

Moleküle und biologische Mechanismen des Süß- und Umamigeschmacks

Maik Behrens, Wolfgang Meyerhof, Caroline Hellfritsch und Thomas Hofmann*

Stichwörter:

Geschmack · Molekulare Erkennung ·

Naturstoffe · Rezeptoren ·

Signaltransduktion



Unsere Wertschätzung für Nahrungsmittel ist weitgehend auf die Auslösung der Geschmacksempfindungen „süß“ und „umami“ zurückzuführen. Mit einem besonderen Schwerpunkt auf Naturstoffen wird dieser Aufsatz einen Überblick über jene Stoffe geben, die die Geschmackseindrücke „süß“ oder „umami“ hervorrufen und modulieren. Es wird diskutiert, wie die Wechselwirkung dieser Moleküle mit dem oralen Süß- oder Umamigeschmacksrezeptor die Rezeptorzellen anregt, Neurotransmitter abzusondern, um neurale Aktivität hervorzurufen, die an die Großhirnrinde weitergeleitet wird und süßen bzw. umami Geschmack übermittelt. Neue Befunde zeigen auch, dass süßer Geschmack für die Homöostase des Energiehaushalts metabolisch relevant und mit dem appetitiven ingestiven Verhalten verknüpft ist.

1. Einleitung

Alle fünf sensorischen Systeme sind an der Geschmackswahrnehmung beteiligt, die Auswahl, Aufnahme, Absorption und Verdauung von Nahrung fördert. Während die meisten unserer Sinne einschließlich Sehvermögen, Hörvermögen, Tastempfinden, Thermozeption und Propriozeption auf die Erkennung physikalischer Ereignisse abgestimmt sind, wird die Wahrnehmung von Geruch und Geschmack durch flüchtige und nichtflüchtige Moleküle veranlasst, die spezifische Chemorezeptorzellen in Nase oder Mundhöhle aktivieren. Psychophysiker haben lange die Existenz von nur vier Grundgeschmacksqualitäten süß, bitter, sauer und salzig vermutet. Obwohl bereits 1908 von K. Ikeda (Tokyo Imperial University) nach der Entdeckung von L-Glutamat beschrieben, wurde der Hauptgeschmacksreiz in Algenbrühe, der so genannte Umamigeschmack (allgemein als Wohlgeschmack bezeichnet), erst seit der Klonierung eines spezifischen Aminosäuregeschmacksrezeptors im Jahr 2002 als fünfte grundlegende Geschmacksqualität anerkannt.^[1] Alle fünf Geschmacksrichtungen werden durch Aktivierung von Geschmacksrezeptorzellen vermittelt. Diese sind in Geschmacksknospen eingebettet, die über verschiedene Papillen auf der Zunge und dem Gaumenepithel verteilt sind.

Die Vorliebe für süßen Geschmack ist angeboren, sodass schon Neugeborene süß schmeckende Reize mögen. Die Wahrnehmung von süßem Geschmack könnte unseren frühen Vorfahren geholfen haben, kohlenhydratreiche Nahrung zu identifizieren und ihre Energieaufnahme zu sichern. Jahrhundertelang war in vielen Teilen der Erde Honig die Hauptquelle für Süße. Später sorgte das beliebte Geschmacksprofil von Saccharose dafür, dass Zuckerrohr (*Saccharum officinale* L.) und Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) zu den Hauptquellen für „Zucker“ wurden, da sie breit verfügbar waren und große Saccharosemengen enthalten, die kostengünstig extrahiert werden konnten.^[2] Andererseits wurden während des letzten Jahrhunderts zahlreiche unerwünschte Wirkungen auf die Gesundheit, wie Zahndekaries^[3] oder kardiovaskuläre Krankheiten und deren Risikofaktoren,^[4] mit dem Konsum von Saccharose als Süßungsmittel in Verbindung gebracht. Risikofaktoren wie Fettleibigkeit und Typ-2-

Aus dem Inhalt

| | |
|---|------|
| 1. Einleitung | 2269 |
| 2. Hochwirksame Süßungsmittel aus Pflanzen | 2270 |
| 3. Natürliche Umamiverbindungen | 2275 |
| 4. Struktur und Funktion der Süß- und Umamigeschmacksrezeptoren | 2277 |
| 5. Funktionale Anatomie des Geschmackssystems | 2282 |
| 6. Süßer Geschmack – ein metabolischer Sinn für die Energie-Homöostase | 2286 |
| 7. Zusammenfassung und Ausblick | 2287 |

Diabetes erhöhten weltweit den Bedarf an kalorienarmen Süßstoffen. Künstliche Süßstoffe wie Saccharin, Aspartam, Acesulfam K, Sucralose und Neotam sind in den USA^[5] sowie in der EU^[6] zugelassen und werden konsumiert, aber immer wieder verursachen einige dieser künstlichen hochwirksamen Süßstoffe Diskussionen hinsichtlich ihrer Unbedenklichkeit.^[7]

Untersuchungen des Gesichtsausdrucks bei neugeborenen Säuglingen als Reaktion auf unterschiedliche Geschmacksreize zeigten, dass umami schmeckende Reize wie Mononatriumglutamat(MSG)-Lösungen begierige Saug/Schmatz- und Leckbewegungen auslösten und Gesichtsausdrücke hervorriefen, die den durch süßen Geschmack erzeugten sehr ähnelten.^[8] Diese Befunde deuten darauf hin, dass L-Glutamat schon für menschliche Säuglinge ein wohlschmeckender Geschmacksreiz ist; durch sein Vorkommen in Muttermilch (>50% des Gesamtgehalts an freien Aminosäuren)^[9] signalisiert sein Geschmack das Vorhandensein als Nahrung geeigneter Proteine und trägt möglicherweise zur Akzeptanz dieser Flüssigkeit bei. Der Umamigeschmack von L-Glutamat wird durch 5'-Ribonucleotide wie Inosin-5'-monophosphat (IMP) und Guanosin-5'-monophosphat (GMP)

[*] C. Hellfritsch, Prof. Dr. T. Hofmann
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik
Technische Universität München
Lise-Meitnerstraße 34, 85354 Freising-Weihenstephan (Deutschland)
Fax: (+49) 8161/71-2949
E-Mail: thomas.hofmann@tum.de
Dr. M. Behrens, Prof. Dr. W. Meyerhof
Abteilung Molekulare Genetik
Deutsches Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke
(Deutschland)

drastisch verstärkt, und diese Synergie ist ein Kennzeichen dieser Geschmacksqualität.^[10] Wegen dieser Verstärkung des Wohlgeschmacks werden L-Glutamat-reiche Nahrungsmittel seit Jahrhunderten von vielen Zivilisationen verwendet. Anfangen mit der Verwendung von fermentierter Fischsoße im antiken Griechenland und Rom, ist es heute in Asien üblich, Sojasoße zu verwenden, um herzhafte Gerichte geschmacklich zu verfeinern, und in Japan, Suppen mit Algen und Thunfisch schmackhafter zu machen. In Frankreich wird Fleisch (oder Fisch) mit Gemüse kombiniert, um würziger Brühen herzustellen, und in Italien werden Parmesankäse, Anchovis und vollreife Tomaten mit Meeresfrüchten gekocht, um schmackhaftere Gerichte zu erhalten. Die Kombination dieser Zutaten bringt sicher L-Glutamat und 5'-Ribonucleotid in ausreichenden Mengen zusammen, um den zubereiteten Speisen einen stark erhöhten Umamigeschmack zu verleihen. Diese Tatsache ist äußerst wichtig für die Nahrungsmittelindustrie, die Mischungen von MSG, IMP und GMP einsetzt, um den Geschmack kulinarischer Produkte, Snacks, Soßen, Suppen und Würzmittel zu steigern. Für MSG haben sich allerdings gesundheitliche Bedenken ergeben, da es als Verursacher des „Chinarestaurant-Syndroms“ mit Symptomen wie akutem Kopfschmerz, Rötung und Schweißausbruch angesehen wird. Wenngleich es keinen eindeutigen wissenschaftlichen Beweis für eine Verbindung zwischen MSG-Verzehr und diesem Syndrom^[11] gibt, haben diese Bedenken sowie die Weiterentwicklung molekularbiologischer Techniken zu neuen Forschungsstrategien – ähnlich den Strategien zur Identifizierung von Wirkstoffen – angelegt, um die Ligand-initiierte Aktivierung des Umamigeschmacksrezeptors zu verstehen und alternative Uma-

migeschmacksstoffe und umamiverstärkende Moleküle zu finden.

Vor dem Hintergrund des wachsenden Interesses der Nahrungsmittelindustrie an natürlich vorkommenden, den Süß- und Umamigeschmack beeinflussenden Verbindungen sowie der neueren molekularbiologischen Befunde zur molekularen Struktur der zugrundeliegenden Geschmacksrezeptoren, gibt dieser Aufsatz einen Überblick über den aktuellen Stand von Naturstoffen, die süße oder umami Geschmacksnoten hervorrufen oder beeinflussen. Zudem werden neue Erkenntnisse diskutiert, wie die Wechselwirkung dieser Moleküle mit den oralen Süß- und Umamigeschmacksrezeptoren die Rezeptorzellen zur Sekretion von Neurotransmittern anregt, um neurale Aktivität zu induzieren, die zum cerebralen Cortex weitergeleitet wird, um den süßen Geschmack zu vermitteln und appetitives Aufnahmeverhalten zu induzieren.

2. Hochwirksame Süßungsmittel aus Pflanzen

Infolge des verstärkten Wunsches der Konsumenten nach natürlichen Nahrungsmittelinhaltstoffen war man in den letzten Jahren bemüht, natürliche kalorienarme Süßungsmittel zu finden. Über verschiedene Methoden wurden sehr viele intensiv süß schmeckende Stoffe im Pflanzenreich lokalisiert, isoliert, gereinigt und identifiziert. Botaniker verwendeten beispielsweise Begriffe wie *dulcis* (süß) oder *saccharum* (Zucker), wenn süß schmeckende Pflanzen zum ersten Mal beschrieben wurden, und daher liefert die publizierte Literatur der Botanik einen nützlichen Pool an Pflan-



Thomas Hofmann studierte Lebensmittelchemie an der Universität Erlangen-Nürnberg. Er promovierte und habilitierte 1995 bzw. 1998 bei Prof. P. Schieberle an der chemischen Fakultät der TU München (TUM). Von 1999 bis 2002 war er stellvertretender Direktor der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie der Leibniz-Gemeinschaft. 2002 übernahm er den Lehrstuhl für Lebensmittelchemie an der Universität Münster, und seit 2007 hat er den Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik an der TUM inne. Geprägt ist er Vizepräsident der TUM.



Maik Behrens studierte Biologie an der Universität Hamburg. 1997 promovierte er an der Universität Hamburg am Institut für Zellbiochemie und Klinische Neurobiologie bei Prof. H. Schmale. Nach einem Postdoktorat am Department of Anatomy and Neurobiology, University of Maryland (Baltimore), bei Prof. F. L. Margolis wechselte er zur Abteilung für Molekulare Genetik am Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke.



Wolfgang Meyerhof studierte Biochemie an der Freien Universität Berlin, wo er 1984 bei Prof. W. Knochel promovierte. 1993 wurde ihm am Universitätskrankenhaus Eppendorf (Hamburg) die *venia legendi* in Zellbiochemie verliehen. 1994 wurde er Professor für Molekulare Genetik an der Universität Potsdam und Leiter der Abteilung für Molekulare Genetik am Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke, ein Institut der Leibniz-Gemeinschaft. Seine Forschungsinteressen umfassen die molekulare Neurobiologie des Geschmacks und die Regulation von Hunger und Sättigung.



Caroline Hellfritsch erhielt ihr Diplom in Chemie 2006 an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, wo sie unter der Anleitung von Prof. W. Plass arbeitete. 2007 begann sie ihre Promotionsarbeit an der Technischen Universität München bei Prof. T. Hofmann.

zen, der vermutlich äußerst süße Verbindungen enthält.^[2,12] Auch nutzten Einheimische seit langem einzelne Pflanzen oder spezielle Teile davon, wodurch Naturstoffchemiker wichtige Hinweise erhalten, wo in natürlichen Quellen nach süß schmeckenden Molekülen zu suchen ist. Das systematische Screening von Pflanzenkandidaten mithilfe einer Geschmacksprüfung durch menschliche Testpersonen während der Feldarbeit führte ebenfalls zur Entdeckung intensiv schmeckender Verbindungen.^[2]

Für eine mögliche Verwendung als Süßstoff sollten Naturstoffe gewisse Anforderungen erfüllen: Sie sollten ein saccharoseähnliches Geschmacksprofil aufweisen und nicht toxisch, nicht kariogen, leicht wasserlöslich und bei niedrigem pH-Wert sowie höheren Temperaturen stabil sein. Mit einer Süßkraft, die mindestens der 50–100fachen derjenigen von Saccharose entspricht, werden diese Verbindungen auch als „hoch wirksame“ oder „kalorienarme“ Süßungsmittel bezeichnet.^[13]

Die meisten der heute bekannten, stark süßen Naturstoffe gehören zu den Terpenoiden oder den Steroiden und kommen häufig als Glycoside vor. In den folgenden Abschnitten geben wir einen Überblick über mehrere süß schmeckende Verbindungen mit einem Mono-, Sesqui-, Di- und Tri-terpen-Rückgrat sowie über intensiv süße Steroid-Saponine, gefolgt von süß schmeckenden Phenolen und Proteinen aus unterschiedlichen Pflanzen. Die behandelten süß schmeckenden Moleküle, ihre Ursprungspflanzen sowie ihre Süßkraft relativ zu der von Saccharose bezogen auf das Gewicht (Saccharose = 1) sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Zur Bestimmung der Süßkraft wird eine wässrige Lösung der Testsubstanz verdünnt, bis die wahrgenommene Süße äquivalent zu der einer beispielsweise 2-proz. Saccharose-Lösung ist (Gewicht/Volumen). Eine Süßkraft von 100 auf Gewichtsbasis bedeutet, dass eine um den Faktor 100 kleinere Konzentration der Testsubstanz ausreicht, um die gleiche Intensität des Süßgeschmacks wie die Saccharose-Referenz zu erreichen.^[14] Es ist zu erwähnen, dass die Süßkraft einer Verbindung mit der Konzentration variiert und von der zur Bestimmung verwendeten organoleptischen Methode abhängt.

Tabelle 1: Ausgewählte hochwirksame Süßstoffe aus Pflanzen.

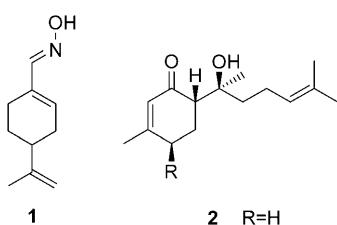
| Verbindungsklasse | Verbindungsname | Süßkraft ^[a] |
|-------------------------------|--|---|
| <i>Monoterpe</i> n: | Perillartin ^[b] (1) | 370 |
| <i>Sesquiterpe</i> n: | (+)-Hernandulcin (2) (+)-4β-Hydroxyhernandulcin (3) | 1000–1500 k.A. ^[c] |
| <i>Diterpe</i> n: | | |
| <i>ent</i> -Kauren-Glycoside: | Dulcosid A (4) Rebaudiosid A (5) Rebaudiosid B (6) Rebaudiosid C (7) Rebaudiosid D (8) Rebaudiosid E (9) Rebaudiosid F (10) Rubusosid (11) Steviolbiosid (12) Steviosid (13) Baiyunosid (14) Phlomisosid I (15) | 30 242 150 30 221 174 k.A. ^[c] 115 90 210 500 k.A. ^[c] |
| <i>Labdan</i> -Glycoside: | | |
| <i>Triterpe</i> n: | Mogrosid IV (16) Mogrosid V (17) Siamenosid I (18) Cyclocariosid A (19) Cyclocariosid I (20) | 233–392 250–425 563 200 250 |
| <i>Oleanan</i> -Glycoside: | Albiziasaponin A (21) Albiziasaponin B (22) Glycyrrhizin (23) | 5 600 93–170 |
| <i>Steroid-Saponine</i> : | Osladin (24) Polypodosid A (25) Polypodosid B (26) | 500 600 k.A. ^[c] |
| <i>Phenole</i> : | Glycyphillin (27) Naringindihydrochalcon ^[b] (28) Neohesperidindihydrochalcon ^[b] (29) Phyllodulcin (30) | k.A. ^[c] 300 1000 400 |
| <i>Proteine</i> : | Thaumatin (31) Brazzein (32) Pentadin (33) Monellin (34) Mabinlin (35) Curculin (Neoculin) (36) | 1600 2000 500 3000 375 ^[d] 550 |

[a] Die Süßkraft ist relativ zu Saccharose bezogen auf die Masse angegeben und wurde in Lit. [7] zusammengestellt. [b] Semisynthetischer Süßstoff. [c] Süßkraft ist nicht bestimmt. [d] Die Süßkraft für Mabinlin II ist auf molarer Basis bestimmt, siehe Text.

2.1. Süße Terpenoide

Die Beobachtung, dass das aus dem flüchtigen Öl von *Perilla frutescens* (L.) Britton (Labiatae) isolierte, natürlich vorkommende Terpen Perillaldehyd einen leicht süßlichen Geschmack hervorruft, führte zur Entdeckung, dass das entsprechende α -syn-Oxim, Perillartin (**1**) über 370-mal süßer ist als Saccharose.^[2] Sowohl die geringe Wasserlöslichkeit als auch der bittere und lakritzartige Beigeschmack dieser semisynthetischen Verbindung verhindern ihre breitere Verwendung; **1** wird in Japan kommerziell zur Süßung von Tabakprodukten eingesetzt.^[2,15]

Hernandulcin (**2**), ein Sesquiterpen der Bisabolanklasse, ist der süße Grundbestandteil in Blättern und Blüten von



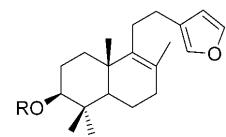
Lippia dulcis Trev. (Verbenaceae). Dieser süße Naturstoff wurde Hernandulcin genannt, zu Ehren des spanischen Arztes Francisco Hernández, der im 16. Jahrhundert die süße Pflanze, die schon die Azteken kannten, beschrieb. Das natürlich vorkommende (+)-Hernandulcin (**2**) wurde als 1000-mal süßer als Saccharose (auf molarer Basis) beschrieben, hat aber einen unangenehmen, bitteren Nachgeschmack.^[16,17] Als weiteres süßes Derivat aus *Lippia dulcis* wurde (+)-4 β -Hydroxyhernandulcin (**3**) isoliert. Diese Sesquiterpene sind recht hydrophob, allerdings könnte die 4 β -OH-Gruppe von **2** eine mögliche Bindungsstelle sein, um polarere Gruppen einzuführen und damit die Wasserlöslichkeit dieser Süßstoffklasse zu erhöhen.^[14]

Seit Jahrhunderten wurden die Blätter von *Stevia Rebaudiana* (Bert.) Bertoni, einer ursprünglich aus Paraguay stammenden Pflanze, von der einheimischen Bevölkerung verwendet, um Kräutertees zu süßen und deren bitteren Geschmack zu überdecken. Dieses Mitglied der Compositae-Familie ist auch als „süßes Kraut“ bekannt und enthält neun süße *ent*-Kauren-Glycoside (**4–10, 12, 13**), die allgemein als Steviol-Glycoside bezeichnet werden. Abhängig von Sorte und Wachstumsbedingungen variiert der Gehalt an diesen Glycosiden zwischen 4 und 20 % bezogen auf das Trocken-gewicht.^[18] Steviosid (**13**) und Rebaudiosid A (**5**) kommen von den neun süßen Diterpen-Glycosiden, die Steviol (13-Hydroxykaur-16-en-18-säure) als gemeinsames Aglycon aufweisen, am häufigsten vor.^[19] Die Werte für die relative Süße von Rebaudiosid A–F (**5–10**), Steviosid (**13**) und Steviolbio-sid (**12**) nach Kinghorn und Soejarto sind in Tabelle 1 aufge-listet.^[2] Rebaudiosid A werden die besten organoleptischen Süßungseigenschaften und der am wenigsten bittere Beigeschmack zugeschrieben. Die Erhöhung der Gehalte an Rebaudiosid A in Pflanzen und Pflanzenextrakten ist Ziel der Züchtungsarbeit und der Entwicklung von Extraktions- und Reinigungsverfahren.^[20] Eine Reihe toxikologischer Unter-suchungen wurde durchgeführt und kürzlich in einem Über-sichtsartikel zusammengestellt.^[21] Darauf basierend sind Steviosid-haltige Extrakte von *S. Rebaudiana* in Japan, Brasilien, Südkorea, Argentinien und Paraguay als Lebensmit-telzusatzstoffe zugelassen und werden in den Vereinigten Staaten als Nahrungsergänzungsmittel verwendet.^[17] In der Europäischen Union sind Steviol-Glycoside bisher noch nicht als Süßungsmittel genehmigt worden, aber 2008 wurde Rebaudiosid A in den USA der GRAS(Generally Recognized as Safe)-Status zuerkannt. Im gleichen Jahr schlug das Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives eine zeit-weißig zulässige tägliche Aufnahme (ADI, admissible daily intake) von 0–4 mg kg⁻¹ Körpergewicht vor, bezogen auf Steviol.^[22]

| R ¹ : | R ² : | R ¹ : | R ² : |
|---|---|---|--|
| 4 β -glc | β -glc ² - α -rha | 9 β -glc ² - β -glc | β -glc ² - β -glc |
| 5 β -glc | β -glc ² - β -glc β -glc | 10 β -glc | β -glc ² - β -xyl β -glc |
| 6 H | β -glc ² - β -glc β -glc | 11 β -glc | β -glc |
| 7 β -glc | β -glc ² - α -rha β -glc | 12 H | β -glc ² - β -glc |
| 8 β -glc ² - β -glc | β -glc ² - β -glc β -glc | 13 β -glc | β -glc ² - β -glc |

