



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Extraktion von Arzneidro-
gen
—
Vergleich der Methoden“

verfasst von

Sara Hassanein

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, Juli 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreut von: ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Gottfried Reznicek

Danksagung

Ich möchte in erster Linie all denjenigen danken, die mich während meines Studiums und der Diplomarbeitszeit unterstützt haben.

Ebenso möchte ich mich für die Bereitstellung des Diplomarbeitsplatzes am Department für Pharmakognosie bei Univ.-Prof. Dr. Verena M. Dirsch bedanken.

Besonders danken möchte ich meinem Professor ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Gottfried Reznicek für seine Freundlichkeit, Betreuung und für die fachkundige Unterstützung während der gesamten Diplomarbeitsphase.

Danken möchte ich meinen Eltern Madiha und Mohamed Hassanein für die emotionale und finanzielle Unterstützung während meiner Studienzeit.

Ein sehr großer Dank geht an meinen Bruder Ibrahim, meine Schwägerin Heba und an meine jüngere Schwester Sumaya, die immer für mich da waren.

Herzlichen Dank an meine Freundinnen Mag^a. pharm. Hoda El-Samahi und Amina Louko für die liebevolle Unterstützung.

Bedanken möchte ich mich auch bei meiner Kollegin Dorothea Hartl für die angenehme Zusammenarbeit und für ihr strahlendes Lächeln während der Diplomarbeitszeit.

Ein herzliches Dankeschön geht an Christina Dangl und an Ing. Herbert Sulzbacher für die hergestellten Reagenzien und für die Erklärung der Geräteeinstellungen.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei allen Personen im Pharmakognosie Department für die schönen Kaffeepausen bedanken.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Material und Methoden.....	2
2.1.	Verwendetes Drogenmaterial	2
2.2.	Extraktionsmethoden	4
2.2.1.	Mazeration	4
2.2.2.	Perkolation.....	5
2.2.3.	Ultraschallextraktion.....	7
2.2.4.	Ultra-Turrax-Extraktion.....	8
2.2.5.	Turboextraktion (Wirbelextraktion)	9
2.2.6.	Teezubereitung	10
2.3.	Zerkleinerung der Arzneipflanzen	10
3.	Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC).....	11
4.	Droge-Extrakt-Verhältnis (DEV)	13
5.	Vorversuche an Holunderblüten	14
5.1.	Holunderblüten nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [15]	14
5.2.	Vorgangsweise zur Gehaltsbestimmung nach den verschiedenen Extraktionen von Holunderblüten.....	15
5.3.	Ergebnisse der Extraktion von Holunderblüten	16
5.4.	Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Holunderblüten.....	20
6.	Arnikablüten	22
6.1.	Arnikablüten nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [17].....	23
6.2.	Arnikatinktur nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [18].....	25
6.3.	Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Arnikablüten.....	27
6.4.	Modifikation der HPLC-Bestimmung	27

7.	Baldrianwurzel	29
7.1.	Baldrianwurzel nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [20]	30
7.2.	Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Baldrianwurzel.....	32
8.	Efeublätter	36
8.1.	Efeublätter nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [23]	37
8.2.	Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Efeublättern	39
9.	Rotkleeblüten.....	43
9.1.	Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Rotkleeblüten.....	44
10.	Ergebnisse der Extraktionen	47
10.1.	Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Arnikablüten	47
10.1.1.	Droge-Extrakt-Verhältnis von Arnikablüten	55
10.1.2.	Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Arnikablüten	57
10.2.	Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Baldrianwurzel.....	58
10.2.1.	Droge-Extrakt-Verhältnis von Baldrianwurzel	66
10.2.2.	Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Baldrianwurzel	68
10.3.	Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Efeublättern.....	69
10.3.1.	Droge-Extrakt-Verhältnis von Efeublättern	73
10.3.2.	Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Efeublättern	76
10.4.	Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Rotkleeblüten	77
10.4.1.	Droge-Extrakt-Verhältnis von Rotkleeblüten	84
10.4.2.	Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Rotkleeblüten	86
11.	Diskussion	87
12.	Zusammenfassung	89
13.	Summary	91
14.	Abkürzungsverzeichnis	92

15. Diagrammverzeichnis.....	93
16. Tabellenverzeichnis	94
17. Abbildungsverzeichnis.....	98
18. Literaturverzeichnis	99
19. Curriculum vitae	101

1. Einleitung und Problemstellung

Es gibt unterschiedliche Extraktionsmethoden für Arzneidroge zur Herstellung von Arznei-Zubereitungen. Welche Extraktionsmethode und welche Extraktionsflüssigkeit man verwendet, hängt von den Eigenschaften der Inhaltsstoffe, vor allem von deren Löslichkeit ab [1].

Zu den offizinellen Extraktionsverfahren von Arzneidroge gehören die Mazeration und die Perkolation. Der Grund für die Anwendung einer bestimmten Methode bei einer bestimmten Arzneipflanze ist nicht immer klar.

Sie sind auch für die unterschiedlichen Arzneipflanzen mehr oder weniger gut geeignet. Mittlerweile haben sich andere Extraktionsmethoden wie Ultraschall-, Ultra-Turrax-, Turboextraktion, Digestion, Soxhletverfahren u.a. durchgesetzt. Im Vergleich zu den Arzneibuch-Verfahren haben einige von ihnen vor allem zeitliche Vorteile. Jedoch gibt es noch keine Untersuchungen zur Effektivität und Extraktionsausbeuten dieser Methoden.

Dementsprechend war es das Ziel der Diplomarbeit, anhand von Arzneidroge, die in der Apotheke stark nachgefragt werden (Arnika Blüten, Baldrianwurzel, Efeublätter und Rotkleeblüten) die Effektivität und die Reproduzierbarkeit der Extraktionsmethoden (Mazeration, Perkolation, Ultraschallextraktion, Ultra-Turrax-Extraktion, Turboextraktion und Teezubereitung) vergleichend zu untersuchen. Eine parallel durchgeführte Diplomarbeit [2] führte entsprechende Untersuchungen mit Thymiankraut, Salbei blättern und Holunderblüten durch.

Die Quantifizierung der Inhaltsstoffe zur Beurteilung der Extraktionsausbeute sollte gemäß EuAB mittels HPLC durchgeführt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Verwendetes Drogenmaterial

Die Drogen wurden von der Firma KOTTAS PHARMA bezogen

Flos Arnicae cs

Arnicae flos

Arnikablüten, geschnitten

Chargennummer:	W 12203249
Identität	entspricht
Dünnschichtchromatographie (Identität)	entspricht
Dünnschichtchromatographie (Reinheit)	entspricht
Trocknungsverlust (< = 10 % (m/m))	8,0
Asche (< = 10 % (m/m))	6,4
Dihydrohelenalintiglat (> = 0,4 % (m/m))	0,66
Entspricht den Anforderungen der Prüfungsvorschrift.	

Radix Valerianae cs

Valerianae radix

Baldrianwurzel, geschnitten

Chargennummer:	W 12203483
Identität	entspricht
Dünnschichtchromatographie	entspricht
Trocknungsverlust (< = 12 % (m/m))	11,2
Asche (< = 12 % (m/m))	4,7
Salzs.- unlösliche Asche (< = 5 % (m/m))	0,9
Ätherische Öle (> = 0,3 % (V/m))	0,36
Valerensäure (> = 0,10 % (m/m))	0,16
Entspricht den Anforderungen der Prüfungsvorschrift.	

Folium Hederae helicis cs

Hederae folium

Efeublatt, geschnitten

Chargennummer:	P 12302415
Identität	entspricht
Dünnschichtchromatographie	entspricht
Trocknungsverlust (< = 10 % (m/m))	8,5
Asche (< = 10 % (m/m))	6,1

Entspricht den Anforderungen der Prüfungsvorschrift.

Flos Trifolii rubri cs

Rotkleeblüten, geschnitten

Chargennummer:	P 12301921
Identität	entspricht
Asche (< = 9 % (m/m))	6,0

Entspricht den Anforderungen der Prüfungsvorschrift.

Flos Sambuci

Sambuci flos

Holunderblüten, gerebelt

Chargennummer:	W 12203520
----------------	------------

2.2 Extraktionsmethoden

2.2.1 Mazeration

Die Mazeration wurde gemäß dem ÖAB durchgeführt:

„ Die Mazeration ist eine bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommene einmalige Extraktion einer Droge von angegebenem Zerkleinerungsgrad. Die Droge wird mit der vorgeschriebenen Menge des Extraktionsmittels übergossen und in einem gut verschlossenen Gefäß an einem dem Sonnenlicht nicht unmittelbar ausgesetzten Ort unter öfterem Umschütteln bei Zimmertemperatur 6 Tage lang stehen gelassen. Hierauf wird koliert (filtriert) und der Rückstand ausgepresst; Kolatur (Filtrat) und Pressflüssigkeit sind zu vereinigen. Dann lässt man 3 Tage lang an einem kühlen Ort absetzen und filtriert schließlich unter weitgehender Vermeidung eines Verdunstungsverlustes. Der bei der Bereitung unvermeidliche Verlust an Flüssigkeit darf nicht durch Zusatz von reinem Extraktionsmittel zur Kolatur ergänzt werden [3]. “

Im EuAB ist die Herstellung durch Mazeration mit folgender Vorschrift angegeben:

„ Falls nicht anders vorgeschrieben ist, wird die zu extrahierende pflanzliche Droge oder das tierische Material in Stücke geeigneter Größe zerkleinert, gründlich mit der vorgeschriebenen Extraktionsflüssigkeit gemischt und in einem verschlossenen Gefäß eine angemessene Zeit lang stehen gelassen. Der Rückstand wird von der Extraktionsflüssigkeit abgetrennt und, falls erforderlich, ausgepresst. Im letzteren Fall werden die beiden erhaltenen Flüssigkeiten vereinigt [4]. “

Ansatzverhältnis der Mazeration:

20,0 g Droge wurden mit 100 g Ethanol 70% versetzt und gut durchmischt.



Abbildung 1: Braunglasgefäß für die Extraktion durch Mazeration

2.2.2 Perkolation

Die Perkolation wurde gemäß dem ÖAB durchgeführt:

„ Die Perkolation ist eine fortlaufende Extraktion einer Droge von angegebenem Zerkleinerungsgrad bei gewöhnlicher Temperatur. Zur Perkolation sind zylindrische oder nach unten schwach konisch zulaufende Gefäße (Perkolatoren) aus Glas, glasiertem Steingut oder einem anderen hierzu geeigneten Material, im Allgemeinen 0,5 l bis 10 l fassend, zu verwenden. Die Neigung der Seitenwände konischer Perkolatoren gegen die Vertikale soll höchstens 5° betragen. Die obere Öffnung soll gut verschließbar sein. Das untere Ende der Perkolatoren ist entweder zu einer Ausflussröhre mit eingeschmolzenem Glashahn verjüngt oder mittels eines festsitzenden Stopfens, in dem sich eine Glasröhre mit Glashahn befindet, abgeschlossen. Knapp über dem verjüngten Teil des Perkolators bzw. über dem Stopfen liegt eine Siebplatte, die mit einer Filtrierpapierscheibe bedeckt ist, um das Eindringen von Drogenteilchen in das Abflussrohr zu verhindern. Ist keine Siebplatte vorhanden, so wird an ihrer Stelle eine 1 cm hohe Watteschicht eingelegt. Die Größe des Perkolators muss der verwendeten Drogenmenge so angepasst werden, dass das Gefäß etwa zu drei Viertel mit Droge gefüllt ist.

Die Droge wird – nötigenfalls nach vorherigem Entfetten – mit so viel Extraktionsmittel gleichmäßig durchfeuchtet, dass eine krümelige Masse entsteht. Das Gemisch lässt man in einem gut verschlossenen Gefäß 12 Stunden lang stehen. Dann wird es in den Perkolator auf die als Unterlage dienende Siebplatte mit Filtrierpapier oder die Watteschicht unter leichtem Druck so gleichmäßig eingefüllt, dass nirgends größere Lufträume verbleiben. Auf die Droge breitet man eine Lage Filtrierpapier und gießt bei geöffnetem Hahn so viel Extraktionsmittel auf, dass der Inhalt des Perkolators mit einer Flüssigkeitsschicht (Flüssigkeitsmenge) von etwa 2–3 cm überdeckt ist und die Flüssigkeit eben abzutropfen beginnt. Nunmehr wird der Hahn geschlossen und der Perkolator zugedeckt bei Zimmertemperatur 24 Stunden lang stehen gelassen. Nach dieser Zeit lässt man den Auszug in der Weise abtropfen, dass je Minute etwa 1 ml (bei einer Drogenmenge von mehr als 5 kg 2–3 ml) abfließt. Dabei ist darauf zu achten, dass während der ganzen Dauer der Perkolation die Droge entweder durch Aufgießen oder durch eine automatische Einrichtung mit frischer Extraktionsflüssigkeit bedeckt bleibt. Ist der gesamte Auszug abgetropft, so wird der Rückstand ausgepresst und die Pressflüssigkeit, mit dem Perkolat vereinigt, an einem kühlen Ort 3 Tage lang absetzen gelassen und unter weitgehender Vermeidung eines Verdunstungsverlustes filtriert. Der bei der Bereitung unvermeidliche Verlust an Flüssigkeit darf nicht durch Zusatz von reinem Extraktionsmittel zur Kolatur (Filtrat) ergänzt werden [3]. “

Im EuAB ist die Herstellung durch Perkolation mit folgender Vorschrift angegeben:

„ Die zu extrahierende pflanzliche Droge oder das tierische Material wird, falls erforderlich, in Stücke geeigneter Größe zerkleinert und gründlich mit einem Anteil der vorgeschriebenen Extraktionsflüssigkeit gemischt. Die Mischung wird eine angemessene Zeit lang stehen gelassen und anschließend in einen Perkolator gefüllt. Das Perkolat wird bei Raumtemperatur so langsam abtropfen gelassen, dass die verbleibende Extraktionsflüssigkeit die zu extrahierende pflanzliche Droge oder das tierische Material stets bedeckt. Der Rückstand kann ausgepresst und die Pressflüssigkeit mit dem Perkolat vereinigt werden [4]. “

Ansatzverhältnis der Perkolation:

20,0 g Droge wurden mit insgesamt 100 g Ethanol 70% versetzt. Jedoch wurden die Drogen mit unterschiedlichen Mengen vorbefeuchtet.



Abbildung 2: Perkolator

2.2.3 Ultraschallextraktion

Die Extraktion am Ultraschallbad erfolgt mit Schallfrequenzen (25–1000 kHz). Aus mehreren Gründen, wie die Entstehung von Zersetzungsprodukten, die hohen Energiekosten und den ungeeigneten Einsatz für Großmaßstäbe, hat bis heute keine große Anwendung gefunden. Im Labormaßstab kann sie jedoch durch die kurzen Extraktionszeiten von 5-15 Minuten eingesetzt werden [5].

Daten vom Ultraschallbad: Firma Bandelin
SONOREX SUPER RK,
Frequenz: 35 KHz

Ansatzverhältnis der Ultraschallextraktion:

20,0 g Droge wurden mit 100 g Ethanol 70% versetzt und gut durchgemischt. Der bei der Extraktion verdunstete Alkohol wurde ersetzt. Das Gefäß wurde mit Parafilm verschlossen und für 30 Minuten stehen gelassen.



Abbildung 3: Ultraschallbad

2.2.4 Ultra-Turrax-Extraktion

Die Ultra-Turrax-Geräte werden in unterschiedlichen Größen angeboten. Im Großmaßstab können bis zu 10 000 l Flüssigkeit bearbeitet werden. Durch die Extraktion wird die Probe aufgesaugt und gelangt in eine Wirbelkammer. Dort wirken hochfrequente Scher-, Schlag- und Pralleffekte sowie hochfrequente, hydrodynamische Potentialgefälle und hochwirksame Turbulenzen ein [6].

Daten des Ultra-Turrax: Firma Kinematica AG
 Polytron PT 3000 Dispersing and Mixing Technology
 Geschwindigkeit: 7700 rpm

Ansatzverhältnis der Ultra-Turrax-Extraktion:

20,0 g Droge wurden mit 100 g Ethanol 70% versetzt und gut durchmischt. Der bei der Extraktion verdunstete Alkohol wurde ersetzt. Das Gefäß wurde mit Parafilm verschlossen und für 30 Minuten stehen gelassen.



Abbildung 4: Ultra-Turrax-Gerät

2.2.5 Turboextraktion (Wirbelextraktion)

Bei den Turboextraktoren handelt es sich um Mischgeräte (mit etwa 10 000 U/min), die mit Schlagmessern versehen sind. Durch das intensive Wirbeln der Droge und der Extraktionsflüssigkeit mit den Schlagmessern kommt es einerseits zu einer weiteren Zerkleinerung des Drogenmaterials und auch zu einer Beschleunigung der Lösungs- und Diffusionsvorgänge. Zu beachten ist, dass die Temperatur während der Extraktion 40 °C nicht überschreiten darf. Ebenfalls wird der Verlust von Flüssigkeit durch einen geeigneten Verschluss des Ansatzgefäßes ausgeschlossen [6].

Daten des Turbomixers: Firma Rotor Lips AG Maschinenfabrik
 Rotor GT 800
 Stufe 4

Am Turbomixer stehen 8 Stufen für die Geschwindigkeit bzw. die Umdrehungszahl zur Verfügung. Die Stufe 4 (mit ca. 8000 Umdrehungen pro Minute) wurde für die Extraktion verwendet.

Ansatzverhältnis der Turboextraktion:

20,0 g Droge wurden mit 100 g Ethanol 70% versetzt und gut durchmischt. Der bei der Extraktion verdunstete Alkohol wurde ersetzt. Das Gefäß wurde mit Parafilm verschlossen und für 30 Minuten stehen gelassen.



Abbildung 5: Turboextraktor

2.2.6 Teezubereitung

Die Teezubereitung ist eine wässrige Zubereitung, die (meist) mit heißem Wasser aus einer Species oder einer Einzeldroge hergestellt wird. Sie dient zum unmittelbaren Gebrauch [7].

Ansatzverhältnis der Tee-Proben:

2,0 g Droge wurden mit 150 ml heißem Wasser (entspricht einer Teetasse) versetzt, gut durchmischt und 10 Minuten ziehen gelassen [8].

2.3 Zerkleinerung der Arzneipflanzen

Alle Arzneipflanzen wurden mit der Ultrazentrifugalmühle Retsch 2M100 mit dem 12-Finger-Rotor und Siebnummer 1,5 bei 14 000 rpm zerkleinert. Danach erfolgte die Klassierung durch den Einsatz des Siebes mit der Siebnummer 710.

3. Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC)

Die Hochleistungs-Flüssigchromatographie (engl. **high performance liquid chromatography**) ist eine bestimmte Form der Säulenchromatographie und wird zur Identitäts-, Reinheitsprüfungen und Gehaltsbestimmungen eingesetzt. Sie wird vor allem für die Analyse schwerflüchtiger Substanzen, stark polarer oder ionischer Substanzen, Substanzen mit einem hohen Molekulargewicht oder thermolabilen Substanzen angewendet.

