

2 Grundlagen

2.1 Buchweizen

2.1.1 Eigenschaften und wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe von Stammpflanze und Droge

Der Echte Buchweizen (*Fagopyrum esculentum Moench*) aus der Familie der Polygonoaceae ist heimisch in Zentralasien, wird allerdings auch in Mitteleuropa als Mehlfrucht-, Bienenfutter- und Gründüngungspflanze kultiviert [66]. Die einjährige Pflanze ist 15 bis 60 cm hoch. In Europa tritt noch die Art *Fagopyrum tataricum* auf, die allerdings pharmazeutisch nicht eingesetzt wird. Als Droge wird das Kraut verwendet, in dem zahlreiche phenolische Inhaltsstoffe, darunter vor allem Flavonoide, vorkommen. Das Kraut wird schon ca. 50–60 Tage nach der Aussaat geerntet. Um einen maximalen Rutin-Gehalt zu erzielen, muß die Vollblüte erreicht sein, aber die Fruchtbildung darf noch nicht begonnen haben [66]. Der Rutin-Gehalt wird auch durch die Länge der Sonneneinstrahlung mitbeeinflusst [115]. Die Buchweizenfrucht hat keine arzneiliche Wirkung und dient ausschließlich als Nahrungsmittel. Die Droge, Fagopyri herba, ist offizinell im Homöopathischen Arzneibuch (HAB 1), in der British Herbal Pharmacopoeia (BHP 1983) sowie im DAC 2002. Eine Monographie für das Europäische Arzneibuch ist in Vorbereitung [133].

Rutin ist das wichtigste Flavonolglykosid in der Droge. In der Droge ist Rutin unterschiedlich verteilt. HAGELS konnte in den Blüten einen Gehalt von 12% nachweisen [65], während der Gehalt in den Blättern mit 2–8% angegeben wird [115]. Die am häufigsten vorkommenden Nebenflavonoide sind Hyperosid und Quercitrin, von weiteren phenolischen Verbindungen sind Chlorogensäure und ihre Isomere quantitativ am häufigsten vertreten. Daneben finden sich zahlreiche Hydroxybenzoesäuren. Außerdem kommt in der Droge Quercetin vor, das als Artefakt vor allem durch unsachgemäße Trocknung entsteht (s. Abb. 2.1) [64, 115].

2.1.2 Fagopyrin und phototoxische Eigenschaften von Herba Fagopyri

Weiterhin findet sich in der Droge Fagopyrin. Bei Fagopyrin handelt es sich um ein Naphthodianthron-Derivat, das chemisch mit Hypericin (aus *Hypericum perforatum*) verwandt ist (s. Abb. 2.2). Fagopyrin wurde erstmals 1952 von BROCKMANN isoliert und beschrieben [23]. Im Buchweizen findet sich Fagopyrin hauptsächlich in den jungen Blüten zu 0,01–0,03%. Blüten, die kurz vor der Fruchtbildung stehen, weisen nur einen geringen Gehalt an Fagopyrin auf. In getrockneten Blättern lassen sich nur Spuren nachweisen bzw. fehlt Fagopyrin ganz [115].

In wässrigen Extrakten (Teeaufguß) von Buchweizenkraut ist kein Fagopyrin nachweisbar [91]. HAGELS konnte zeigen, daß die Freisetzung von Fagopyrin aus Buch-

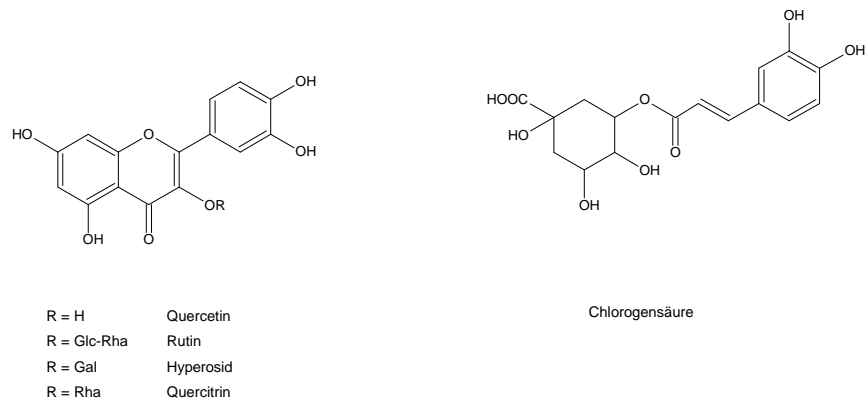


Abbildung 2.1: Strukturformeln der wichtigsten phenolischen Verbindungen in Buchweizenkraut

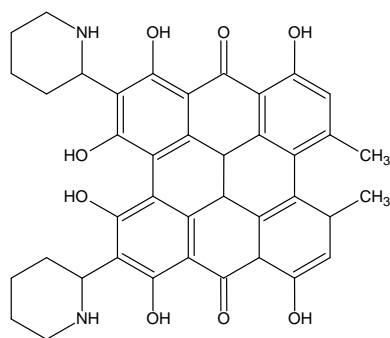


Abbildung 2.2: Strukturformel von Fagopyrin

weizenkraut mit Methanol 80 % oder 100 % sowie Ethanol 96 % vollständiger ist als z. B. mit Isopropanol oder Dichlormethan. Die geringste Freisetzung wurde mit Wasser erzielt [64]. Fagopyrin wird durch Hitze oder Alkalien leicht zersetzt. HABERMANN konnte nachweisen, daß in den Blüten des Buchweizens genuin nicht Fagopyrin vorliegt, sondern Protofagopyrin, ein Helianthronderivat, das unter Tageslichtexposition zu Fagopyrin zyklisiert [62].