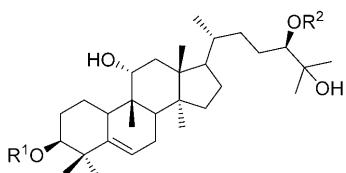
Außer *Stevia Rebaudiana* (Bert.) Bertoni enthalten auch die Blätter des chinesischen Krauts *Rubus suavissimus* S. Lee (Rosaceae) ein süß schmeckendes *ent*-Kauren-Glycosid mit einer β -D-Glucopyranosyl-Einheit, die an die Hydroxygruppe an Position 13 und die Carboxygruppe an Position 19 ge-bunden ist.^[23] Dieses Molekül, genannt Rubusosid (**11**), wurde 114-mal süßer als Saccharose bewertet, erzeugt aber auch einen anhaltenden bitteren Nachgeschmack.^[2]

Baiyunosid (**14**), ein Diterpen-Glycosid vom Labdan-Typ mit (+)-Baiyunol als Aglycon, wurde 1983 aus *Phlomis betonicoides* Diels, einer in der traditionellen chinesischen Medizin verwendeten Pflanze, isoliert. Es wurde festgestellt, dass Baiyunosid 500-mal süßer als Saccharose ist, aber sein bleibender Nachgeschmack wird länger als eine Stunde wahrgenommen, was seine Verwendung in Nahrungsmitteln als Süßstoff beschränkt. Phlomisosid I (**15**), das sich vom Labdan-Glycosid **14** nur durch α -Rhamnose anstelle β -Xylose im Glycosidteil unterscheidet, wurde ebenfalls aus *P. betonicoides* isoliert, aller-dings fehlen zu diesem Molekül noch jegliche Daten zur Süßkraft.^[2,24]



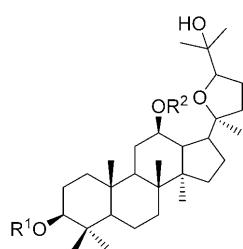
In der Gruppe der Triterpen-Glycoside gehören die Mogroside zu den am intensivsten süß schmeckenden Verbindungen. Mogrosid IV (**16**) und V (**17**) sind die wichtigsten süßen Tri-terpen-Glycoside. Sie wurden aus getrockneten Früchten der Cucurbitaceae „lo-han-kuo“ (*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey), deren Extrakte in China als Heilmittel zur Be-handlung von Erkältungen und Halsschmerzen eingesetzt wurden, isoliert.^[25] Die Süße von Mogrosid V, das in Aus-beuten von etwa 1 % (wt/wt) erhalten wird, wurde – abhängig von der Konzentration – als 250–450-mal intensiver bewertet als die von Saccharose. Noch stärker als die Süßintensität von Mogrosid V, nämlich 563-mal stärker als jene von Saccharose, ist die Süßintensität von Siamenosid I (**18**), einem weiteren Triterpen-Glycosid, das in *S. grosvenorii* sowie in anderen Spezies derselben Gattung (*S. siamensis*) identifiziert wurde.^[26] Heute werden „lo-han-kuo“-Extrakte, die Mogro-

sid V enthalten, in Japan zum Süßen von Lebensmitteln und Getränken verwendet^[17,27] und sind in den Vereinigten Staaten mit dem GRAS-Status klassifiziert.^[28]



| R ¹ : | R ² : |
|------------------------------|------------------------------------|
| 16 β-glc ⁶ -β-glc | β-glc ² -β-glc |
| 17 β-glc ⁶ -β-glc | β-glc ² -β-glc β-glc |
| 18 β-glc | β-glc ² -β-glc β-glc |

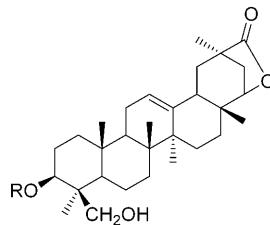
Weitere Triterpen-Glycoside, die Cyclocarioside mit einem Aglycon vom Dammaran-Typ, wurden in den Blättern von *Cyclocarya paliurus* gefunden, einer Pflanze, die in China zur Behandlung von Diabetes verwendet wurde. Cyclocariosid A (**19**) und Cyclocariosid I (**20**) wurden gereinigt und ihre Süßkraft als 200- bzw. 250-mal stärker als die von Saccharose bestimmt.^[7,29]



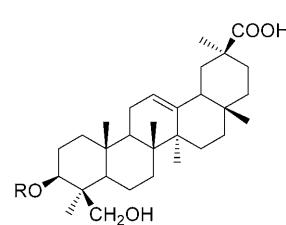
| R ¹ : | R ² : |
|------------------|------------------|
| 19 α-ara-5-Ac | α-rha |
| 20 α-rha | β-qui |

Aus süß schmeckenden Extrakten, hergestellt aus den Stängeln von *Albizia myriophylla*, die in der traditionellen Medizin in Thailand und Vietnam als Ersatz für Süßholz (*Glycyrrhiza glabra* L.) gedient haben, wurden mehrere Oleanan-Triterpen-Saponine isoliert. Davon wurden die Saponine Albiziasaponin A (**21**) und B (**22**) als Schlüsselverbindungen identifiziert, und ihre Süßkraft wurde mittels einer Geschmacksprüfung durch trainierte Testpersonen untersucht. Die Süßkraft hängt stark von der chemischen Struktur ab: Das reichlicher vorhandene Albiziasaponin B (**22**) mit einer freien Carboxygruppe erwies sich als 600-mal süßer als Saccharose, Albiziasaponin A, das eine Lactongruppe enthält, hingegen nur als 5-mal süßer.^[30]

Glycyrrhizin oder Glycyrrhizinsäure (**23**), das Diglucuronid des Aglycons Glycyrrhetinsäure, ist der bekannte süße Bestandteil der Wurzeln von Süßholz (*Glycyrrhiza glabra*

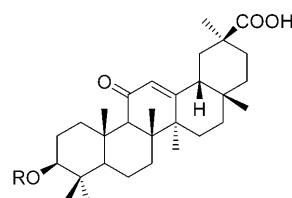


21 R = β-glcA²-β-glcA²-α-rha



22 R = β-glcA²-β-glcA²-α-rha

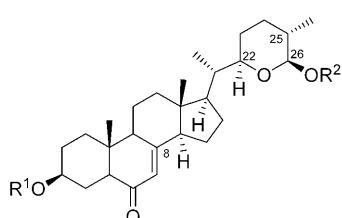
L.) und anderen Spezies derselben Gattung. Glycyrrhizinsäure kann entweder aus den Wurzeln extrahiert werden, die 6–14 % davon als Calcium- und Kaliumsalz enthalten,^[15] oder aus Rhizomen, die zu 3–23 % aus **23** bestehen.^[19] Abhängig von der Konzentration wurde Glycyrrhizin als 93- bis 170-mal süßer als Saccharose bewertet^[7], aber ein schwaches Einsetzen der Süße sowie ein langandauernder Lakritzgeschmack limitieren seine Verwendung als Zuckerersatzstoff.^[17] In Japan werden gereinigte Wurzelextrakte von *G. glabra* verwendet, um Lebensmittel, Kosmetika und Medizin zu süßen.^[31] Während das Ammoniumsalz der Glycyrrhizinsäure (50-mal süßer als Saccharose) in den USA GRAS-Status hinsichtlich der Verwendung als Aromastoff hat,^[32] rät das Scientific Committee on Food der EU, nicht mehr als 100 mg täglich davon zu konsumieren, da befürchtet wird, dass die Einnahme von Glycyrrhizinsäure oder ihrer Salze zu Pseudoaldosteronismus führt, was sich z. B. in einem erhöhten Blutdruck widerspiegelt. Pseudoaldosteronismus kann durch Hemmung des Enzyms 11β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase 2 durch Glycyrrhetinsäure, das Hydrolyseprodukt von Glycyrrhizinsäure, ausgelöst werden. Daraus folgen eine Cortisol-abhängige erhöhte Kaliumausschüttung sowie erhöhte Natrium- und Wasserretention.^[33]



23 R = β-glcA²-β-glcA

Vor mehr als 40 Jahren isolierten Jizba und Herout aus dem europäischen Farn *Polypodium vulgare* L. (Polypodiaceae) ein süßes Steroid-Saponin, das nach dem tschechischen Namen für Farn („osladic“) Osladin (**24**) genannt wurde.^[34] Als die Verbindung, die als Osladin angesehen wurde, durch unabhängige organische Synthese hergestellt wurde, fand man, dass sie keine süße Empfindung hervorruft, weshalb die Konfiguration von Osladin neu zugeordnet werden musste.^[35] Einkristallröntgenstrukturanalysen an natürlichem Osladin ergaben, dass das 22R,25S,26R-Isomer die richtige Struktur aufweist und nicht, wie früher angenommen,

das $22S,25R,26S$ -Isomer. Zusätzlich wurde die Süßkraft relativ zu der von Saccharose von 3000 auf 500 revidiert.^[36] Zwei weitere Steroid-Saponine, Polypodosid A (**25**) und Polypodosid B (**26**), wurden aus Rhizomen des nordamerikanischen Farns *Polyodium glycyrrhiza* DC. Eaton (Polypodiaceae), der auch als „Lakritz-Farn“ bekannt ist, isoliert. Das Aglycon dieser beiden Glycoside wurde als das $\Delta^{7,8}$ -Derivat des Osladin-Aglycons identifiziert und Polypodogenin genannt. Die Konfiguration von Polypodosid A musste ebenfalls vom $22S,25R,26S$ - zum $22R,25S,26R$ -Stereoisomer revidiert werden.^[36] Zwar ist die Süßkraft von Polypodosid A 600-mal stärker als die einer 6-proz. Saccharose-Lösung,^[37] jedoch scheint das Potenzial für seine kommerzielle Anwendung durch einen lakritzartigen Nachgeschmack, geringe Wasserlöslichkeit sowie die geringe Verfügbarkeit von *P. glycyrrhiza*-Rhizomen begrenzt zu sein.^[38]

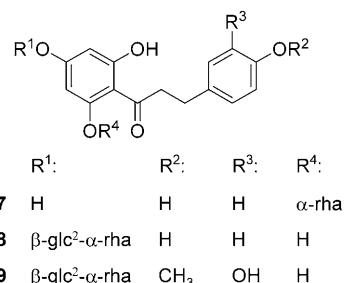


| R ¹ : | R ² : | andere: |
|-------------------------------------|------------------|-------------|
| 24 β-glc ² -α-rha | α-rha | 7,8-dihydro |
| 25 β-glc ² -α-rha | α-rha | - |
| 26 β-glc | α-rha | - |

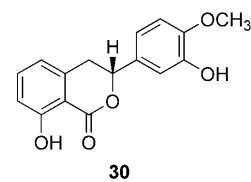
2.2. Süße Phenole

Zusätzlich zu den Terpenoiden sind in der Vergangenheit auch mehrere Phenole als süß schmeckende Phytomoleküle identifiziert worden. Das Dihydrochalcon Glycyphillin (**27**) zum Beispiel stellte sich als der süße Bestandteil der australischen Kletterpflanze *Smilax glycyphylla* Sm., die zur Familie der Smilacaceae gehört, heraus. Es wurde 1886 von Rennie isoliert und als Rhamnosid von Phloretin identifiziert. Mehrere glycosidische Formen von Phloretin tragen vermutlich zum süßen Geschmack von Äpfeln bei.^[15] Der Geschmack von Glycyphillin wird als lakritzartig beschrieben; es selbst ist leichtlöslich in heißem Wasser.^[39] Die bitter schmeckenden Flavanon-Glycoside Naringin aus der Schale von Grapefruits (*C. paradisi* Macfad.) und Neohesperidin aus der Schale der Sevilla-Orange (*Citrus aurantium* L.) werden industriell mit Alkalilauge behandelt und hydriert, um die intensiv süß schmeckenden Verbindungen Naringindihydrochalcon (**28**) bzw. Neohesperidindihydrochalcon (**29**) herzustellen.^[40] Das Dihydrochalcon **29**, das 600–1500-mal süßer als Saccharose ist, wurde 1994 von der EU als Süßstoff zugelassen und wird in vielen Lebensmitteln und Getränken als Aromaverstärker (E 959) eingesetzt.^[41]

Das Dihydroisocumarin Phyllodulcin (**30**) wurde als das süße Molekül identifiziert, das durch Zerkleinern und/oder Fermentation der Blätter von *Hydrangea macrophylla* Se-



ringe var. *thunbergii* (Siebold) Makino (Saxifragaceae) aus dem Glycosid freigesetzt wird. In Japan wird der als „Amacha“ bezeichnete Süßstoff üblicherweise für die Zubereitung des Teeaufgusses während der Hanamatsuri-Zeremonie verwendet. Phyllodulcin wurde als 400-mal süßer als eine 3-proz. (w/v) Saccharose-Lösung bewertet, seine Verwendung als kalorienarmer Süßstoff ist allerdings durch den späten Einsatz der Süße, einen anhaltenden Nachgeschmack und geringe Wasserlöslichkeit beschränkt.^[17]



2.3. Süße Proteine

2.3.1. Thaumatin

1968 berichteten Inglett und May, dass die Samenhülle der westafrikanischen Pflanze *Thaumatococcus daniellii* (Bennett) Benth. (Marantaceae) einen intensiv süßen Geschmack aufweist. Van der Wel und Loeve identifizierten dann 1972 die beiden Proteine Thaumatin I (**31a**) und II (**31b**) als die Schlüsselmoleküle, die den süßen Geschmack hervorrufen, und beschrieben, dass ihre Süßkraft bezogen auf das Gewicht oder die molare Masse 1600- bzw. 100 000-mal höher ist als die von Saccharose.^[42] Beide Thaumatine bestehen aus 207 Aminosäuren, die in einer einzigen Polypeptidkette angeordnet sind und ein Protein mit dem Molekulargewicht von 22 209 Da (Thaumatin I) bzw. 22 293 Da (Thaumatin II) bilden.^[43] Da die Proteine Disulfidbindungen enthalten, weisen sie nur eine relativ geringe Thermostabilität auf.^[15] Röntgenstrukturanalysen zeigten, dass die Struktur der beiden Proteine drei Domänen enthält: ein 11-strängiges β-Sandwich, zwei β-Stränge, die ein β-Faltblatt bilden, und eine α-Helix (Abbildung 1).^[44,45] Aluminiumsalze verschiedener Thaumatine sind als Süßstoffe kommerziell erhältlich (Talin-Protein). Thaumatin wurde 1979 in Japan als Lebensmittelzusatzstoff anerkannt, ist heute in mehreren europäischen Staaten und Australien als Süßstoff zugelassen und hat in den USA als Geschmacksverstärker für bestimmte Nahrungsmittel GRAS-Status erlangt.^[46]

2.3.2. Brazzein und Pentadin

Während Thaumatin nicht thermostabil ist, behält Brazzein (**32**), ein süßes Protein, das von Ming und Hellekant aus der afrikanischen Pflanze *Pentadiplandra brazzeana* Baillon

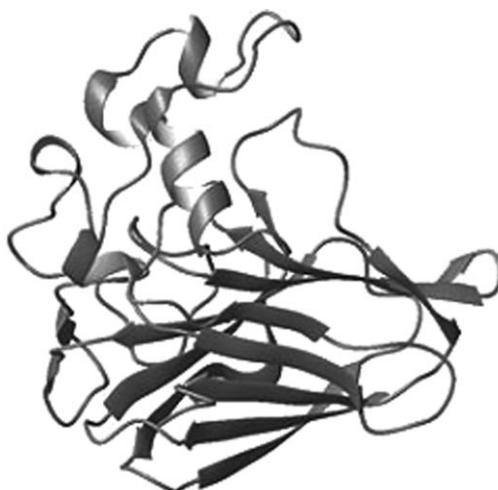


Abbildung 1. Kristallstruktur von Thaumatin (31). Wiedergabe aus Lit. [45] mit Genehmigung des Springer-Verlags (2006).

(Pentadiplandraceae) isoliert wurde, seinen Saccharose-artigen, süßen Geschmack bis zu einer Temperatur von 80 °C.^[47] Das Protein besteht aus einer einzelnen Polypeptidkette mit 54 Aminosäuren (6473 Da) und ist 2000-mal süßer als eine 2-proz. Saccharose-Lösung.^[47] Später wurde aus der gleichen Pflanze ein zweites Protein, Pentadin (33), mit einem Molekulargewicht von etwa 12000 Da isoliert, das 500-mal süßer als Saccharose ist.^[48]

2.3.3. Monellin

Das süß schmeckende Protein Monellin (34), benannt nach dem Monell Chemical Senses Center in den USA, wo es 1969 entdeckt worden war,^[49] wurde aus der Frucht des westafrikanischen Strauchs *Dioscoreophyllum cumminsii* (Stapf) Diels., auch als „serendipity berry“ bekannt, isoliert. Bohak und Li zeigten, dass Monellin aus zwei Untereinheiten A und B besteht, die 42 bzw. 50 Aminosäuren enthalten.^[50] Interessanterweise erzeugte keine der Untereinheiten alleine einen süßen Geschmack, aber das undissozierte Dimer war gewichtsbezogen 3000-mal süßer als Saccharose bewertet worden.^[51] Da eine Extraktion und Reinigung von Monellin aus der Ursprungspflanze recht kostspielig ist, gab es verschiedene Ansätze, um das rekombinante Protein biotechnologisch in Hefe oder *E. coli* zu produzieren.^[52] Wegen seiner geringen Thermostabilität und seinem anhaltenden Nachgeschmack wird Monellin gegenwärtig nicht als kommerzieller Süßstoff verwendet.^[38]

2.3.4. Mabinlin

Die Samen von *Capparis masakai* Lévl (Capparidaceae) enthalten eine Reihe süß schmeckender Proteine, die Mabinline (35).^[53] Die ersten Proteine, als Mabinlin I und II bezeichnet, wurden 1983 von Hu und He isoliert.^[54] Die Pflanze – auch bekannt als „Mabinlang“ – wird in der traditionellen chinesischen Medizin eingesetzt und ist in den subtropischen Regionen der chinesischen Provinz Yunnan heimisch. Durch Kauen der Samen induzieren die Mabinline

einen langanhaltenden, süßen Geschmack, der von einer bitteren und adstringierenden oralen Empfindung begleitet wird. Das aus zwei Untereinheiten mit 33 und 72 Aminosäuren bestehende Mabinlin II zeigt die höchste Thermostabilität in dieser Proteingruppe.^[55] Die B-Kette des Proteins wurde als essenzielles Strukturelement, das mit dem Süßgeschmacksrezeptor wechselwirkt, identifiziert.^[56] Bei sensorischen Studien auf molarer Basis mit menschlichen Testpersonen erwies sich Mabinlin II als 375-mal süßer als Saccharose.^[57]

2.3.5. Neoculin (Curculin)

Die Frucht von *Curculigo latifolia* Dryand. (Hypoxidaceae) ist seit langem dafür bekannt, dass sie eine süße Geschmacksreaktion hervorruft und zudem Sauergeschmack in eine Süßwahrnehmung konvertiert. Die einheimische Bevölkerung in Malaysia isst die getrocknete Frucht, um sauren Nahrungsmitteln einen süßen Geschmack zu verleihen oder um schwarzen Tee zu süßen. Als geschmacksverändernde Komponente wurde ein Protein, Curculin genannt, identifiziert und anfänglich als Homodimer aus zwei identischen Untereinheiten betrachtet. Die Süßkraft von Curculin wurde als 550-mal stärker als jene von Saccharose beschrieben (bezogen auf das Gewicht).^[58] Als sich herausstellte, dass das rekombinante Protein keinen süßen Geschmack aufwies, wurde die chemische Struktur des aus *Curculigo latifolia* Dryand. isolierten Proteins röntgenkristallographisch erneut untersucht. Diese Studien zeigten, dass das Protein als Heterodimer aus Untereinheiten von 13 und 11 kDa, die über Disulfidbindungen verknüpft sind, vorliegt; infolgedessen wurde es in Neoculin (36) umbenannt. Sensorische Analysen ergaben, dass die Süße von wässrigen Neoculin-Lösungen bei niedrigen pH-Werten intensiv ist, während **36** bei mittlerem pH-Wert nur schwach süß schmeckt. Mögliche Auswirkungen des pH-Werts auf die Struktur von Neoculin werden als Ursache für die geschmacksverändernde Wirkung und die Süßgeschmackswahrnehmung diskutiert.^[59]

3. Natürliche Umamiverbindungen

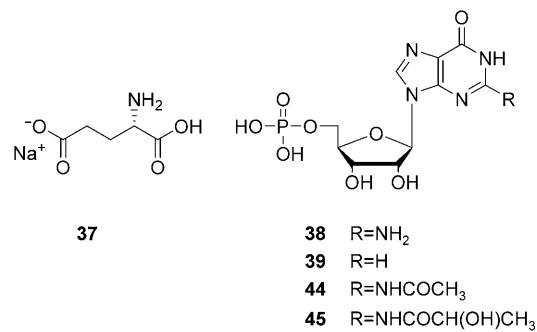
Zu Beginn des 20. Jahrhunderts bemerkte der japanische Professor K. Ikeda in sehr schmackhaften Nahrungsmitteln eine nicht identifizierte Geschmacksqualität, die sich von den vier Grundgeschmacksqualitäten süß, bitter, sauer und salzig unterschied. Er fand diese herzhafte Geschmacksqualität am deutlichsten in „dashi“, einer Suppengrundlage, die aus dem Seetang *Laminaria japonica* erhalten und traditionell in der japanischen Küche verwendet wurde, und identifizierte L-Glutaminsäure als Schlüsselsubstanz. Ikeda nannte diesen Geschmack „umami“, nach dem japanischen Begriff *umai* („köstlich“), und erklärte ihn zur fünften grundlegenden Geschmacksempfindung.^[60] Basierend auf Ikedas Befunden kann man annehmen, dass die empfindliche orale Erkennung der proteinogenen L-Glutaminsäure oder ihres Salzes Mononatrium-L-glutamat (MSG), die eine niedrige Umami-Erkennungsschwelle von 3.0 bzw. 1.5 mmol kg⁻¹ aufweisen, unsere frühen Vorfahren zu proteinreicher Nahrung geführt

haben. Lange Zeit blieb Ikedas Beschreibung des Umami-geschmacks, die in Japanisch publiziert wurde, bei westlichen Wissenschaftlern unbeachtet. Obschon die Entdeckung des Umamigeschmacksrezeptors erst 2002 den Umamigeschmack als fünften Geschmack fest etablierte,^[1,61,62] ist der Geschmack „umami“ vom kulinarischen Standpunkt aus nicht neu. Fermentierte Fischsoßen und Gemüseextrakte sowie Fleischextrakte werden in den Küchen der Welt seit mehr als 2000 Jahren geschätzt, z.B. römisches Garum, thailändisches Num Pla, vietnamesisches Nuoc Mum Tom Cha, indonesisches Terasi sowie British Beef Tea und ihre konzentrierten Würzen.