Die Trennleistung einer Säule hängt von der Partikelgröße und von der Partikelgrößenverteilung ab. Die Trennleistung ist umso besser, je kleiner und je gleichmäßiger die Teilchen geformt sind.

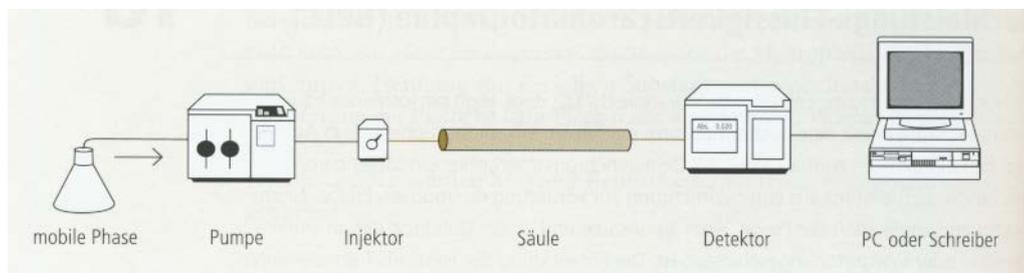


Abbildung 6: Aufbau einer HPLC Säulenchromatographie [9]

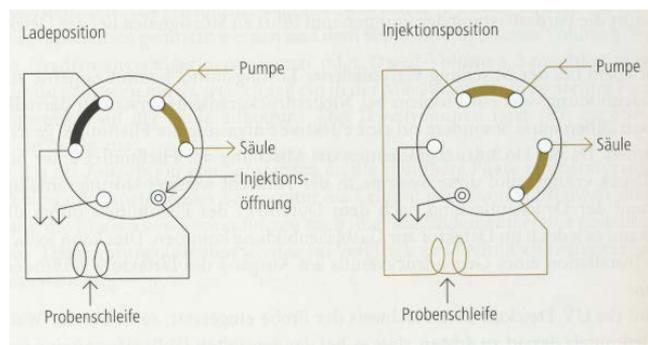


Abbildung 7: HPLC-Injektor (Probenaufgabeeventil) [10]

Abb. 6 stellt den Aufbau einer HPLC Säulenchromatographie dar:

- Vorrichtung zur Förderung der mobilen Phase: Welche mobile Phase man verwendet, hängt von der (zu bestimmenden) Substanzeigenschaft und von der stationären Phase ab.
- Die Pumpen sorgen für einen konstanten Fluss der mobilen Phase.

- Die Probe wird mittels Probenaufgabeventil injiziert; siehe Abb. 7
- Es gibt unterschiedlich große Trennsäulen, die mit unterschiedlichen Materialien gefüllt sein können.
- Der Detektor sollte eine hohe Selektivität und eine hohe Empfindlichkeit für die zu analysierenden Substanz haben; z.B.: UV-VIS-, Fluoreszenz-, Leitfähigkeitsdetektor, ...
- Die Steuerung des Gerätes und die Datenauswertung erfolgt mittels eines PC's.

Ebenso kann man während des chromatographischen Laufs die Fließmittelzusammensetzung verändern, um die unterschiedlichen Retentionszeiten von Substanzen zu verkürzen. Man spricht dann von einem Fließmittelgradienten. Fließmittelgradienten können durch mehrere Möglichkeiten erzeugt werden. Die Säulentemperatur kann ebenfalls gesteuert werden [11].

Die Quantifizierung von Substanzen erfolgt mittels externem oder internem Standard:

Um auf die in der Probe enthaltene Substanzmenge rückschließen zu können, werden Standards zugesetzt. Dadurch können Korrekturfaktoren ermittelt werden, mit denen sich durch die Peakflächen die entsprechenden Substanzmengen umrechnen lassen.

- Externer Standard: Da der Standard nicht zur Probe zugesetzt wird, wird er als externer Standard bezeichnet. Ein Standardkorrekturfaktor ist nicht nötig.
- Interner Standard: Eine bekannte Menge eines Standards wird der Probe zugesetzt. Im Chromatogramm erscheint er daher als einen zusätzlichen Peak. Die interne Standardmethode hat den Vorteil, dass Probenverluste oder Geräteschwankungen automatisch korrigiert werden. Jedoch ist die Wahl einer Substanz als internem Standard komplizierter [12].

Das HPLC-Chromatogramm erfasst die Intensität eines Detektorsignals in Abhängigkeit von der Zeit (siehe Abb. 9).

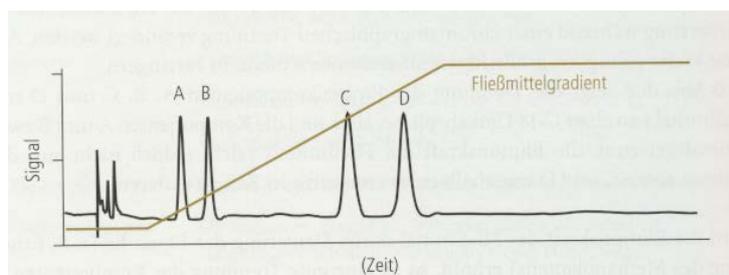


Abbildung 8: schematisches HPLC-Chromatogramm [13]

4. Droge-Extrakt-Verhältnis (DEV)

Das Droge-Extrakt-Verhältnis gibt an, wie viel Teile (eingesetzter) Droge einem Teil des (erhaltenen) Extraktes entsprechen. Das DEV schwankt von Charge zu Charge, da es von dem Extraktivstoffgehalt der Droge, dem Extraktionsmittel und von den Herstellungsverfahren abhängig ist. Im Allgemeinen wird es als Spanne angegeben.

z.B.: 4-6:1, d.h. 1 Teil Extrakt wird aus 4-6 Teilen Droge gewonnen.

Das DEV gibt an, ob die für die Extraktion eingesetzte Methode an einer bestimmten Droge, einen hohen oder einen geringen Gehalt an Inhaltsstoffen liefert. Denn je kleiner das Droge-Extrakt-Verhältnis, umso besser ist Extraktionsmethode [14].

Für die Bestimmung des DEV wurden eine entsprechende Menge Tinktur (bzw. Tee) in einem (zuvor genau gewogenem) 50-ml-Rundkolben unter vermindertem Druck am Rotavapor (Rotationsverdampfer) zur Trockene gebracht. Das Gewicht des Rückstandes (Trockenextrakt) wurde genau gewogen.

Das DEV kann nach folgender Formel berechnet werden:

$$\text{DEV} = \frac{\text{Droge [g]}}{\text{Trockenextrakt [g]}} = \frac{X}{1}$$

5. Vorversuche an Holunderblüten

Um die bestmögliche Extraktionszeit der Ultraschall-, Ultra-Turrax und Turboextraktion zu bestimmen, wurden Vorversuche an Holunderblüten durchgeführt. Die unterschiedlichen Extraktionszeiten waren:

- 2 Mal 3 Minuten mit 5 Minuten Pause
- 4 Mal 3 Minuten mit jeweils 5 Minuten Pause
- 1 Mal 12 Minuten
- 2 Mal 12 Minuten mit 5 Minuten Pause

Die Ultraschall- und Ultra-Turrax-Proben wurden in Erlenmeyerkolben extrahiert, wobei die Turboextraktions-Proben, nach der Extraktion mit dem Turbomixer, in Bechergläser übergeführt wurden.

Das Ansatzverhältnis der drei Methoden war immer 20 g Droge mit 100 g Ethanol 70 %. Nach der Extraktion wurde auf das ursprüngliche Gewicht mit Ethanol 70 % ergänzt. Das Gefäß wurde mit Parafilm verschlossen und eine halbe Stunde stehen gelassen. Danach wurde es nach der Gehaltsbestimmung des EuAB „Holunderblüten“ analysiert.

5.1 Holunderblüten nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [15]

Holunderblüten **6.0/1217**
Sambuci flos

Definition

Die getrockneten Blüten von *Sambucus nigra* L.

Gehalt: mindestens 0,80 Prozent Flavonoide, berechnet als Isoquercitrin und bezogen auf die getrocknete Droge.

Gehaltsbestimmung

Stammlösung: 0,600 g pulverisierte Droge (355) (2.9.12) werden in einem 100-ml-Rundkolben mit 1 ml einer Lösung von Methenamin *R* (5 g/l), 20 ml Aceton *R* und 2 ml Salzsäure *R* 1 versetzt und 30 min lang unter Rückflusskühlung erhitzt. Das Gemisch wird durch einen Wattebausch in einen Kolben filtriert. Die verwendete Watte wird zum Rückstand im Rundkolben gegeben und der Inhalt 2-mal 10 min lang mit je 20 ml Aceton

R unter Rückflusskühlung erhitzt. Die Auszüge werden nach dem Erkalten jeweils durch einen Wattebausch in den Kolben filtriert. Nach dem Abkühlen werden die vereinigten Acetonauszüge durch ein Papierfilter in einen 100-ml-Messkolben filtriert, der mit Aceton *R*, das zuvor zum Nachspülen von Kolben und Papierfilter dient, aufgefüllt wird. 20,0 ml Lösung werden in einem Scheidetrichter mit 20 ml Wasser *R* versetzt, 1-mal mit 15 ml und 3-mal mit je 10 ml Ethylacetat *R* ausgeschüttelt. Die in einem Scheidetrichter vereinigten Ethylacetat- Auszüge werden 2-mal mit je 50 ml Wasser *R* gewaschen, anschließend über wasserfreies Natriumsulfat *R* in einen Messkolben filtriert und mit Ethylacetat *R* zu 50,0 ml verdünnt.

Untersuchungslösung: 10,0 ml Stammlösung werden mit 1 ml Aluminiumchlorid-Reagenz *R* versetzt und mit einer 5-prozentigen Lösung (V/V) von Essigsäure 99 % *R* in Methanol *R* zu 25,0 ml verdünnt.

Kompensationsflüssigkeit: 10,0 ml Stammlösung werden mit einer 5-prozentigen Lösung (V/V) von Essigsäure 99 % *R* in Methanol *R* zu 25,0 ml verdünnt.

Nach 30 min wird die Absorption (2.2.25) der Untersuchungslösung bei 425 nm gegen die Kompensationsflüssigkeit gemessen.

Der Prozentgehalt an Flavonoiden wird als Prozentgehalt an Isoquercitrin nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{A * 1,25}{m}$$

Die spezifische Absorption $A^{1\%}_{1\text{cm}}$ von Isoquercitrin wird mit 500 angenommen.

A = Absorption bei 425 nm

m = Einwaage der Droge in Gramm

5.2 Vorgangsweise zur Gehaltsbestimmung nach den verschiedenen Extraktionen von Holunderblüten

3 g Tinktur, entsprechend 0,6 g Droge, wurden am Rotavapor zur Trockene gebracht und der Rückstand wurde gemäß der Vorschrift nach EuAB quantifiziert.

5.3 Ergebnisse der Extraktion von Holunderblüten

	Proben- nummer	Einwaage g Tinktur	Entspricht EW Droge	A	%
USB 2x3 min	1	3,0153	0,6031	0,0972	0,2015
	2	3,0128	0,6026	0,0842	0,1747
	3	3,0095	0,6019	0,1125	0,2336
Mittelwert					0,2033
%RSD					0,0295
USB 4x3 min	1	3,0197	0,6039	0,2670	0,5526
	2	3,0618	0,6124	0,3050	0,6226
	3	3,0123	0,6025	0,2334	0,4843
Mittelwert					0,5532
%RSD					0,0692
USB 1x12 min	1	3,0034	0,6007	0,2659	0,5533
	2	3,0793	0,6159	0,2623	0,5324
	3	3,1238	0,6248	0,2873	0,5748
Mittelwert					0,5535
%RSD					0,0212
USB 2x12 min	1	3,0107	0,6021	0,0718	0,1491
	2	3,0073	0,6015	0,0638	0,1326
	3	3,1793	0,6359	0,0888	0,1746
Mittelwert					0,1521
%RSD					0,0211

Tabelle 1: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Holunderblüten, Flavonoidgehalt (%), berechnet als Isoquercitrin

	Proben- nummer	Einwaage g Tinktur	Entspricht EW Droge	A	%
UT 2x3 min	1	3,0223	0,6045	0,3270	0,6762
	2	3,0179	0,6036	0,3208	0,6644
	3	3,0345	0,6069	0,3416	0,7036
Mittelwert					0,6814
%RSD					0,0201
UT 4x3 min	1	3,0117	0,6023	0,4001	0,8303
	2	3,0342	0,6068	0,4533	0,9337
	3	3,0013	0,6003	0,3529	0,7349
Mittelwert					0,8330
%RSD					0,0994
UT 1x12 min	1	3,0011	0,6002	0,3650	0,7601
	2	3,0618	0,6124	0,3844	0,7847
	3	3,0239	0,6048	0,3598	0,7437
Mittelwert					0,7628
%RSD					0,0206
UT 2x12 min	1	3,0380	0,6076	0,4128	0,8492
	2	3,0795	0,6159	0,4650	0,9438
	3	3,0012	0,6002	0,4013	0,8357
Mittelwert					0,8762
%RSD					0,0589

Tabelle 2: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Holunderblüten, Flavonoidgehalt (%), berechnet als Isoquercitrin

	Proben- nummer	Einwaage	EW auf 0,600 g	A	%
TE 2x3 min	1	3,0162	0,6032	0,3031	0,6281
	2	3,0257	0,6051	0,3216	0,6643
	3	3,0006	0,6001	0,2898	0,6036
Mittelwert					0,6320
%RSD					0,0305
TE 4x3 min	1	3,0328	0,6066	0,4410	0,9088
	2	3,0590	0,6118	0,4819	0,9846
	3	3,0059	0,6012	0,4058	0,8438
Mittelwert					0,9124
%RSD					0,0705
TE 1x12 min	1	3,1147	0,6229	0,4194	0,8416
	2	3,1188	0,6238	0,4266	0,8549
	3	3,1096	0,6219	0,4154	0,8349
Mittelwert					0,8438
%RSD					0,0102
TE 2x12 min	1	3,0323	0,6065	0,3979	0,8201
	2	3,0026	0,6005	0,3817	0,7945
	3	3,0146	0,6029	0,4122	0,8546
Mittelwert					0,8231
%RSD					0,0301

Tabelle 3: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Holunderblüten, Flavonoidgehalt (%), berechnet als Isoquercitrin

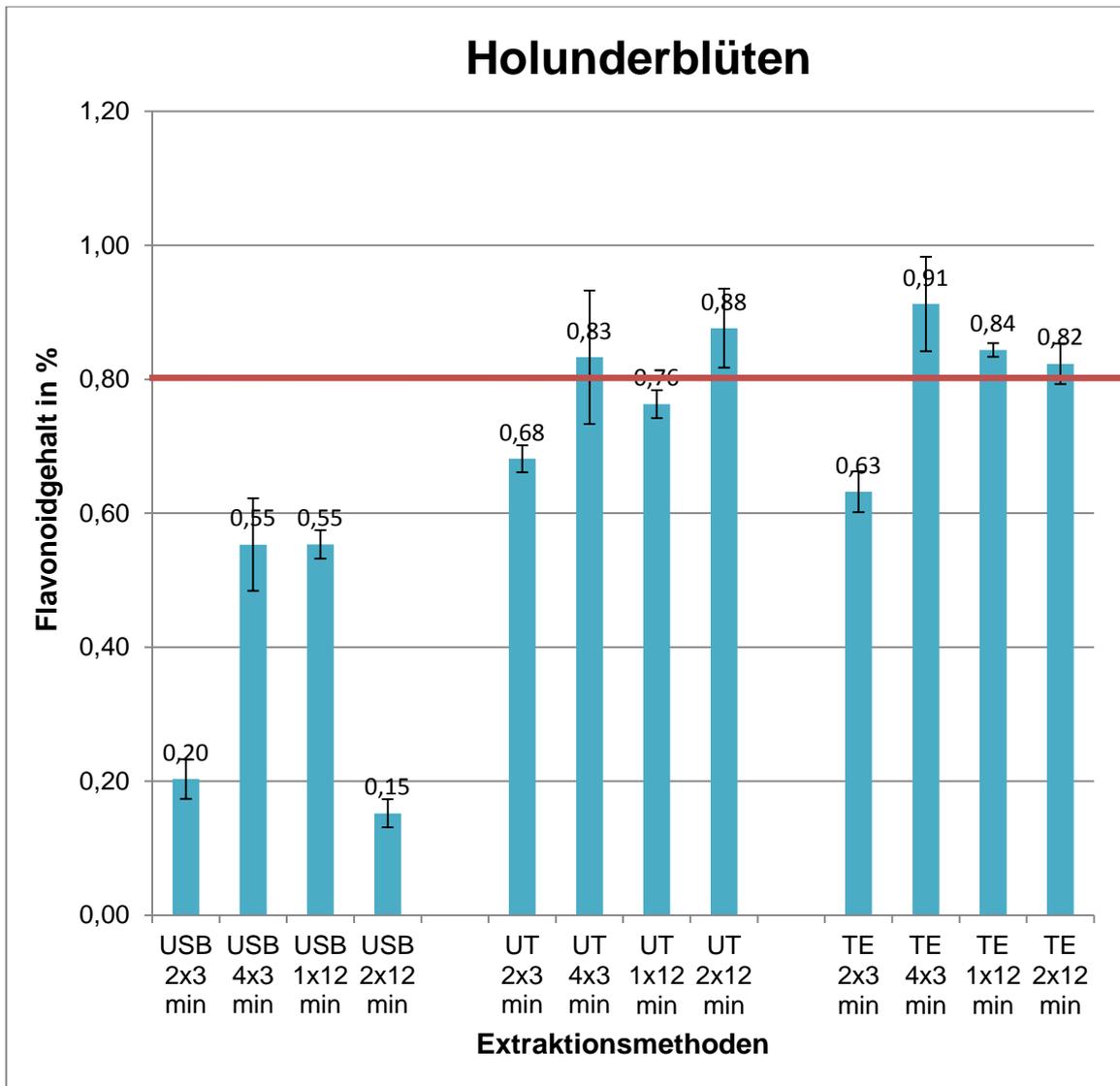


Diagramm 1: Ergebnisse der vergleichenden Extraktionsverfahren von Holunderblüten

Ultraschallbad	USB 2x3 min	USB 4x3 min	USB 1x12 min	USB 2x12 min
Mittelwert	0,203	0,553	0,554	0,152
%RSD	0,029524	0,069170	0,021223	0,021148
Ultra- Turrax	UT 2x3 min	UT 4x3 min	UT 1x12 min	UT 2x12 min
Mittelwert	0,681	0,833	0,763	0,876
%RSD	0,020111	0,099445	0,020634	0,058860
Turboextraktion	TE 2x3 min	TE 4x3 min	TE 1x12 min	TE 2x12 min
Mittelwert	0,632	0,912	0,844	0,823
%RSD	0,030531	0,070492	0,010174	0,030145

Tabelle 4: Ergebnisse der Flavonoidgehalte von Holunderblüten nach verschiedenen Extraktionen

5.4 Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Holunderblüten

Die Untersuchungen zum Vergleich der verschiedenen Extraktionsmethoden und -zeiten ergaben folgendes Ergebnis:

- Die Extraktionsmethoden mit 2-mal 3 Minuten hatten einen niedrigeren Flavonoidgehalt im Vergleich zu den anderen Extraktionszeiten.
- Ebenso zeigten die Ultraschall- Proben, unabhängig von der Extraktionszeit, die niedrigsten Werte. Laut EuAB wurde der Mindestgehalt von 0,80 % an Flavonoiden, berechnet als Isoquercitrin, hier nicht erreicht.
- Die Proben von 4-mal 3 Minuten hatten etwas höhere Werte als die von 1-mal 12 Minuten. Jedoch war die gesamte Arbeitszeit von 4-mal 3 Minuten, mit 27 Minuten (4x3 Minuten und 3x5 Minuten Pause), mehr als doppelt so lang, wie die Arbeitszeit von 1-mal 12 Minuten, mit 12 Minuten.

