

Carole Bubloz<sup>1,2</sup>

Isabelle Udrisard<sup>1</sup>

Prof. Dr. Wilfried Andlauer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> HES-SO Valais Wallis, Institute of Life Technologies, University of Applied Sciences and Arts Western Switzerland, Route du Rawyl 47, 1950 Sion, Switzerland

<sup>2</sup> BFH-HAFL, Bern University of Applied Sciences, Länggasse 85, 3052 Zollikofen, Switzerland

## Literatur

1. Potterat O, Hamburger M: Goji juice: a novel miraculous cure for longevity and well-being? A review of composition, pharmacology, health-related claims and benefits. *Schweiz Z Ganzheitsmed* 2008; 20: 399–405.
2. Toor RK, Savage GP: Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Res Int* 2005; 38: 487–94.
3. Briones-Labarca V, Giovagnoli-Vicuña C, Figueroa-Alvarez P, et al.: Extraction of  $\beta$ -carotene, vitamin C and antioxidant compounds from *Physalis peruviana* (cape gooseberry) assisted by high hydrostatic pressure. *Food Nutr Sci* 2013; 4: 109–18.
4. Castro-Concha LA, Tuyub-Che J, Moo-Mukul A, et al.: Antioxidant capacity and total phenolic content in fruit tissues from accessions of *Capsicum chinense* Jacq. (habanero pepper) at different stages of ripening. *Sci* 2014; Article ID 809073.
5. Korkutata NF, Kavaz A.: A comparative study of ascorbic acid and capsaicinoid contents in red hot peppers (*Capsicum annum* L.) grown in southeastern anatolia region. *Int J Food Prop* 2015; 18: 725–34.
6. Hanson PM, Yang R-Y, Tsou SCS, et al.: Diversity in eggplant (*Solanum melongena*) for superoxide scavenging activity, total phenolics, and ascorbic acid. *J Food Compos Anal* 2006; 19: 594–600.
7. Kosińska-Cagnazzo A, Bocquel D, Marmillod I, et al.: Stability of goji bioactives during extrusion cooking process. *Food Chem* 2017; 230: 250–6.
8. Takebayashi J, Yagi Y, Ishii R, et al.: Antioxidant properties of 2-O-beta-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid. *Biosci Biotech Bioch* 2008; 72: 1558–63.
9. Wang S-F, Liu X, Ding M-Y, et al.: 2-O- $\beta$ -d-glucopyranosyl-L-ascorbic acid, a novel vitamin C derivative from *Lycium barbarum*, prevents oxidative stress. *Redox Biol* 2019; 24: Article ID 101173.
10. Toyoda-Ono Y, Maeda M, Nakao M, et al.: A novel vitamin C analog, 2-O-(beta-D-Glucopyranosyl)ascorbic acid: examination of enzymatic synthesis and biological activity. *J Biosci Bioeng* 2005; 99: 361–5.
11. Han R, Liu L, Li J, et al.: Functions, applications and production of 2-O-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 95: 313–20.
12. Toyoda-Ono Y, Maeda M, Nakao M, et al.: 2-O-(beta-D-glucopyranosyl)-ascorbic acid, a novel ascorbic acid analogue isolated from *Lycium* fruit. *J AgrFood Chem* 2004; 52: 2092–6.
13. Kosińska-Cagnazzo A, Weber B, Chablais R, et al.: Bioactive compound profile and antioxidant activity of fruits from six goji cultivars cultivated in Switzerland. *Jerry Res* 2017; 7: 43–59.
14. Chung IM, Ali M, Nagella P, et al.: New glycosidic constituents from fruits of *Lycium chinense* and their antioxidant activities. *Arab J Chem* 2015; 8: 803–11.
15. Zhang Z, Liu X, Zhang X, et al.: Comparative evaluation of the antioxidant effects of the natural vitamin C analog 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid isolated from Goji berry fruit. *Arch Pharm Res* 2011; 34: 801–10.
16. Tai A, Gohda E.: Determination of ascorbic acid and its related compounds in foods and beverages by hydrophilic interaction liquid chromatography. *J Chromatogr* 2007; B 853: 214–20.
17. Huang KY, Dong W, Liu WY, et al.: 2-O-beta-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid, an ascorbic acid derivative isolated from the fruits of *Lycium barbarum* L., modulates gut microbiota and palliates colitis in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *J Agr Food Chem* 2019; 67: 11408–19.
18. Kumar OA, Tata SS.: Ascorbic acid contents in chili peppers (*Capsicum spec. L.*). *Not Sci Biol* 2009; 1: 50–2.
19. Cotrut R, Badulescu L.: UPLC rapid quantification of ascorbic acid in several fruits and vegetables extracted using different solvents. In: Cimpeanu SM, Fintineru GG, Silviu B (eds.): 5th International Conference – Agriculture for Life, Life for Agriculture. Elsevier Science Bv, Amsterdam (2016); 160–6.
20. Frusciantè L, Carli P, Ercolano MR, et al.: Antioxidant nutritional quality of tomato. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 609–17.
21. Puente LA, Pinto-Muñoz CA, Castro ES, et al.: *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit. *Food Res Int* 2011; 44: 1733–40.
22. Hakala M, Lapvetalainen A, Huopalahti R, et al.: Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. *J Food Compos Anal* 2003; 16: 67–80.
23. Nisha P, Nazar PA, Jayamurthy P: A comparative study on antioxidant activities of different varieties of *Solanum melongena*. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2640–4.
24. Lau BBY, Panchompoo J, Aldous L: Extraction and electrochemical detection of capsaicin and ascorbic acid from fresh chilli using ionic liquids. *New J Chem* 2015; 39: 860–7.
25. Hanson PM, Yang R-Y, Tsou SCS, et al.: Diversity in eggplant (*Solanum melongena*) for superoxide scavenging activity, total phenolics, and ascorbic acid. *J Food Compos Anal* 2006; 19: 594–600.

DOI: 10.4455/eu.2020.034