Außer L-Glutaminsäure und dem entsprechenden Natriumsalz (MSG, **37**) schrieb man auch wässrigen Lösungen von L-Asparaginsäure sowie von C₄-Dicarbonsäuren wie Bernstein- oder Weinsäure MSG-ähnliche Geschmacksqualitäten zu^[63] und zeigte, dass L-Milchsäure zum Umami- und herzhaften Geschmack von Rinderbouillon und Fleischsaft beiträgt.^[64] Weiter wurde festgestellt, dass Purin-5'-ribonucleotide wie Guanosin-5'-monophosphat (GMP, **38**), Inosin-5'-monophosphat (IMP, **39**) und Adenosin-5'-monophosphat (AMP) eine Umamigeschmacksempfindung mit Erkennungsschwellen von 30 und 5 mmol kg⁻¹ für GMP bzw. IMP auslösen.^[65] Zudem wurde nachgewiesen, dass beide Ribonucleotide synergistisch den Umamigeschmack von MSG (**37**) verstärken und zum attraktiven, herzhaften Geschmack von Fleisch, Fisch, Meeresfrüchten, Pilzen sowie Nahrungsmitteln mit Hefeautolysaten beitragen.^[10] Bei der Zubereitung asiatischer Nahrungsmittel wird der schmackhafte Umamigeschmack durch die kombinierte Verwendung von geschmacksaktiven Zutaten wie getrockneten IMP-reichen Bonitoflocken, GMP-reichen Shiitake-Pilzen, L-Glutamat-reichem Seetang sowie fermentierten Produkten wie Sojasoße und Fischsoßen mit hohen L-Glutamat-Spiegeln erzielt (Tabelle 2).^[66] Die westliche Welt schätzt die aromaverstärkende Wirkung des Umamigeschmacks, die auftritt, wenn L-Glutamat als freie Aminosäure vorhanden ist, z.B. in Bouillon oder Rindfleischextrakt, in gereiftem Käse, geräuchertem Schinken oder Tomaten (Tabelle 2).

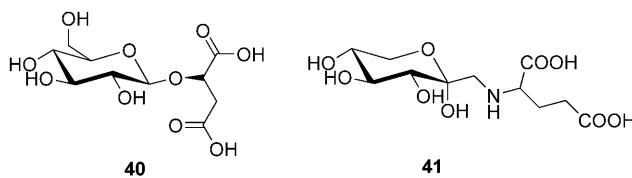
Tabelle 2: Konzentration der umami schmeckenden Verbindungen L-Glutamat, Inosin-5'-monophosphat (IMP), Guanosin-5'-monophosphat (GMP) und Adenosin-5'-monophosphat (AMP) in Nahrungsmitteln (n.n.: nicht nachweisbar).^[66]

| Nahrungsmittel | L-Glutamat [mg/100 g] | IMP [mg/100 g] | GMP [mg/100 g] | AMP [mg/100 g] |
|--------------------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Parmesankäse | 1680 | n.n. | n.n. | n.n. |
| Emmentaler Käse | 308 | n.n. | n.n. | n.n. |
| Cheddar-Käse | 182 | n.n. | n.n. | n.n. |
| Seetang | 1608 | n.n. | n.n. | n.n. |
| Tomate | 256 | n.n. | n.n. | 21 |
| Shiitake-Pilz | 71 | n.n. | 150 | n.n. |
| fermentierte Fischsoße (Japan) | 1383 | n.n. | n.n. | n.n. |
| fermentierte Sojasoße (Japan) | 782 | n.n. | n.n. | n.n. |
| Kamm-Muschel | 140 | n.n. | n.n. | 172 |
| Schneekrabbe | 19 | 5 | 4 | 32 |
| Thunfisch (Bonito) | | 268 | n.n. | n.n. |
| Rindfleisch | 10 | 70 | 4 | 8 |
| Schweinefleisch | 9 | 200 | 2 | 9 |

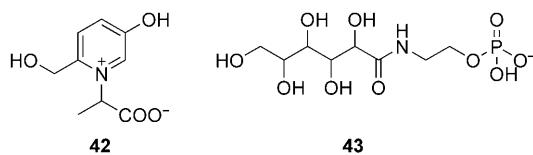


Außer L-Glutamat und den Ribonucleotiden wurden in verschiedenen natürlichen Quellen noch weitere umami schmeckende Moleküle identifiziert. Eine Analyse der Peptide in Proteinhydrolysaten aus Gemüse lieferte Pyroglutamyl-Peptide wie pGlu-Pro-Ser, pGlu-Pro, pGlu-Pro-Glu und pGlu-Pro-Gln als wichtige Moleküle mit umamiartigem Geschmack in diesen flüssigen Würzungen.^[67,68] Zudem führte die enzymatische Hydrolyse von Fischproteinen zu herzhaften Produkten, die reich an sauren Peptiden wie Asp-Glu-Ser, Glu-Asp-Glu, Thr-Glu und Ser-Glu-Glu waren.^[69] Solche sauren Di- und Tripeptide zeigten selbst nur eine schwache Umamiaktivität, die aber in Gegenwart von IMP deutlich verstärkt wurde.^[70] Vor kurzem untersuchten Kaneko et al. die Schlüsselverbindungen, die beim Verzehr von „mat-cha“, einem japanischen grünen Tee, eine Umamigeschmacksempfindung hervorrufen, und identifizierten – außer L-Glutamat und Bernsteinsäure – (1R,2R,3R,5S)-5-Carboxy-2,3,5-trihydroxycyclohexyl-3,4,5-trihydroxybenzoat (als Theogallin bekannt) sowie N-Ethylglutamin (auch L-Theanine genannt) als wichtige, den Umamigeschmack verstärkende Moleküle.^[71]

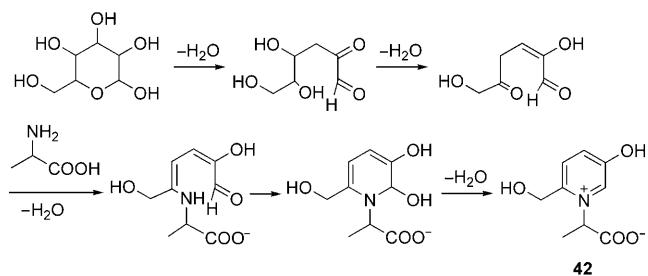
Schon früh war bekannt, dass thermische Verarbeitung einschließlich Trocknung den herzhaften Umamigeschmack von Nahrungsmitteln wie sonnengetrockneten Tomaten oder Pilzen verstärkt. Geschmacksstoffe und geschmacksverstärkende Moleküle in komplexen verarbeiteten Nahrungsmitteln gezielt aufzufinden, ist das Ziel des in den letzten Jahren aufkommenden Arbeitsgebiets „Sensomik“. Sie verbindet die Techniken der fortgeschrittenen Naturstoffanalyse mit analytischen psychophysikalischen Methoden und wird verwendet, um die geschmacksaktiven Schlüsselmetaboliten, die bei der Verarbeitung von Nahrungsmitteln gebildet werden, systematisch und umfassend zu identifizieren, zu katalogisieren und zu quantifizieren.^[72] Die Anwendung dieser Sensomik-Methode zeigte, dass der attraktive, herzhafte Geschmack luftgetrockneter Morcheln auf der Verstärkung des Umamigeschmacks von L-Glutamat durch das vorher nicht beschriebene (S)-Äpfelsäure-1-O-β-D-glucopyranosid (**40**) beruht.^[73]



Dieses so genannte (*S*)-Morelid (**40**) wird bei der nichtenzymatischen Glucosylierung von L-Äpfelsäure bei der Trocknung der Pilze gebildet. Weiterhin wurde in sonnengetrockneten Tomaten *N*-(1-Desoxy-D-fructos-1-yl)-L-glutaminsäure (**41**) in Ausbeuten bis zu 1.5 % (Gewichtsbasis) nachgewiesen und deren Bildung durch die Maillard-Reaktion von L-Glutaminsäure und Glucose beim Trocknen von Früchten bestätigt.^[74] Nach der unabhängigen Synthese wurde festgestellt, dass dieses Amadori-Produkt eine umamiartige Geschmacksqualität mit einer Erkennungsschwelle von 1.8 mmol L⁻¹ aufweist.^[75] Mit den Arbeitstechniken der Sensomik wurde auch das vorher nicht beschriebene innere Salz von *N*-(1-Carboxymethyl)-6-hydroxymethylpyridinium-3-ol, Alapyridain (**42**), als Geschmacksverstärker in Rinderbrühe entdeckt.^[76] Modellexperimente zeigten, dass dieses Pyridiniumsalz bei der Maillard-Reaktion von L-Alanin und Glucose als racemisches Gemisch gebildet wird (Schema 1).^[77] Obwohl selbst geschmacklos, stellte sich heraus, dass das



entdeckt.^[76] Modellexperimente zeigten, dass dieses Pyridiniumsalz bei der Maillard-Reaktion von L-Alanin und Glucose als racemisches Gemisch gebildet wird (Schema 1).^[77] Obwohl selbst geschmacklos, stellte sich heraus, dass das



Schema 1. Reaktionssequenz zur Bildung von Alapyridain (**42**) in der Maillard-Reaktion von Alanin und Glucose.^[68]

Enantiomer (+)-(S)-Alapyridain die menschliche Erkennungsschwelle für umami und süße Reize deutlich herabsetzt, während das (-)-(R)-Alapyridain physiologisch nicht aktiv ist.^[78] Zusätzliche Studien zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAR-Studien) zeigten, dass ein Austausch der Alanineinheit in **42** gegen einen Glycinrest das süß verstärkende Alapyridain in einen Bittergeschmack-Inhibitor überführt.^[79]

Neben der Identifizierung solcher natürlichen Umami-geschmacksverstärker in rohen und verarbeiteten Nahrungsmitteln über den Sensomik-Ansatz konzentrieren sich andere Forschungsansätze auf die thermische Reaktion bekannter, isolierter Nahrungsmittelbestandteile unter küchenüblichen

Modellbedingungen, das Screening der zur Geschmacksverstärkung gebildeten Reaktionsprodukte durch sensorische Prüfungen mithilfe menschlicher Testpersonen und die nachfolgende Verifizierung des natürlichen Vorkommens dieser Verbindungen in Nahrungsmitteln durch HPLC-MS/MS. Zum Beispiel wurde *N*-Gluconylethanolaminphosphat (**43**) durch Reaktion von 2-Aminoethylhydrogenphosphat und δ-Gluconolacton erhalten und eine umamiverstärkende Wirkung festgestellt.^[68] *N*-Gluconylethanolamin, dem ein natürlicher zuckerartiger Geschmackscharakter zugeschrieben wurde, wurde in „Beerenauslese“-Weinen nachgewiesen.^[80]

Erhitzung von Guanosin-5'-monophosphat (**38**) in Gegenwart von Essigsäure oder Milchsäure führte zu *N*-Acetyl- (**44**) bzw. *N*-Lactoylguanosin-5'-monophosphat (**45**), die ein charakteristisches, langanhaltendes Umamigeschmacksprofil aufweisen.^[81,82] Mit HPLC-MS-Analyse wurde das natürliche Vorkommen von **45** durch dessen Nachweis in getrocknetem und fermentiertem Thunfisch (skipjack), der in der japanischen Küche als „Bonito“ bekannt ist, bestätigt.^[81]

Außer solchen Umamiverbindungen wurden in Nahrungsmitteln auch mehrere Substanzen gefunden, die Vollmundigkeit, Fülle und Komplexität der Geschmacksempfindung steigern und ihre Dauer verlängern und die vor etwa zehn Jahren von Japanern als „Kokumi“-Verbindungen bezeichnet wurden. Die ersten Kokumiverbindungen wurden aus wässrigen Extrakten von Knoblauch und Zwiebel isoliert und als schwefelhaltige Aminosäure- und Peptidderivate wie S-Allyl-L-cysteinsulfoxid und γ-Glutamyl-trans-S-propenyl-L-cysteinsulfoxid identifiziert.^[83] Unter Verwendung von Sensomik-Methoden konnte eine Reihe kokumi-aktiver γ-Glutamylpeptide und -tripeptide in gewöhnlichen Bohnen sowie reifem Goudakäse identifiziert werden.^[84] Bis zu Konzentrationen von 10 mmol L⁻¹ sind sie selbst völlig geschmacklos, man stellte jedoch fest, dass diese γ-Glutamyl-Peptide in Mengen über einem Schwellenwert Vollmundigkeit, Komplexität und Geschmacksdauer von herzhaften Lösungen, die Natriumchlorid und L-Glutaminsäure enthalten, sowie einer künstlichen Käsematrix verstärken. Unlängst wurde gezeigt, dass verschiedene kokumi-aktive γ-Glutamyl-Peptide, darunter γ-Glutamylvalin und γ-Glutamylcysteinylglycin (Glutathion), den extrazellulären Calcium-sensitiven Rezeptor (CaSR, calcium sensing receptor) aktivieren, einen nahen Verwandten der G-Protein-gebundenen Süß- und Umami-geschmacksrezeptoren der Klasse C.^[85] Eine spezifische Funktion des CaSR bei der Kokumiwahrnehmung durch den Menschen muss noch bestätigt werden.

4. Struktur und Funktion der Süß- und Umamigeschmacksrezeptoren

4.1. Isolierung und Identifizierung der Süß- und Umamigeschmacksrezeptoren

Süßer und umami Geschmack werden, wie die Abschnitte 2 und 3 zeigen, durch eine große Zahl von Verbindungen vermittelt, die sich in ihrer Molekülstruktur stark unterscheiden. Diese chemische Diversität regte Untersuchungen

zur Molekülstruktur der Süßgeschmacksrezeptoren an. In den letzten Jahrzehnten wurden mit verschiedenen Süßstoffen SAR-Studien durchgeführt, um ein Modell zu entwickeln, das es ermöglichen soll, die aktiven Zentren von Rezeptoren vorherzusagen. Das ursprüngliche AH-B-Modell (A = Säure, B = Base) von Shallenberger und Acree setzte das Vorhandensein eines Wasserstoffbrückendonors und -akzeptors im Abstand von 0.3–0.4 nm voraus.^[86] Dieses Modell wurde beim Erscheinen neuer süßer Chemikalien mit starren Strukturen mehrfach verfeinert.^[87] Alle Modelle können jedoch entweder die Süße von Molekülen mit flexibler Struktur oder die der großen, süß schmeckenden Proteine nicht ausreichend erklären.^[88] Dies führte zur Annahme, dass es mehrere Süßgeschmacksrezeptoren gibt, die auf unterschiedliche Klassen von Süßstoffen reagieren. Erst durch neue molekularbiologische Studien gelang es, den molekularen Aufbau des Süßgeschmacksrezeptors aufzuklären.

Inzwischen ist bekannt, dass die Produkte dreier Gene für die Erkennung appetitiver schmackhafter Reize (das sind süße und Umamiverbindungen) verantwortlich sind. 1999 wurden nach einer hoch entwickelten molekularbiologischen Methode, die auf der Analyse einer von Rattengeschmacksgewebe erhaltenen subtrahierten cDNA-Bibliothek beruht, *T1R1*- und *T1R2*-DNA-Sequenzen isoliert.^[89] Beide Gene schienen in Geschmackszellen selektiv exprimiert zu werden, allerdings mit unterschiedlichen Expressionsmustern: Während *T1R1*-mRNA häufig auf der vorderen Zunge gefunden wurde, war *T1R2* häufiger auf der hinteren Zunge vorhanden. Bei der Sequenzanalyse schienen die Gene für G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) der Klasse C zu codieren, die mit einer Klasse von Pheromon-Rezeptoren, dem Calcium-sensitiven Rezeptor, den metabotropen Glutamat-Rezeptoren und den γ -Aminobuttersäure-Rezeptoren vom Typ B verwandt sind. Die *T1R1*- und *T1R2*-Rezeptoren wurden beide als Geschmacksrezeptoren betrachtet, obwohl kein spezifischer Geschmack mit ihnen verbunden ist. Das dritte Gen wurde zwei Jahre später durch Analyse humarer Gendatenbankinformationen in Kombination mit einer physikalischen Kartierung der Gene entdeckt. Mehrere Gruppen suchten gleichzeitig nach dem *sac*-Locus auf dem distalen Arm des Mauschromosoms 4 für mutmaßliche Rezeptorgene.^[90–93] Schon war vorher bekannt gewesen, dass *sac* bei Mäusen die Empfindlichkeit für süßen Geschmack bestimmt.^[94] Verschiedene Inzuchttämme unterscheiden sich in ihrer Empfindlichkeit für Saccharin und andere Süßstoffe. Das dominante Schmeckerallel *sac* ist mit höherer Empfindlichkeit für süßen Geschmack verbunden als das Nichtschmeckerallel. Diese Experimente identifizierten das *T1R3*-Gen, einen engen Verwandten von *T1R1* und *T1R2*, im chromosomal segmentüberspannenden *sac*-Locus.^[90–93] Die Identität von *T1R3* mit *sac* wurde belegt, indem Süßgeschmackdefizite eines Nichtschmeckermausstamms durch transgene Expression von *T1R3*, das aus einem Schmeckerstamm isoliert worden war, ausgeglichen wurden.^[93] Die Analyse des Expressionsprofils von *T1R3* in Geschmacksgewebe ergab, dass *T1R3*-mRNA entweder mit *T1R1*-mRNA oder mit *T1R2*-mRNA in den gleichen Untergruppen von Geschmackszellen colokalisiert ist, während eine kleine Zahl von Zellen nur *T1R3* exprimiert.^[92,93] Diese Beobachtung

führte zusammen mit der Tatsache, dass andere GPCRs der Klasse C als Dimere wirken, die Forscher dazu, Kombinationen von *T1Rs* in geveränderten heterologen Zelllinien zu exprimieren. Die Ergebnisse dieser Expressionsstudien waren sehr klar: *T1R1* und *T1R3* bilden zusammen einen funktionalen heterodimeren Rezeptor für L-Aminosäuren, wenn die Untereinheiten von Mäusen stammen, oder für L-Glutamat, wenn sie vom Menschen kommen.^[1,62] Die selektive Reaktion auf L-Glutamat ist ein Kennzeichen des Umamigeschmacks. Darüber hinaus zeigt der *T1R1-T1R3*-Rezeptor noch eine weitere Signatur des Umamigeschmacks, nämlich die Fähigkeit, in Gegenwart von 5'-Ribonucleotiden – einschließlich GMP und IMP – verstärkte Antworten zu geben. Daher wird das *T1R1-T1R3*-Dimer auch als Umamigeschmacksrezeptor bezeichnet. Zur Bildung eines funktionalen allgemeinen Rezeptors für süßen Geschmack verbindet sich dagegen *T1R3* mit *T1R2*.^[62,93] Alle verfügbaren Daten aus der In-vitro-Expression des Rezeptordimers^[1,62,93] und von Knockout-Mäusen^[95–97] lassen darauf schließen, dass *T1R2-T1R3* der universelle Süßgeschmacksrezeptor ist (siehe Abschnitte 4.2 und 4.3), auch wenn einige Befunde darauf hindeuten, dass das *T1R3*-Homodimer als niederaffiner Rezeptor für Mono- und Disaccharide fungieren könnte.^[96] So verbinden sich die drei Polypeptide zu mindestens zwei funktionalen Rezeptoren, die jeweils eine gemeinsame und eine spezifische Untereinheit aufweisen.