- Die Extraktionszeit von 2-mal 12 Minuten zeigte bei der Ultra-Turrax-Extraktion und bei der Turboextraktion ähnliche Werte wie bei 4-mal 3 Minuten und 1-mal 12 Minuten.
- Hingegen war der Flavonoidgehalt bei der Ultraschallextraktion mit 2-mal 12 Minuten am geringsten. Das könnte damit zu erklären sein, dass es durch die lange Extraktionszeit im Ultraschallbad zu einer Zerstörung der Inhaltsstoffe gekommen ist.

Somit wurde die Extraktionszeit von 1-mal 12 Minuten für Arnikablüten, Baldrianwurzel, Efeublätter und Rotkleeblüten festgelegt.

6. Arnikablüten

Stammpflanze: *Arnica montana* L. (Asteraceae)



Abbildung 9: Arnikablüten [29]

Die Hauptinhaltsstoffe sind Sesquiterpenlactone vom Pseudoguaianolid-Typ (Helenalinoide mit 0,3-1 %), die vor allem mit niedrigen Fettsäuren verestert sind. Flavonoide (0,4-0,6 %), ätherische Öl (0,2-0,3 %), Phenolcarbonsäuren und Cumarine kommen ebenfalls vor.

Sie wirken antiphlogistisch und antimikrobiell. Sie fördern auch die Wundheilung. Daher werden sie für die Behandlung von Unfallfolgen eingesetzt [16].

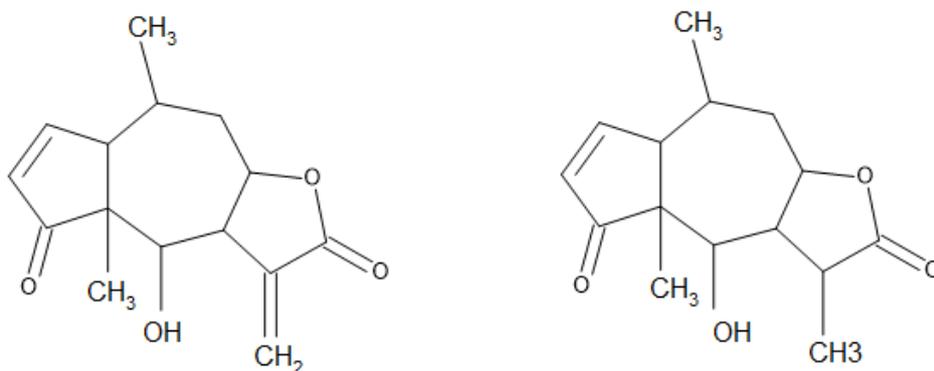


Abbildung 10: Strukturformeln des Helenalins (links) und des Dihydrohelenalins (rechts)

6.1 Arnikablüten nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [17]

Arnikablüten

6.0/1391

Arnicae flos

Definition

Die ganzen oder teilweise zerfallenen, getrockneten Blütenstände von *Arnica montana* L.

Gehalt: mindestens 0,40 Prozent (m/m) Gesamtsesquiterpenlactone, berechnet als Dihydrohelenalintiglat (getrocknete Droge).

Gehaltsbestimmung

Flüssigchromatographie (2.2.29)

Interner-Standard-Lösung: Unmittelbar vor der Verwendung werden 10 mg Santonin CRS, genau gewogen, in 10,0 ml Methanol R gelöst.

Untersuchungslösung: In einem 250 ml Rundkolben wird 1,00 g pulverisierte Droge (355) (2.9.12) mit 50 ml einer Mischung gleicher Volumenteile Methanol R und Wasser R unter häufigem Schütteln 30 min lang im Wasserbad von 50 bis 60 °C unter Rückflusskühlung erhitzt. Nach dem Erkalten wird die Mischung durch ein Papierfilter filtriert. Das Papierfilter wird in Stücke geschnitten und zum Rückstand im Rundkolben gegeben. Nach erneutem Zusatz von 50 ml einer Mischung gleicher Volumenteile Methanol R und Wasser R wird die Mischung wieder 30 min lang unter häufigem Schütteln im Wasserbad von 50 bis 60 °C unter Rückflusskühlung erhitzt. Der Vorgang wird 2-mal wiederholt. Die vereinigten Filtrate werden mit 3,00 ml Interner- Standard-Lösung versetzt und unter vermindertem Druck auf 18 ml eingengt. Der Rundkolben wird mit etwas Wasser R ausgespült und die eingengten Filtrate werden mit der Waschflüssigkeit zu 20,0 ml verdünnt. Die Lösung wird auf eine Chromatographiesäule von etwa 0,15 m Länge und etwa 30 mm innerem Durchmesser, gepackt mit 15 g Kieselgur- Filtrierhilfsmittel R, aufgebracht, 20 min lang stehen gelassen und mit 200 ml einer Mischung gleicher Volumenteile Dichlormethan R und Ethylacetat R eluiert. Das Eluat wird in einem 250 ml Rundkolben zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 10,0 ml Methanol R gelöst und die Lösung mit 10,0 ml Wasser R versetzt. Nach Zusatz von 7,0 g neutralem Aluminiumoxid R wird die Mischung 120 s lang geschüttelt, 10 min lang bei 5000 g zentrifugiert und durch ein Papierfilter filtriert. 10,0 ml Filtrat werden zur

Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 3,0 ml einer Mischung gleicher Volumenteile Methanol *R* und Wasser *R* gelöst und die Lösung filtriert.

Säule

- Größe: $l = 0,12 \text{ m}$, $\varnothing = 4 \text{ mm}$
- Stationäre Phase: octadecylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie *R* (5 μm)

Mobile Phase

- Mobile Phase A: Wasser *R*
- Mobile Phase B: Methanol *R*

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase B (%V/V)
0-3	62	38
3-20	62 → 55	38 → 45
20-30	55	45
30-55	55 → 45	45 → 55
55-57	45 → 0	55 → 100
57-70	0	100
70-90	62	38

Durchflussrate: 1,2 ml/min

Detektion: Spektrometer bei 225 nm

Einspritzen: 20 μl

Der Prozentgehalt an Gesamtsesquiterpenlactonen wird als Dihydrohelenalintiglat nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{F_{LS} * C * V * 1,187 * 100}{F_S * m * 1000}$$

F_{LS} = Summe aller Peakflächen, die den Sesquiterpenlactonen entsprechen und nach dem Santonin- Peak im Chromatogramm der Untersuchungslösung auftreten

F_S = Peakfläche, die dem Santonin im Chromatogramm der Untersuchungslösung entspricht

m = Einwaage der Droge in Gramm

C = Konzentration des Santonins in der Interner-Standard-Lösung, die für die Untersuchungslösung verwendet worden ist, in Milligramm je Milliliter

V = Volumen der Interner-Standard-Lösung, die für die Untersuchungslösung verwendet worden ist, in Millilitern

1,187 = Standardkorrekturfaktor zwischen dem Dihydrohelenalintiglat und Santonin

6.2 Arnikatinktur nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [18]

Arnikatinktur

6.0/1809

Arnicae tinctura

Definition

Die aus Arnikablüten (*Arnicae flos*) hergestellte Tinktur

Gehalt: mindestens 0,04 Prozent Sesquiterpenlactone, berechnet als Dihydrohelenalintiglat

Gehaltsbestimmung

Flüssigchromatographie (2.2.29)

Interner-Standard-Lösung: Unmittelbar vor der Verwendung werden 0,010 g Santonin *R*, genau gewogen, und 0,02 g Butyl-4-hydroxybenzoat *R* in 10,0 ml Methanol *R* gelöst.

Untersuchungslösung: In einem Rundkolben werden 5,00 g Tinktur mit 2,00 ml Interner-Standard-Lösung und 3 g wasserfreiem Aluminiumoxid *R* versetzt. Die Mischung wird 120 s lang geschüttelt und durch ein Papierfilter filtriert. Der Rundkolben und das Filter werden mit 5 ml einer Mischung gleicher Volumenteile Methanol *R* und Wasser *R* gewaschen. Die Waschflüssigkeit wird filtriert. Die vereinigten Filtrate werden zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird in 2,0 ml einer Mischung von 20 Volumenteilen Wasser *R* und 80 Volumenteilen Methanol *R* gelöst. Die Lösung wird durch ein Membranfilter (durchschnittliche Porengröße: 0,45 µm) filtriert.

Referenzlösung: 0,02 g Methyl-4-hydroxybenzoat *R* und 0,02 g Ethyl-4-hydroxybenzoat *R* werden in Methanol *R* zu 10,0 ml gelöst.

Säule

- Größe: $l = 0,12 \text{ m}$, $\varnothing = 4 \text{ mm}$
- Stationäre Phase: nachsilanisierendes, octadecylsilyliertes Kieselgel zu Chromatographie *R* (5 µm)
- Temperatur: 20 °C

Mobile Phase

- Mobile Phase A: Wasser R
- Mobile Phase B: Methanol R

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase B (% V/V)
0-3	62	28
3-20	62 → 55	38 → 45
20-30	55	45
30-55	55 → 45	45 → 55

Durchflussrate: 1,2 ml/min

Detektion: Spektrometer bei 225 nm

Einspritzen: 20 µl

Relative Retention (bezogen auf Santonin, t_R etwa 9,5 min)

- Butyl-4-hydroxybenzoat: etwa 4,6

Eignungsprüfung: Referenzlösung

- Auflösung: mindestens 5 zwischen den Peaks von Methyl-4-hydroxybenzoat und Ethyl-4-hydroxybenzoat

Der Prozentgehalt an Sesquiterpenlactonen wird als Dihydrohelenalintiglat nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{F_1 * C * V * 1,187}{F_2 * m * 10}$$

F_1 = Fläche aller Peaks, die im Chromatogramm der Untersuchungslösung zwischen dem Santonin- Peak und dem Butyl-4-hydroxybenzoat- Peak auftreten

F_2 = Fläche des Santonin- Peaks im Chromatogramm der Untersuchungslösung

m = Einwaage der Tinktur in Gramm

C = Konzentration von Santonin in der Interner- Standard- Lösung, die für die Untersuchungslösung verwendet wurde, in Milligramm je Milliliter

V = Volumen der Interner- Standard- Lösung, das für die Untersuchungslösung verwendet wurde, in Millilitern

1,187 = Standardkorrekturfaktor zwischen dem Dihydrohelenalintiglat- Peak und dem Santonin- Peak

6.3 Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Arnikablüten

- Vorgangsweise der Ultraschall-, Ultra-Turrax- und Turboextraktions-Proben:
Siehe 2.2.3 Ultraschallextraktion, 2.2.4 Ultra-Turrax-Extraktion, 2.2.5 Turboextraktion

- Vorgangsweise der Mazerations-Proben: siehe 2.2.1 Mazeration

- Vorgangsweise der Perkulations-Proben:
20,0 g Arnikablüten werden mit 40 g Ethanol 70% vorbefeuchtet. Für die Perkulation wurden noch zusätzliche 60 g dazugegeben (insgesamt 100 g Ethanol 70% verbraucht). Die Vorgangsweise ist in Punkt 2.2.2 Perkulation beschrieben.

- Vorgangsweise der Tee-Proben: siehe 2.2.6 Tee

Für die Gehaltsbestimmung der Ultraschall-, Ultra-Turrax-, Turboextraktions-, Mazerations- und Perkulations- Tinkturen sowie des Arnika- Tees wurde die Gehaltsbestimmung der Arnikatinktur nach dem EuAB durchgeführt. Parallel dazu wurde auch die Droge (Arnikablüten) gemäß der EuAB Vorschrift für Arnikablüten quantifiziert.

6.4 Modifikation der HPLC-Bestimmung

Nachdem die im EuAB zur HPLC Bestimmung vorgegebene Säule (Kieselgel RP-18e, 250 x 4 mm) nicht vorrätig war, wurde eine ähnliche Trennsäule ausprobiert (Acclaim 120 C18-Säule, 3 µm, 150 x 2,1 mm). Der gleiche Gradient wie im Arzneibuch wurde eingehalten, allerdings ein Fluss von 0,4 ml/min bei einem Einspritzvolumen von 5 µl.

Mit diesen Parametern wurde folgendes Chromatogramm erhalten:

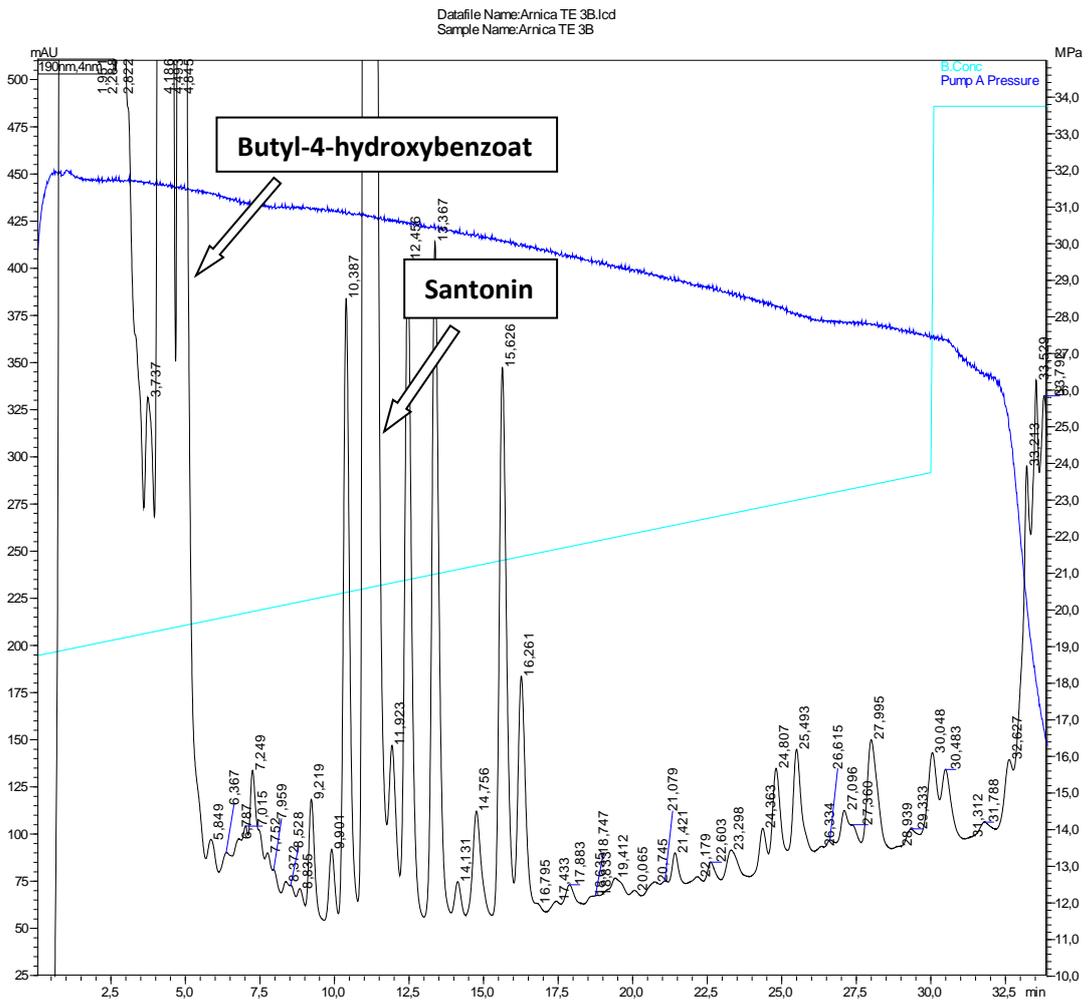


Abbildung 11: Chromatogramm von Arnikablüten

7. Baldrianwurzel

Stammpflanze: *Valeriana officinalis* L. s.l. (Caprifoliaceae)



Abbildung 12: Baldrianwurzel [31]

Die Baldrianwurzel enthält ätherisches Öl (0,3-0,7 %), bestehend aus Monoterpenen (z.B. Borneol und Bornylester, Camphen, Campher, 1,8-Cineol, p- Cymen, Myrcen) und Sesquiterpenen (z. B. L-Bisabolol, Valeranon, Valerenal, Valerenol und Valerenolester). Ebenso kommen schwer flüchtige Sesquiterpensäuren (Acetoxyvalerensäure, Valerensäure sowie Hydroxyvalerensäure) vor. Bis zu 2% können Valepotriate vorliegen (diese sind instabile Verbindungen, die in Baldrinale zersetzt werden). Es kommen auch andere Inhaltsstoffe wie Alkaloide, Phenolcarbonsäuren u.a. vor.

Die Baldrianwurzel wirkt beruhigend, spasmolytisch, muskelrelaxierend und konzentrationsfördernd. Ebenso kann die Einschlafzeit verkürzt werden. Die Schlafqualität, das Durchschlafen und die Tagesbefindlichkeit werden verbessert [19].