Phototoxische Reaktionen auf Buchweizenkraut wurden zuerst bei Weidetieren beobachtet, denen große Mengen blühender Buchweizenpflanzen verfüttert wurden. Die auch als Fagopyrismus bezeichnete Krankheit äußerte sich an wenig und nicht behaarten Körperteilen mit Rötung, Schwellung und Entzündung, wenn die Tiere Tageslicht ausgesetzt waren [115]. CHICK und ELLINGER untersuchten 1941 in Fütterungsexperimenten verschiedene Pflanzenteile des Buchweizens und stellten fest, daß die Blüten am stärksten photosensibilisierend wirken. Die von ihnen ermittelte Schwellendosis lag im Rattenmodell bei 2,5–3 g Blüten/kg Körpergewicht (entsprechend ca. 2,5–3 µg Fagopyrin/kg)[29]. Heute weiß man, daß die phototoxische Reaktion durch Fagopyrin ausgelöst wird, das wie Hypericin eine photodynamische Aktivität hat [151, 153]. Nach Untersuchungen von THOMAS et al. ist Hypericin in der Lage, in Mitochondrien über eine Typ II-Photosensibilisierungsreaktion Singulett-Sauerstoff freizusetzen. Die effektivste Wellenlänge dafür lag bei 600 nm [163]. Die Anregungswellenlänge für die Photoaktivierung von Fagopyrin liegt bei 540-610 nm [42].

Untersuchungen an einer Fibroblasten-Zellkultur zeigten, daß wäßrige Buchweizenextrakte auch in höheren Dosierungen kaum phototoxisch wirkten, während ethanolsche Extrakte ein beträchtliches photoirritatives Potential aufwiesen. Zurückzuführen ist dies auf den Gehalt an Fagopyrin, der in den wäßrigen Extrakten unterhalb der Nachweisgrenze lag, bei den ethanolschen Extrakten jedoch bis zu 0,5 % betrug. Im Vergleich zur Positivkontrolle Hypericin schien das Fagopyrin weniger phototoxisch zu sein, allerdings konnte nicht zweifelsfrei entschieden werden, ob dieser Effekt auf die biologische Matrix oder das höhere Molekulargewicht des Fagopyrins zurückzuführen ist [162].

2.1.3 Medizinische Verwendung von Buchweizen

In der Roten Liste finden sich nur wenige Fertigarzneimittel auf der Basis von Buchweizenkraut. Dazu gehören Tabletten aus gepulvertem Buchweizenkraut (Fagorutin[®] Buchweizen-Tabletten), die für die Indikation Ödemprotektion eingesetzt werden. In mehreren Studien konnte die ödemprotektive und gefäßabdichtende Wirkung von *Herba Fagopyri* an Patienten mit chronischer Veneninsuffizienz gezeigt werden [78]. Auch die Gefäßfragilität bei Hypertonie sowie bei diabetischer Retinopathie konnte durch die Gabe von Präparaten aus Buchweizenkraut signifikant gesenkt werden [115].

Bei Kaninchen, denen eine fettreiche Diät verabreicht wurde, konnte Buchweizenkraut die Bildung atherosklerotischer Plaques in der Aorta vermindern [177]. Bei ähnlichen Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß die mit Buchweizenkraut supplementierten Versuchstiere eine niedrigere Konzentration an Malondialdehyd im Plasma sowie einen erhöhten Gehalt an Ascorbatradikalen in der Leber aufwiesen. Gleichzeitig waren die Blutspiegel von β -Lipoprotein sowie die Konzentration an Cholesterol und

Triglyceriden in der Leber erniedrigt. Dies deutet darauf hin, daß der Buchweizenextrakt die Lipidperoxidation verringern kann und antioxidative Eigenschaften besitzt. Es ließ sich auch nachweisen, daß der Buchweizenextrakt in diesem Modell bessere antioxidative Eigenschaften zeigte als reines Rutin [178].

2.2 Interaktion von UV-Strahlung mit der Haut

2.2.1 Einfluß der Wellenlänge

UVC-Strahlung (200–280 nm) erreicht aufgrund der Ozonschicht nicht die Erdoberfläche, allerdings kann aufgrund künstlicher UV-Quellen dennoch eine Exposition stattfinden. Das hauptsächliche Spektrum der Sonnenstrahlung umfaßt UVB (290–320 nm), UVA (320–400 nm), sichtbare Strahlung (400–800 nm) sowie Infrarot-Strahlung (Wellenlängen über 800 nm). Licht wird in der Haut sowohl absorbiert als auch gestreut. Bei UV-Strahlung mit einer Wellenlänge < 300 nm erfolgt die Absorption in der Epidermis durch Melanin, Urocansäure, DNA und Proteine. Für die Wellenlängen von 320–1200 nm dominiert die Absorption durch Melanin. In der Dermis erfolgt eine stark wellenlängenabhängige Streuung durch die Kollagenfasern [88].