4.2. Reaktionsprofil des Rezeptors für Süßgeschmack

Eine funktionale Expression des Süßgeschmacksrezeptordimers *T1R2-T1R3* gelang in humanen Nierenzell-Linien, die entwickelt wurden, um promiskuitive signalübertragende Guaninnucleotid-bindende (G-)Proteine, $G\alpha_{15}$ oder $G\alpha_{16}$, zu exprimieren.^[62,93,98,99] Diese G-Proteine koppeln mit zahlreichen Rezeptoren zur Freisetzung von Calcium aus intrazellulären Speichern. In einigen Fällen wurden chimäre G-Proteine verwendet, die so konstruiert waren, dass ihre C-Termini Sequenzen von der „gustatorischen“ G-Protein-Untereinheit, von α -Gustducin, von $G\alpha_z$ oder von $G\alpha_{i3}$ tragen, was zu verbesserten Rezeptor-Bindungseigenschaften führt, während der N-Terminus die zellulären Effektorproteine aktiviert.^[93,99,100] Unter diesen Bedingungen koppelt der aktivierte Süßgeschmacksrezeptor über die α -G-Proteineinheit an Phospholipase C und setzt den sekundären Botenstoff Inosittriphosphat (IP_3) von den Membranlipiden frei, was wiederum die Freisetzung von Calciumionen aus internen Speichern zur Folge hat. Das intrazelluläre Calciumsignal wird über Fluoreszenzänderungen eines Calcium-bindenden Farbstoffs detektiert und als Lichteinheiten in geeigneten Geräten abgelesen, die diese Werte in quantitative numerische Daten und Graphen umwandeln (Abbildung 2). Zahlreiche süß schmeckende Moleküle stimulieren den Süßgeschmacksrezeptor in In-vitro-Assays. Die Verbindungen spiegeln eine breite chemische Vielfalt wider: von Mono- und Disacchariden wie Saccharose, Fructose, Lactose, Maltose, Galactose und Glucose,^[1,62,93,99,100] über die Aminosäuren D-Ala, D-Asn, D-Gln, D-His, D-Phe, D-Trp, Gly,^[1,62,99] die Proteine Monellin, Thaumatin, Brazzein, Neoculin und Lyso-

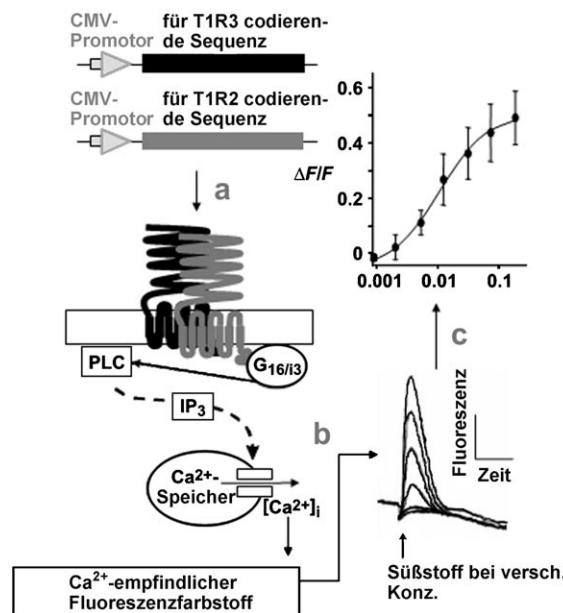


Abbildung 2. Ein funktionales In-vitro-Expressionsassay für den Süßgeschmacksrezeptor T1R2-T1R3. a) Expressionskonstrukte von T1R3 und T1R2 werden in Säugetierzell-Linien cotransfiziert. Die Zellen produzieren beide T1R-Untereinheiten, die nach Stimulierung durch süße Verbindungen eine Signalthaskaskade auslösen, die eine genetisch veränderte, chimäre G-Protein-Untereinheit (G16/I3) und Phospholipase C (PLC) einbezieht und zur Bildung des sekundären Botenstoffs IP₃ führt. IP₃ steuert über seinen Rezeptor die kurzzeitige Freisetzung von Calciumionen aus intrazellulären Speichern ins Cytosol. In Zellen mit dem Calcium-empfindlichen Farbstoff führt eine Verschiebung der intrazellulären Calciumkonzentrationen zu Fluoreszenzänderungen. b) Die Änderungen der Fluoreszenz in angeregten, Süßgeschmacksrezeptor-exprimierenden Zellen werden mit einem Fluoreszenz-Mikroplatten-Lesegerät (fluorometric imaging plate reader, FLIPR) überwacht. Dieses Gerät zeichnet die nach Anregung mit monochromatischem Licht über die Zeit beobachtete Fluoreszenz in Spuren auf. Das beobachtete Fluoreszenzsignal ist abhängig von der Konzentration der süßen Verbindung, die zur Anregung verwendet wurde. c) Mit Daten aus Calcium-abbildenden Experimenten können Dosis-Reaktions-Beziehungen (y -Achse = Änderungen der Fluoreszenz ($\Delta F/F$); x -Achse = $\log(\text{Agonistkonzentration})$) aufgezeichnet werden, um Aktivierungsschwellen, Substanzkonzentrationen, die zur halbmaximalen Anregung der Rezeptor-exprimierenden Zellen (EC_{50} -Werte) führen, und Signalamplituden zu bestimmen.

zym,^[62, 99, 101, 102] sekundäre Pflanzenmetaboliten einschließlich Steviosid^[93, 100] bis hin zu verschiedenen synthetischen Verbindungen wie Sucralose, Acesulfam K, Saccharin, Dulcin, Aspartam, Neotam, Cyclamat, Neohesperidindihydrochalcon (NHDC)^[1, 62, 93, 99, 100, 102, 103] und anderen wie Guanidinoessigsäuren (GA-1, GA-2).^[93] Nach unserem Wissen konnten alle in diesen Assays eingesetzten, nachweislich süß schmeckenden Verbindungen das Rezeptordimer aktivieren, was mit dessen universeller Rolle als einzigm humanen Rezeptor für süßen Geschmack in Einklang ist. In Nagetieren kann jedoch ein T1R-unabhängiger Geschmackssinn für bestimmte Zuckerpolymerne wie Polycose vorhanden sein.^[104] Die Einführung von Süßgeschmacksrezeptor-Assays ist eine Notwendigkeit, denn sie sind unabdingbar für biotechnologische Hochdurchsatz-Screenings von Verbindungsbibliotheken zur Auffindung neuer Süßstoffe oder süß schmeckender Modu-

laturen, analog zu den seit Jahren in der pharmazeutischen Industrie verwendeten Strategien zur Wirkstoffidentifizierung. Die ersten Süßgeschmackmodulatoren (bei denen es sich um künstliche Verbindungen handelt, die durch ein Rezeptor-Assay-basiertes Screening chemischer Wirkstoffbibliotheken entdeckt wurden) sind auf diesem Weg identifiziert worden und werden bald verfügbar sein.^[105, 106]

Die Unterschiede zwischen den Süßgeschmacksrezeptoren verschiedener Spezies sind ebenfalls interessant. Verschiedene Verbindungen, darunter das süße Protein Thaumatin (31), Neohesperidindihydrochalcon (29) sowie der synthetische, hochwirksame Süßstoff Alitam, werden von Nagetieren nicht wahrgenommen und stimulieren nur den menschlichen, nicht aber den Mausrezeptor.^[62, 96, 98, 103, 107, 108] Vielleicht das auffälligste Beispiel für Abweichungen bei Süßgeschmacksrezeptoren zwischen Spezies wird bei der Familie *Felidae* (Katzen) beobachtet, deren Mitglieder gleichgültig auf süße Reize reagieren, da ihnen infolge Pseudogenisierung ein funktionales T1R2-Gen fehlt.^[109] Demnach bestimmen die biochemischen Eigenschaften der Rezeptorproteine, ob Säugetiere solche Substanzen erkennen können oder nicht. Dagegen wurden individuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit für süßen Geschmack innerhalb der menschlichen Spezies nicht durchgängig beobachtet.^[108] Einem neuen Bericht zufolge sind zwei Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) in der Promotorregion des T1R3-Gens mit der Empfindlichkeit für das Schmecken von Saccharose verknüpft.^[110] Für die beobachteten Unterschiede in der Empfindlichkeit für süßen Geschmack sind daher wahrscheinlich veränderte T1R3-mRNA- und Polypeptidspiegel, nicht aber veränderte Eigenschaften des Rezeptors selbst verantwortlich.

4.3. Struktur-Funktions-Beziehungen des Süßgeschmacksrezeptors

Die Struktur des Süßgeschmacksrezeptors ist bisher noch nicht bis zur atomaren Auflösung geklärt. Durch Kombination verschiedener Strategien, darunter Molecular Modeling, Mutationsanalyse der Rezeptorfunktion durch heterologe Expression in Zell-Linien und sogar biochemische und biophysikalische Messungen, konnte allerdings das Detailwissen über Struktur und Funktion dieses Rezeptormoleküls und die Weise, wie es mit seinen verschiedenen Agonisten wechselwirkt, vertieft werden.^[62, 98–100, 103, 107, 111–113] Als GPCRs der Klasse C haben beide Untereinheiten des Süßgeschmacksrezeptors eine sehr große Amino-terminale Ectodomäne (ATD). Die ATD weist eine so genannte Venusfliegenfallen-Bindungsdomäne (VFTD) auf, die wahrscheinlich die orthostatische Bindungsstelle für verschiedene Aktivatoren des Rezeptors enthält. Die VFTD zeigt Sequenzhomologien mit vielen bekannten Bindungsproteinen in Eukaryoten und Bakterien. Eine cysteinreiche Domäne (CRD) verknüpft die ATD mit der bei allen GPCRs vorhandenen heptahelicalen Domäne (HD).^[88, 91, 108, 114, 115] Modelle des Süßgeschmacksrezeptors basieren auf Sequenzhomologien mit anderen Rezeptor-Polypeptiden, die kristallin erhalten wurden und deren Struktur bis in die atomare Ebene aufgeklärt wurde.^[114] Die

ATD-Struktur wurde daher auf der Basis der Kristallstruktur der metabotropen Glutamatrezeptor-1-ATD modelliert.^[116] Die CRD beruht auf einer Matrix der entsprechenden Region des Tumornekrosefaktor- α -Rezeptors, während das Modell des HD-Segments aus der Kristallstruktur von Rinder-Rhodopsin abgeleitet ist.^[117]

Die beobachteten Unterschiede zwischen den Spezies bezüglich ihrer Reaktion auf bestimmte Süßstoffe erwiesen sich als sehr hilfreich bei der Identifizierung der Bindungsstellen am Süßgeschmacksrezeptor. Zunächst verwendeten die Forscher Interspezies-Hybridrezeptoren und anschließend chimäre Rezeptoren, um die Bindungsstellen der „süß“en Agonisten an die ATDs oder HDs von T1R2 oder T1R3 abzugrenzen (Abbildung 3).^[98, 99, 103, 107, 112] Sobald die Region identifiziert war, wurden – geleitet durch Vergleiche

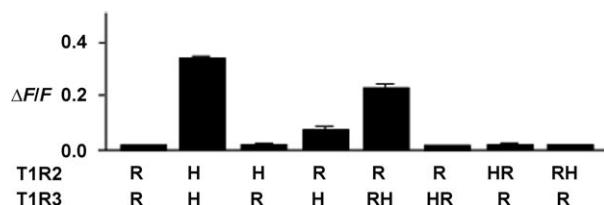


Abbildung 3. Calciumreaktionen in Form von Fluoreszenzänderungen ($\Delta F/F$), hervorgerufen durch Neohesperidindihydrochalcon (29) in Zellen, die verschiedene T1R2- und T1R3-Untereinheiten aus Ratten oder Menschen oder Chimären davon exprimieren. R: Untereinheit stammt von der Ratte, H: humane Untereinheit, RH: Ratten-ATD ist mit humanaer HD verknüpft, HR: humane ATD ist mit Ratten-HD verbunden. Die Daten zeigen, dass das humane Rezeptordimer auf die Applikation der Substanz reagiert, nicht aber das Rattengegenstück. Die Reaktion scheint durch das humane T1R3 vermittelt zu werden, da das Dimer nur aktiviert wird, wenn diese Untereinheit vom Menschen stammt. Das Dimer mit Ratten-T1R3 reagiert nicht. Der Süßgeschmacksrezeptor ist auch ansprechbar, wenn er ein chimäres Ratten-Mensch-T1R3 mit humaner HD-Region enthält. Dies zeigt deutlich, dass Süßstoff 29 mit der HD-Region des humanen T1R3 wechselwirkt, um den Süßgeschmacksrezeptor zu stimulieren. Die Daten stammen von Winnig et al.^[103]

von Ratten-DNA-Sequenzen mit menschlichen DNA-Sequenzen – einzelne Punktmutationen in die T1R-Sequenzen eingeführt. Mit dieser oder ähnlichen Strategien wurden die Wechselwirkungsstellen verschiedener süßer Verbindungen mit den Rezeptoren kartiert (Abbildung 4). Funktionale Expressionsdaten ermöglichen es nicht, Ligandenbindungeffekte von Effekten durch Rezeptoraktivierung zu unterscheiden. Daher kombinierten Forscher diese Daten mit Vorhersagen aus Modeling-Studien, um die Wirkungen der eingeführten Mutationen präziser auf Ligandenbindung zurückführen zu können (Abbildung 5). Zusammen genommen deuten mehrere solcher Versuche darauf hin, dass der Süßgeschmacksrezeptor mehrfache Bindungsstellen aufweist (Abbildung 4). Orthosterische Bindung kommt in den beiden ATDs vor, während die allosterische Bindung von Aktivatoren sowie dem bekannten Süßgeschmack-Inhibitor Lactisol in der HD-Region von T1R3 erfolgt (Abbildung 4). Biophysikalische Messungen bestätigten die Bindung von Zuckern an beide ATD-Regionen.^[111] Wenn die ATDs von Maus-T1R2

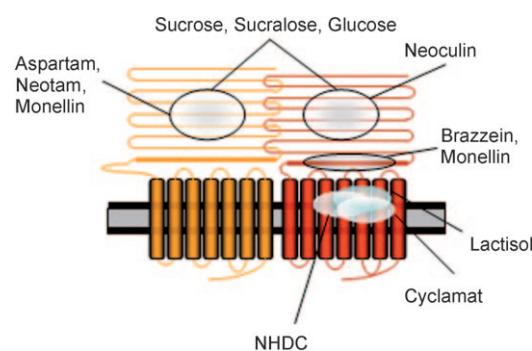


Abbildung 4. Bindungsstellen des Süßgeschmacksrezeptors T1R2-T1R3. Die CRD ist durch fette Linien angedeutet, die ATDs und HDs verbinden. Die Daten stammen aus verschiedenen Literaturstellen.^[98, 99, 101, 103, 107, 111, 112]

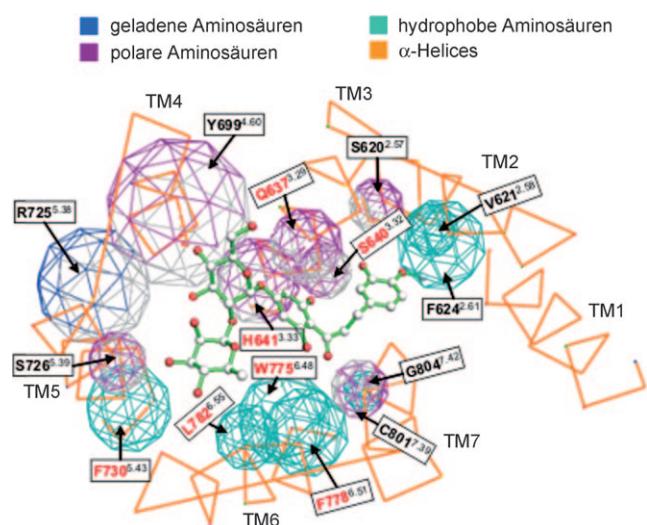


Abbildung 5. Neohesperidindihydrochalcon (29; Stabmodell; weiß C, rot O), das an die T1R3-HD-Bindungstasche ankoppelt. Intra- und extrazelluläre Schleifen sind nicht gezeigt. Transmembranäre Helices werden durch die orangefarbenen Zick-Zack-Linien verdeutlicht. Wichtige Reste sind zusätzlich zum Ein-Buchstaben-Code für Aminosäuren in der Ballesteros-Weinstein-Nomenklatur gekennzeichnet. Diese Nomenklatur zeigt zuerst die Nummer der TM-Domäne (TM = transmembranär) und getrennt durch einen Punkt die Position innerhalb der TM, mit 50 als dem am besten konservierten Rest in dieser TM. Reste, die in Richtung C-Terminus von dieser Referenzposition lokalisiert sind, werden aufwärts gezählt, solche in Richtung N-Terminus abwärts. Aminosäuren, die die Aktivierung von T1R2-T1R3 durch 29 beeinflussen, sind als Kugeln gezeigt, deren Größe derjenigen der Aminosäureseitenketten entspricht. Das Modell lässt darauf schließen, dass die OH-Gruppe an C3 von 29 für die Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen wichtig ist und die C3'-Position nahe bei H641^{3.33} sein sollte. 29 wechselwirkt über die OH-Gruppe an C3 auch mit S640^{3.32}, und die OH-Gruppen an C6' und C2' von 29 könnten möglicherweise mit polaren Aminosäuren interagieren, die in TM3 und TM7 lokalisiert sind, wie H641^{3.33}, Q637^{3.29} und C801^{7.39}. Günstige hydrophobe Wechselwirkungen wären vorstellbar zwischen dem B-Phenylring von 29 und V621^{2.58} oder F624^{2.61} sowie dem Linker zwischen Phenylring A und B mit L800^{7.38} (nicht gezeigt) und G804^{7.42}. Das Modell sagt zudem Wechselwirkungen zwischen C3-OH von 29 und S620^{2.57} in TM2 voraus. Überdies könnten die polaren Zuckerreste von 29 mit polaren Aminosäuren von TM4 und TM5, z. B. Y699^{4.60}, T724^{5.37} (nicht gezeigt), R725^{5.38} und S726^{5.39} wechselwirken. Die Daten stammen aus Lit. [103].

und -T1R3 in Bakterien exprimiert und ohne assoziierte HDs aus Bakterien isoliert wurden, banden beide Saccharose, Glucose und Sucralose mit mäßigen Affinitäten von 2.5 bis 15 mM.^[111] Die Bindungsaffinitäten für die T1R3-ATD nahmen nach Einführung der *sac*-Mutation bei allen drei Süßstoffen ab, was die Wechselwirkung der Zuckermoleküle mit der ATD belegt.^[111]

Die *in vitro* bestimmten molekularen pharmakologischen Eigenschaften des Süßgeschmacksrezeptors waren nützlich, um eine mechanistische Basis für die sensorische Wahrnehmung menschlicher Testpersonen zu erstellen. Der so genannte „süße Wassergeschmack“ wird bei Experimenten mit Testpersonen beobachtet, die hohe Saccharin-Konzentrationen aufgenommen haben.^[118,119] Wenn die Testpersonen hochkonzertierte Saccharin-Lösungen im Mund haben, bemerken sie kaum einen süßen Geschmack, so als ob sie niedrige Saccharin-Konzentrationen probieren würden. Unter solchen Bedingungen wird ein starker bitterer Geschmack festgestellt, der durch Aktivierung zweier Bittergeschmacksrezeptoren vermittelt wird. Wenn sie jedoch die hochkonzertierte Saccharin-Lösung ausspucken und ihren Mund mit reinem Wasser ausspülen, tritt eine intensive süße Wahrnehmung zu Tage, der „süße Wassergeschmack“.^[119] Dieses Phänomen wird durch das Vorhandensein zweier Bindungsstellen für Saccharin auf dem Süßgeschmacksrezeptor erklärt. Eine ist eine hochaffine orthosterische Stelle, die bei niedrigen Saccharinkonzentrationen besetzt wird, um den Rezeptor zu aktivieren und so die Wahrnehmung des süßen Geschmacks zu vermitteln. Bei höheren Saccharinkonzentrationen wird auch eine zweite allosterische Stelle belegt und inhibiert den Süßgeschmacksrezeptor wieder. Ausspülen der Verbindung aus dem Mund mit Tafelwasser setzt den Süßstoff von der inhibitorischen niederaffinen Stelle frei und lässt die orthosterische Stelle besetzt. Dies führt zu einer starken und langanhaltenden Aktivierung des Süßgeschmacksrezeptors, die den irrtümlichen Eindruck hervorruft, dass das Wasser intensiv süß schmeckt.^[119]

4.4. Struktur-Funktions-Beziehungen des Umamigeschmacksrezeptors

Auch wenn T1R1/T1R3 jetzt allgemein als primärer Rezeptor für Umamireize akzeptiert ist, hat sich der Nachweis seiner Funktion als schwierig erwiesen. Zum einen lieferten sensorische Experimente und elektrophysiologische Nervenaufnahmen widersprüchliche Hinweise zur Wahrnehmung von L-Aminosäuren als fünfte Geschmacksqualität. Zum anderen wurden einige alternative Umamigeschmacksrezeptoren, wie eine verkürzte Variante des neuralen metabotropen Glutamatrezeptors 4 (Geschmacks-mGluR4), vorgeschlagen^[61] und könnten verantwortlich sein für die partielle Persistenz des L-Glutamat-Geschmacks in T1R3-defizienten Knock-out-Modellen,^[97] wenngleich unabhängig für T1R1 und T1R3 erzeugte Knock-out-Mausmodelle keine Restreaktionen zeigten.^[96] Die Expression von Geschmacks-mGluR4 in Geschmacksrezeptorzellen vom Typ II sowie seine verringerte Empfindlichkeit für L-Glutamat gegenüber derjenigen von neuralem Voll-Längen-mGluR4 sprechen für

eine Funktion bei der Wahrnehmung des Umamigeschmacks.^[61] Die heterologe Expression in Säugetierzell-Linien reproduzierte jedoch nicht die charakteristischste Eigenschaft des Umamigeschmacks, nämlich die bekannte Synergie zwischen L-Glutamat und 5'-Ribonucleotiden wie IMP. Daher wird sich die folgende Diskussion bezüglich Struktur und Funktion des Umamigeschmacksrezeptors auf den heterodimeren Rezeptor T1R1/T1R3 konzentrieren.