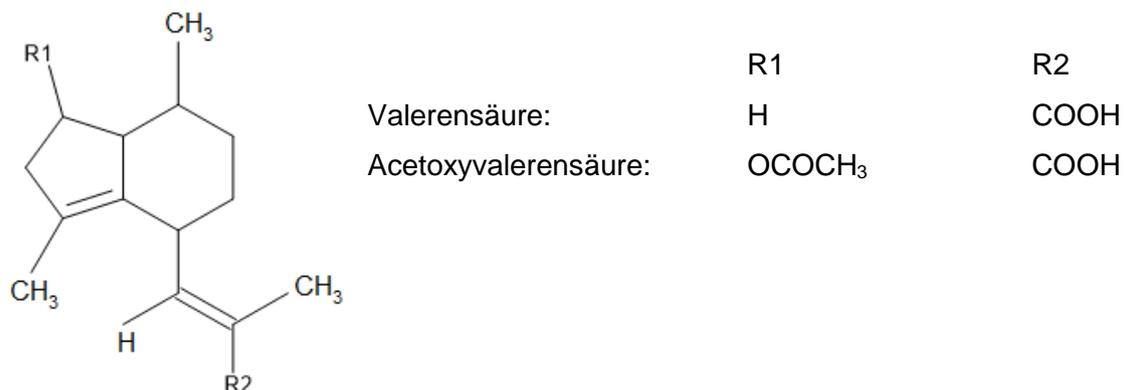


Abbildung 13: Strukturformeln (Valerensäure und Acetoxyvalerensäure)

7.1 Baldrianwurzel nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [20]

Baldrianwurzel

5.0/0453

Valerianae radix

Definition

Baldrianwurzel besteht aus den getrockneten, ganzen oder geschnittenen unterirdischen Teilen von *Valeriana officinalis* L. s.l.. Die Droge umfasst den Wurzelstock, die Wurzeln sowie den Ausläufer. Die ganze Droge enthält mind. 5 ml/kg, die geschnittene mind. 3 ml/kg ätherisches Öl. Die Droge enthält mind. 0,17 Prozent Sesquiterpensäuren, berechnet als Valerensäure. Alle Angaben sind auf die getrocknete Droge bezogen.

Gehaltsbestimmung

Ätherisches Öl: Die Bestimmung erfolgt nach „Gehaltsbestimmung des ätherischen Öls in Drogen“ (2.8.12) unter Verwendung von 40,0 g frisch pulverisierter Droge (500), einem 2000-ml-Rundkolben, 500 ml Wasser *R* als Destillationsflüssigkeit und 0,50 ml Xylol *R* als Vorlage. Die Destillation erfolgt 4 h lang mit einer Geschwindigkeit von 3 bis 4 ml je Minute.

Sesquiterpensäuren: Die Bestimmung erfolgt mit Hilfe der Flüssigchromatographie (2.2.29)

Untersuchungslösung:

1,50 g pulverisierte Droge (710) werden in einem 100 ml Rundkolben mit Schliff mit 20 ml wasserfreiem Methanol *R* gemischt. Die Mischung wird 30 min lang auf dem Wasserbad unter Rückflusskühlung erhitzt. Nach dem Erkalten wird abfiltriert. Das Filter mit dem Rückstand wird in den verwendeten 100-ml-Rundkolben gegeben, mit 20 ml wasserfreiem Methanol *R* versetzt und die Mischung 15 min lang auf dem Wasserbad unter Rückflusskühlung erhitzt. Nach dem Erkalten wird abfiltriert. Die Filtrate werden vereinigt und mit wasserfreiem Methanol *R*, das auch zum Spülen von Rundkolben und Filter verwendet wird, zu 50,0 ml verdünnt.

Referenzlösung: Die Lösung wird unmittelbar vor Gebrauch hergestellt und vor hellem Licht geschützt.

30 mg Dantron *R* werden in wasserfreiem Methanol *R* zu 100,0 ml gelöst. 5,0 ml Lösung werden mit wasserfreiem Methanol *R* zu 50,0 ml verdünnt.

Die Chromatographie kann durchgeführt werden mit

- Einer Säule aus rostfreiem Stahl von 0,25 m Länge und 4 mm innerem Durchmesser, gepackt mit octadecylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie R (5 µm)
- Folgender Mischung der mobilen Phase A und B bei einer Durchflussrate von 1,5 ml je Minute:

Mobile Phase A: eine Mischung von 20 Volumenteilen Acetonitril R und 80 Volumenteilen einer Lösung von Phosphorsäure 85 % R (5 g/l)

Mobile Phase B: eine Mischung von 80 Volumenteilen Acetonitril R und 20 Volumenteilen einer Lösung von Phosphorsäure 85 % R (5 g/l)

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase B (%V/V)
0-5	55	45
5-18	55 → 20	45 → 80
18-20	20	80
20-22	20 → 55	80 → 45

- Einem Spektrometer als Detektor bei einer Wellenlänge von 220 nm
- Einer 20-µl- Probenschleife.

Untersuchungslösung und Referenzlösung werden eingespritzt. Werden die Chromatogramme unter den vorgeschriebenen Bedingungen aufgezeichnet, betragen die relativen Retentionen, bezogen auf Dantron, für Acetoxyvalerensäure etwa 0,7 und für Valerensäure etwa 1,2.

Der Prozentgehalt an Acetoxyvalerensäure wird nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{A2 * m1 * 11,51}{A1 * m2}$$

Der Prozentgehalt an Valerensäure errechnet sich nach der Formel:

$$\frac{A3 * m1 * 8,09}{A1 * m2}$$

Der Prozentgehalt der Summe beider Sesquiterpensäuren errechnet sich nach der Formel:

$$\frac{\left[\frac{A2 * 11,51}{A1} + \frac{A3 * 8,09}{A1} \right] * m1}{m2}$$

- A1 = Peakfläche des Dantrons im Chromatogramm der Referenzlösung
A2 = Peakfläche der Acetoxyvalerensäure im Chromatogramm der Untersuchungslösung
A3 = Peakfläche der Valerensäure im Chromatogramm der Untersuchungslösung
m1 = Einwaage des Dantrons zur Herstellung der Referenzlösung in Gramm
m2 = Einwaage der Droge in Gramm

7.2 Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Baldrianwurzel

- Vorgangsweise der Ultraschall-, Ultra-Turrax- und Turboextraktions-Proben:
Siehe 2.2.3 Ultraschallextraktion, 2.2.4 Ultra-Turrax-Extraktion, 2.2.5 Turboextraktion

- Vorgangsweise der Mazerations-Proben: siehe 2.2.1 Mazeration

- Vorgangsweise der Perkulations-Proben:
20,0 g Baldrianwurzel werden mit 20 g Ethanol 70% vorbefeuchtet. Für die Perkulation wurden noch zusätzliche 80 g dazugegeben (insgesamt 100 g Ethanol 70% verbraucht). Die Vorgangsweise ist in Punkt 2.2.2 Perkulation beschrieben.

- Vorgangsweise der Tee-Proben: siehe 2.2.6 Tee

Für die Gehaltsbestimmung der Ultraschall-, Ultra-Turrax-, Turboextraktions-, Mazerations- und Perkulations- Tinkturen sowie des Baldrian- Tees wurde Folgendes durchgeführt:

1 ml der Lösung wurde mit Methanol 1:10 verdünnt, um auf etwa die gleichen Konzentrationen wie die Arzneibuch-Vorschrift zu kommen. Davon wurde 1 ml mit 1 ml der Standardlösung (Dantron) versetzt und gemischt. Etwa 1 ml wurde in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß übergeführt und vor der HPLC- Analyse 10 min bei ca. 13 000 U/min zentrifugiert.

Lösung interner Standard:

30 mg Dantron *R* wurden in wasserfreiem Methanol zu 100,0 ml gelöst. 5,0 ml Lösung wurden mit wasserfreiem Methanol *R* zu 50,0 ml verdünnt.

Die HPLC- Parameter für die Analyse wurden von der Arbeitsvorschrift für das Praktikum „Gewinnung und instrumentelle Analytik biogener Arzneimittel“ [21] entnommen:

Stationäre Phase: Acclaim 120 C18 (3µm, 150 x 2,1 mm)

Mobile Phase

- Mobile Phase A: wässrige Phosphorsäure *R* (pH = 3)
- Mobile Phase B: Acetonitril *R*

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase B (%V/V)
0.00	32	68
0.60	5	95
5.00	5	95

Durchflussrate: 0,5 ml/min

Detektion: UV bei 220 nm

Einspritzen: 5 µl

Referenz: Vergleichschromatogramm

t_R Dantron etwa 14,8 min

t_R Acetoxyvalerensäure etwa 10,3 min

t_R Valerensäure etwa 18,3 min

Die relativen Retentionen, bezogen auf Dantron, betragen für Acetoxyvalerensäure etwa 0,7 und für Valerensäure etwa 1,2.

Auswertung:

Der Prozentgehalt von Acetoxyvalerensäure errechnet sich nach der Formel:

$$\frac{A2 * m1 * 11,51}{A1 * m2}$$

Der Prozentgehalt von Valerensäure errechnet sich nach der Formel:

$$\frac{A3 * m1 * 8,09}{A1 * m2}$$

A1 ... Peakfläche des Dantrons im Chromatogramm

A2 ... Peakfläche der Acetoxyvalerensäure im Chromatogramm

A3 ... Peakfläche der Valerensäure im Chromatogramm

m1 ... Einwaage des Dantrons zur Herstellung der Referenzlösung in Gramm

m2 ... Einwaage der Droge in Gramm

Damit man die Formel des Arzneibuches verwenden kann bzw. auf den Prozentgehalt der Valerensäuren in der Droge rückschließen kann, muss das Ergebnis mit 23,4 multipliziert werden.

EuAB:	1,5 g ...	50 ml ...	$\frac{EW}{50}$	}	$\frac{117}{50} = 2,34$
Vorgangsweise:	20 g ...	100 g (~ 117 ml)	$\frac{EW}{117}$		

Durch die Verdünnung von 1:10 mit Methanol *R* wurde mit 10 multipliziert. Somit wurden alle Ergebnisse (mit Ausnahme: Tee- und Arzneibuch-Proben) mit 23,4 multipliziert.

Für den Tee hingegen muss mit den Faktor 3 multipliziert werden.

EuAB:	1,5 g ...	50 ml ...	$\frac{EW}{50}$	}	$\frac{150}{50} = 3$
Vorgangsweise Tee:	2,0 g ...	150 ml	$\frac{EW}{150}$		

Folgendes Chromatogramm wurde mit diesen Parametern erhalten:

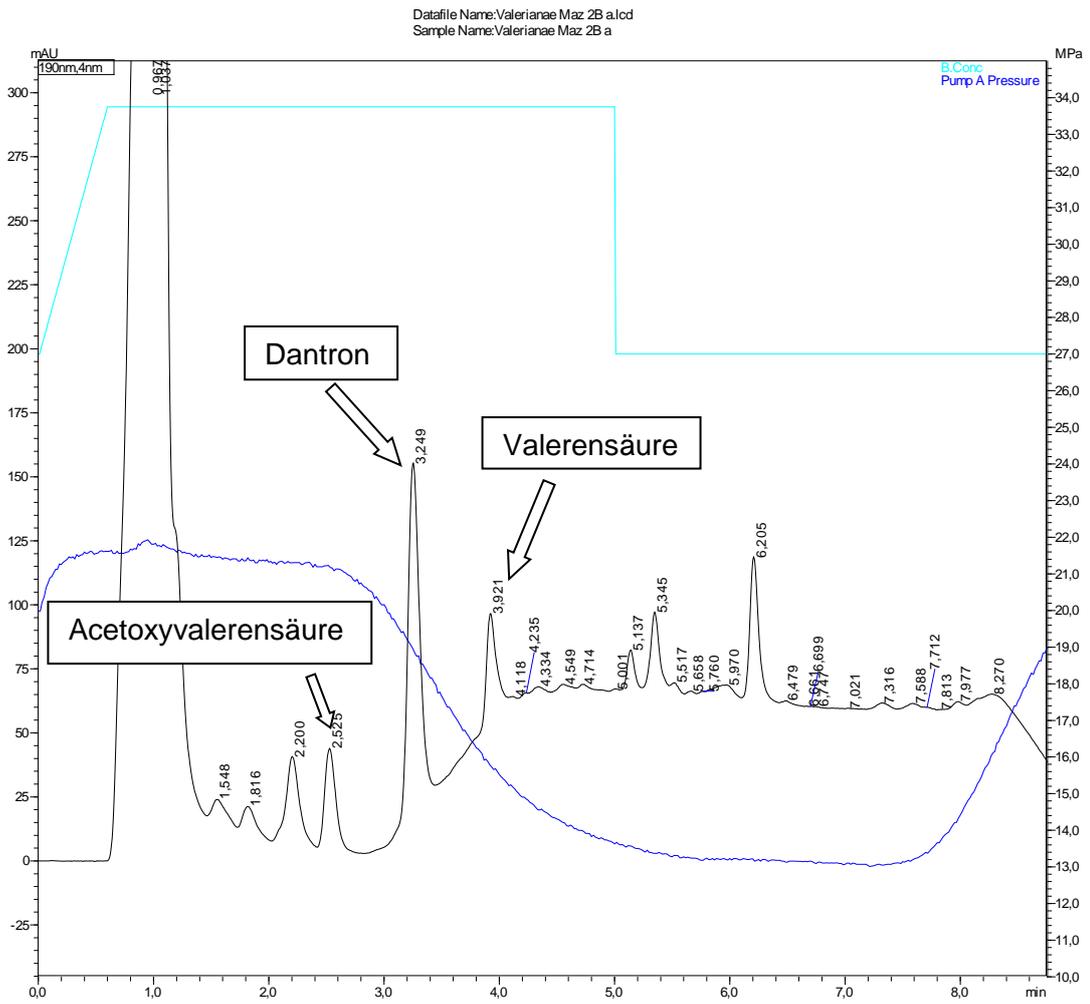


Abbildung 14: Chromatogramm von Baldrianwurzel

8. Efeublätter

Stammpflanze: *Hedera helix* L. (Araliaceae)



Abbildung 15: Efeublätter [33]

Efeublätter enthalten vorwiegend (2-6%) Triterpensaponine. Hauptsaponin ist das Hederasaponin C. (auch als Hederacosid C. bezeichnet). Weiters kommen auch Phenolcarbonsäuren (Dicaffeoylchinasäure u.a.), Polyacetylene, Flavonoide, (z. B. Rutosid) und ätherisches Öl vor.

Sie wirken vor allem spasmolytisch, antitussiv und expektorierend [22].

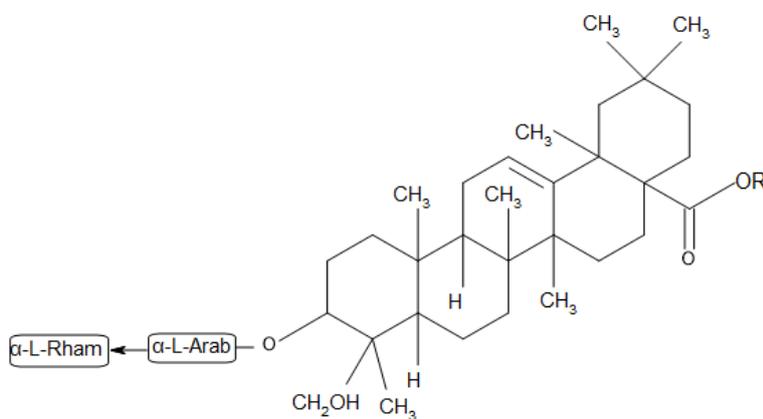


Abbildung 16: Strukturformel von Hederacosid C

(R= 1-β-D-Gluc 6 1-β-D-Gluc 4 α-L-Rham)

8.1 Efeublätter nach dem EuAB (Auszug aus der Monographie) [23]

Efeublätter

6.0/2148

Hederae folium

Definition

Die im Frühjahr geernteten, getrockneten, ganzen oder geschnittenen Blätter von *Hederae helix* L.

Gehalt: mindestens 3,0 Prozent Hederacosid C, bezogen auf die getrocknete Droge

Gehaltsbestimmung

Flüssigchromatographie (2.2.29)

Untersuchungslösung: 1,00 g pulverisierte Droge (355) wird in einem 250 ml Rundkolben mit 50 ml einer Mischung von 20 Volumenteilen Wasser *R* und 80 Volumenteilen Methanol *R* versetzt. Die Mischung wird 1 h lang im Wasserbad von 80 °C unter Rückflusskühlung erhitzt, anschließend abgekühlt und durch einen Wattebausch in einen 100 ml Messkolben filtriert. Der Wattebausch und der Rückstand werden 30 min lang mit 30 ml einer Mischung von 20 Volumenteilen Wasser *R* und 80 Volumenteilen Methanol *R* unter Rückflusskühlung extrahiert. Dieser Ansatz wird filtriert. Die Filtrate werden vereinigt. Der Rundkolben und der Wattebausch werden mit einer Mischung von 20 Volumenteilen Wasser *R* und 80 Volumenteilen Methanol *R* gewaschen und die vereinigten Filtrate im Messkolben mit der Waschflüssigkeit zu 100,0 ml verdünnt. Vor der Verwendung wird die Untersuchungslösung durch eine geeignete Membran filtriert.

Referenzlösung: 12,0 mg Hederacosid C *R* werden in 25,0 ml Methanol *R* gelöst

Säule

- Größe: $l = 0,125$ m, $\varnothing = 4$ mm
- Stationäre Phase: geeignetes octadecylsilyliertes Kieselgel zu Chromatographie *R* (5 μ m)

Mobile Phase

- Mobile Phase A: eine Mischung von Acetonitril *R* und Wasser *R* (140:880 V/V) werden gemischt, das zuvor mit Phosphorsäure 85 % *R* auf einen pH- Wert von 2,0 eingestellt wurde.
- Mobile Phase B: Phosphorsäure 85 % *R*, Acetonitril *R* (2:998 V/V)

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase B (% V/V)
0-5	100	0
5-6	100 → 94	0 → 6
6-40	94 → 60	6 → 40
40-41	60 → 0	40 → 100
41-55	0	100
55-57	0 → 94	100 → 6
56-70	94	6

Durchflussrate: 1,5 ml/min

Detektion: Spektrometer bei 205 nm

Einspritzen: 20 µl

Eignungsprüfung:

- Retentionszeit: Hederacosid C etwa 20 min

Falls erforderlich werden die Zeitintervalle des Gradientenprogramms geändert.

Die Referenzlösung wird eingespritzt. Lage und Fläche des Hederacosid-C-Peaks werden registriert.

Die Untersuchungslösung wird eingespritzt. Die Fläche des Hederacosid-C-Peaks wird bestimmt.

Der Prozentgehalt an Hederacosid C, bezogen auf die getrocknete Droge, wird nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{F1 * p1 * m2 * 400}{F2 * m1 * (100 - d)}$$

F1 = Fläche des Hederacosid-C-Peaks im Chromatogramm der Untersuchungslösung

F2 = Fläche des Hederacosid-C-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung

d = Trocknungsverlust in Prozent

m1 = Einwaage der Droge in Gramm

m2 = Masse von Hederacosid C R in Gramm

p1 = Reinheit von Hederacosid C R in Prozent

8.2 Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Efeublättern

- Vorgangsweise der Ultraschall-, Ultra-Turrax- und Turboextraktions-Proben:
Siehe 2.2.3 Ultraschallextraktion, 2.2.4 Ultra-Turrax-Extraktion, 2.2.5 Turboextraktion
- Vorgangsweise der Mazerations-Proben: siehe 2.2.1 Mazeration
- Vorgangsweise der Perkulations-Proben:
20,0 g Efeublätter wurden mit 25 g Ethanol 70% vorbefeuchtet. Für die Perkulation wurden noch zusätzliche 75 g dazugegeben (insgesamt 100 g Ethanol 70% verbraucht). Die Vorgangsweise ist in Punkt 2.2.2 Perkulation beschrieben.
- Vorgangsweise der Tee-Proben: siehe 2.2.6 Tee

Für die Gehaltsbestimmung der Ultraschall-, Ultra-Turrax-, Turboextraktions-, Mazerations- und Perkulations- Tinkturen sowie des Efeu- Tees wurde Folgendes durchgeführt:

Etwa 1 ml wurde in ein Eppendorf- Reaktionsgefäß übergeführt und vor der HPLC-Analyse 10 min bei ca. 13 000 U/min zentrifugiert.