Die verschiedenen Wellenlängen der Sonnenstrahlung rufen unterschiedliche biologische Effekte hervor: So ist z. B. das Reaktionsmuster und der zeitliche Verlauf der UV-vermittelten akuten Entzündungsreaktion (der sogenannte „Sonnenbrand“) stark wellenlängenabhängig. Außerdem zeigen auch die Effekte der Strahlung auf zellvermittelte Immunität, das Ausmaß und den Schweregrad von Photoaging und Photocarcinogenese eine Abhängigkeit von der Wellenlänge der beteiligten Strahlung. Dies läßt sich einerseits auf die unterschiedliche Eindringtiefe in die verschiedenen Hautschichten ($IR > VIS > UVA > UVB > UVC$) als auch auf spezifische Reaktionskaskaden zurückführen. UVC-Strahlung wird nahezu komplett durch das Stratum corneum absorbiert, während UVB hauptsächlich durch epidermale Strukturen wie Nukleinsäuren, Proteine und mehrfach ungesättigte Fettsäuren absorbiert wird und so zelluläre Schäden verursacht.

UVA hat eine Eindringtiefe bis in die Dermis, während sichtbares Licht und IR-Strahlung durch die Dermis hindurch in die Subcutis eindringen. UVA ist sehr effizient bezüglich der Induktion von oxidativem Streß. Die Effekte von UVA und sichtbarer Strahlung scheint über endogene Photosensitizer vermittelt. Die Phototoxizität von UVA sowie die UVA-vermittelte entzündliche Antwort der Haut sind Sauerstoffvermittelt und zeigen eine Beteiligung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). Dagegen ist für das UVB-induzierte Erythem sowie Pigmentierung keine Beteiligung von Sauerstoff nachweisbar [52].

2.2.2 Photooxidativer Streß

2.2.2.1 Reaktive Sauerstoffspezies

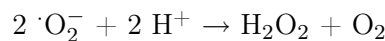
Die wichtigsten ROS (reactive oxygen species) sind in Tab. 2.1 aufgeführt. Sie zeichnen sich dadurch aus, daß sie aufgrund ihrer strukturellen Besonderheiten (die meisten ROS sind freie Radikale, d. h. Verbindungen mit einem oder mehreren ungepaarten

Tabelle 2.1: Wichtige ROS, geordnet nach abnehmender Reaktivität (nach PODHAISKY et al. [138])

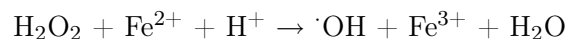
Hydroxylradikal	($\cdot\text{OH}$)
Singulett-Sauerstoff	($^1\text{O}_2$)
Hydroperoxyradikal	($\text{HO}_2\cdot$)
Superoxid-Anion	($\cdot\text{O}_2^-$)
Alkoxyradikal	($\text{RO}\cdot$)
Peroxyradikal	($\text{ROO}\cdot$)
Wasserstoffperoxid	(H_2O_2)

Elektronen) außerordentlich reaktionsfreudig sind und zu Kettenreaktionen neigen. Sie reagieren mit nahezu allen Biomolekülen und beeinträchtigen sie durch Oxidation in ihrer Funktionalität [45].

Das Superoxid-Anion reagiert, katalysiert durch die Superoxid-Dismutase (SOD), zu H_2O_2 :



Aus H_2O_2 kann in Anwesenheit von Übergangsmetallionen wie Fe^{2+} und Cu^{2+} das Hydroxylradikal entstehen (sog. Fenton-Reaktion). Diese Reaktion wird durch das Enzym Katalase katalysiert [52, 181]:



Begünstigt wird diese Reaktion durch die Freisetzung von Eisenionen aus der Transportform Ferritin, die durch Exposition mit UVA verstärkt wird [52]. ROS können bei UVC-Strahlung (200–290 nm) über Photolyse von Wasser, mittels UVB (290–320 nm) und UVA (320–400 nm) über eine photodynamische Reaktion und Photodissoziation verschiedener Moleküle entstehen [53].

Neben ROS spielen auch reaktive Stickstoffspezies eine Rolle bei UV-induziertem oxidativem Stress. Kontrovers diskutiert wird die Frage, ob die UV-induzierte NO-Freisetzung in der Haut ein Teil des strahlungsinduzierten oxidativen Stresses ist oder ein Teil des endogenen antioxidativen Schutzsystems. Stickstoffmonoxid (NO) entsteht durch die Spaltung der Aminosäure L-Arginin durch die NO-Synthase, die durch UV-Strahlung induziert werden kann [138].