Anders als im Fall des Süßgeschmacksrezeptorheteromers T1R2/T1R3 ist relativ wenig über die Struktur-Funktions-Beziehungen des Rezeptorheteromers für Umamigeschmack bekannt. Wegen der ähnlichen Zusammensetzung der beiden Rezeptoren kann man jedoch davon ausgehen, dass die Grundmechanismen des Umamigeschmacksrezeptors nicht zu sehr von denen des Süßgeschmacksrezeptors abweichen. Es wurde nachgewiesen, dass die T1R1-Untereinheit, die einzig im Umamigeschmacksrezeptor vorkommt, mit dem L-Glutamat-Molekül wechselwirkt, da sich die heterologe funktionale Expression chimärer Rezeptoren aus humaner T1R1 und Nagetier-T1R3 als hoch selektiv für L-Glutamat erwies, in Einklang mit psychophysikalischen Befunden.^[1] Die vorgeschlagene Bindungsstelle für L-Glutamat in T1R1 ist auf der VFTD der extrazellulären Domäne lokalisiert (Abbildung 6).^[62] Mechanistisch wird prognostiziert, dass die

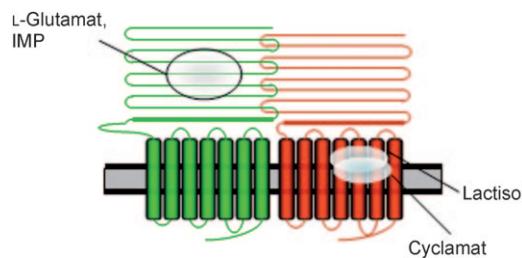


Abbildung 6. Bindungsstellen der Rezeptoren für Umamigeschmack. Die CRD ist mit fetten Linien gekennzeichnet, die ATDs und HDs verbinden. Die Daten stammen aus verschiedenen Literaturstellen.^[62,98,120]

Bindung von L-Glutamat an die Scharnierregion der VFTD den Verschluss der Domäne bewirkt. Interessanterweise wechselwirkt auch Inosin-5'-monophosphat (IMP, 39) mit einer anderen Position der VFTD und stabilisiert vermutlich die geschlossene, aktive Konformation.^[120] Ein auffallend ähnlicher Mechanismus wurde kürzlich für die Aktivierung des humanen Süßgeschmacksrezeptors^[105] im Zusammenhang mit der Entdeckung der ersten positiven allosterischen Modulatoren gefunden.^[106] Wieder wurde gezeigt, dass der Agonist – in diesem Fall Saccharose oder der künstliche Süßstoff Sucralose – mit mehreren Aminosäureresten in der VFTD interagiert. Der allosterische Modulator wechselwirkt mit einem anderen Satz an Aminosäureresten in enger Nachbarschaft zum orthosterischen Agonisten. Molecular Modeling-Studien ließen auch darauf schließen, dass direkte Kontakte zwischen Agonist und positiven Modulatoren bestehen.

In einer eleganten Reihe von Experimenten unter Verwendung von chimären T1Rs, die extrazelluläre Domänen

entweder von humanen oder von Nagetier-Untereinheiten mit den entsprechenden heterospezifischen transmembranären Domänen verschmelzen, wurde gezeigt, dass die transmembranäre Domäne von T1R3 die Reaktionen auf einige Agonisten und Modulatoren des Süßgeschmacksrezeptorheteromers vermittelt.^[98] Während die Bindung des künstlichen Süßstoffs Cyclamat den Rezeptor aktiviert, ist Lactisol ein allgemeiner Inhibitor für T1R2/T1R3. Da die T1R3-Untereinheit von Süß- und Umamigeschmacksrezeptoren gemeinsam genutzt wird, lag die Annahme nahe, dass Cyclamat und Lactisol auch Reaktionen des Umamigeschmacksrezeptors beeinflussen könnten. Tatsächlich demonstrierten die Autoren eine regulierende Funktion der beiden Substanzen auf heterolog exprimierte humane T1R1/T1R3. Während der Süßgeschmacksrezeptorblocker Lactisol auch Reaktionen des Umamigeschmacksrezeptors inhibierte, konnte Cyclamat T1R1/T1R3 nicht aktivieren, war aber dazu in der Lage, die Reaktionen auf L-Glutamat deutlich zu verstärken.^[98] Die Beobachtung, dass die transmembranären Domänen von T1R1 und T1R2, anders als jene von T1R3, Spontanaktivität aufweisen und in biochemischen Experimenten zur Aktivierung heterotrimerer G-Proteine führen, lässt darauf schließen, dass die G-Protein-Kopplung über die spezifischen Umami- bzw. Süßgeschmack-Untereinheiten ermöglicht wird.^[121]

Einige Studien haben sich darauf konzentriert, die Frage zu beantworten, welche Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) in menschlichen *T1R1*- und *T1R3*-Genen vorkommen und ob diese SNPs wie beschrieben individuelle Unterschiede bei der Umamiwahrnehmung durch den Menschen hervorrufen können.^[122] Die Mehrzahl der nichtsynonymen SNPs wurde im Gen der umamispezifischen Untereinheit T1R1 identifiziert. Aus den 18 Variantenpositionen^[123–126] waren zwei in der großen extrazellulären N-terminalen Domäne lokalisiert. Für das Gen der humanen T1R3-Untereinheit wurden innerhalb der gleichen Studien 11 nichtsynonyme SNPs identifiziert.^[123–126] Anders als bei T1R1 sind die SNPs bei T1R3 gleichmäßiger zwischen der extrazellulären (7 nsSNPs) und der transmembranären Domäne (4 nsSNPs) verteilt.

In der Studie von Shigemura et al.^[126] korreliert der nichtsynonyme Polymorphismus an der Aminosäureposition 372 von T1R1 mit den deutlichen Unterschieden in der Wahrnehmung von Mononatrium-L-glutamat allein sowie Gemischen von Mononatrium-L-glutamat und Inosin-5'-monophosphat (**39**). Eine funktionale Charakterisierung der Varianten T1R1-372A und T1R1-372T durch heterologe Expression ergab einen Unterschied in der Empfindlichkeit um einen Faktor von ca. 2, wobei die T1R1-372T-Variante empfindlicher war. In derselben Experimentreihe wurde die abweichende Aminosäureposition 757 in T1R3 analysiert. In diesem Fall war die Variante T1R3-757R empfindlicher als T1R3-757C für Mononatrium-L-glutamat allein sowie für ein Gemisch aus Mononatrium-L-glutamat und Inosin-5'-monophosphat. Die In-vitro-Daten zu Position 757 von T1R3 stimmten mit denen aus psychophysikalischen Experimenten mit menschlichen Testpersonen überein.

In einer unabhängigen Studie wurden 142 französische Testpersonen genotypisch erfasst und auf ihre Geschmacks-

empfindlichkeit für L-Glutamat hin untersucht. Zwar korrelierten nichtsynonyme Positionen in T1R1 (A110V, A372T) und T1R3 (R757C) offensichtlich mit individuellen Unterschieden in der L-Glutamat-Wahrnehmung, allerdings konnte die beobachtete Varianz zwischen den Individuen nur teilweise erklärt werden.^[125] Es sollte erwähnt werden, dass zwei der drei in der letzteren Studie identifizierten Positionen identisch mit denen sind, die Shigemura et al. charakterisierten.^[126] Der Befund, dass T1R1-372T in „Schmeckern“ häufiger auftrat und T1R3-757C mit dem „Nichtschmecker“-Phänotyp assoziiert war, stimmt mit den Daten von Shigemura et al. völlig überein.^[126]

Eine ähnliche Analyse von Chen et al. mit 242 Testpersonen ergab, dass die weniger häufigen Allele dreier nichtsynonymer T1R3-SNPs (T1R3-5T, T1R3-247H und T1R3-757C) alle zu höheren Umami-Einschätzungen für bestimmte Mononatrium-L-glutamat-Konzentrationen führten.^[124] In Bezug auf Position 757 steht dies im Gegensatz zu den früher beschriebenen Studien^[125,126] und erfordert eine eindeutige Aufklärung.

5. Funktionale Anatomie des Geschmackssystems

5.1. Papillen und Geschmacksknospen

Wie Reize der anderen Grundgeschmacksqualitäten wechselwirken auch süß und umami schmeckende Moleküle mit der apicalen Membran spezifischer Sinneszellen, der so genannten Geschmacksrezeptorzellen (taste receptor cells, TRC) in der Mundhöhle. Anders als die Sinneszellen für Gerüche in der Nasenhöhle sind TRCs nicht neuronalen Ursprungs, sondern spezialisierte Epithelzellen.^[127,128] Um gustatorische Signale zum Gehirn übertragen zu können, sind sie von afferenten Nerven innerviert.^[128] TRCs bilden zusammen mit anderen Zellen kleine Verbände, die Geschmacksknospen, die die eigentlichen Geschmackssinnesorgane sind. Diese zwiebelförmigen Strukturen enthalten 50–100 Zellen, die in das nichtsensorische Epithel eingelagert sind.^[127] Auf der Zunge kommen Geschmacksknospen in drei Typen chemosensorischer Papillen vor: den Pilzpapillen der vorderen Zunge, den Blattpapillen der hinteren Zungenränder und den Wallpapillen der hinteren Zunge.^[127] Abbildung 7 zeigt das Aussehen der menschlichen Pilz- und Wallpapillen und ihrer Geschmacksknospen. Die Zahl der Papillen und Geschmacksknospen variiert zwischen den Individuen, aber nach Schätzungen haben Menschen ungefähr 300 Pilzpapillen mit ca. 1100 Geschmacksknospen. Im Durchschnitt enthalten 9 Wallpapillen ungefähr 2200 Geschmacksknospen, und die beiden Blattpapillen mit ihren annähernd 5 Furchen weisen ca. 1300 Geschmacksknospen auf.^[127,129] Geschmacksknospen kommen zahlreich auch im weichen Gaumen vor und sind im Rachen (Pharynx), Kehlkopf (Larynx) und Kehldeckel (Epiglottis) vorhanden. Extralinguale Geschmacksknospen sind jedoch nicht in Papillen organisiert.^[130] Kleine Speicheldrüsen verbinden mit ihren Ausführungsgängen die Furchen und Spalten der Wall- und Blattpapillen. Dadurch umgeben die Sekrete der kleinen Speicheldrüsen die Geschmacksknospen der Papillen am Zungengrund und bilden ein Milieu

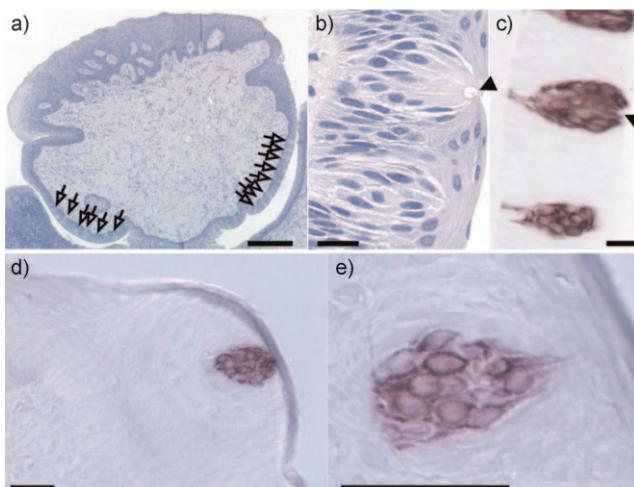


Abbildung 7. Geschmackspapillen und -knospen des Menschen. a) Mikroskopische Aufnahme eines Hemalum-Eosin-gefärbten Querschnitts einer Wallpapille. Geschmacksknospen sind nur schwer als kleine Lichtpunkte (durch Pfeile mit offener Spitze gekennzeichnet) im sonst blau gefärbten Epithel, das die Zwischenräume ausfüllt, sichtbar. b) Stärkere Vergrößerung zweier Wallgeschmacksknospen aus (a). c) Wallgeschmacksknospen, visualisiert durch indirekte Immunhistochemie mit einem Antiserum gegen Cytokeratin 20. Einzelne Geschmacksknospenzellen sind gut sichtbar. Pfeilspitzen in (b,c) zeigen zu den Geschmacksporen. d) Pilzpapillen, sichtbar gemacht, wie unter (c) beschrieben. e) Humane pilzförmige Geschmacksknospen, visualisiert, wie unter (b) beschrieben. Maßstab: 200 µm (a), 20 µm (b–e).

um den Rezeptor, das die Erkennung von Geschmacksstoffen beeinflussen könnte.^[131]

Geschmacksknospenzellen werden in verschiedene Klassen unterteilt. Historisch wurden diese Klassen nach ihren morphologischen Besonderheiten, die auf Licht- und Elektronenmikroskopaufnahmen zu sehen sind, definiert.^[127,128] Heute kommen wir einer funktionalen Klassifizierung näher, basierend auf der Expression spezifischer Geschmackspolyptide, funktionalen Untersuchungen mit bildgebenden Verfahren und der Charakterisierung gezielt gentechnisch veränderter Mäuse, denen spezifische Geschmacksproteine fehlen.^[132,133] Die Organisation der Geschmacksknospen und ihre Verbindung zum Nervensystem (Abbildung 8) wurde hauptsächlich in Tiermodellen (meist Nagetieren) untersucht. Die bisherigen Befunde lassen darauf schließen, dass das menschliche System stark dem anderer Säugetiere ähnelt und daher Beobachtungen an Tieren auch auf den Menschen übertragen werden können. Grob unterscheiden wir fünf unterschiedliche Zelltypen, Typ I bis Typ V.^[127,128]

5.2. Typ-I-Zellen

In elektronenmikroskopischen Aufnahmen erscheinen die elektronendichten Typ-I-Zellen dunkel (in der älteren Literatur werden Typ-I-Zellen auch als „dunkle Zellen“ bezeichnet). Sie haben eine längliche Form und sind durch zahlreiche cytoplasmatische Fortsätze gekennzeichnet, die andere Zellen umhüllen, was auf Glia-artige Funktionen

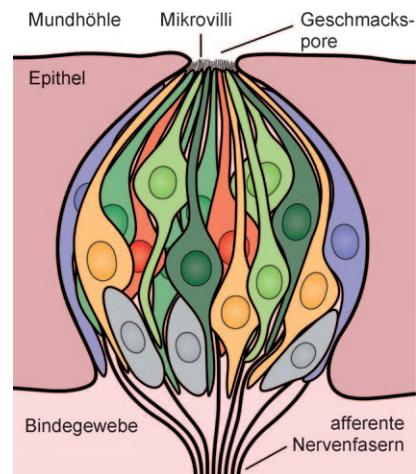


Abbildung 8. Eine Geschmacksknospe. Gelb: Typ-I-Zellen, grün: Typ-II- oder Rezeptorzellen (Subpopulationen, die süßen, umami oder bitteren Reizen zugeordnet sind, werden in unterschiedlichen Grüntönen gezeigt), orange: Typ-III- oder präsynaptische Zellen, grau: Typ-IV- oder basale Zellen, blau: perigemmale oder Typ-V-Zellen.

hinweist. Typ-I-Zellen enthalten auch apicale schlanke Mikrovilli, die in die Geschmackspore hineinreichen. Die Geschmackspore ist eine Vertiefung im Epithel, wo geschmacksaktive Moleküle mit ihren Rezeptoren in Kontakt treten. Zu betonen ist, dass Geschmacksmoleküle nur zu den apicalen mikrovillären Seiten der Geschmacksknospenzellen Zugang haben, denn enge Kontaktstellen schirmen die basolateralen zellulären Teile von der Mundhöhle ab.^[127,128] Typ-I-Zellen exprimieren die Ekto-ATPase NTPDase 2 und das Transporterprotein GLAST für den exzitatorischen Neurotransmitter L-Glutamat, das L-Glutamat zurück ins Cytosol befördert.^[134] Beide Proteine beenden die Aktionen von Neurotransmittern, was mit der vorgeschlagenen Glia-artigen Funktion dieser Zellen vereinbar ist. Neue Befunde lassen darauf schließen, dass ein Teil der Typ-I-Zellen funktionale epitheliale Natriumkanäle (ENaC) exprimiert, die wohl an der Transduktion von salzigem Geschmack beteiligt sind, womit diesem Zelltyp eine aktive Rolle bei der Geschmackswahrnehmung zukommt.^[135]

5.3. Typ-II-Zellen und Süßgeschmacksrezeptor-Signaltransduktion

Typ-II-Zellen sind elektronentransparent, weshalb sie in elektronenmikroskopischen Abbildungen hell (Typ-II-Zellen sind auch als „helle Zellen“ bekannt) erscheinen, und sind von länglicher Gestalt.^[127,128] Manchmal sind sie im oberen Teil einer Geschmacksknospe zu finden und dehnen sich nicht immer bis zu deren basalem Teil aus. Sie enthalten mehrere stumpfe Mikrovilli, die sich bis in die Geschmackspore erstrecken. Diese Zellen werden auch als Rezeptorzellen bezeichnet. In zahlreichen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass sie einander ausschließend die Geschmacksrezeptoren für süße, umami oder bittere Reize exprimieren und somit drei funktionale Untergruppen bilden. Alle drei Re-

zeptorzelltypen exprimieren die gleichen intrazellulären Signalproteine, darunter die G-Protein-Untereinheiten α -Gustducin, β_1 oder β_3 und γ_{13} , Phospholipase C- β 2 (PLC- β 2), der Inositrisphosphatrezepor Typ III (IP₃R3) und der TRP-Kanal M5 (TRPM5; TRP = transientes Rezeptorpotential), Pannexin 1 und verschiedene Connexine, wobei die beiden letztgenannten Proteine Hemikanäle der Plasmamembran bilden.^[132, 133, 136, 137] Knockout-Mäuse mit Mangel an PLC- β 2, α -Gustducin oder IP₃R3 zeigten stark verminderte Reaktionen auf wohlschmeckende Reize.^[95, 138] Die Identität der Typ-II-Zellen wurde durch funktionale bildgebende Experimente an isolierten Geschmackszellen, -knospen oder Schnittpräparaten der Zunge weiter untermauert.^[139] Die Experimente zeigten, dass Typ-II-Zellen – in Einklang mit ihrer Funktion als Rezeptorzellen – gut auf die Verabreichung von Geschmacksstoffen ansprechen.