Lösung externer Standard:

5 mg Hederacosid C werden in 10,0 ml Methanol *R* gelöst.

Die HPLC- Parameter für die Analyse wurden von der Arbeitsvorschrift für das Praktikum „Gewinnung und instrumentelle Analytik biogener Arzneimittel“ [24] entnommen:

Stationäre Phase: Acclaim 120 C18 (3µm, 150 x 2,1 mm)

Mobile Phase

- Mobile Phase A: wässrige Phosphorsäure *R* (pH = 3)
- Mobile Phase B: Acetonitril *R*

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase B (%V/V)
0.00	71	29
4.00	64	36
4.10	5	95
9.00	5	95

Durchflussrate: 0,52 ml/min

Detektion: UV 205 nm

Einspritzen: 5 µl

Referenz: Vergleichschromatogramm
 t_R Hederacosid C etwa 11,0 min

Auswertung:

$$\% = \frac{\text{Standard[g]} * \text{Peakfläche Analyt} * 100}{\text{Peakfläche Standard} * \text{Droge [g]}}$$

Folgendes Chromatogramm wurde mit diesen Parametern erhalten:

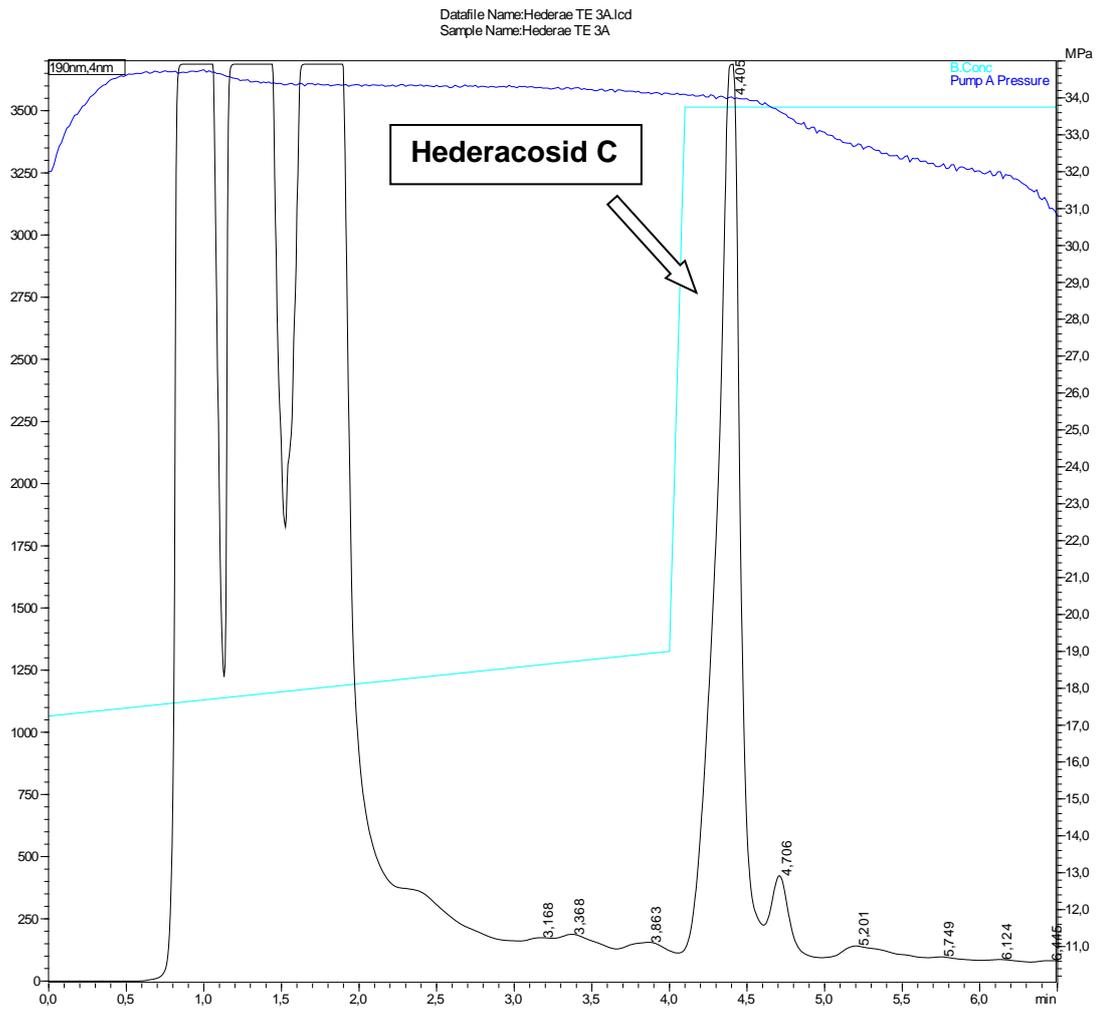


Abbildung 17: Chromatogramm von Efeublättern

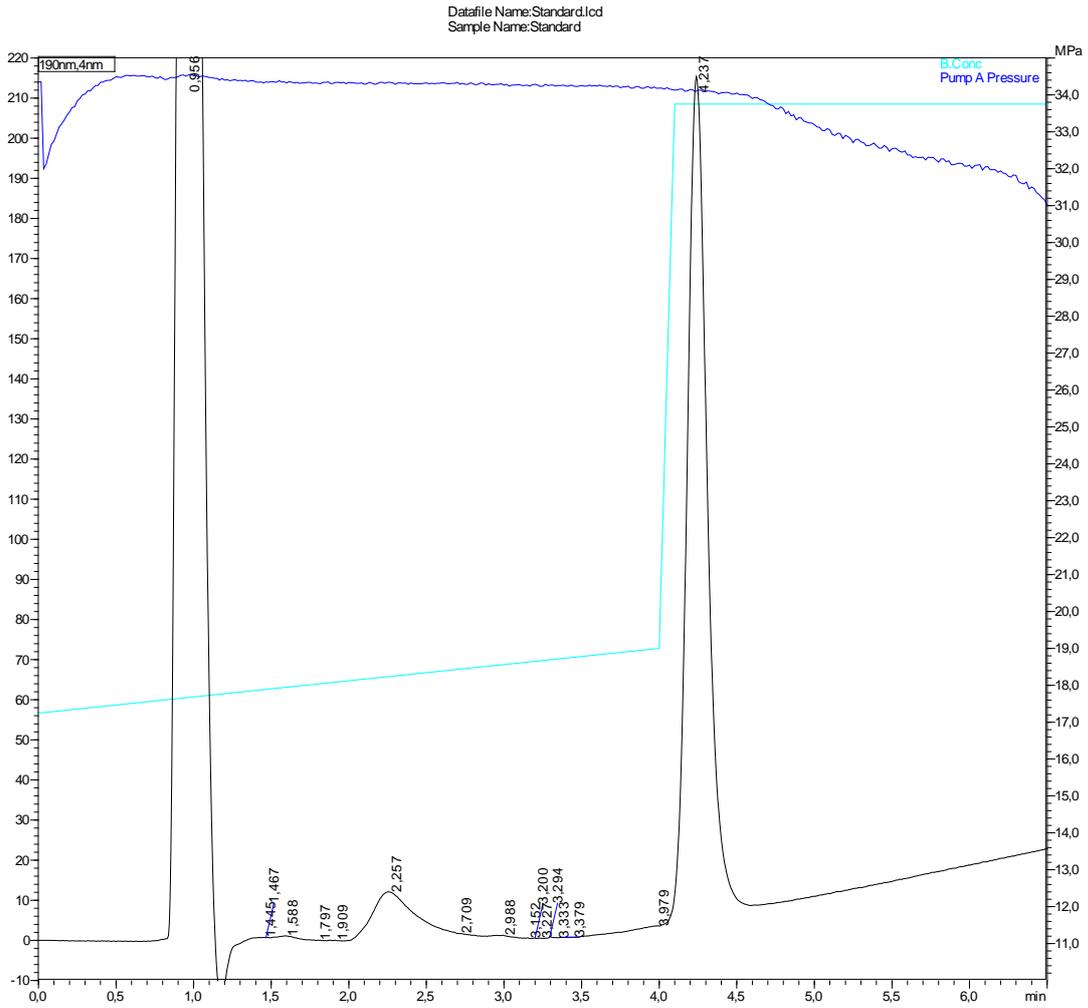


Abbildung 18: Chromatogramm vom externen Standard

9. Rotkleeblüten

Stammpflanze: *Trifolium pratense* L. (Fabaceae)



Abbildung 19: Rotkleeblüten [34]

Die Inhaltsstoffe im Rotklee, die vor allem pharmazeutisch und medizinisch interessant sind, sind die Isoflavone, hauptsächlich Formononetin und Biochanin A.

Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der Isoflavone mit den Östrogenen, werden sie als Phytoestrogene bezeichnet. Sie lösen nur einen Teil der Östrogenwirkung aus, da sie vorwiegend an β -Rezeptoren binden. Sie sind somit Phyto-SERMs (Selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren). Sie werden in der Behandlung postmenopausaler Beschwerden (Wechseljahresbeschwerden), wie Hitzewallungen, psychische Probleme und Osteoporoserisiko eingesetzt [25].

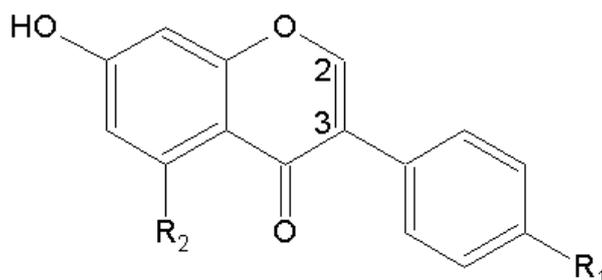


Abbildung 20: Strukturformeln

(Formononetin R1 = OCH₃, R2 = H), (Biochanin A R1 = OCH₃, R2 = OH)

9.1 Vorgangsweise für die verschiedenen Arten der Extraktionen von Rotkleblüten

- Vorgangsweise nach der Quantifizierungsvorschrift:

Das HPLC-System wurde aus der Literatur [26] übernommen und gemäß der Arbeitsvorschrift für das Praktikum „Gewinnung und instrumentelle Analytik biogener Arzneimittel“ aus Pharmakognosie [27] adaptiert:

Untersuchungslösung:

100 mg pulverisierte Droge werden in einem 50 ml Rundkolben mit Schliff mit 2 ml Wasser R 25 Stunden mazeriert. Nach der Zugabe von 4 ml Methanol R wird eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Der Drogenrückstand wird abfiltriert und mit Methanol R (3 x 4 ml) gewaschen. Das gesamte Filtrat wird in einen 50 ml Rundkolben übergeführt und unter vermindertem Druck zur Trockene gebracht. Der Eindampfrückstand wird in 1 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst.

Lösung interner Standard:

15 mg 6-Methoxyflavanon werden in 1,0 ml DMSO gelöst.

Analysenlösung:

500 µl der Untersuchungslösung werden in ein Eppendorf- Reaktionsgefäß übergeführt, mit 40 µl Referenzlösung versetzt, gemischt und vor der HPLC- Analyse 10 min bei 13 000 U/min zentrifugiert.

HPLC- Parameter:

Stationäre Phase: Acclaim 120 C18 (3µm, 150 x 2,1 mm)

Mobile Phase

- Mobile Phase A: wässrige Phosphorsäure R (pH = 3)
- Mobile Phase B: Acetonitril R

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase B (%V/V)
0.00	65	35
1.50	22	78
10.00	5	95
15.00	5	95

Durchflussrate: 0,4 ml/min
Detektion: UV 254 nm
Einspritzen: 5 µl
Referenz: Vergleichschromatogramm
t_R 6-Methoxyflavanon etwa 15,7 min
t_R Biochanin A etwa 13,4 min
t_R Formononetin etwa 11,5 min

Auswertung:

Quantifizierung mittels internem Standard, für Biochanin A ist ein f_{st} = 0,22 und für Formononetin ein f_{st} = 0,25 zu verwenden.

$$\% \text{ Analyt} = \frac{\text{Standard [g]} * \text{Peakfläche Analyt} * \text{fst} * 100}{\text{Peakfläche Standard} * \text{Analyt [g]}}$$

- Vorgangsweise der Ultraschall-, Ultra-Turrax- und Turboextraktions-Proben:
20,0 g Rotkleeblüten wurden mit 30 g Wasser R 25 h mazeriert. Nach Zugabe von 70 g Ethanol 96% wurde gut durchmischt. Danach erfolgte die jeweilige Extraktionsmethode. Siehe 2.2.3 Ultraschallextraktion, 2.2.4 Ultra-Turrax-Extraktion, 2.2.5 Turboextraktion
- Vorgangsweise der Mazerations-Proben: siehe 2.2.1 Mazeration
- Vorgangsweise der Perkolations-Proben:
20,0 g Rotkleeblüten wurden mit 30 g Wasser R vorbefeuchtet. Für die Perkolation wurden noch zusätzliche 70 g dazugegeben (insgesamt 100 g Ethanol 70% verbraucht). Die Vorgangsweise ist in Punkt 2.2.2 Perkolation beschrieben.
- Vorgangsweise der Tee-Proben: siehe 2.2.6 Tee

Für die Gehaltsbestimmung der Ultraschall-, Ultra-Turrax-, Turboextraktions-, Mazerations- und Perkolations-Tinkturen sowie des Tees wurde Folgendes durchgeführt: 500 µl wurden in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß übergeführt und mit 40 µl Referenzlösung versetzt, gemischt und vor der HPLC-Analyse 10 min bei ca. 13 000 U/min zentrifugiert.

Folgendes Chromatogramm wurde mit diesen Parametern erhalten:

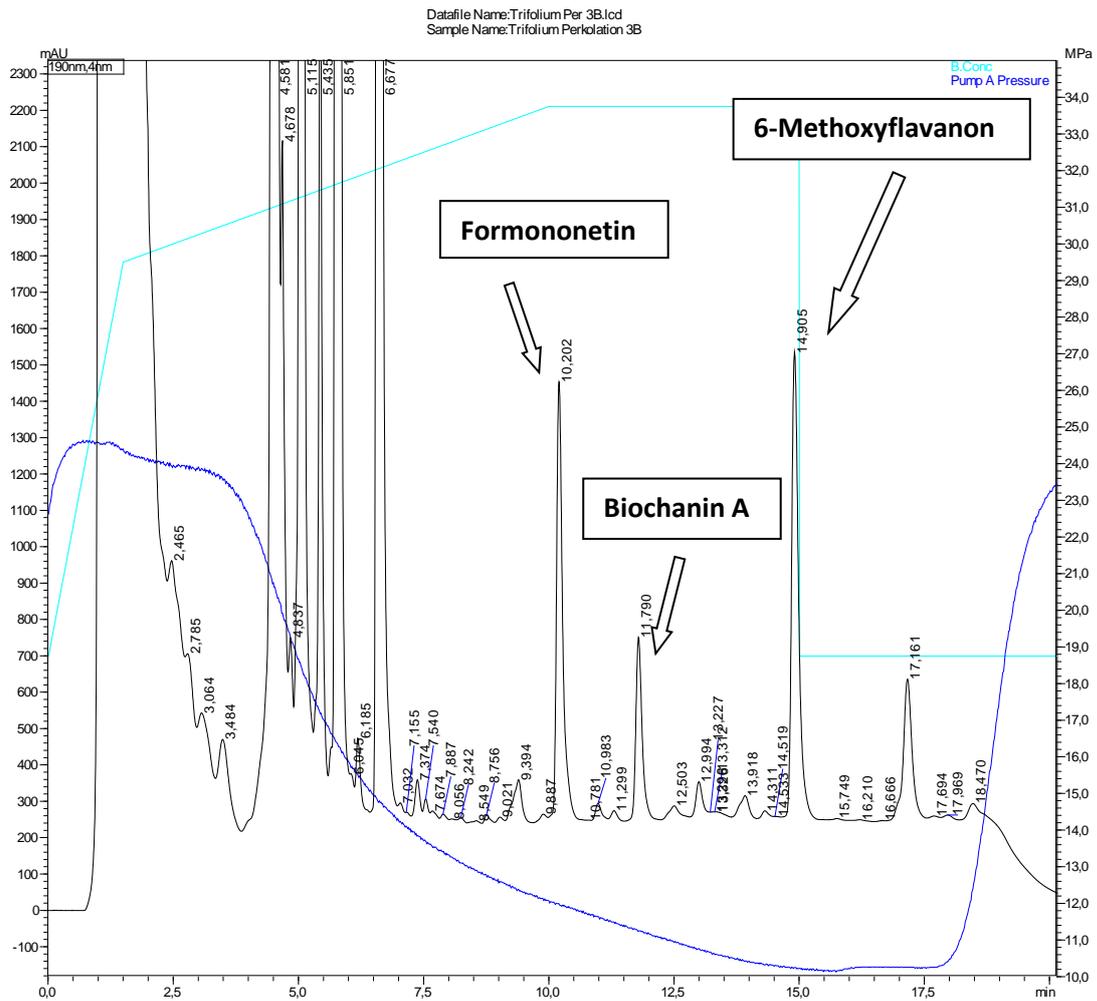


Abbildung 21: Chromatogramm von Rotkleeblüten

10. Ergebnisse der Extraktionen

Zu jeder Extraktionsmethode werden drei unabhängige quantitative Bestimmungen (jeweils Doppelbestimmungen) durchgeführt.