2.2.2.2 Schäden auf molekularer Ebene

Ein wichtiger Vorgang auf molekularer Ebene ist die Oxidation von Nukleinsäuren. Obwohl der größte Teil der UVB-vermittelten DNA-Schäden durch direkte Anregung ohne Einfluß von Sauerstoff verursacht wird, wie z. B. die Bildung von Pyrimidin-Dimeren sowie Brüche des Doppelstrangs, gibt es auch Hinweise auf die Bildung von oxidativen DNA-Photoprodukten. Dabei löst UVB-Strahlung die Entstehung von 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosin aus [138].

Eine weitere Zielstruktur für UV-Strahlen sind die Lipide des Stratum corneum. Da ca. 25 % der Hautlipide ungesättigt sind, kommen Lipidperoxidationsprodukte auch

physiologisch vor. Deren Konzentration wird allerdings durch Umweltfaktoren, wie besonders auch UV-Strahlung, signifikant erhöht [52]. Dabei läßt sich besonders die Zunahme an Lipidperoxiden, Malondialdehyd sowie 4-Hydroxynonenal beobachten [116]. Es konnte gezeigt werden, daß das Hydroxylradikal als reaktive Sauerstoffspezies direkt an der Bildung von Lipidperoxiden beteiligt ist. Das Superoxid-Anion spielt dabei nur eine untergeordnete Rolle, da es lediglich über die Haber-Weiss-Reaktion Hydroxylradikale liefert [45].

Neben den Schäden an Nukleinsäuren und Lipiden spielt auch die Oxidation von Proteinen eine Rolle. In vitro konnte gezeigt werden, daß Keratin, das am häufigsten vorkommende Protein in der Epidermis, durch UV-Strahlung schnell oxidiert wird. Singulett-Sauerstoff ist vermutlich an der UVA-vermittelten Thioloxydation von Proteinen beteiligt [52].

2.2.2.3 Photosensibilisierung

Nach dem klinischen Erscheinungsbild lassen sich Lichtdermatosen nach LIM et al. in vier Gruppen klassifizieren [101]:

- **Idiopathische Photodermatosen:** dazu gehören u. a. die polymorphe Lichtdermatose (PLD)
- **Sekundäre Photodermatose aufgrund exogener Agentien:** Phototoxizität und Photoallergie
- **Sekundäre Photodermatose aufgrund endogener Agentien:** Porphyrinen
- **Photoexazerbierte Dermatosen** wie Herpes simplex labialis, d. h. Dermatosen, die durch Lichtexposition verschlimmert werden

Die polymorphe Lichtdermatose ist die verbreitetste idiopathische Photodermatose, von der 10-20% der Bevölkerung betroffen sind. Sie tritt bei Frauen häufiger auf als bei Männern und ist klinisch charakterisiert durch verschiedene Hautläsionen, zu denen erythematöse Papeln, Knötchen sowie verschiedenartige Erytheme gehören [101]. Die Läsionen erscheinen 1-24 h nach der Sonnenexposition und halten mehrere Tage an. Die polymorphe Lichtdermatose wird durch UVA-Licht im suberythemalen Dosisbereich hervorgerufen [117].

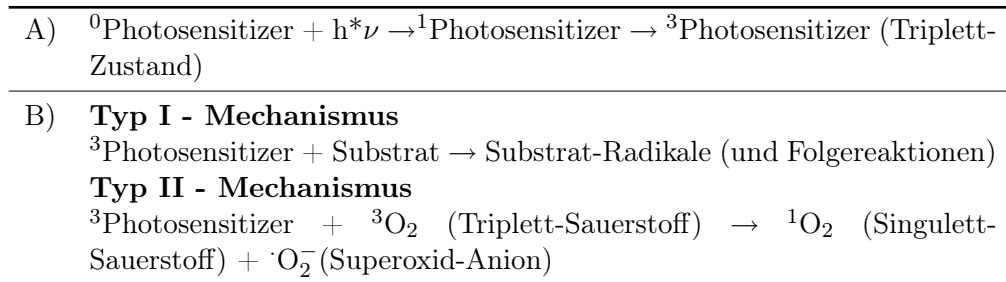
Mit dem Begriff Photoallergie bezeichnet man eine verzögerte hypersensible Antwort auf das Zusammentreffen eines Photoallergens und UV-Licht. Klinisch äußert sie sich in einem Ekzem, histologisch in einer epidermalen Spongiose sowie einer dermalen perivaskulären Infiltration von Lymphozyten und Histiozyten. Photoallergene sind häufig Lichtschutzsubstanzen und Duftstoffe, aber auch systemisch verabreichte Arzneistoffe [101].

Bei der Phototoxizität handelt es sich dagegen um eine direkte Toxizität, die innerhalb von Minuten bis Stunden nach der Lichtexposition auftritt. Sie ist wesentlich häufiger als photoallergische Reaktionen und zu ihrem Auftreten ist meist eine größere Menge sowohl des Photosensitizers als auch der Strahlung notwendig. Zu den häufigsten phototoxischen Agentien zählen Steinkohlenteer, Furocoumarine, Pflanzen sowie

auch systemisch verabreichte Arzneistoffe (z. B. Doxycyclin, Amiodaron, nichtsteroidale Antirheumatika und Phenothiazine). Topisch applizierte Photosensitizer lösen dabei einen höheren Schweregrad aus als systemisch verabreichte [61]. Klinisch erscheint die Phototoxizität wie ein verstärkt ausgeprägter Sonnenbrand mit Erythem, Ödem sowie Blasenbildung. Sowohl an der Photoallergie als auch der Phototoxizität scheint hauptsächlich UVA-Strahlung beteiligt zu sein [101].