Typ-II-Zellen scheinen eng auf Reize von nur einer Geschmacksqualität (d.h. süß, bitter oder umami) eingestellt zu sein.^[140] Dieser Befund passt zu den Expressionsmustern der Geschmacksrezeptoren (Abbildung 9), die sich gegenseitig ausschließen.^[95, 136, 141] Die so genannten Geschmack-2-Bittergeschmacksrezeptoren (TAS2Rs oder T2Rs), die eine eigene Klasse von GPCRs bilden, werden nicht mit T1R-Rezeptoren in den gleichen Zellen coexprimiert.^[89, 93, 96, 142] Zellen, die T1R1 – die Umamigeschmacksrezeptor-spezifische T1R-Untereinheit – exprimieren, unterscheiden sich auch von Zellen, die T1R2 – die Süßgeschmacksrezeptor-spezifische T1R-Untereinheit – exprimieren.^[89, 93, 96, 142] Diese Beobachtungen ermöglichen nicht nur die Identifizierung der speziellen Rezeptorzelltypen, sondern zeigen auch, zusammen mit anderen Befunden aus biochemischen Experimenten oder funktionalen Expressionsstudien in heterologen Zellen, dass Süß-, Umami- und Bittergeschmacksrezeptoren über die gleichen intrazellulären Proteine signalisieren, was schließlich zur Freisetzung des Neurotransmitters Adenosin-5'-triphosphat (ATP) führt (Abbildung 10).^[95, 137, 143] Dieser Transmitter wird

nicht durch klassische synaptische Mechanismen freigesetzt; stattdessen wird er durch Pannexin- und/oder Connexin-Hemikanäle abgesondert.^[137] Die nichtsynaptische Transmitterfreisetzung ist in Einklang mit der Beobachtung, dass den Typ-II-Zellen Proteine des synaptischen Freisetzungsmechanismus sowie spannungsgesteuerte Calciumkanäle fehlen.^[139, 144] Die ausgestoßenen ATP-Moleküle binden an ionotrope purinergische P2X₂/P2X₃-Rezeptoren und stimu-

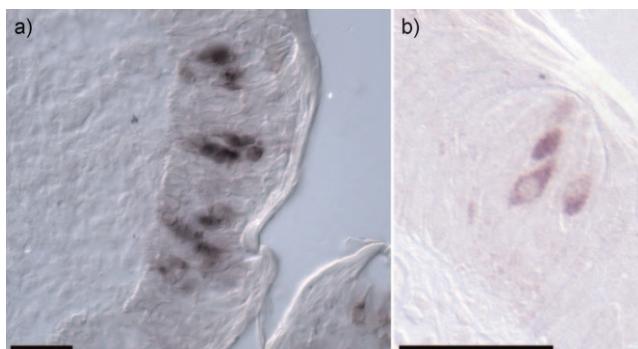
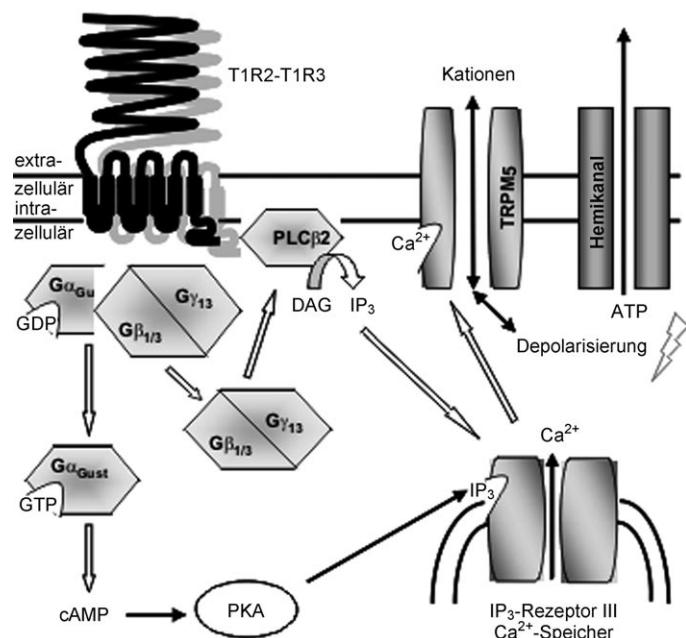


Abbildung 9. Nichtspezifische Rezeptorzellen-Untereinheit T1R3 für Süß- und Umamigeschmack in humanen Wallgeschmackszellen. a) In-situ-Hybridisierung mit einer spezifischen Antisense-Sonde identifiziert T1R3-mRNA in Wallgeschmacksknospen. b) Indirekte Immunhistochemie mit einem spezifischen Antiserum gegen T1R3 detektiert dieses in einer Untergruppe von Geschmacksrezeptorzellen. Maßstab: 20 μm (a).

tereinheit – exprimieren, unterscheiden sich auch von Zellen, die T1R2 – die Süßgeschmacksrezeptor-spezifische T1R-Untereinheit – exprimieren.^[89, 93, 96, 142] Diese Beobachtungen ermöglichen nicht nur die Identifizierung der speziellen Rezeptorzelltypen, sondern zeigen auch, zusammen mit anderen Befunden aus biochemischen Experimenten oder funktionalen Expressionsstudien in heterologen Zellen, dass Süß-, Umami- und Bittergeschmacksrezeptoren über die gleichen intrazellulären Proteine signalisieren, was schließlich zur Freisetzung des Neurotransmitters Adenosin-5'-triphosphat (ATP) führt (Abbildung 10).^[95, 137, 143] Dieser Transmitter wird

lieren so die afferenten Nerven, Aktionspotentiale auszulösen und die Antwort des Geschmacksnervs an das Zentrale nervensystem weiterzuleiten.^[143] In enger Nachbarschaft zu den Typ-II-Zellen sind afferente Nervenenden vorhanden, die sich aber nicht über Synapsen beteiligen. Mäuse mit doppeltem Knockout für P2X₂/P2X₃-Rezeptoren verloren ihre Geschmacksreaktionen auf Reize aller Geschmacksqualitäten, was unterstreicht, dass ATP eine entscheidende

Rolle für die Weiterleitung gustatorischer Informationen spielt.^[143] ATP regt Typ-II-Zellen in einer positiven Rückkopplungsschleife durch purinergische P2Y₄-Rezeptoren an, wahrscheinlich um die eigene Freisetzung weiter zu stimulieren.^[145]

5.4. Typ-III-Zellen und der saure Geschmack

Über Elektronenmikroskopie visualisierte Typ-III-Zellen zeigen mittlere Elektronendichten relativ zu jenen von Typ-I und Typ-II-Zellen und haben einen einzigen langen, schlanken Mikrovillus, der in die Geschmackspore reicht. Sie exprimieren verschiedene neurale Proteine wie das neurale Zelladhäsionsmolekül NCAM.^[127,128] Typ-III-Zellen sind der einzige Zelltyp in Geschmacksknospen, der an der Bildung von Synapsen beteiligt ist und daher präsynaptische Spezialisierungen zeigt sowie synaptische Proteine exprimiert.^[144] Folglich werden Typ-III-Zellen auch als präsynaptische Zellen bezeichnet.^[127,128] Dieser Zelltyp spricht nicht auf süße, umami oder bittere Reize an. Er reagiert vielmehr auf depolarisierende Konzentrationen extrazellulärer K⁺-Ionen mit Ca²⁺-Einstrom sowie Freisetzung des Neurotransmitters Serotonin und in geringerem Umfang Norepinephrin.^[139,146] Typ-III-Zellen exprimieren spezifisch ein bestimmtes Mitglied der TRP-Kanal-Familie, genannt PKD2L1.^[147-149] Genetisch veränderten Mäusen, die spezifisch in PKD2L1-Zellen Diphtherietoxin exprimierten, fehlten nicht nur die PKD2L1-Zellen, sondern ihre Nerven reagierten nicht mehr auf saure Reize, was belegt, dass Typ-III-Zellen sauer erkennende Zellen sind.^[147] Dieser Befund wird durch Beobachtungen untermauert, denen zufolge Typ-III-Zellen auf saure Stimulation mit Ca²⁺-Einstrom und Neurotransmitter-Freisetzung antworten.^[150] Die molekulare Identität des sauren Rezeptors (oder der Rezeptoren) bleibt noch schwer zu fassen, auch wenn verschiedene Kandidaten in Betracht gezogen wurden, darunter PKD2L1 und sein Bindungspartner PKD1L3.^[148,151] Typ-III-Zellen vermitteln auch den Geschmack von gelöstem oder gasförmigem CO₂.^[152] Bei Experimenten mit Knockout-Mäusen wurde Carboanhydrase 4, ein Enzym, das über einen Glycosylphosphatidylinositol-Anker an die Zelloberfläche der Typ-III-Zellen gehaftet ist, als der hauptsächliche CO₂-Geschmackssensor identifiziert. Dass in Typ-III-Zellen die synaptische Transmission für die Geschmacksreaktion auf CO₂ entscheidend ist, wurde damit ebenfalls nachgewiesen.^[152]

5.5. Typ-IV- und perigemmale Zellen

Typ-IV-Zellen haben eine ähnliche Gestalt wie die Epithelzellen im mehrschichtigen Plattenepithel.^[127,128] Sie kommen im basalen Bereich der Geschmacksknospen vor und haben keine Verlängerungen, die bis zur Geschmackspore reichen. Diese Zellen exprimieren das für die Entwicklung wichtige Sonic-hedgehog-Signalprotein, was darauf schließen lässt, dass sie sich vermehren und als Vorläufer für die anderen Geschmacksknoszenzellen fungieren.^[153] In diesem Zusammenhang muss erwähnt werden, dass Ge-

schmackszellen kurzlebig sind und nach ungefähr zehn Tagen ersetzt werden. Perigemmale Zellen, auch Typ-V-Zellen genannt, gleichen Typ-IV-Zellen, nehmen aber eine ähnliche Gestalt wie Typ-I-Zellen an, wenn sie in die Geschmacksknospe hineinreichen (Abbildung 8).^[127,128] Sie kommen mehrschichtig in der Peripherie von Geschmacksknospen vor und bilden ein Netzwerk aus Keratinbündeln. Sie haben keinen Kontakt zur Geschmackspore, und man nimmt an, dass sie die Geschmacksknospe stützen oder Diffusionsbarrieren bilden, die den Zugang kleiner Moleküle durch laterale Diffusion durch das umgebende Epithel begrenzen.^[127,128]

5.6. Weiterleitung der gustatorischen Information zum cerebralen Cortex

Geschmacksknospen werden durch afferente Fasern dreier Gehirnnerven innerviert.^[127,128] Die Geschmacksknospen der Pilzpapillen auf der vorderen Zunge und palatale Geschmacksknospen werden durch die Chorda tympani bzw. die größeren oberflächlichen petrosalen Äste des VII. kranialen Nervs, des Gesichtsnervs (N. facialis), innerviert (Abbildung 11). Geschmacksknospen der Blatt- und Wallpapillen des hinteren Zungenbereichs nehmen Fasern des Zungen/Mandel-Astes des IX. kranialen Nervs, des Nervus glossopharyngeus, auf. Geschmacksknospen im Rachen- und Kehlkopf-Epithel werden durch den X. kranialen Nerv, den Vagusnerv (N. vagus) innerviert. Die Zellkörper dieser Fasern werden in drei peripheren Ganglien, dem Ganglion geniculi (VII.), dem petrosalen (IX.) und dem nodalen Ganglion (X.) gefunden. Die Fasern der Ganglion-Neuronen enden in einer kleinen Region der Medulla, die als Geschmackskern bezeichnet wird – entsprechend der rostralen Hauptunterteilung des Nucleus tractus solitarius (NTS) – wobei die Geniculi-Fasern meist rostral enden und die petrosalen und nodalen Fasern kaudal.^[154] Vom NTS werden die Geschmacksinformationen in einem absteigenden Weg auf unterschiedliche oralmotorische Kerne und den Speichelkern des Hirnstamms, der Kieferbewegungen und Speichelfluss reguliert, übertragen.^[154] Dementsprechend scheinen Geschmacksinformationen für lokale sensomotorische Reflexe verwendet zu werden, um das Kauen, Schlucken, Einspeichern von schmackhafter Nahrung oder die Öffnung des Mundes zum Auswurf gefährlicher giftiger (bitterer) Verbindungen zu regulieren.^[155] Der aufsteigende lemniskale Weg dient zur Erkennung und Unterscheidung von Reizen.^[153,155] In Menschen und anderen Primaten verbindet er die NTS-Geschmacksneuronen mit Relaisneuronen im parvozellulären Bereich des ventro-posteromedialen Thalamuskerns.^[154] In Nagetieren jedoch wird dieser aufsteigende Weg obligatorisch in den parabrachialen Kern des Pons (Brücke) geleitet. Vom thalamischen Relaiskern wird die Geschmacksinformation zum primären Geschmacks- (oder gustatorischen) Cortex weitertransportiert, einem Teil des cerebralen Cortex, der zwei Bereiche im rostralen frontalen Operculum und der benachbarten Insula umfasst. Die Geschmacksqualitäten beruhen auf den Aktivitäten eines relativ kleinen Teils der Geschmacksneuronen in dieser Region.^[156] Dies kann mit bildgebenden Verfahren im Menschen visua-

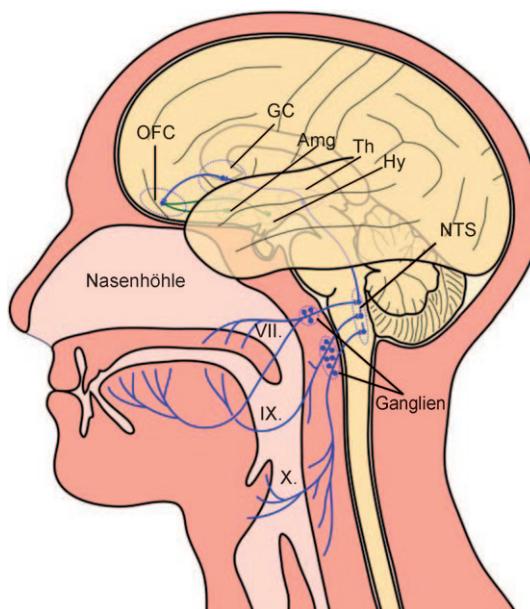


Abbildung 11. Übertragungswege für Geschmacksinformation. Details siehe Text. VII.–X.: Gehirnnerven, NTS: Nucleus tractus solitarius, Th: Thalamus, GC: gustatorischer Cortex, OFC: orbitofrontaler Cortex, Am: Amygdala, Hy: Hypothalamus.

lisiert werden,^[157] während die Aktivitäten zahlreicher anderer Neuronen von anderen Reizen in Verbindung mit Nahrung abhängen, z.B. der Bewegung des Kiefers, dem Anblick von Nahrung oder der taktilen Anregung des Mundes.^[156] Vom primären Geschmackscortex wird die gustatorische Information zum orbitofrontalen Cortex, auch als sekundärer Geschmackscortex bezeichnet, übertragen. In dieser Region treffen die Sinnesmodalitäten von Sehvermögen, Geruchssinn und Geschmackssinn zusammen, um den Geschmack darzustellen.^[156] Die Neuronen in dieser Region scheinen auch an der reizspezifischen Sattheit beteiligt zu sein. Der orbitofrontale Cortex sendet Geschmacksinformationen zum Mandelkern (Amygdala) und dem lateralen Hypothalamus. Diese Regionen scheinen dem Geschmack einen hedonistischen Wert zuzuordnen, d.h. Geschmacksinformation in Verbindung mit Energiebedarf oder Belohnung zu bringen.^[156] In Nagetieren wird die Geschmacksinformation vom parabrachialen Kern – der obligatorischen Schaltstelle, die in Primaten nicht existiert – in den lateralen Hypothalamus und die Amygdala übermittelt.^[154]

5.7. Verknüpfung zwischen Geschmackszelltypen und Verhalten

Die Expression von Süß-, Umami- und Bittergeschmacksrezeptoren (und auch des vermuteten Sauergeschmacksrezeptors PKD2L1) in verschiedenen Untergruppen von Rezeptorzellen lässt – zusammen mit der Beobachtung, dass Rezeptorzellen *in vitro* nur auf eine Kategorie von Geschmacksreizen antworten (wie in Abschnitt 5.2–5.5 angesprochen) — darauf schließen, dass Geschmackszellen selbstständige Populationen bilden, die zur Detektion und Weitergabe von nur einer Geschmacks-

qualität bestimmt sind. Mehrere Berichte über gentechnisch veränderte Mäuse liefern endgültige Beweise für diese Folgerung.^[95,136,141,147,158] Mäuse mit gezielten Deletionen des *T1R1*- oder *T1R2*-Gens verloren selektiv ihre Nerven- und Verhaltensreaktion auf Süß- und Umamigeschmacksstoffe, während ihre Reaktionen auf Reize der anderen Geschmacksqualitäten unbeeinflusst blieben.^[96] Wie erwartet verloren Mäuse ohne *T1R3* den süßen und Umamigeschmack, reagierten aber normal auf salzige, saure oder bittere Reize.^[96,159] Die Daten zeigen deutlich, dass Rezeptoren nur für Verbindungen einer zugehörigen Geschmacksqualität spezifisch sind.

In detaillierten Studienreihen wurde gezeigt, dass Mäuse mit einer gezielten Deletion des *PLC-β2*-Gens nicht auf süße, bittere und umami Verbindungen reagierten, in Einklang mit der zentralen Rolle dieses Signalmoleküls bei der Transduktion der drei Geschmacksrichtungen (Abbildung 10), während der saure und salzige Geschmack normal waren.^[95] Wenn diese Mäuse so verändert wurden, dass sie in ihren für bitteren Geschmack zuständigen Zellen selektiv *PLC-β2*-Aktivität exprimierten, wurde ihr Sinn für bitteren Geschmack selektiv wiederhergestellt, während sie für süße und umami Reize weiterhin unempfänglich waren. Diese Befunde zeigen deutlich, dass eine Geschmacksqualität in der Peripherie unabhängig von den anderen Geschmacksqualitäten codiert wird.^[136]

Gentechnisch veränderte Mäuse, die einen modifizierten Opiatrezeptor exprimieren, der nur auf ein synthetisches Opiat in den für süßen Geschmack zuständigen Zellen reagiert, wurden von diesem synthetischen Opiat stark angezogen. Die Mäuse vermeideten dieses Opiat jedoch völlig, wenn der gleiche Rezeptor in ihren für bitteren Geschmack zuständigen Zellen exprimiert wurde.^[95] Die gleichen Beobachtungen wurden gemacht, wenn durch gentechnische Manipulation ein humaner Bittergeschmacksrezeptor für eine Verbindung, die vom Mauswildtyp nicht erkannt wird, in Mauszellen für bitteren oder süßen Geschmack exprimiert wurden. Abhängig vom Expressionsort in Süß- oder Bittergeschmackszellen wurden die Mäuse angezogen bzw. abgestoßen.^[141] Diese Befunde lassen darauf schließen, dass Süßgeschmackszellen mit dem Nervensystem „fest verdrahtet“ sind, um Anziehung als stereotypes Verhalten auszulösen, während Bittergeschmackszellen Ablehnung hervorrufen.^[136] Diese Studien belegen auch, dass die in den Geschmackszellen vorhandenen Rezeptormoleküle die chemische Spezifität festlegen und chemische Strukturen in biochemische und schließlich neurale Antworten umwandeln. Es sollte noch betont werden, dass der Geschmack einer (süßen oder bitteren) Chemikalie durch die Untergruppe der Geschmackszellen bestimmt wird, die sie anregt.

6. Süßer Geschmack – ein metabolischer Sinn für die Energie-Homöostase

Es logisch anzunehmen, dass das Nahrungsaufnahmeverhalten und der Stoffwechselbedarf in irgendeiner Weise koordiniert sind. Zum Beispiel sollte die Fähigkeit eines Organismus, Kohlenhydrate zu erkennen, in Zeiten von Hunger

oder Kalorienbedarf am stärksten ausgeprägt sein. Unter diesen Bedingungen sollte daher das Süßgeschmackssystem sensibilisiert sein. Wenn die Energiespeicher gefüllt sind und der Organismus ruht und verdaut, kann die Empfindlichkeit für süßen Geschmack abnehmen. Süßgeschmacksrezeptoren könnten weiter als Brennstoffsensoren im Verdauungskanal zur Regulation der gastrointestinalen Physiologie oder im Gehirn zur Überwachung adäquater Monosaccharidspiegel verwendet werden. Es folgen einige Beispiele, um zu illustrieren, wie das Geschmackssystem in die Regulation des Stoffwechsels eingebunden ist.