10.1 Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Arnikablüten

EW Droge in g	Probennummer	EW Tinktur in g (m)	Fläche aller Peaks (F1)	Peakfläche des Santonin (F2)	Ergebnis in %	MW in %
20,02	1	5,02	6808698	19120509	0,017	0,017
	2	5,00	6713161	19151418	0,017	
20,00	1	5,03	7420736	19814857	0,018	0,018
	2	5,01	7380903	19724488	0,018	
20,02	1	5,00	7073288	20011333	0,017	0,017
	2	5,01	6812807	19454682	0,017	

Tabelle 5: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml)

EW Droge in g	Probennummer	EW Tinktur in g (m)	Fläche aller Peaks (F1)	Peakfläche des Santonin (F2)	Ergebnis in %	MW in %
20,01	1	5,00	7877772	19943323	0,019	0,019
	2	5,02	7826969	19734000	0,019	
20,01	1	5,00	7872494	19536943	0,019	0,019
	2	5,00	7932359	19591568	0,019	
20,02	1	5,00	8144957	20138921	0,019	0,019
	2	5,00	8178388	20096467	0,020	

Tabelle 6: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml)

EW Droge in g	Probennummer	EW Tinktur in g (m)	Fläche aller Peaks (F1)	Peakfläche des Santonin (F2)	Ergebnis in %	MW in %
20,01	1	5,01	9640676	20724101	0,022	0,022
	2	5,01	9731026	20941097	0,022	
20,04	1	5,04	9576291	20903015	0,022	0,022
	2	5,02	9431693	20520841	0,022	
20,00	1	5,04	9754714	21012749	0,022	0,022
	2	5,03	9604486	20793394	0,022	

Tabelle 7: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml)

EW Droge in g	Probennummer	EW Tinktur in g (m)	Fläche aller Peaks (F1)	Peakfläche des Santonin (F2)	Ergebnis in %	MW in %
20,01	1	5,02	9354179	20286324	0,022	0,022
	2	5,02	9488964	20246904	0,022	
20,01	1	5,00	9273838	19744183	0,023	0,022
	2	5,01	9001963	19505602	0,022	
20,08	1	5,02	9347978	20314869	0,022	0,022
	2	5,03	9194021	19973389	0,022	

Tabelle 8: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml)

EW Droge in g	Probennummer	EW Tinktur in g (m)	Fläche aller Peaks (F1)	Peakfläche des Santonin (F2)	Ergebnis in %	MW in %
20,03	1	5,00	57921486	105545700	0,026	0,026
	2	5,01	57971685	104116295	0,027	
20,02	1	5,00	57477056	105413023	0,026	0,026
	2	5,00	56567336	104330183	0,026	
20,01	1	5,02	54752786	103741644	0,025	0,026
	2	5,00	55947789	103895447	0,026	

Tabelle 9: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml)

EW Droge in g	Probennummer	EW Tinktur in g (m)	Fläche aller Peaks (F1)	Peakfläche des Santonin (F2)	Ergebnis in %	MW in %
2,00	1	5,00	2742637	67663656	0,0019	0,0020
	2	5,00	2914798	66714019	0,0021	
2,01	1	5,00	2580588	68375536	0,0018	0,0017
	2	5,01	2330509	67410218	0,0017	
2,01	1	5,01	2317962	67794288	0,0016	0,0017
	2	5,01	2499215	68005168	0,0018	

Tabelle 10: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0098 mg/ml)

EW Droge in g	Probennummer	EW Tinktur in g (m)	Fläche aller Peaks (F1)	Peakfläche des Santonin (F2)	Ergebnis in %	MW in %
1,01	1	5,01	1011103	65114703	0,116	0,113
	2	5,00	967203	66259218	0,110	
1,00	1	5,01	1003918	66306809	0,114	0,112
	2	5,01	965198	65918200	0,110	
1,00	1	5,00	943916	66108158	0,107	0,107
	2	5,01	939576	66346123	0,106	

Tabelle 11: Ergebnisse der Extraktion nach der Arzneibuch-Vorschrift für Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0098 mg/ml)

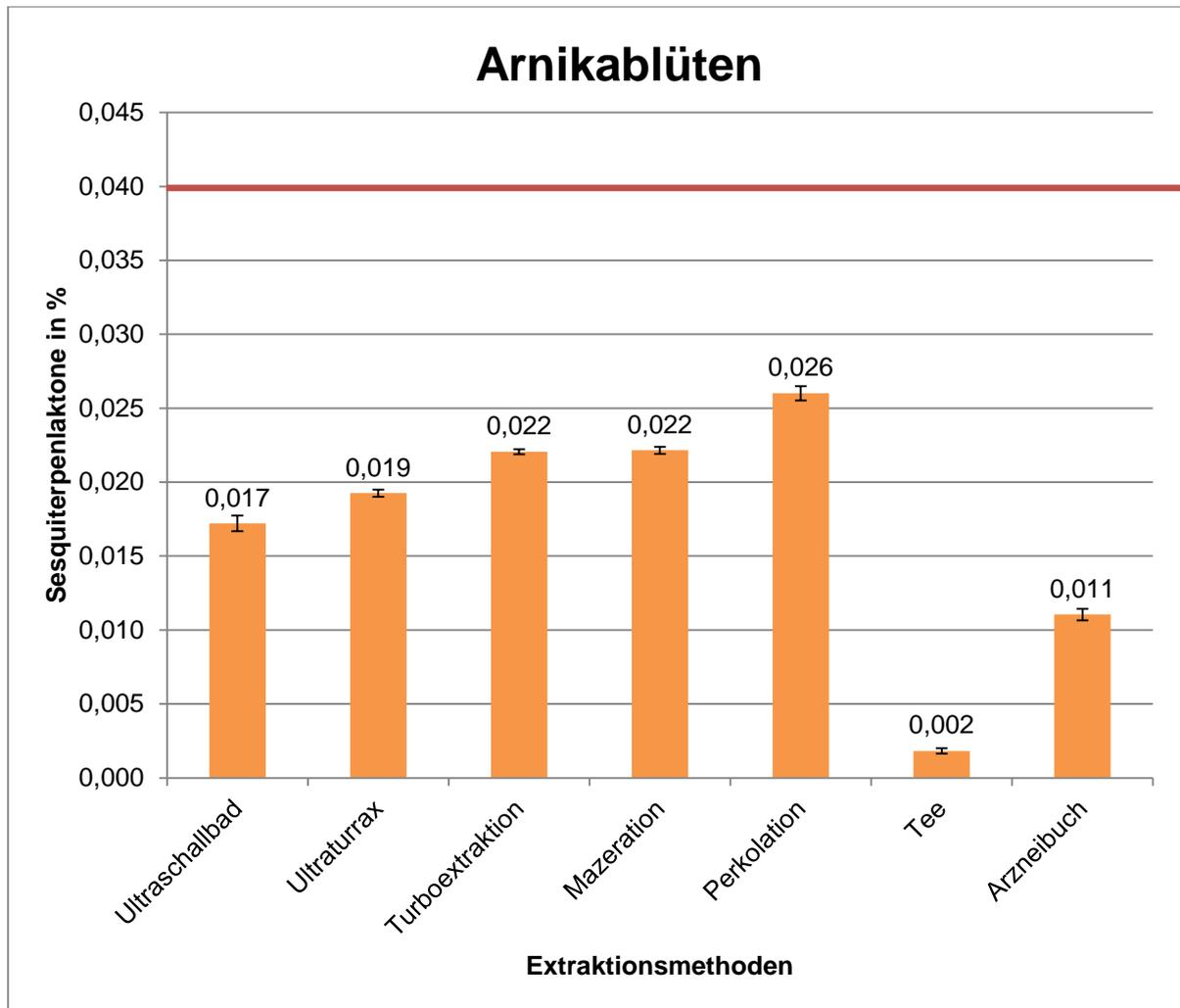


Diagramm 2: Vergleich der Extraktionsmethoden von Arnikablüten

	Ultraschallbad	Ultraturrax	Turboextraktion	
%Sesquiterpenlactone	0,017	0,019	0,022	
%RSD	0,00052	0,00025	0,00018	
	Mazeration	Perkolation	Tee	Arzneibuch
%Sesquiterpenlactone	0,022	0,026	0,002	0,011
%RSD	0,00024	0,00049	0,00018	0,00039

Tabelle 12: Diagramm Daten von Arnikablüten

10.1.1 Droge-Extrakt-Verhältnis von Arnikablüten

Extraktions- methode	Einwaage in g (Droge)	aliquot. Teil in g (Tinktur)	Trocken- rückstand in g	DEV	Mittelwert
Ultraschall- extraktion	20,02	10,007	0,353	5,676	5,589
	20,00	10,378	0,360	5,552	
	20,02	10,022	0,361	5,539	
Ultra-Turrax- Extraktion	20,01	20,021	0,916	4,369	4,334
	20,01	19,974	0,931	4,301	
	20,02	19,996	0,925	4,331	
Turbo- extraktion	20,01	10,024	0,492	4,067	3,993
	20,04	10,017	0,496	4,038	
	20,00	10,118	0,516	3,875	
Mazeration	20,01	19,256	0,911	4,393	4,326
	20,01	20,016	0,921	4,346	
	20,08	20,490	0,947	4,241	
Perkolation	20,03	20,013	1,641	2,442	2,402
	20,02	20,003	1,611	2,485	
	20,01	20,007	1,757	2,278	
Tee	2,00	10,020	0,050	3,964	4,099
	2,01	10,252	0,049	4,136	
	2,01	10,017	0,048	4,196	
Arzneibuch	1,01	10,072	0,020	5,075	4,965
	1,00	10,033	0,020	4,912	
	1,00	10,001	0,020	4,909	

Tabelle 13: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Arnikablüten

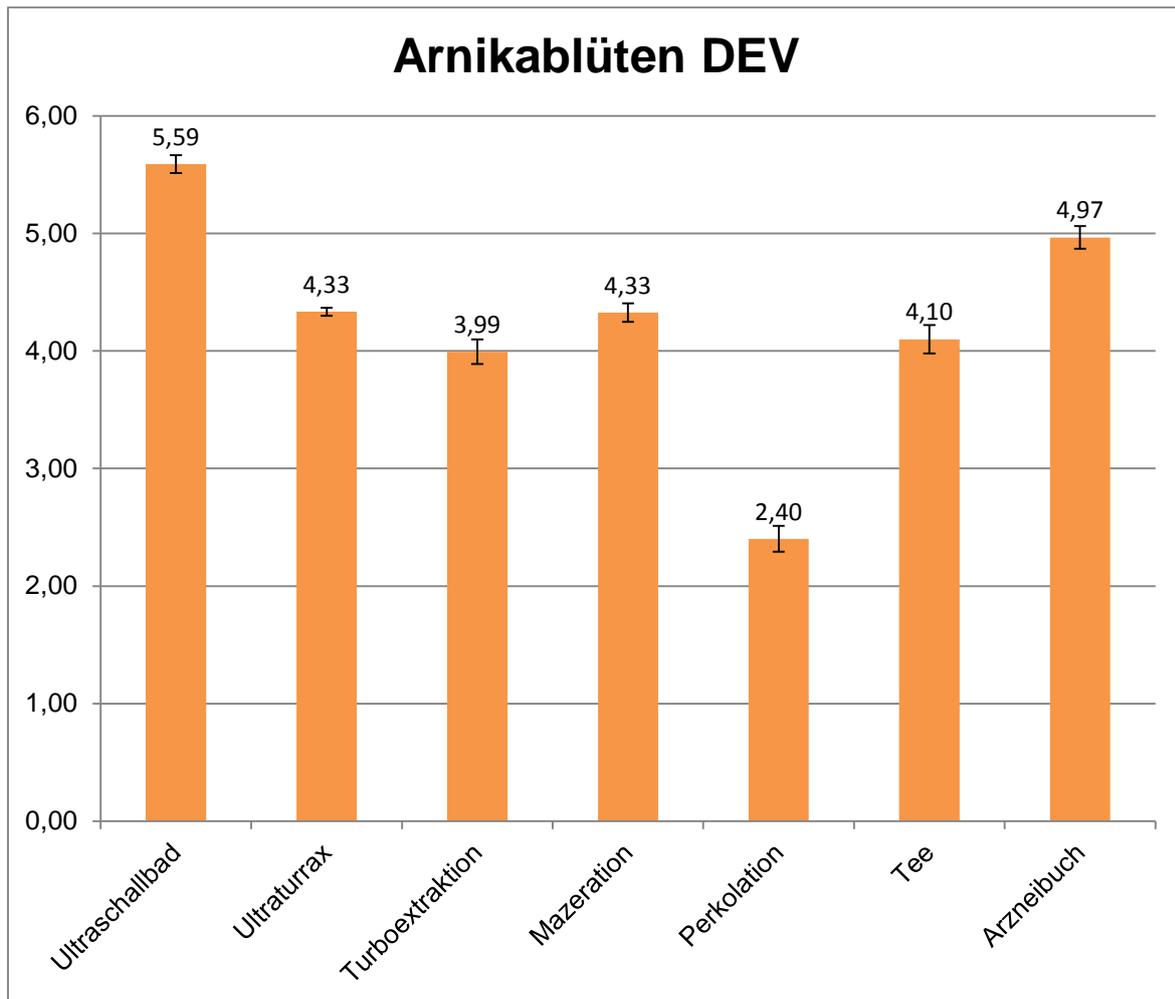


Diagramm 3: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Arnikablüten

	USB	UT	TE	Maz.	Perk.	Tee	AB
MW	5,589	4,334	3,993	4,326	2,402	4,099	4,965
%RSD	0,075	0,034	0,103	0,078	0,109	0,120	0,095

Tabelle 14: Diagrammdaten des DEV von Arnikablüten

10.1.2 Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Arnikablüten

- Mit Hilfe der Extraktion nach dem Arzneibuch erhält man im Vergleich zu den anderen Extraktionsmethoden den höchsten Gehalt an Sesquiterpenlactonen mit 0,11%.
- Mit 0,026% erreichte die Perkolation den zweiten Platz. Jedoch wurde der Mindestgehalt von 0,04% nicht erreicht. Sie lieferte bei den DEV- Ergebnissen den niedrigsten Wert.
- Im Tee waren kaum Sesquiterpenlactone enthalten. Offensichtlich ist Wasser zu polar, um die Sesquiterpenlactone extrahieren zu können.

10.2 Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Baldrianwurzel

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche Dantron	Peakfläche Acetoxy-valerensäure / %	Peakfläche Valerensäure / %	Summe in %	MW in %
20,02	1	2375044	445543 / 0,077 %	434348 / 0,053 %	0,130	0,124
	2	2623070	449351 / 0,070 %	435913 / 0,048 %	0,118	
20,02	1	2479233	423844 / 0,070 %	418848 / 0,049 %	0,119	0,118
	2	2633958	441291 / 0,069 %	439999 / 0,048 %	0,117	
20,00	1	2559337	479308 / 0,077 %	440144 / 0,050 %	0,126	0,125
	2	2484996	451995 / 0,075 %	422585 / 0,049 %	0,124	

Tabelle 15: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03047 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche Dantron	Peakfläche Acetoxy- valerensäure / %	Peakfläche Valeren- säure / %	Summe in %	MW in %
20,04	1	2548216	504334 / 0,081 %	486328 / 0,055 %	0,136	0,134
	2	2537786	487760 / 0,079 %	472078 / 0,054 %	0,132	
20,04	1	2559222	485295 / 0,078 %	472496 / 0,053 %	0,131	0,128
	2	2575319	470326 / 0,075 %	458123 / 0,051 %	0,126	
20,04	1	2543674	524214 / 0,084 %	507767 / 0,057 %	0,142	0,145
	2	2544831	558477 / 0,090 %	522232 / 0,059 %	0,149	

Tabelle 16: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03047 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche Dantron	Peakfläche Acetoxyvalerensäure / %	Peakfläche Valerensäure / %	Summe in %	MW in %
20,02	1	2622370	520259 / 0,081 %	530001 / 0,058 %	0,140	0,139
	2	2732535	536878 / 0,081 %	547101 / 0,058 %	0,138	
20,02	1	2507798	490478 / 0,080 %	496228 / 0,057 %	0,137	0,138
	2	2581665	511449 / 0,081 %	519419 / 0,058 %	0,139	
20,09	1	2712296	542501 / 0,082 %	550741 / 0,058 %	0,140	0,139
	2	2598294	513160 / 0,081 %	525413 / 0,058 %	0,139	

Tabelle 17: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03047 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche Dantron	Peakfläche Acetoxyvalerensäure / %	Peakfläche Valerensäure / %	Summe in %	MW in %
20,01	1	1398549	264343 / 0,078 %	268824 / 0,055 %	0,133	0,133
	2	1397571	265820 / 0,078 %	266703 / 0,055 %	0,133	
20,02	1	1418790	266168 / 0,077 %	270807 / 0,055 %	0,132	0,133
	2	1406725	269394 / 0,079 %	267479 / 0,055 %	0,133	
20,00	1	1419795	272152 / 0,079 %	272401 / 0,055 %	0,134	0,132
	2	1465572	272718 / 0,076 %	273869 / 0,054 %	0,130	

Tabelle 18: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03047 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche Dantron	Peakfläche Acetoxyvalerensäure / %	Peakfläche Valerensäure / %	Summe in %	MW in %
20,03	1	1392222	359098 / 0,114 %	428010 / 0,096 %	0,210	0,198
	2	1402495	318535 / 0,101 %	378548 / 0,084 %	0,185	
20,01	1	1415153	471042 / 0,148 %	557217 / 0,123 %	0,271	0,309
	2	1408379	604408 / 0,191 %	703219 / 0,156 %	0,347	
20,01	1	1407271	577928 / 0,182 %	669286 / 0,148 %	0,331	0,328
	2	1408799	566637 / 0,179 %	660249 / 0,146 %	0,325	

Tabelle 19: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03300 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche Dantron	Peakfläche Acetoxyvalerensäure / %	Peakfläche Valerensäure / %	Summe in %	MW in %
2,03	1	1414938	159297 / 0,063 %	115409 / 0,032 %	0,095	0,097
	2	1402002	161819 / 0,065 %	117514 / 0,033 %	0,098	
2,04	1	1409876	152214 / 0,060 %	112019 / 0,031 %	0,091	0,093
	2	1393950	153442 / 0,061 %	117114 / 0,033 %	0,094	
2,00	1	1406443	148090 / 0,060 %	104808 / 0,030 %	0,090	0,090
	2	1416819	147383 / 0,059 %	104018 / 0,029 %	0,089	

Tabelle 20: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03300 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche Dantron	Peakfläche Acetoxyvalerensäure / %	Peakfläche Valerensäure / %	Summe in %	MW in %
1,52	1	1429256	389121 / 0,068 %	491058 / 0,060 %	0,128	0,131
	2	1400133	388021 / 0,069 %	507356 / 0,064 %	0,133	
1,49	1	1423000	385021 / 0,069 %	495434 / 0,062 %	0,131	0,132
	2	1420570	386972 / 0,069 %	497427 / 0,063 %	0,132	
1,51	1	1402249	389235 / 0,070 %	493350 / 0,062 %	0,132	0,132
	2	1395264	385576 / 0,070 %	496108 / 0,063 %	0,132	

Tabelle 21: Ergebnisse der Extraktion nach der Arzneibuch-Vorschrift für Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03300 g)