Der Mechanismus der Photosensibilisierung wird wie folgt beschrieben: Die Energie des Photons befördert den Photosensitizer in einen angeregten Zustand, d. h. ein Elektron wird auf ein höheres Energieniveau angehoben, und es bildet sich ein Singulettzustand. Von diesem Zustand kann der Photosensitizer wieder in den Grundzustand gelangen, indem die Energie in Form von Fluoreszenz oder Wärme abgegeben wird. Alternativ kann der Photosensitizer auch in einen Triplettzustand übergehen (s. Abb. 2.3, A). Der Triplettzustand ist charakterisiert durch zwei Elektronen mit parallelem Spin und eine relative Stabilität. Dieser Zustand kann zu Sekundärreaktionen führen, die zwei verschiedene Mechanismen umfassen (vgl. Abb. 2.3, B) [138].

Abbildung 2.3: Bildung von ROS in der Haut (nach PODHAISKY [138])



- **Typ I:** Der aktivierte Photosensitizer reagiert direkt mit einem Target-Molekül, und es erfolgt über den Transfer von Elektronen oder Wasserstoffatomen die Bildung von Substratradikalen.
- **Typ II** (sog. photodynamische Reaktion): der aktivierte Photosensitizer reagiert mit Sauerstoff, was zur Bildung von ROS führt.

Endogene Photosensitizer sind z. B. Melanine (die im längerwelligen UV- und im sichtbaren Bereich photoprotektiv, im kürzerwelligen UV-Bereich dagegen photosensibilisierend wirken), Porphyrine und Flavine. Zahlreiche exogene Photosensitizer sind bekannt, darunter auch Arzneistoffe wie Tetracycline und Sulfonamide. Diese Eigenschaft wird allerdings auch bei der sogenannten PUVA-Therapie ausgenutzt, bei der durch Einsatz von Photosensitizern wie 8-Methoxypsoralen und gezielter UVA-Bestrahlung Dermatosen wie Psoriasis behandelt werden können. Auch Substanzen pflanzlichen Ursprungs, wie Hypericin (aus *Hypericum perforatum*), Fagopyrin (aus *Fagopyrum esculentum*) und Chlorophyll können photosensibilisierend wirken [42, 53].

2.2.2.4 Photoaging

Photoaging oder extrinsische Hautalterung ist ein komplexer biologischer Prozeß, bei dem verschiedene Hautschichten betroffen sind, wobei die Hauptschäden in der Dermis zu verzeichnen sind. Hauptsächliche Ursache ist UV-Strahlung, die zu einem vorzeitig gealterten Aussehen auch bei jungen Menschen führt [88].

Klinisch ist Photoaging charakterisiert durch Falten, lederiges Aussehen der Haut, einer verminderten Hautelastizität sowie verschlechterte Wundheilung. Histologisch ist ein Verlust an Hautkollagen zu verzeichnen. Singulett-Sauerstoff ist an der UVA-vermittelten Stimulation der Matrixproteinasen beteiligt, denen eine Bedeutung bei der vorzeitigen Hautalterung zugeschrieben wird. Über den Mechanismus der Matrixproteinasen-Aktivierung könnte auch UVB-Strahlung am Phänomen Photoaging beteiligt sein [52, 152, 165, 175]. Die UV-induzierte Bildung von Singulett-Sauerstoff und des Superoxid-Anions führt zu strukturellen und damit auch funktionellen Veränderungen von Proteinen der Haut (z. B. Kollagen und Elastin) [31]. Nach Untersuchungen von RHIE et al. finden sich in vorzeitig gealterter Haut im epidermalen Bereich eine höhere Aktivität von Katalase, während in der Dermis die Aktivität niedriger ist als in junger Haut. Die Konzentration an α -Tocopherol und Ascorbinsäure waren bei vorzeitig gealterter Haut in der Epidermis höher als bei junger Haut, in der Dermis trifft das nur auf Ascorbinsäure zu [143].

2.2.2.5 Photocarcinogenese

Die wichtigsten Unterarten von Hautkrebs sind das Basalzellkarzinom (BCC), das Plattenepithelkarzinom (SCC) sowie das maligne Melanom. Im Tiermodell kann UV-Strahlung sowohl SCC als auch Melanome verursachen. Solche Befunde gibt es nur indirekt für das BCC, allerdings legen Schlüssel-Mutationen im TP53-Gen sowie epidemiologische Befunde einen kausalen Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines Basalzellkarzinoms und vermehrter UV-Exposition nah. Das SCC scheint hauptsächlich durch UVB verursacht zu sein. Anhand epidemiologischer Daten gibt es Anzeichen für eine höhere Beteiligung von UVA an malignen Melanomen, was allerdings noch nicht experimentell belegt werden konnte. Für das Basalzellkarzinom liegen keine solchen Daten vor [6].