Das Hormon Leptin wird vom Fettgewebe proportional zur Fettmasse ins Plasma abgesondert und signalisiert damit die Größe der Energiespeicher im Körper.^[160] Das Signal wird von hypothalamischen Leptinrezeptoren detektiert, und als Folge werden bei hohen Leptinspiegeln katabolische Stoffwechselwege stimuliert und wird die Nahrungsaufnahme reduziert.^[161] Bei niedrigen Leptinspiegeln erfolgt eine Aktivierung anabolischer Wege und der Nahrungsaufnahme. Eine Verabreichung von Leptin an normale, aber nicht fettleibige und diabetische db/db-Mäuse (db = Diabetes) mit defekter Leptinsignaltransduktion verringerte periphere gustatorische neurale und Verhaltensreaktionen auf süße Substanzen um ca. 30 %, was darauf schließen lässt, dass die Wirkung von Leptin auf den süßen Geschmack funktionale Leptinrezeptoren erfordert.^[162] Bei isolierten Geschmackszellen von Mäusen inhibierte Leptin ex vivo die Auslösung Süßstoff-induzierter Aktionspotentiale, was belegt, dass es direkt auf die Süßgeschmackszellen selbst wirkt.^[163] Die Rolle von Leptin bei der Steuerung der Empfindlichkeit für süßen Geschmack wurde auch beim Menschen beobachtet.^[163,164]

Leptin wird pulsartig freigegeben, was zu Tagesschwankungen seiner Plasmakonzentrationen mit über 30 Spitzen pro Tag führt. Die Phase kann jedoch durch Essen oder Fasten verschoben werden. Es wurde beobachtet, dass die Leptinspiegel im Plasma und die Empfindlichkeit für süßen Geschmack synchron gehen.^[165] Der Effekt ist spezifisch für den süßen Geschmack und wurde bei den anderen Geschmacksqualitäten nicht beobachtet. Vor kurzem wurde auch festgestellt, dass der süße Geschmack durch die appetitanregenden Endocannabinoide Anandamid und Arachidonoylglycerol gesteigert wird.^[166] Diese Verbindungen wirken über Cannabinoid-Typ-1-Rezeptoren im Hypothalamus und der limbischen Vorderhirnstruktur, um Appetit und Nahrungszufuhr zu erhöhen. Zirkulierende Endocannabinoid-Konzentrationen korrelieren umgekehrt mit den Leptinspiegeln im Plasma. Wie erwartet, verstärkten die Endocannabinoide selektiv die neuralen Antworten und das Verhalten auf Süßgeschmacksreize, ohne die anderen Basisgeschmacksqualitäten zu beeinflussen. Elektrophysiologische Reaktionen der Süßgeschmackszellen wurden ebenfalls gesteigert. Spezifische Inhibitoren des Endocannabinoid-Typ-1-Rezeptors blockierten die Reaktionen, die in Mäusen mit gezielter Ausschaltung des Gens für diesen Rezeptor ebenfalls fehlten.

Der Sinn für süßen Geschmack reagiert nicht nur auf Stoffwechselbedürfnisse, wie oben skizziert, sondern reguliert auch die Brennstoff-Homöostase. Süßgeschmacksrezeptoren und ihre nachgeschalteten Signalmoleküle kommen auf en-

teroendokrinen L-Zellen im Magen-Darm-Trakt der Maus sowie im Zwölffinger- und Dünndarm des Menschen vor.^[167–169] Homogenisate von Zwölffingerdarmgewebe sonderten als Antwort auf Glucose Glucagon-ähnliches Peptid 1 (GLP-1) und gastrointestinales Polypeptid (GIP) ab, was zu erhöhten Plasmahormonkonzentrationen führte. Nach Stimulation der L-Zellen durch Glucose erhöhten angrenzende Enterocyten ihre mRNA-Spiegel für die Natrium-abhängige Isoform 1 des Glucosetransporters (SGLT1), was darauf schließen lässt, dass die Glucosebeladung zu erhöhter Aufnahmekapazität des Darmepithels führte.^[169] Beide Hormone sind auch als Regulatoren der Insulinfreisetzung bekannt. Der Süßgeschmacksrezeptor ist daher entscheidend an der Vermittlung des Inkretineffekts beteiligt (das ist die Beobachtung, dass bei oraler Glucoseaufnahme Insulin stärker ausgeschüttet wird als bei einer vergleichbaren intravenösen Glucoseverabreichung).^[168,169] Zwar müssen zukünftig noch wesentlich mehr Details aufgeklärt werden, um das Zusammenspiel von Geschmack und Metabolismus zu verstehen, jedoch zeigen die bisherigen Resultate bereits deutlich, dass bei der Energie-Homöostase eine Wechselbeziehung zwischen diesen beiden Systemen besteht.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Die sensorischen Chemorezeptoren liefern wertvolle Information über die allgemeine Geschmacksqualität unserer Nahrung. Die Entwicklung gesünderer Nahrungsmittel, z. B. mit geringerem Fett-, Zucker- oder Salzgehalt, kann manchmal zu inakzeptablen Geschmacksmängeln führen und so die Nahrungsmittelindustrie vor unerwartete Herausforderungen stellen. Als Antwort auf die Forderung der Konsumenten nach gesunden, aber schmackhaften Lebensmitteln wurde es notwendig, neue Zutaten – mit Fokus auf Süß- und Umami-verstärkern – zu erschließen, um Geschmacksprobleme zu überwinden, die mit der Produktion kalorienarmer Getränke, salzreduzierter Lebensmittel und Nahrungsmittel ohne zugesetztes MSG einhergehen. In den letzten Jahrzehnten wurden viele äußerst süß schmeckende Naturstoffe, die zu den chemischen Klassen der Terpene, Steroide, Phenole und Proteine gehören, aus pflanzlichen Quellen isoliert und identifiziert. Leider begrenzen die niedrige pH- und Temperaturstabilität sowie der anhaltend bittere Nachgeschmack der meisten dieser hochwirksamen Süßstoffe ihre Verwendung in Nahrungsmitteln. Um unsere tägliche Kost gesünder zu machen, ohne Kompromisse bei der Qualität und Schmackhaftigkeit der Nahrung einzugehen, suchen sowohl Wissenschaftler als auch Aroma- und Lebensmittelhersteller unvermindert nach stabilen und verträglichen hochwirksamen Molekülen, welche die Wahrnehmung des Süß- und Umamigeschmacks beeinflussen.

Gegenwärtig wird hauptsächlich der Sensomik-Ansatz für die aktivitätsgerechte Suche nach Geschmacksmodulatoren in komplexen natürlichen Quellen wie Nahrungsmitteln, Pflanzen oder biotechnologischen Fermentationsbrühen verwendet. Angeregt durch den enormen Fortschritt bei Geschmacksrezeptoren von Säugetieren und der zunehmenden Charakterisierung von Bindungsstellen für Agonisten und

Modulatoren durch hochentwickelte chimäre Rezeptoren und Mutagenesemethoden in den letzten zehn Jahren, begannen einige Firmen, große Sätze synthetischer Moleküle mithilfe postgenomischer Hochdurchsatztechniken zu überprüfen, ähnlich den Strategien zur Wirkstoffsuche, die seit Jahren von der pharmazeutischen Industrie angewendet werden. Erste Treffer haben zwar schon zur Entwicklung einiger intensiv umami schmeckender, wenngleich künstlicher Verbindungen geführt, die im niedrigeren ppm-Bereich wirksam waren, allerdings schien sich das Umamigeschmacksprofil dieser Verbindungen sehr von dem des natürlichen MSG zu unterscheiden; diese künstlichen Moleküle erinnern in ihrem anhaltenden Nachgeschmack etwas an die sehr starken, künstlichen Süßstoffe. Es wird erwartet, dass die molekularen Wechselwirkungen zwischen Agonisten/Modulatoren und den entsprechenden T1Rs zukünftig immer detaillierter aufgeklärt werden. Dieser Prozess wird letztlich das rationale Design neuer süßer und umami Verbindungen ermöglichen, die nicht mit unerwünschten Begleiterscheinungen wie anhaltendem Nachgeschmack oder Beigeschmack verbunden sind. Des Weiteren können genauere molekulare Analysen helfen, die unterschiedliche Kinetik während der Desensibilisierung des Süßgeschmacksrezeptors zu verstehen.

Die molekulare Charakterisierung von T1Rs ist mittlerweile nicht mehr auf die Geschmacksforschung beschränkt. Wie aktuelle Befunde zur T1R-Expression im Magen-Darm-Trakt von Säugetieren zeigten, hat sich dieses Gebiet hin zur Erforschung der metabolischen Nährstofferkennung weiterentwickelt. Besonders interessant ist, dass der Süß- und vielleicht auch der Umamigeschmacksrezeptor nicht darauf beschränkt sind, Nahrungsmittel im Darm zu erkennen und dadurch die Stoffwechselreaktionen anzupassen, denn der metabolische Zustand moduliert die Aktivierung der T1Rs ebenso. Eine der zukünftigen Aufgaben wird darin bestehen, zu identifizieren, wie die gastrointestinale Nährstofferkennung, z.B. beim Süßgeschmacksrezeptor, mit der zentral verarbeiteten Information aus der Mundhöhle koordiniert wird, um eine passende Einstellung der Stoffwechselparameter zu erreichen. Sehr wahrscheinlich werden die Antworten auf diese wichtigen Fragen wiederum die Entwicklung neuer Süß- und Umamimodulatoren stimulieren. Diese Modulatoren müssen so geplant werden, dass sie ihre Zielrezeptorproteine in der Mundhöhle treffen, um die Schmackhaftigkeit der Nahrung zu erhöhen und, nach Aufnahme und Magendurchgang, den gleichen Rezeptor im Magen-Darm-Trakt zu aktivieren oder zu inhibieren.

Abkürzungen:

| | |
|------|--|
| ara | L-Arabinopyranosyl |
| glc | D-Glucopyranosyl |
| glcA | D-Glucuronopyranosyl |
| HPLC | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie |
| MS | Massenspektrometrie |
| qui | D-Chinovosyl |
| rha | L-Rhamnopyranosyl |
| xyl | D-Xylopyranosyl |

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung unserer Arbeiten, auf die in diesem Aufsatz verwiesen wird. Wir danken auch Dr. Frauke Stähler, Jonas Töle und Stephan Born für die freundliche Bereitstellung von Bildern und Illustrationen.

Eingegangen am 8. April 2010
Online veröffentlicht am 17. Februar 2011

Übersetzt von Dr. Margit Knauer, Bensheim

- [1] G. Nelson, J. Chandrashekhar, M. A. Hoon, L. Feng, G. Zhao, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Nature* **2002**, *416*, 199–202.
- [2] A. D. Kinghorn, D. D. Soejarto, *Crit. Rev. Plant Sci.* **1986**, *4*, 79–120.
- [3] T. H. Grenby, *Chem. Br.* **1991**, *27*, 342–345.
- [4] B. V. Howard, J. Wylie-Rosett, *Circulation* **2002**, *106*, 523–527.
- [5] V. B. Duffy, G. H. Anderson, *J. Am. Diet. Assoc.* **1998**, *98*, 580–587.
- [6] Official Journal of the European Union, Commission Directive, **2009/163/EU** of 22.12.2009.
- [7] N. Kim, A. D. Kinghorn, *Arch. Pharmacal Res.* **2002**, *25*, 725–746.
- [8] J. E. Steiner, *Umami: A Basic Taste* (Hrsg.: Y. Kawamura, M. R. Kare), Marcel Dekker, New York, **1987**, S. 97–123.
- [9] D. K. Rassin, J. A. Sturman, G. E. Gaull, *Early Hum. Dev.* **1978**, *2*, 1–13.
- [10] a) S. Yamaguchi, *J. Food Sci.* **1967**, *32*, 473–478; b) S. Yamaguchi, T. Yoshikawa, S. Ikeda, T. Ninomiya, *J. Food Sci.* **1971**, *36*, 846–849.
- [11] a) M. Freeman, *J. Am. Acad. Nurse Pract.* **2006**, *18*, 482–486; b) L. Tarasoff, M. F. Kelly, *Food Chem. Toxicol.* **1995**, *33*, 69–72.
- [12] R. A. Hussain, A. D. Kinghorn, D. D. Soejarto, *Econ. Bot.* **1988**, *42*, 267–283.
- [13] G. E. DuBois, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1982**, *17*, 323–332.
- [14] A. D. Kinghorn, N. Kaneda, N.-I. Nam-In Baek, E. J. Kennelly, D. D. Soejarto, *Med. Res. Rev.* **1998**, *18*, 347–360.
- [15] A. D. Kinghorn, D. Soejarto, *Med. Res. Rev.* **1989**, *9*, 91–115.
- [16] C. M. Compadre, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn, S. K. Kamath, *Science* **1985**, *227*, 417–419.
- [17] A. D. Kinghorn, C. M. Compadre in *Alternative Sweeteners*, 3. Aufl. (Hrsg.: L. Nabors O'Brien), Marcel Dekker, New York, **2001**, S. 209–233.
- [18] J. M. C. Geuns, *Phytochemistry* **2003**, *64*, 913–921.
- [19] B. Crammer, R. Ikan, *Chem. Soc. Rev.* **1977**, *6*, 431–465.
- [20] G. E. DuBois, R. A. Stephenson, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 93–98.
- [21] M. C. Carakostas, L. L. Curry, A. C. Boileau, D. J. Brusick, *Food Chem. Toxicol.* **2008**, *46*, S1–S10.
- [22] a) FDA GRAS Notice GRN No. 000253 and GRN No. 000252); b) JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Monographs 5, Compendium of Food Additive Specifications from 69th JEFCA Meeting, Rom, 17.–26. Juni 2008.
- [23] a) T. Tanaka, H. Kohda, O. Tanaka, F.-H. Chen, W.-H. Chou, J.-L. Leu, *Agric. Biol. Chem.* **1981**, *45*, 2165–2166; b) K. Ohtani, Y. Aikawa, R. Kasai, W.-H. Chou, K. Yamasaki, O. Tanaka, *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1553–1559.
- [24] T. Tanaka, O. Tanaka, Z. W. Lin, J. Zhou, *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 4275–4280.
- [25] T. Takemoto, S. Arihara, T. Nakajima, M. Okuhira, *Yakugaku Zasshi* **1983**, *103*, 1151–1154.
- [26] a) R. Kasai, R. Nie, K. Nishi, K. Ohtani, J. Zhou, G. Tao, O. Tanaka, *Agric. Biol. Chem.* **1989**, *53*, 3347–3349; b) K.

- Matsumoto, R. Kasai, K. Ohtani, O. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38, 2030–2032.
- [27] W. Jakinovich, C. Moon, Y.-H. Choi, A. D. Kinghorn, *J. Nat. Prod.* **1990**, 53, 190–195.
- [28] Y. Xia, M. E. Rivero-Huguet, B. H. Hughes, W. D. Marshall, *Food Chem.* **2008**, 107, 1022–1028.
- [29] D. J. Yang, Z. C. Zhong, Z. M. Xie, *Acta Pharmacol. Sin.* **1992**, 27, 841–844.
- [30] M. Yoshikawa, T. Morikawa, K. Nakano, Y. Pongpiriyadacha, T. Murakami, H. Matsuda, *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 1638–1642.
- [31] I. Kitagawa, *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 1189–1198.
- [32] R. L. Smith, P. Newberne, T. B. Adams, R. A. Ford, J. B. Halligan, *Food Technol.* **1996**, 50, 72–78.
- [33] European Commission, Opinion of the Scientific Committee on Food on Glycyrrhetic acid and its Ammonium salt (4. April 2003).
- [34] a) J. Jizba, V. Herout, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1976**, 32, 2867–2874; b) J. Jizba, L. Dolejs, V. Herout, F. Sorm, *Tetrahedron Lett.* **1971**, 12, 1329–1332.
- [35] H. Yamada, M. Nishizawa, *Synlett* **1993**, 54–56.
- [36] H. Yamada, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 386–397.
- [37] J. Kim, J. M. Pezzuto, D. D. Soejarto, F. A. Lang, A. D. Kinghorn, *J. Nat. Prod.* **1988**, 51, 1166–1172.
- [38] A. D. Kinghorn, C. M. Compadre in *Alternative Sweeteners*, 2. Aufl. (Hrsg.: L. O'Brien Nabors, R. C. Gelardi), Marcel Dekker, New York, **1991**, S. 197–218.
- [39] E. H. Rennie, *J. Chem. Soc. Trans.* **1886**, 49, 857–865.
- [40] R. M. Horowitz, B. Gentili in *Alternative Sweeteners* (Hrsg.: L. O'Brien, R. C. Gelardi), Marcel Dekker, New York, **1986**, S. 135–153.
- [41] F. Borrego, H. Montijano in *Alternative Sweeteners*, 3. Aufl. (Hrsg.: L. O'Brien Nabors), New York, **2001**, S. 87–104.
- [42] H. van der Wel, K. Loeve, *Eur. J. Biochem.* **1972**, 31, 221–225.
- [43] R. B. Iyengar, P. Smits, F. van der Ouderaa, H. van der Wel, J. van Brouwershaven, P. Ravestein, G. Richters, P. D. van Wassenaar, *Eur. J. Biochem.* **1979**, 96, 193–204.
- [44] C. M. Ogata, P. F. Gordon, A. M. de Vos, S.-H. Kim, *J. Mol. Biol.* **1992**, 228, 893–908.
- [45] P. Temussi, *Cell. Mol. Life Sci.* **2006**, 63, 1876–1888.
- [46] a) B. Muermann, *Ernaehr.-Umsch.* **1998**, 45, 206–208; b) S. Salminen, A. Hallikainen in *Food Additives*, 2. Aufl. (Hrsg.: R. L. Branen, P. M. Davidson, S. Salminen, J. H. Thorngate), Marcel Dekker, New York, **2002**, S. 447–476.
- [47] D. Ming, G. Hellekant, *FEBS Lett.* **1994**, 355, 106–108.
- [48] H. van der Wel, G. Larson, A. Hladik, C. M. Hladik, G. Hellekant, D. Glaser, *Chem. Senses* **1989**, 14, 75–79.
- [49] G. E. Inglett, J. F. May, *J. Food Sci.* **1969**, 34, 408–411.
- [50] Z. Bohak, S.-L. Li, *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct.* **1976**, 427, 153–170.
- [51] J. A. Morris, R. H. Cagan, *Biochim. Biophys. Acta General Subjects* **1972**, 261, 114–122.
- [52] T. Masuda, N. Kitabatake, *J. Biosci. Bioeng.* **2006**, 102, 375–389.
- [53] Z. Hu, L. Peng, M. He, *Yunnan Zhiwu Yanjiu* **1985**, 7, 1–10.
- [54] Z. Hu, M. He, *Yunnan Zhiwu Yanjiu* **1983**, 5, 207–212.
- [55] M. Ding, Z. Hu, *Yunnan Zhiwu Yanjiu* **1986**, 8, 181–192.
- [56] D.-F. Li, P. Jiang, D.-Y. Zhu, Y. Hu, M. Max, D.-C. Wang, *J. Struct. Biol.* **2008**, 162, 50–62.
- [57] X. Liu, S. Maeda, Z. Hu, T. Aiuchi, K. Nakaya, Y. Kurihara, *Eur. J. Biochem.* **1993**, 211, 281–287.
- [58] H. Yamashita, S. Theerasilp, T. Aiuchi, K. Nakaya, Y. Nakamura, Y. Kurihara, *J. Biol. Chem.* **1990**, 265, 15770–15775.
- [59] A. Shimizu-Ibuka, Y. Morita, T. Terada, T. Asakura, K.-i. Nakajima, S. Iwata, T. Misaka, H. Sorimachi, S. Arai, K. Abe, *J. Mol. Biol.* **2006**, 359, 148–158.
- [60] a) K. Ikeda, *J. Tokyo Chem. Soc.* **1909**, 30, 820–836; b) K. Ikeda, *Chem. Senses* **2002**, 27, 847–849.
- [61] N. Chaudhari, A. M. Landin, S. D. Roper, *Nat. Neurosci.* **2000**, 3, 113–119.
- [62] X. Li, L. Staszewski, H. Xu, K. Durick, M. Zoller, E. Adler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 4692–4696.
- [63] a) K. H. Ney, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1971**, 146, 141–143; b) J. Velíškaronek, J. Davídek, V. Kubelka, T. Tran Thi Bich, J. Hajscaronlová, *Food/Nahrung* **1978**, 22, 735–743.
- [64] T. Warendorf, H.-D. Belitz, U. Gasser, W. Grosch, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1992**, 195, 215–223.
- [65] A. Dunkel, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 9867–9877.
- [66] S. Yamaguchi, K. Ninomiya, *J. Nutr.* **2000**, 130, 921S–26S.
- [67] H. Schlichtherle-Cerny, R. Amado, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 1515–1522.
- [68] C. Winkel, A. de Klerk, J. Visser, E. de Rijke, J. Bakker, T. Koenig, H. Renes, *Chem. Biodiversity* **2008**, 5, 1195–1203.
- [69] M. Noguchi, S. Arai, M. Yamashita, H. Kato, M. Fujimaki, *J. Agric. Food Chem.* **1975**, 23, 49–53.
- [70] a) S. Arai, M. Yamashita, M. Noguchi, M. Fujimaki, *Agric. Biol. Chem.* **1973**, 37, 151–156; b) K. Maehashi, M. Matsuzaki, Y. Yamamoto, S. Udeka, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1999**, 63, 555–559.
- [71] S. Kaneko, K. Kumazawa, H. Masuda, A. Henze, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 2688–2694.
- [72] a) S. Toelstede, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 2795–2804; b) S. Toelstede, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 5299–5307; c) J. C. Hufnagel, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 9190–9199.
- [73] a) N. Rotzoll, A. Dunkel, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 4149–4156; b) N. Rotzoll, A. Dunkel, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 2705–2711.
- [74] a) I. Schräder, K. Eichner, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1996**, 202, 474–480; b) T. Davidek, K. Krahenbuehl, S. Devaud, F. Robert, I. Blank, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 140–147.
- [75] E. Beksan, P. Schieberle, F. Robert, I. Blank, L. B. Fay, H. Schlichtherle-Cerny, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 5428–5436.
- [76] H. Ottinger, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 6791–6796.
- [77] H. Ottinger, T. Soldo, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 1035–1041.
- [78] a) T. Soldo, I. Blank, T. Hofmann, *Chem. Senses* **2003**, 28, 371–379; b) R. Villard, F. Robert, I. Blank, G. Bernardinelli, T. Soldo, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 4040–4045.
- [79] a) T. Soldo, O. Frank, H. Ottinger, T. Hofmann, *Mol. Nutr. Food Res.* **2004**, 48, 270–281; b) T. Soldo, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 9165–9171.
- [80] E. de Rijke, N. Bouter, B. J. Ruisch, S. Haiber, T. König, *J. Chromatogr. A* **2007**, 1156, 296–303.
- [81] E. de Rijke, B. Ruisch, J. Bakker, J. Visser, J. Leenen, S. Haiber, A. de Klerk, C. Winkel, T. König, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 6417–6423.
- [82] De Klerk, M. Baalbergen, R. Harry (Quest International Services B.V.), WO 2008/072963, **2008**.
- [83] a) Y. Ueda, T. Tsubuku, R. Miyajima, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1994**, 58, 108–110; b) Y. Ueda, M. Yonemitsu, T. Tsubuku, M. Sakaguchi, R. Miyajima, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1997**, 61, 1977–1980; c) Y. Ueda, M. Sakaguchi, K. Hirayama, R. Miyajima, A. Kimizuka, *Agric. Biol. Chem.* **1990**, 54, 163–169.
- [84] a) S. Toelstede, A. Dunkel, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 1440–1448; b) S. Toelstede, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 3738–3748; c) A. Dunkel, J. Köster, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 6712–6719.
- [85] T. Ohsu, Y. Amino, H. Nagasaki, T. Yamanaka, S. Takeshita, T. Hatanaka, Y. Maruyama, N. Miyamura, Y. Eto, *J. Biol. Chem.* **2010**, 285, 1016–1022.