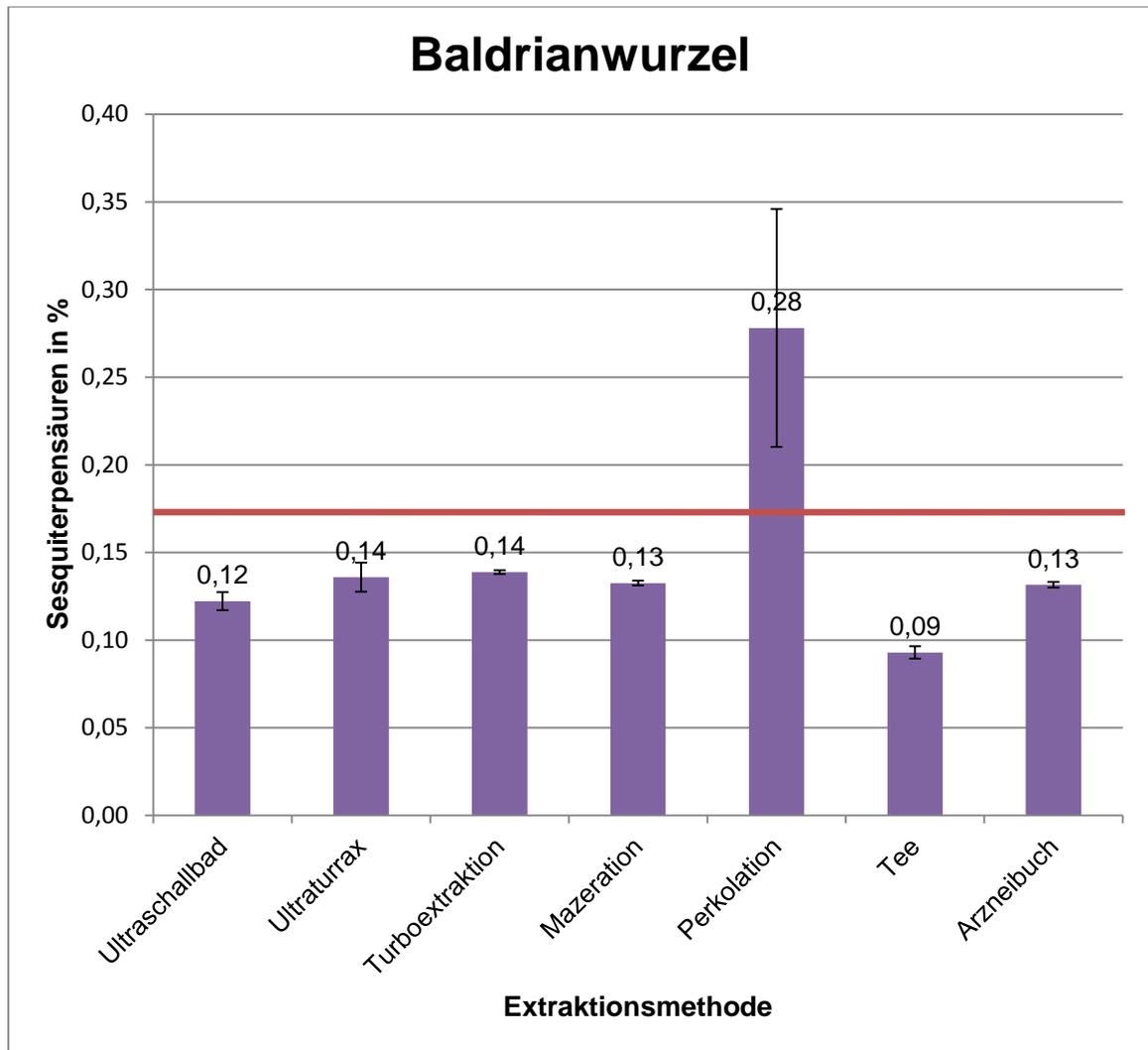


Diagramm 4: Vergleich der Extraktionsmethoden von Baldrianwurzel

	Ultraschallbad	Ultraturrax	Turboextraktion	
% Sesquiterpensäuren	0,122	0,136	0,139	
%RSD	0,005	0,008	0,001	
	Mazeration	Perkolation	Tee	Arzneibuch
% Sesquiterpensäuren				
%RSD	0,133	0,278	0,093	0,132
	0,001	0,068	0,004	0,002

Tabelle 22: Diagramm Daten von Baldrianwurzel

10.2.1 Droge-Extrakt-Verhältnis von Baldrianwurzel

Extraktions- methode	EW in g (Droge)	aliquot. Teil in g (Tinktur)	Trocken- rückstand in g	DEV	Mittel- wert
Ultraschall- extraktion	20,02	20,001	1,035	3,868	4,055
	20,02	20,002	0,981	4,080	
	20,00	20,002	0,948	4,218	
Ultra-Turrax- Extraktion	20,04	20,048	1,171	3,422	3,344
	20,04	20,010	1,228	3,265	
	20,04	20,038	1,198	3,344	
Turboextraktion	20,02	20,019	1,204	3,327	3,260
	20,02	20,008	1,259	3,181	
	20,09	20,007	1,228	3,271	
Mazeration	20,01	20,004	1,183	3,384	3,396
	20,02	20,025	1,185	3,378	
	20,00	20,008	1,168	3,425	
Perkolation	20,03	20,024	1,775	2,256	2,306
	20,01	20,004	1,710	2,340	
	20,01	20,033	1,724	2,322	
Tee	2,03	20,083	0,114	3,549	3,554
	2,04	20,040	0,110	3,702	
	2,00	20,014	0,117	3,411	
Arzneibuch	1,52	20,049	0,243	1,252	1,273
	1,49	20,093	0,232	1,284	
	1,51	20,055	0,235	1,283	

Tabelle 23: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Baldrianwurzel

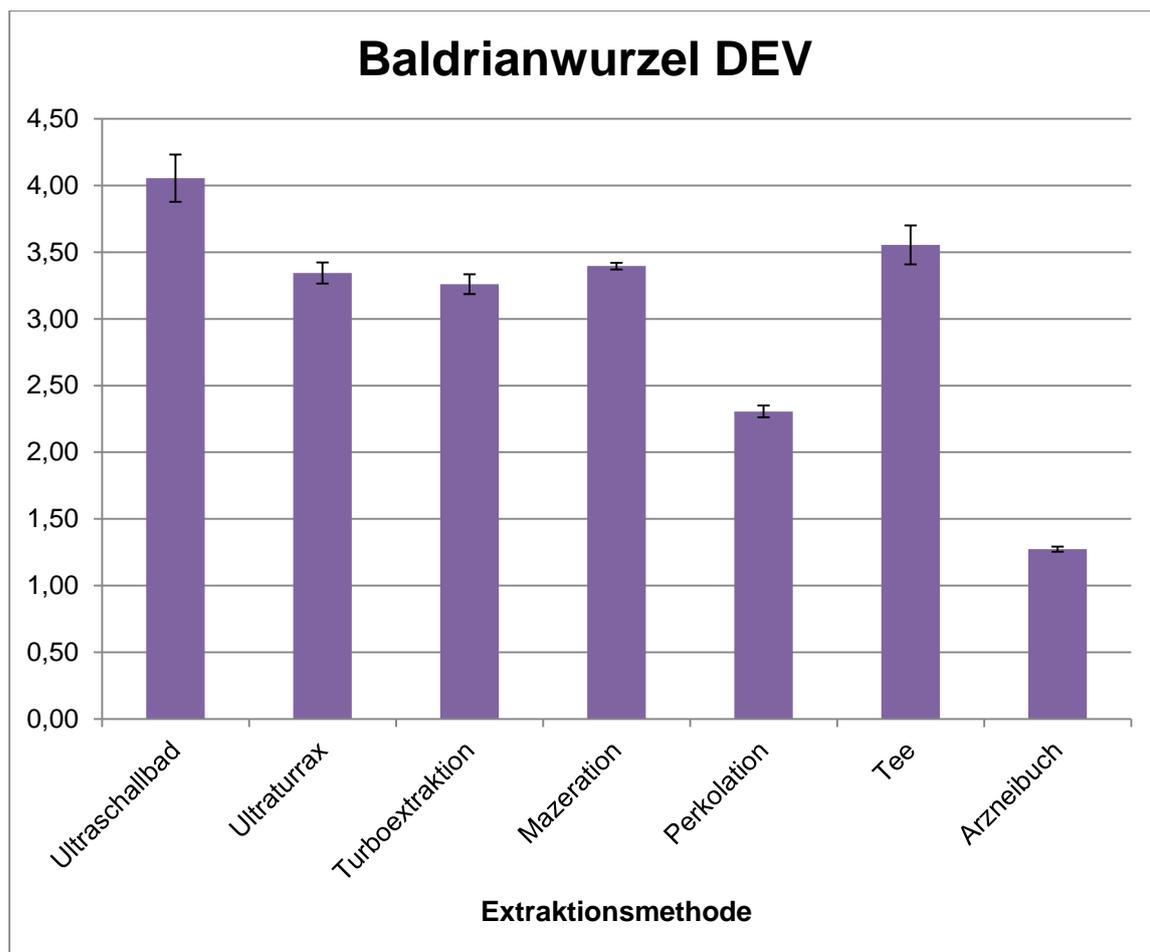


Diagramm 5: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Baldrianwurzel

	USB	UT	TE	Maz.	Perk.	Tee	AB
MW	4,055	3,344	3,260	3,396	2,306	3,554	1,273
%RSD	0,177	0,079	0,074	0,026	0,044	0,146	0,018

Tabelle 24: Diagramm Daten des DEV von Baldrianwurzel

10.2.2 Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Baldrianwurzel

- Der höchste Gehalt an Sesquiterpensäuren wurde mit der Perkolation mit 0,28 % erreicht. Auch beim Droge-Extrakt-Verhältnis wurde hier der niedrigste Wert erreicht.
- Bei den anderen Extraktionsmethoden wurde der Mindestgehalt von 0,17 % nicht erreicht. Die Ergebnisse waren untereinander aber ähnlich.
- Der Tee besitzte auch hier die niedrigste Extraktionsausbeute. Die Sesquiterpensäuren sind relativ unpolar und können deshalb von Wasser schlecht extrahiert werden.

10.3 Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Efeublättern

EW Droge in g	Probennummer	Peakfläche Standards	Peakfläche Droge	Ergebnis in %	Mittelwert in %
20,00	1	1199554	13398919	3,333	3,318
	2	1199554	13284657	3,304	
20,00	1	1199554	13036940	3,243	3,248
	2	1199554	13081789	3,254	
20,03	1	1199554	13486203	3,349	3,343
	2	1199554	13437024	3,337	

Tabelle 25: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)

EW Droge in g	Probennummer	Peakfläche Standard	Peakfläche Droge	Ergebnis in %	Mittelwert in %
20,03	1	1199554	18520536	4,599	4,600
	2	1199554	18525764	4,601	
20,02	1	1199554	19102001	4,746	4,742
	2	1199554	19067046	4,738	
20,01	1	1199554	20154340	5,010	4,996
	2	1199554	20042607	4,982	

Tabelle 26: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)

EW Droge in g	Probennummer	Peakfläche Standard	Peakfläche Droge	Ergebnis in %	Mittelwert in %
20,03	1	1199554	19298520	4,793	4,795
	2	1199554	19317550	4,797	
20,01	1	1199554	20347498	5,058	5,018
	2	1199554	20024508	4,978	
20,01	1	1199554	20323977	5,052	5,038
	2	1199554	20204161	5,023	

Tabelle 27: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)

EW Droge in g	Probennummer	Peakfläche Standard	Peakfläche Droge	Ergebnis in %	Mittelwert in %
20,00	1	1256489	19088018	4,532	4,537
	2	1256489	19128902	4,542	
20,02	1	1256489	19121221	4,536	4,539
	2	1256489	19150518	4,543	
20,01	1	1256489	19206585	4,558	4,564
	2	1256489	19258989	4,571	

Tabelle 28: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)

EW Droge in g	Probennummer	Peakfläche Standard	Peakfläche Droge	Ergebnis in %	Mittelwert in %
20,01	1	1218422	36995257	9,054	9,083
	2	1218422	37230320	9,112	
20,01	1	1218422	34915371	8,545	8,468
	2	1218422	34285723	8,391	
20,05	1	1218422	32840052	8,021	8,178
	2	1218422	34120718	8,334	

Tabelle 29: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)

EW Droge in g	Probennummer	Peakfläche Standard	Peakfläche Droge	Ergebnis in %	Mittelwert in %
2,00	1	1281795	2068843	6,174	6,156
	2	1281795	2057156	6,139	
2,00	1	1281795	2281601	6,809	6,588
	2	1281795	2134012	6,368	
2,01	1	1281795	2241070	6,654	6,857
	2	1281795	2377891	7,061	

Tabelle 29: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)

EW Droge in g	Probennummer	Peakfläche Standard	Peakfläche Droge	Ergebnis in %	Mittelwert in %
0,50066	1	1617752	1513928	4,766	4,834
0,50184	1	1617752	1545333	4,854	
0,50083	1	1617752	1550696	4,881	

Tabelle 30: Ergebnisse nach der Extraktion gemäß dem Arzneibuch für Efeublätter, Hederacosid C, (Einwaage des Standards: 5,10 mg)

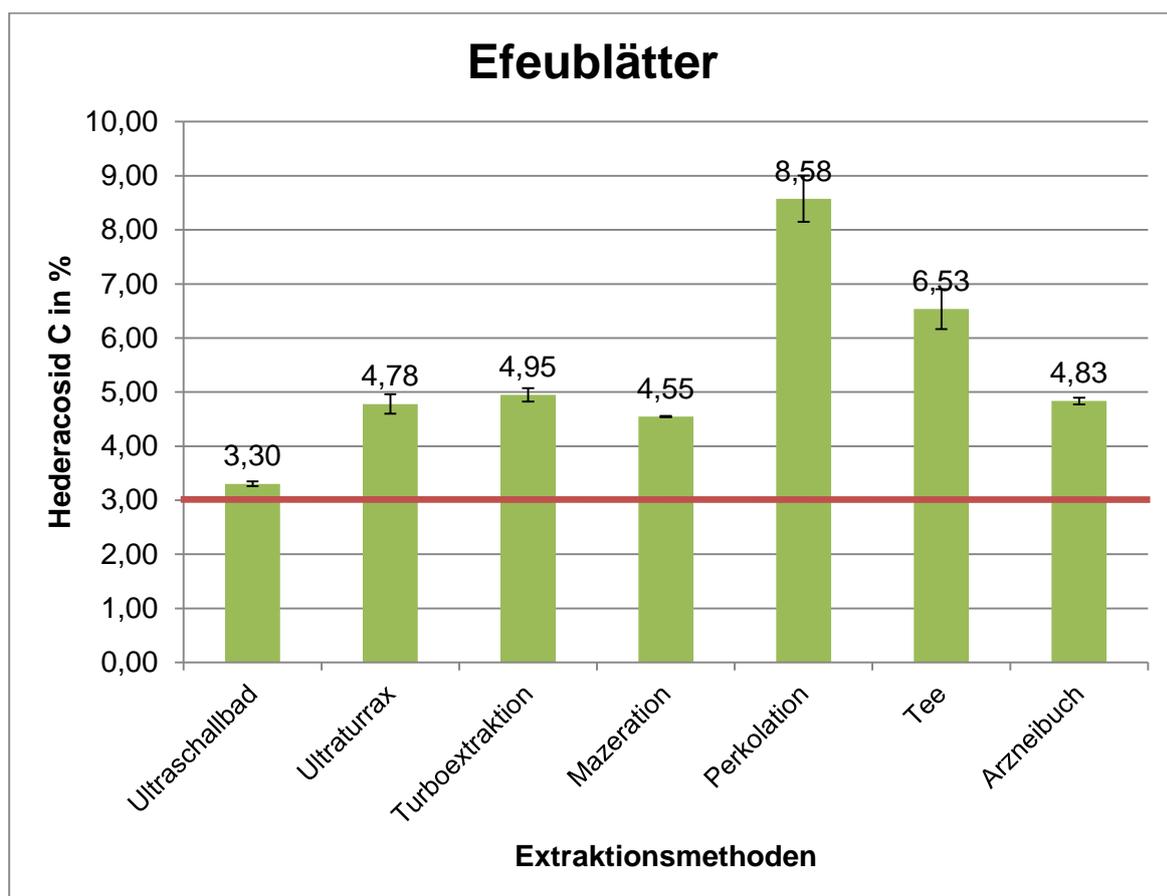


Diagramm 6: Vergleich der Extraktionsmethoden von Efeublätter

	Ultraschallbad	Ultraturrax	Turboextraktion	
% Hederacosid C	3,303	4,779	4,95	
%RSD	0,045	0,18	0,124	
% Hederacosid C	Mazeration	Perkolation	Tee	Arzneibuch
%RSD	4,547	8,586	6,534	4,834
	0,015	0,428	0,369	0,06

Tabelle 31: Diagramm Daten von Baldrianwurzel

10.3.1 Droge-Extrakt-Verhältnis von Efeublättern

Die Bestimmung des Droge- Extrakt- Verhältnisses beim Efeublätter-Tee war durch den Saponingehalt anfangs nicht möglich, weil beim Eindampfen massive Schaumbildung auftrat. Dieses Problem wurde durch den Zusatz von 30 g n-Butanol behoben, wodurch die Probe problemlos zur Trockene gebracht werden konnte.