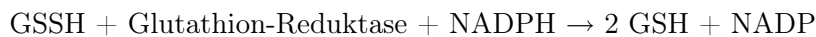
Die effektivsten Wellenlängen für UV-induzierte Carcinogenese findet sich im UVB-Bereich [52]. Die Carcinogenese wird als Prozeß direkten photochemischen Schadens an der DNA verstanden, von dem Mutationen ausgehen. Allerdings kann auch die Exposition von großen Dosen UVA-Strahlung das Risiko für Hautkrebs deutlich erhöhen [53]. Dies ist zum einen darauf zurückzuführen, daß UVA einen 20fach höheren Anteil an der Strahlungsenergie hat als UVB und damit deutlich zur Carcinogenität des Sonnenlichtes beiträgt. Im Gegensatz zu UVB wird UVA kaum von der DNA absorbiert. So wird die Absorption durch andere Moleküle, wie endogene Photosensitizer, wichtig, wodurch reaktive Sauerstoff-Spezies entstehen können, die wiederum DNA, Biomembranen und andere Zellbestandteile schädigen [35].

2.2.2.6 Das antioxidative System der Haut

Das antioxidative System der Haut läßt sich unterteilen in enzymatische und nicht-enzymatische Systeme. Es sind sieben enzymatische Systeme bekannt, zu denen neben der Superoxid-Dismutase und der Katalase das Thioredoxin-Reduktase-System, das Lipoamid-System, das NADPH-Ubichinon-Reduktase-System, diverse Peroxidasen und das Glutathion-System gehören. Letzteres besteht aus drei Enzymen, der Glutathion-Peroxidase, der Glutathion-Reduktase und der Glutathion-Transferase. Die anderen essentiellen Komponenten sind das Tripeptid Glutathion (GSH), Selen und der Co-Faktor NADPH. Lipidperoxide (ROOH) z. B. werden reduziert, wobei die oxidierte Form des Glutathions (GSSH) entsteht:



GSSH kann wiederum zu GSH mittels der Glutathion-Reduktase und NADPH reduziert werden:



Die nicht-enzymatischen Systeme lassen sich unterteilen in wasserlösliche Substanzen, wie Ascorbinsäure, Glutathion, Urate und Harnsäure, und lipophile Substanzen, wie Tocopherole, Vitamin A, Carotine und Ubichinone [52, 140, 171]. Durch UV-Strahlung können in Abhängigkeit von der Dosis und der Expositionshäufigkeit verschiedene Effekte ausgelöst werden. Durch akut hohe Dosen können antioxidativ wirkende Enzyme inhibiert sowie nicht-enzymatische Antioxidantien verbraucht werden. Dagegen führt eine chronische UV-Exposition mit niedrigen Dosen zu einer Enzyminduktion [52].

2.3 Antioxidantien als topische Photoprotektiva

Um Schäden an der Haut durch UV-Strahlung vorzubeugen, werden in den letzten Jahren vermehrt Photoprotektiva pflanzlichen Ursprungs eingesetzt [2, 48]. Sowohl in der Keratinozyten-Zellkultur als auch im Tiermodell zeigte sich, daß die topische Applikation von Ascorbinsäure, Vitamin E und β -Carotin UV-induzierte Schäden verringern kann. Davon waren sowohl Schäden an der DNA und Lipiden sowie Phänomene wie Erythembildung, Photoimmunosuppression, Photoaging sowie Photocarcinogenese betroffen [52].

Tocopherol ist ein effizienter Inhibitor der Lipidperoxidation. Topisch appliziertes Vitamin E wird über die Haarfollikel und die Lipidschicht des Stratum corneum bis in die Dermis resorbiert. Auch bei Langzeitanwendung in hohen Dosierungen sind weder Hautirritationen noch allergische Reaktionen bekannt. Vitamin E wird in der Dermis angereichert, so daß diese Hautschicht als Reservoir fungiert [89]. β -Carotin, das ein potenter Quencher von Singulett-Sauerstoff ist, ist bei systemischer Verabreichung nicht so gut photoprotektiv wirksam wie bei topischer Applikation. Es zeigt eine gute Wirksamkeit gegen UVB-induzierte Erythembildung [48]. Topisch applizierte Ascorbinsäure ist ebenfalls in der Lage, UVB-induzierte Entzündungsreaktionen zur

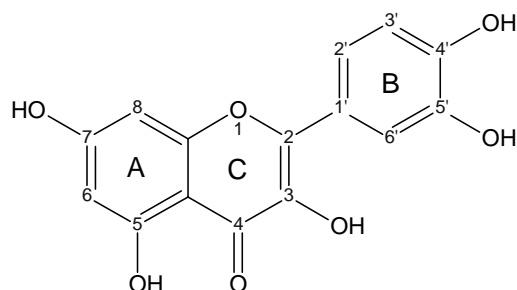


Abbildung 2.4: Struktureller Aufbau von Flavonolen am Beispiel Quercetin

verringern [52]. Bei Kombination mit Tocopherol wird die Wirksamkeit noch gesteigert, so daß die Bildung von Thymin-Dimeren in der DNA verhindert werden kann [102]. Aus Stabilitätsgründen werden häufig Ascorbinsäureester eingesetzt [135].