- [86] R. S. Shallenberger, T. E. Acree, *Nature* **1967**, *216*, 480–482.
- [87] a) P. A. Temussi, F. Lelj, T. Tancredi, *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 1154–1158; b) J. Kamphuis, F. Lelj, T. Tancredi, C. Toniolo, P. A. Temussi, *Quant. Struct. Act. Relat.* **1992**, *11*, 486–491.
- [88] P. Temussi, *J. Mol. Recognit.* **2006**, *19*, 188–199.
- [89] M. A. Hoon, E. Adler, J. Lindemeier, J. F. Battey, N. J. P. Ryba, C. S. Zuker, *Cell* **1999**, *96*, 541–551.
- [90] a) A. A. Bachmanov, X. Li, D. R. Reed, J. D. Ohmen, S. Li, Z. Chen, M. G. Tordoff, P. J. de Jong, C. Wu, D. B. West, A. Chatterjee, D. A. Ross, G. K. Beauchamp, *Chem. Senses* **2001**, *26*, 925–933; b) M. Kitagawa, Y. Kusakabe, H. Miura, Y. Ninomiya, A. Hino, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *283*, 236–242; c) E. Sainz, J. N. Korley, J. F. Battey, S. L. Sullivan, *J. Neurochem.* **2001**, *77*, 896–903.
- [91] M. Max, Y. G. Shanker, L. Huang, M. Rong, Z. Liu, F. Campagne, H. Weinstein, S. Damak, R. F. Margolskee, *Nat. Genet.* **2001**, *28*, 58–63.
- [92] J. P. Montmayeur, S. D. Liberles, H. Matsunami, L. B. Buck, *Nat. Neurosci.* **2001**, *4*, 492–498.
- [93] G. Nelson, M. A. Hoon, J. Chandrashekar, Y. Zhang, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Cell* **2001**, *106*, 381–390.
- [94] I. E. Lush, *Genet. Res.* **1989**, *53*, 95–99.
- [95] Y. Zhang, M. A. Hoon, J. Chandrashekar, K. L. Mueller, B. Cook, D. Wu, C. S. Zuker, N. J. Ryba, *Cell* **2003**, *112*, 293–301.
- [96] G. Q. Zhao, Y. Zhang, M. A. Hoon, J. Chandrashekar, I. Erlebnbach, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Cell* **2003**, *115*, 255–266.
- [97] S. Damak, M. Rong, K. Yasumatsu, Z. Kokrashvili, V. Varadarajan, S. Zou, P. Jiang, Y. Ninomiya, R. F. Margolskee, *Science* **2003**, *301*, 850–853.
- [98] H. Xu, L. Staszewski, H. Tang, E. Adler, M. Zoller, X. Li, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 14258–14263.
- [99] P. Jiang, Q. Ji, Z. Liu, L. A. Snyder, L. M. Benard, R. F. Margolskee, M. Max, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 45068–45075.
- [100] M. Winnig, B. Bufe, W. Meyerhof, *BMC Neurosci.* **2005**, *6*, 22.
- [101] K. I. Nakajima, Y. Morita, A. Koizumi, T. Asakura, T. Terada, K. Ito, A. Shimizu-Ibuka, J. I. Maruyama, K. Kitamoto, T. Misaka, K. Abe, *FASEB J.* **2008**, *22*, 2323–2330.
- [102] N. Ide, E. Sato, K. Ohta, T. Masuda, N. Kitabatake, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 5884–5890.
- [103] M. Winnig, B. Bufe, N. A. Kratochwil, J. P. Slack, W. Meyerhof, *BMC Struct. Biol.* **2007**, *7*, 66.
- [104] S. Zukerman, J. I. Glendinning, R. F. Margolskee, A. Sclafani, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2009**, *296*, R866–R876.
- [105] F. Zhang, B. Klebansky, R. M. Fine, H. Liu, H. Xu, G. Servant, M. Zoller, C. Tachdjian, X. Li, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 4752–4757.
- [106] G. Servant, C. Tachdjian, X. Q. Tang, S. Werner, F. Zhang, X. Li, P. Kamdar, G. Petrovic, T. Ditschun, A. Java, P. Brust, N. Brune, G. E. Dubois, M. Zoller, D. S. Karanewsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 4746–4751.
- [107] P. Jiang, M. Cui, B. Zhao, L. A. Snyder, L. M. Benard, R. Osman, M. Max, R. F. Margolskee, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 34296–34305.
- [108] S. Vigues, C. D. Dotson, S. D. Munger, *Results Probl. Cell Differ.* **2009**, *47*, 187–202.
- [109] a) X. Li, W. Li, H. Wang, J. Cao, K. Maehashi, L. Huang, A. A. Bachmanov, D. R. Reed, V. Legrand-Defretin, G. K. Beauchamp, J. G. Brand, *PLoS Genet.* **2005**, *1*, 27–35; b) X. Li, W. Li, H. Wang, D. L. Bayley, J. Cao, D. R. Reed, A. A. Bachmanov, L. Huang, V. Legrand-Defretin, G. K. Beauchamp, J. G. Brand, *J. Nutr.* **2006**, *136*, 1932S–1934S.
- [110] A. A. Fushan, C. T. Simons, J. P. Slack, A. Manichaikul, D. Drayna, *Curr. Biol.* **2009**, *19*, 1288–1293.
- [111] Y. Nie, S. Vigues, J. R. Hobbs, G. L. Conn, S. D. Munger, *Curr. Biol.* **2005**, *15*, 1948–1952.
- [112] P. Jiang, M. Cui, B. Zhao, Z. Liu, L. A. Snyder, L. M. Benard, R. Osman, R. F. Margolskee, M. Max, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 15238–15246.
- [113] G. Morini, A. Bassoli, P. A. Temussi, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5520–5529.
- [114] M. Cui, P. Jiang, E. Maillet, M. Max, R. F. Margolskee, R. Osman, *Curr. Pharm. Des.* **2006**, *12*, 4591–4600.
- [115] a) M. Max, W. Meyerhof in *The Senses: A Comprehensive Reference*, Vol. 4 (Hrsg.: A. I. Basbaum, A. Kaneko, G. M. Shepherd, G. Westheimer, S. Firestein, G. K. Beauchamp), Elsevier, San Diego, **2008**, S. 197–218; b) X. Li, *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *90*, 733S–737S.
- [116] N. Kunishima, Y. Shimada, Y. Tsuji, T. Sato, M. Yamamoto, T. Kumasaki, S. Nakanishi, H. Jingami, K. Morikawa, *Nature* **2000**, *407*, 971–977.
- [117] a) X. Liu, Q. He, D. J. Studholme, Q. Wu, S. Liang, L. Yu, *Trends Biochem. Sci.* **2004**, *29*, 458–461; b) K. Palczewski, T. Kumasaki, T. Hori, C. A. Behnke, H. Motoshima, B. A. Fox, I. Le Trong, D. C. Teller, T. Okada, R. E. Stenkamp, M. Yamamoto, M. Miyano, *Science* **2000**, *289*, 739–745.
- [118] V. Galindo-Cuspinera, P. A. Breslin, *Cell. Mol. Life Sci.* **2007**, *64*, 2049–2052.
- [119] V. Galindo-Cuspinera, M. Winnig, B. Bufe, W. Meyerhof, P. A. Breslin, *Nature* **2006**, *441*, 354–357.
- [120] F. Zhang, B. Klebansky, R. M. Fine, H. Xu, A. Pronin, H. Liu, C. Tachdjian, X. Li, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 20930–20934.
- [121] E. Sainz, M. M. Cavenagh, N. D. Lopez Jimenez, J. C. Gutierrez, J. F. Battey, J. K. Northup, S. L. Sullivan, *Dev. Neurobiol.* **2007**, *67*, 948–959.
- [122] O. Lugaz, A. M. Pillias, A. Faurion, *Chem. Senses* **2002**, *27*, 105–115.
- [123] U. K. Kim, S. Wooding, N. Riaz, L. B. Jorde, D. Drayna, *Chem. Senses* **2006**, *31*, 599–611.
- [124] Q. Y. Chen, S. Alarcon, A. Tharp, O. M. Ahmed, N. L. Estrella, T. A. Greene, J. Rucker, P. A. Breslin, *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *90*, 770S–779S.
- [125] M. Raliou, A. Wiencis, A. M. Pillias, A. Planchais, C. Eloit, Y. Boucher, D. Trotter, J. P. Montmayeur, A. Faurion, *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *90*, 789S–99S.
- [126] N. Shigemura, S. Shiroasaki, K. Sanematsu, R. Yoshida, Y. Ninomiya, *PLoS One* **2009**, *4*, e6717.
- [127] I. J. Miller, Jr. in *Handbook of Olfaction and Gustation* (Hrsg.: R. L. Doty), Marcel Dekker, New York, **1995**, S. 521–547.
- [128] M. Witt, K. Reutter, I. J. Miller, Jr. in *Handbook of olfaction and gustation* (Hrsg.: R. L. Doty), Marcel Dekker, New York, **2003**, S. 651–678.
- [129] I. J. Miller, Jr., *Anat. Rec.* **1986**, *216*, 474–482.
- [130] A. Sbarbati, F. Merigo, D. Benati, M. Tizzano, P. Bernardi, F. Osculati, *Chem. Senses* **2004**, *29*, 683–692.
- [131] H. Schmale, H. Holtgreve-Grez, H. Christiansen, *Nature* **1990**, *343*, 366–369.
- [132] a) S. D. Roper, *J. Neurosci.* **1992**, *12*, 1127–1134; b) S. D. Roper, *Pfluegers Arch.* **2007**, *454*, 759–776.
- [133] S. D. Roper, *Physiol. Behav.* **2009**, *97*, 604–608.
- [134] a) D. L. Bartel, S. L. Sullivan, E. G. Lavoie, J. Sevigny, T. E. Finger, *J. Comp. Neurol.* **2006**, *497*, 1–12; b) D. M. Lawton, D. N. Furness, B. Lindemann, C. M. Hackney, *Eur. J. Neurosci.* **2000**, *12*, 3163–3171.
- [135] A. Vandenbeuch, T. R. Clapp, S. C. Kinnamon, *BMC Neurosci.* **2008**, *9*, 1.
- [136] a) J. Chandrashekar, M. A. Hoon, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Nature* **2006**, *444*, 288–294; b) D. A. Yarmolinsky, C. S. Zuker, N. J. Ryba, *Cell* **2009**, *139*, 234–244.
- [137] a) R. A. Romanov, O. A. Rogachevskaia, M. F. Bystrova, P. Jiang, R. F. Margolskee, S. S. Kolesnikov, *EMBO J.* **2007**, *26*, 657–667; b) Y. J. Huang, Y. Maruyama, G. Dvoryanchikov, E.

- Pereira, N. Chaudhari, S. D. Roper, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 6436–6441.
- [138] a) G. T. Wong, K. S. Gannon, R. F. Margolskee, *Nature* **1996**, *381*, 796–800; b) C. Hisatsune, K. Yasumatsu, H. Takahashi-Iwanaga, N. Ogawa, Y. Kuroda, R. Yoshida, Y. Ninomiya, K. Mikoshiba, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 37225–37231.
- [139] R. A. DeFazio, G. Dvoryanchikov, Y. Maruyama, J. W. Kim, E. Pereira, S. D. Roper, N. Chaudhari, *J. Neurosci.* **2006**, *26*, 3971–3980.
- [140] a) S. M. Tomchik, S. Berg, J. W. Kim, N. Chaudhari, S. D. Roper, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 10840–10848; b) R. Yoshida, A. Miyauchi, T. Yasuo, M. Jyotaki, Y. Murata, K. Yasumatsu, N. Shigemura, Y. Yanagawa, K. Obata, H. Ueno, R. F. Margolskee, Y. Ninomiya, *J. Physiol.* **2009**, *587*, 4425–4439.
- [141] K. L. Mueller, M. A. Hoon, I. Erlenbach, J. Chandrashekhar, C. S. Zuker, N. J. P. Ryba, *Nature* **2005**, *434*, 225–229.
- [142] E. Adler, M. A. Hoon, K. L. Mueller, J. Chandrashekhar, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Cell* **2000**, *100*, 693–702.
- [143] T. E. Finger, V. Danilova, J. Barrows, D. L. Bartel, A. J. Vigers, L. Stone, G. Hellekant, S. C. Kinnamon, *Science* **2005**, *310*, 1495–1499.
- [144] T. R. Clapp, K. F. Medler, S. Damak, R. F. Margolskee, S. C. Kinnamon, *BMC Biol.* **2006**, *4*, 7.
- [145] Y. A. Huang, R. Dando, S. D. Roper, *J. Neurosci.* **2009**, *29*, 13909–13918.
- [146] Y. A. Huang, Y. Maruyama, S. D. Roper, *J. Neurosci.* **2008**, *28*, 13088–13093.
- [147] A. L. Huang, X. Chen, M. A. Hoon, J. Chandrashekhar, W. Guo, D. Trankner, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Nature* **2006**, *442*, 934–938.
- [148] Y. Ishimaru, H. Inada, M. Kubota, H. Zhuang, M. Tominaga, H. Matsunami, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 12569–12574.
- [149] a) N. D. LopezJimenez, M. M. Cavenagh, E. Sainz, M. A. Cruz-Ithier, J. F. Battey, S. L. Sullivan, *J. Neurochem.* **2006**, *98*, 68–77; b) S. Kataoka, R. Yang, Y. Ishimaru, H. Matsunami, J. Sevigny, J. C. Kinnamon, T. E. Finger, *Chem. Senses* **2008**, *33*, 243–254.
- [150] Y. A. Huang, Y. Maruyama, R. Stimac, S. D. Roper, *J. Physiol.* **2008**, *586*, 2903–2912.
- [151] a) H. Inada, F. Kawabata, Y. Ishimaru, T. Fushiki, H. Matsunami, M. Tominaga, *EMBO Rep.* **2008**, *9*, 690–697; b) S. Ishii, T. Misaka, M. Kishi, T. Kaga, Y. Ishimaru, K. Abe, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2009**, *385*, 346–350.
- [152] a) J. Chandrashekhar, D. Yarmolinsky, L. von Buchholtz, Y. Oka, W. Sly, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Science* **2009**, *326*, 443–445; b) A. Dunkel, T. Hofmann, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3037–3039; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2975–2977.
- [153] a) H. Miura, Y. Kusakabe, H. Kato, J. Miura-Ohnuma, M. Tagami, Y. Ninomiya, A. Hino, *Gene Expression Patterns* **2003**, *3*, 427–430; b) J. M. Hall, M. L. Bell, T. E. Finger, *Dev. Biol.* **2003**, *255*, 263–277.
- [154] M. C. Whitehead, T. E. Finger in *The Senses: A Comprehensive Reference*, Vol. 4 (Hrsg.: A. I. Basbaum, A. Kaneko, G. M. Shepherd, G. Westheimer, S. Firestein, G. K. Beauchamp), Elsevier, Amsterdam, **2008**, S. 237–260.
- [155] A. C. Spector, J. I. Glendinning, *Curr. Opin. Neurobiol.* **2009**, *19*, 370–377.
- [156] E. T. Rolls in *Handbook of olfaction and gustation*, 2. Aufl. (Hrsg.: R. L. Doty), Marcel Dekker, New York, **2003**, S. 679–705.
- [157] M. A. Schoenfeld, G. Neuer, C. Tempelmann, K. Schüssler, T. Noesselt, J. M. Hopf, H. J. Heinze, *Neuroscience* **2004**, *127*, 347–353.
- [158] J. Chandrashekhar, C. Kuhn, Y. Oka, D. A. Yarmolinsky, E. Hummler, N. J. Ryba, C. S. Zuker, *Nature* **2010**, *464*, 297–310.
- [159] S. Damak, M. Rong, K. Yasumatsu, Z. Kokrashvili, C. A. Perez, N. Shigemura, R. Yoshida, B. Mosinger, Jr., J. I. Glendinning, Y. Ninomiya, R. F. Margolskee, *Chem. Senses* **2006**, *31*, 253–264.
- [160] R. V. Considine, *Semin. Vasc. Med.* **2005**, *5*, 15–24.
- [161] a) J. K. Elmquist, E. Maratos-Flier, C. B. Saper, J. S. Flier, *Nat. Neurosci.* **1998**, *1*, 445–450; b) M. W. Schwartz, S. C. Woods, D. Porte, R. J. Seeley, D. G. Baskin, *Nature* **2000**, *404*, 661–671.
- [162] a) K. Kawai, K. Sugimoto, K. Nakashima, H. Miura, Y. Ninomiya, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 11044–11049; b) N. Shigemura, R. Ohta, Y. Kusakabe, H. Miura, A. Hino, K. Koyano, K. Nakashima, Y. Ninomiya, *Endocrinology* **2004**, *145*, 839–847.
- [163] N. Horio, M. Jyotaki, R. Yoshida, K. Sanematsu, N. Shigemura, Y. Ninomiya, *J. Pharmacol. Sci.* **2010**, *112*, 8–12.
- [164] Y. Ninomiya, N. Shigemura, K. Yasumatsu, R. Ohta, K. Sugimoto, K. Nakashima, B. Lindemann, *Vitam. Horm.* **2002**, *64*, 221–248.
- [165] Y. Nakamura, K. Sanematsu, R. Ohta, S. Shiroasaki, K. Koyano, K. Nonaka, N. Shigemura, Y. Ninomiya, *Diabetes* **2008**, *57*, 2661–2665.
- [166] R. Yoshida, T. Ohkuri, M. Jyotaki, T. Yasuo, N. Horio, K. Yasumatsu, K. Sanematsu, N. Shigemura, T. Yamamoto, R. F. Margolskee, Y. Ninomiya, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 935–939.
- [167] a) D. Hofer, B. Puschel, D. Drenckhahn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 6631–6634; b) D. Hofer, D. Drenckhahn, *Histochem. Cell Biol.* **1998**, *110*, 303–309.
- [168] H. J. Jang, Z. Kokrashvili, M. J. Theodorakis, O. D. Carlson, B. J. Kim, J. Zhou, H. H. Kim, X. Xu, S. L. Chan, M. Juhaszova, M. Bernier, B. Mosinger, R. F. Margolskee, J. M. Egan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 15069–15074.
- [169] R. F. Margolskee, J. Dyer, Z. Kokrashvili, K. S. Salmon, E. Illegems, K. Daly, E. L. Maillet, Y. Ninomiya, B. Mosinger, S. P. Shirazi-Beechey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 15075–15080.
- [170] T. R. Clapp, K. R. Trubey, A. Vandenebech, L. M. Stone, R. F. Margolskee, N. Chaudhari, S. C. Kinnamon, *FEBS Lett.* **2008**, *582*, 3783–3787.