Eine weitere Substanzklasse, die in den Mittelpunkt der Aufmerksamkeit gerückt ist, ist die der Flavonoide. Flavonoide zeigten in verschiedenen Untersuchungen neben der Absorption von ultravioletter Strahlung sowohl antioxidative als auch prooxidative Eigenschaften. Die antioxidativen Eigenschaften werden zum einen der Enzyminhibition zugeschrieben, zu der Flavonoide fähig sind (z. B. Xanthinoxidase, Proteinkinase C, Cyclooxygenase, Lipoxygenase und einige andere, die in vivo an der Entstehung von freien Sauerstoffradikalen beteiligt sind [134]), vor allem aber der Fähigkeit, freie Radikale fangen zu können als auch der Möglichkeit, mit Eisen- und anderen Übergangsmetallionen Chelatkomplexe zu bilden [98]. Flavonoide sind in der Lage, UVB-induzierte Schäden an der DNA zu verhindern [93] sowie der Lipidperoxidation vorzubeugen [145]. Einen weiteren Wirkungsmechanismus postulieren ARORA et al.: Flavonoide verteilen sich in die hydrophoben Bereiche von Biomembranen und sorgen für einen dramatischen Abfall der Lipidfluidität in diesem Bereich der Membran. Die Diffusion von freien Radikalen wird dadurch sterisch gehindert und so die Geschwindigkeit von Radikalreaktionen verringert [8]. Eine Kombination aus α -Glykosylrutin, Ferulasäure und Tocopherolacetat in einer kosmetischen Formulierung konnte in einer klinischen Studie die Ausbildung und den Schweregrad einer UVA-induzierten polymorphen Lichtdermatose beeinflussen [63].

Drei strukturelle Eigenschaften der Flavonoide zeigten sich in mehreren experimentellen Untersuchungen als wichtig bezüglich der antioxidativen Eigenschaften (vgl. Abb. 2.4):

1. eine Catechol (*o*-Dihydroxy)-Funktion im B-Ring
2. eine 2,3-Doppelbindung in Konjugation mit einer 4-oxo-Funktion, die für die Elektronendelokalisation des B-Rings verantwortlich sind

3. das zusätzliche Vorhandensein sowohl einer 3-OH als auch einer 5-OH-Funktion [20, 69]

In dem Flavonol Quercetin sind alle drei Anforderungen erfüllt [145]. Die Glykosylierung an Position 3 (z. B. bei Rutin) führt zu einer etwas niedrigeren Radikalfängeraktivität, ist aber immer noch höher als bei Verbindungen, die keine 3-OH-Funktion besitzen [9].

Übergangsmetallionen, besonders Eisenionen, sind als Katalysatoren vieler Prozesse (z. B. der Fentonreaktion) bekannt, die zur Entstehung von ROS führen. Flavonole können aufgrund ihrer o-Dihydroxy-Funktion Eisenionen komplexieren und damit die Lipidperoxidation verhindern [1, 114]. Nach Untersuchungen von VAN ACKER et al. sind Rutin und Quercetin nur moderate Eisenchelatoren, die nicht in der Lage sind, Eisenionen aus einem entsprechenden Komplex mit EDTA herauszulösen. Für die Chelatisierung von Eisenionen spielen die 3-OH-Gruppe sowie die Catecholfunktion (im B-Ring) eine wichtigere Rolle als die 5-OH-Gruppe [169]. Für die meisten antioxidativ potenten Flavonoide spielen die Chelatbildungseigenschaften für die antioxidative Wirkung bei der Lipidperoxidation nur eine untergeordnete Rolle, während das Halbstufenpotential sich gut mit der antioxidativen Wirkung korrelieren läßt [168]. Die Chelatkomplexe von Flavonoiden mit Übergangsmetallionen sind nach Untersuchungen von KOSTJUK et al. sogar potentere Antioxidantien als die nativen Flavonoide [94]. Im Gegensatz zu Rutin ist die Chelatbindung von Quercetin an Cu^{2+} auch mit einer Oxidation des Flavonoids verbunden. BROWN et al. schlagen für die oxidierte Form des Quercetins eine chinoid Struktur vor [24].

Aufgrund ihrer niedrigen Redoxpotentiale sind Flavonoide thermodynamisch in der Lage, oxidierende freie Radikale wie Peroxyl-, Alkoxy- und Hydroxylradikale sowie das Superoxidanion durch Abgabe eines Wasserstoffatoms zu reduzieren. TOURNAIRE et al. konnten zeigen, daß Flavonoide ebenfalls als Quencher von Singulett-Sauerstoff reagieren können [164]. Das aus dem Flavonoid entstehende Aroxyradikal kann mit einem zweiten Aroxyradikal unter Ausbildung chinoider Strukturen reagieren. Allerdings kann das Aroxyradikal auch mit Sauerstoff reagieren, wobei das Superoxidanion entsteht (und daraus weitere reaktive Sauerstoffspezies) [134]. Diese Reaktion läuft besonders häufig in Gegenwart hoher Konzentrationen an Übergangsmetallionen ab [27].

Je niedriger das Halbstufenpotential $E_{p/2}$ ist, desto besser reagieren die Flavonoide mit freien Radikalen. PIETTA gibt einen Wert von < 200 mV an, ab dem die Flavonoide zu dieser Reaktion befähigt sind [134]. Gleichzeitig können sie damit aber auch als Prooxidantien wirken [37]. Nach VAN ACKER et al. liegt das kritische $E_{p/2}$ für physiologische Bedingungen bei < 60 mV. Dieser Wert ist abhängig vom pH-Wert [169]. Für die $E_{p/2}$ -Werte für Quercetin und Rutin finden sich in der Literatur nahezu übereinstimmende Werte (jeweils gemessen gegen eine gesättigte Kalomelektrode): für Quercetin 30 bzw. 60 mV, für Rutin 180 mV [134, 169]. In Untersuchungen von DICKANCAITE et al. zeigte Quercetin in einer humanen Leukämie-Zelllinie zytotoxische Eigenschaften, die durch den Zusatz anderer Flavonoide teilweise unterdrückt werden konnten [37]. BORS et al. konnten für Quercetin und Rutin nachweisen, daß Ascorbinsäure das jeweilige Flavonoid aus dem mittels Pulselektrolyse erzeugten Aroxyradikal recyceln kann. Man kann also davon ausgehen, daß zwischen den entsprechenden Fla-

vonoiden und Ascorbinsäure ein synergistischer Effekt besteht [21].

Das niedrige Halbstufenpotential ist vermutlich auch dafür verantwortlich, daß Flavonoide in wäßriger Lösung unter Sauerstoffeinfluß der Autoxidation unterliegen. NGUYEN stellte dazu fest, daß im alkalischen Milieu Quercetin leichter oxidierbar ist als Rutin und daß mit zunehmendem pH-Wert die Oxidationsgeschwindigkeit steigt. Mit zunehmender Autoxidation steigt auch die Braunfärbung der Lösung, die auf die Bildung von Polymeren zurückzuführen ist [123]. Die geringere Anfälligkeit des Rutins begründen KESSLER et al. mit der Blockierung der 3-OH-Funktion durch den Rutinose-Rest [85]. Während der Autoxidation entstehen durch 1-Elektronen-Übergang reaktive Aroxyl-Radikale sowie durch 2-Elektronen-Übergang Chinone [32]. Nach Untersuchungen von HODNICK et al. autoxidiert Quercetin schon bei pH 7,5 und erzeugt dabei das Superoxid-Anion, das durch Dismutation zu H_2O_2 umgesetzt wird [75]. Die Autoxidation wird durch Übergangsmetallionen katalysiert [28, 56]. Untersuchungen von MIURA et al. ergaben, daß besonders Flavonoide mit einer *o*-Dihydroxyfunktion im B-Ring, wie z. B. Quercetin, prooxidativ wirken können [112]. Diese Befunde wurden von CANADA et al. für Quercetin bestätigt, allerdings ließ sich dieses Prinzip nicht auf Rutin übertragen. Dies läßt die Schlußfolgerung zu, daß auch die 3-OH-Funktion eine wichtige Rolle bei Autoxidationsprozessen spielt. Für Quercetin zeigte sich in diesen Experimenten in Abwesenheit von Eisenionen keine Anfälligkeit zu Autoxidation bei physiologischem pH-Wert. Unter Einfluß von Eisenionen und Superoxiddismutase entstand allerdings bei der Autoxidation von Quercetin Wasserstoffperoxid und das Hydroxylradikal [26].

Bei den meisten polyphenolhaltigen Extrakten überwiegt jedoch der antioxidative Effekt. Extrakte werden isolierten Substanzen vorgezogen, da so ein breiteres Spektrum an Inhaltsstoffen eingesetzt werden kann, das bereits in der produzierenden Pflanze effektiv vor UV-Strahlung schützt [34]. Ein Überblick über verwendete Extrakte findet sich in [48]. Als besonders wirksam hat sich ein catechinhaltiger Extrakt aus grünem Tee herausgestellt. In Untersuchungen von KATIYAR et al. ließ sich eine protektive Wirkung gegenüber molekularen Schäden an der Haut sowie Photocarcinogenese nachweisen [81, 82]. Mit einem Extrakt aus grünem Tee, der in einer kosmetischen Formulierung eingearbeitet wurde, ließ sich in einer Humanstudie die Menge an Lipidperoxiden in der Haut signifikant verringern [131]. Am Mäusemodell zeigte auch Silymarin eine protektive Wirkung gegen UV-induzierten Hautkrebs [83]. Eine signifikante Reduktion der strahlungsbedingten Lipidperoxidation konnte mit einem Extrakt aus *Ginkgo biloba* erreicht werden. Auch die Bildung von Sonnenbrand-Zellen in Humanhaut ließ sich damit verhindern [129]. Weitere Pflanzen, deren Extrakte antioxidativ und photoprotektiv wirksam sind, sind z. B. *Cichorium endivia* [46], *Polygonum leucotomos* [4], *Sedum telephium* [19] sowie *Panax ginseng* [160].