Extraktions- methode	Einwaage in g (Droge)	aliquot. Teil in g (Tinktur)	Trocken- rückstand in g	DEV	Mittelwert
Ultraschall- extraktion	20,00	20,022	0,691	5,787	4,941
	20,00	20,004	0,934	4,281	
	20,03	20,000	0,842	4,756	
Ultra- Turrax- Extraktion	20,03	20,016	0,898	4,463	4,361
	20,02	20,014	0,946	4,233	
	20,01	20,016	0,912	4,389	
Turbo- extraktion	20,03	20,001	0,945	4,240	4,165
	20,01	20,010	0,943	4,244	
	20,01	20,005	0,998	4,011	
Mazeration	20,00	20,004	0,963	4,153	4,551
	20,02	20,008	0,898	4,461	
	20,01	20,011	0,794	5,038	
Perkolation	20,01	20,012	1,826	2,192	2,343
	20,01	20,026	1,635	2,448	
	20,05	20,010	1,679	2,388	
Tee	2,00	10,056	0,052	3,834	3,831
	2,00	10,083	0,054	3,680	
	2,01	10,109	0,051	3,979	
Arzneibuch	0,50066	10,115	0,039	1,268	1,302
	0,50184	10,084	0,039	1,280	
	0,50083	10,116	0,037	1,359	

Tabelle 32: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Efeublättern

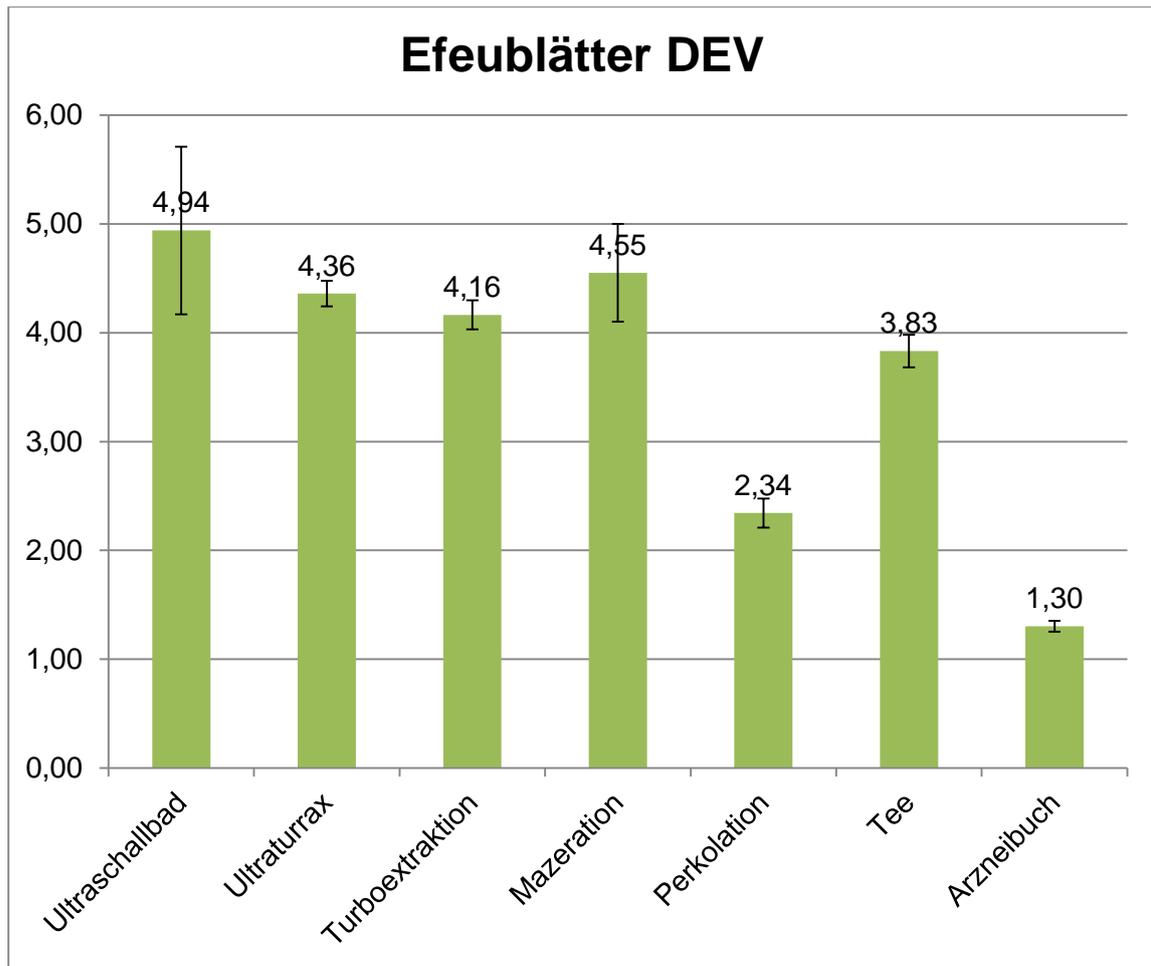


Diagramm 7: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Efeublättern

	USB	UT	TE	Maz.	Perk.	Tee	AB
MW	4,941	4,361	4,165	4,551	2,343	3,831	1,302
%RSD	0,770	0,118	0,134	0,449	0,134	0,149	0,049

Tabelle 33: Diagramm Daten des DEV von Efeublättern

10.3.2 Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Efeublättern

- Bei allen Extraktionsmethoden wurde der Mindestgehalt von 3,0 % Prozent erreicht.
- Der höchste Gehalt wurde mittels Perkolation mit 8,6 % erreicht. Die Perkolation erreichte im Vergleich zur Ultraschallextraktion fast die 3-fache Menge an Hederacosid C. Auch das Droge-Extrakt-Verhältnis war bei der Perkolation niedrig.
- Der zweithöchste Gehalt war im Tee mit 6,5 % enthalten, weil die Glykoside in Wasser besser löslich sind.
- Der geringste Gehalt an Hederacosid C und der höchste Wert beim Droge-Extrakt-Verhältnis war bei der Ultraschallextraktion.

10.4 Ergebnisse der verschiedenen Extraktionen von Rotkleeblüten

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche 6-MOF	Peakfläche Formononetin / %	Peakfläche Biochanin A / %	Summe in %	MW in %
20,01	1	19017270	19500668 / 0,182 %	27715145 / 0,228 %	0,410	0,413
	2	19003361	19871660 / 0,186 %	28041312 / 0,231 %	0,416	
20,02	1	19538706	19954145 / 0,182 %	28459327 / 0,228 %	0,410	0,410
	2	17671679	17887287 / 0,180 %	26002792 / 0,231 %	0,411	
20,02	1	18378216	18363944 / 0,177 %	28048487 / 0,238 %	0,416	0,414
	2	17887686	18373564 / 0,182 %	26361175 / 0,230 %	0,413	

Tabelle 34: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%), (Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche 6-MOF	Peakfläche Formononetin / %	Peakfläche Biochanin A / %	Summe in %	MW in %
20,02	1	22488182	20376844 / 0,161 %	31601115 / 0,220 %	0,380	0,379
	2	22739976	20303180 / 0,159 %	31762143 / 0,218 %	0,377	
20,07	1	22956988	20262774 / 0,156 %	31669216 / 0,215 %	0,371	0,385
	2	21203207	20298223 / 0,170 %	31280122 / 0,230 %	0,399	
20,08	1	21431981	20454185 / 0,169 %	31422379 / 0,229 %	0,398	0,397
	2	21512578	20332951 / 0,168 %	31384298 / 0,228 %	0,396	

Tabelle 35: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%),(Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche 6-MOF	Peakfläche Formononetin / %	Peakfläche Biochanin A / %	Summe in %	MW in %
20,05	1	21235228	21907575 / 0,183 %	31105870 /0,228 %	0,411	0,412
	2	21182972	21605844 / 0,181 %	31526374 /0,232 %	0,413	
20,03	1	21412674	21699008 / 0,180 %	31676113 /0,231 %	0,411	0,413
	2	21091828	21370122 / 0,180 %	31697008 / 0,235 %	0,414	
20,01	1	22642702	21477849 / 0,169 %	31416320 / 0,217 %	0,386	0,397
	2	21453072	21512557 / 0,178 %	31510850 / 0,230 %	0,408	

Tabelle 36: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%), (Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche 6-MOF	Peakfläche Formononetin / %	Peakfläche Biochanin A / %	Summe in %	MW in %
20,03	1	22557379	15902555 / 0,125 %	27334634 / 0,189 %	0,314	0,324
	2	21409151	15888020 / 0,132 %	27663266 / 0,202 %	0,333	
20,03	1	21111771	15660604 / 0,132 %	27897752 / 0,206 %	0,338	0,336
	2	21224769	15794004 / 0,132 %	27394051 / 0,201 %	0,333	
20,07	1	21831224	15649446 / 0,127 %	27760640 / 0,198 %	0,325	0,329
	2	21203949	15550757 / 0,130 %	27630682 / 0,203 %	0,333	

Tabelle 37: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%), (Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche 6-MOF	Peakfläche Formononetin / %	Peakfläche Biochanin A / %	Summe in %	MW in %
20,05	1	23625019	29034749 / 0,218 %	38243463 / 0,252 %	0,470	0,518
	2	19781850	29918988 / 0,268 %	37839547 / 0,298 %	0,566	
20,04	1	22363304	28821153 / 0,229 %	37076993 / 0,259 %	0,487	0,495
	2	21778285	28684351 / 0,234 %	37493271 / 0,269 %	0,502	
20,01	1	19906978	28822461 / 0,257 %	37369748 / 0,293 %	0,550	0,554
	2	19722611	28868643 / 0,260 %	37584608 / 0,298 %	0,558	

Tabelle 38: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%), (Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche 6-MOF	Peakfläche Formononetin	Peakfläche Biochanin A	Summe in %	MW in %
2,03	1	77793	107289	93672	0,186	0,188
	2	75619	107216	93024	0,190	
2,03	1	97587	110513	96706	0,153	0,172
	2	78646	111649	97235	0,191	
2,01	1	56471	110208	98466	0,268	0,278
	2	52611	110571	97642	0,287	

Tabelle 39: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%)

EW Droge in g	Pr.nr.	Peakfläche 6-MOF	Peakfläche Formononetin / %	Peakfläche Biochanin A / %	Summe in %	MW in %
0,10114	1	19928403	11264655 / 0,170 %	26076308 / 0,346 %	0,516	0,503
0,10055	1	20601221	10702492 / 0,157 %	25419902 / 0,328 %	0,485	
0,10179	1	20259279	11228334 / 0,165 %	26325055 / 0,341 %	0,507	

Tabelle 40: Ergebnisse der Extraktion nach der Quantifizierungsvorschrift von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%)

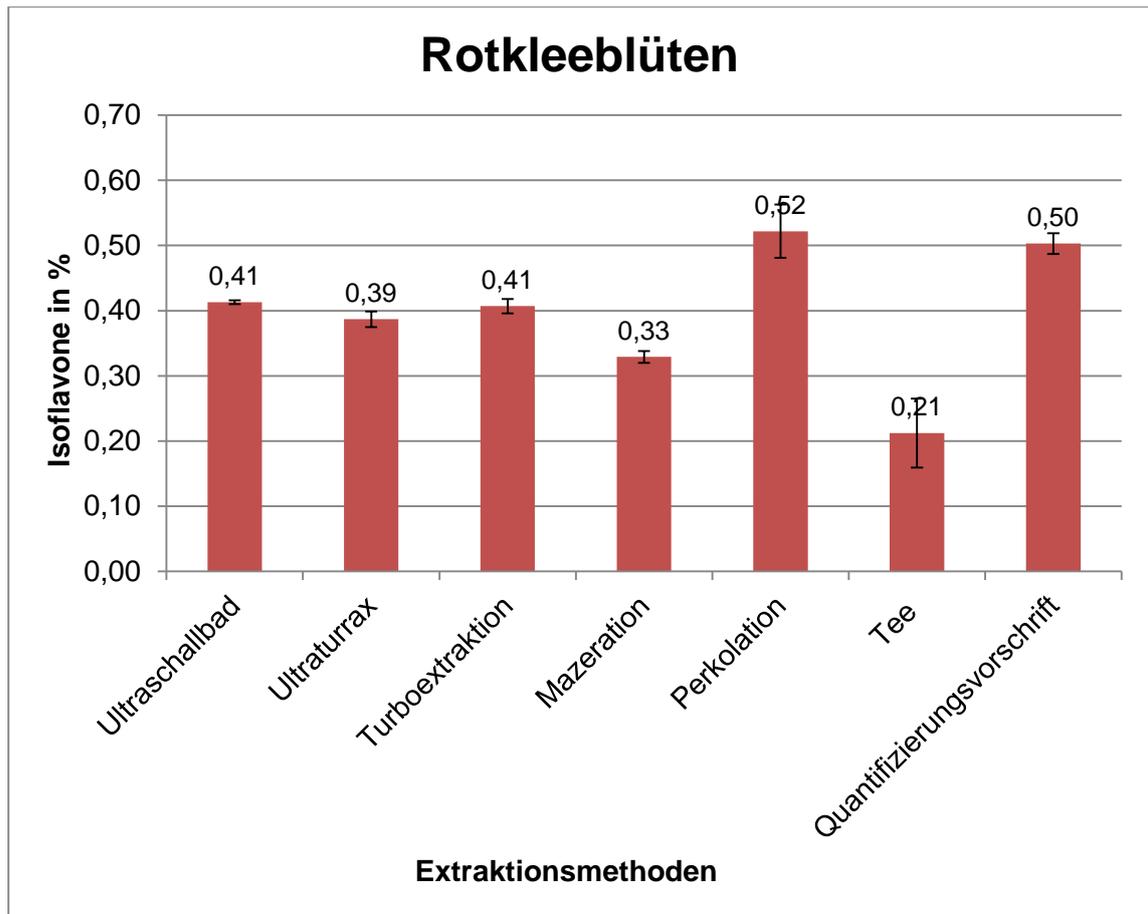


Diagramm 8: Vergleich der Extraktionsmethoden von Rotkleeb Blüten

	Ultraschallbad	Ultraturrax	Turboextraktion	
% Isoflavone	0,413	0,387	0,407	
%RSD	0,003	0,012	0,011	
% Isoflavone	Mazeration	Perkolation	Tee	Quantifizierungs- -Vorschrift
%RSD	0,329	0,522	0,212	0,503
	0,009	0,041	0,053	0,016

Tabelle 41: Diagramm Daten von Rotkleeb Blüten

10.4.1 Droge-Extrakt-Verhältnis von Rotkleeblüten

Extraktions- methode	Einwaage in g (Droge)	aliquot. Teil in g (Tinktur)	Trocken- rückstand in g	DEV	Mittel- wert
Ultraschall- extraktion	20,01	20,012	0,600	6,665	6,491
	20,02	20,000	0,635	6,303	
	20,02	20,011	0,615	6,506	
Ultra-Turrax- Extraktion	20,02	20,024	0,752	5,321	5,537
	20,07	20,046	0,724	5,546	
	20,08	20,021	0,699	5,745	
Turboextraktion	20,05	19,832	0,841	4,768	4,824
	20,03	19,418	0,827	4,844	
	20,01	20,014	0,824	4,860	
Mazeration	20,03	20,022	0,866	4,625	4,605
	20,03	20,012	0,850	4,711	
	20,07	20,018	0,896	4,481	
Perkolation	20,05	20,021	1,621	2,474	2,636
	20,04	20,020	1,470	2,727	
	20,01	20,018	1,478	2,707	
Tee	2,02	10,044	0,037	5,419	4,673
	2,01	10,021	0,047	4,295	
	2,02	10,037	0,047	4,306	
Quantifizierungs- Vorschrift	0,10114		0,021	4,830	4,315
	0,10055		0,026	3,833	
	0,10179		0,024	4,280	

Tabelle 42: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Rotkleeblüten

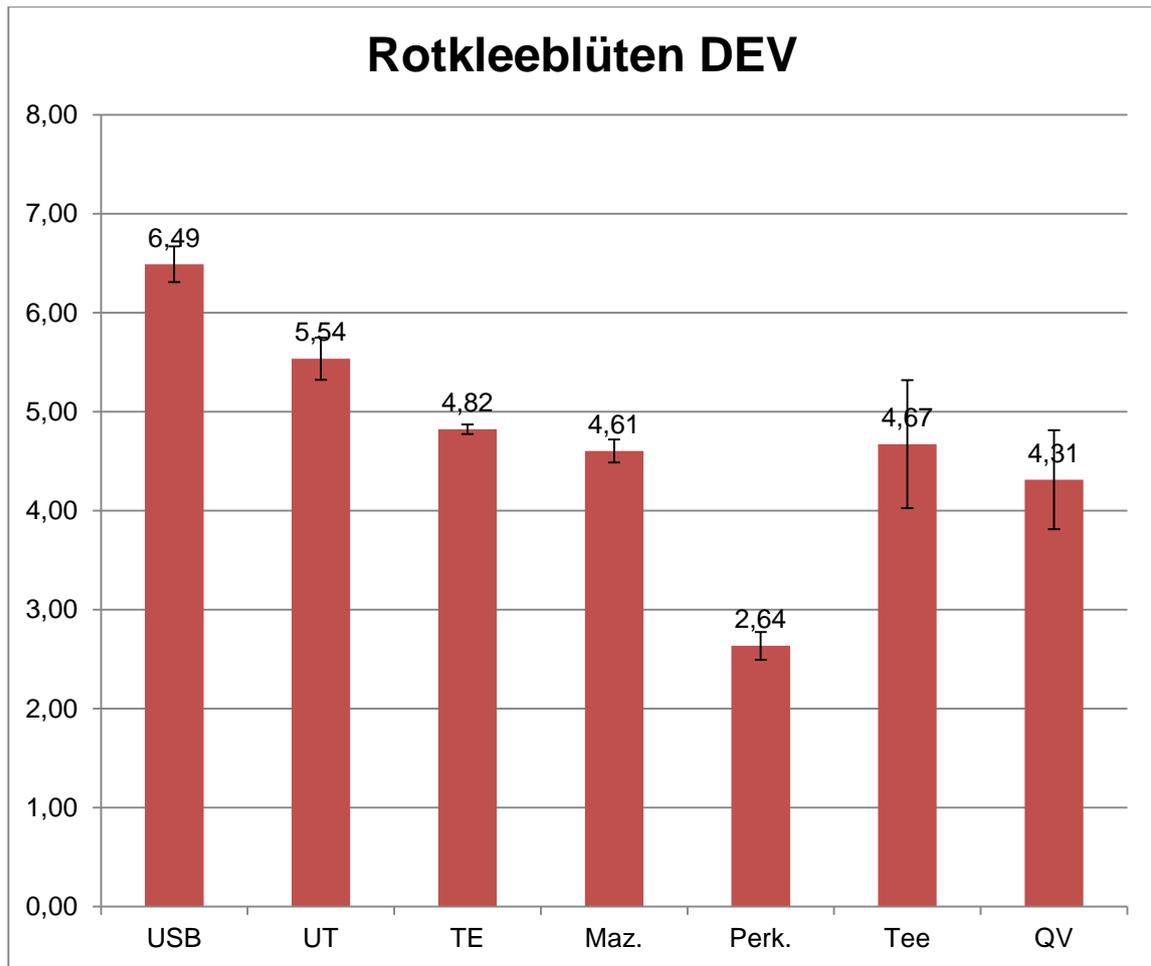


Diagramm 9: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Rotkleeb Blüten

	USB	UT	TE	Maz.	Perk.	Tee	QV
MW	6,491	5,537	4,824	4,605	2,636	4,673	4,315
%RSD	0,181	0,212	0,049	0,116	0,140	0,646	0,499

Tabelle 43: Diagrammdaten des DEV von Rotkleeb Blüten

10.4.2 Diskussion der verschiedenen Extraktionen von Rotkleeblüten

- Die Perkolation und die Extraktion nach der Quantifizierungsvorschrift lieferten ähnliche Ergebnisse und sie enthielten auch den größten Gehalt an Isoflavonen.
- Ebenso war der Isoflavon-Gehalt bei der Ultraschall-, Ultra-Turrax- und Turboextraktion ähnlich.
- Mit 0,2 % lieferte die Extraktion mit heißem Wasser den geringsten Gehalt.

11. Diskussion

Setzt man bei jeder Arzneipflanze den Gehalt der besten Extraktionsmethode 100 % und berechnet die Ergebnisse der anderen Extraktionsmethoden im Verhältnis dazu, so erhält man folgendes Diagramm:

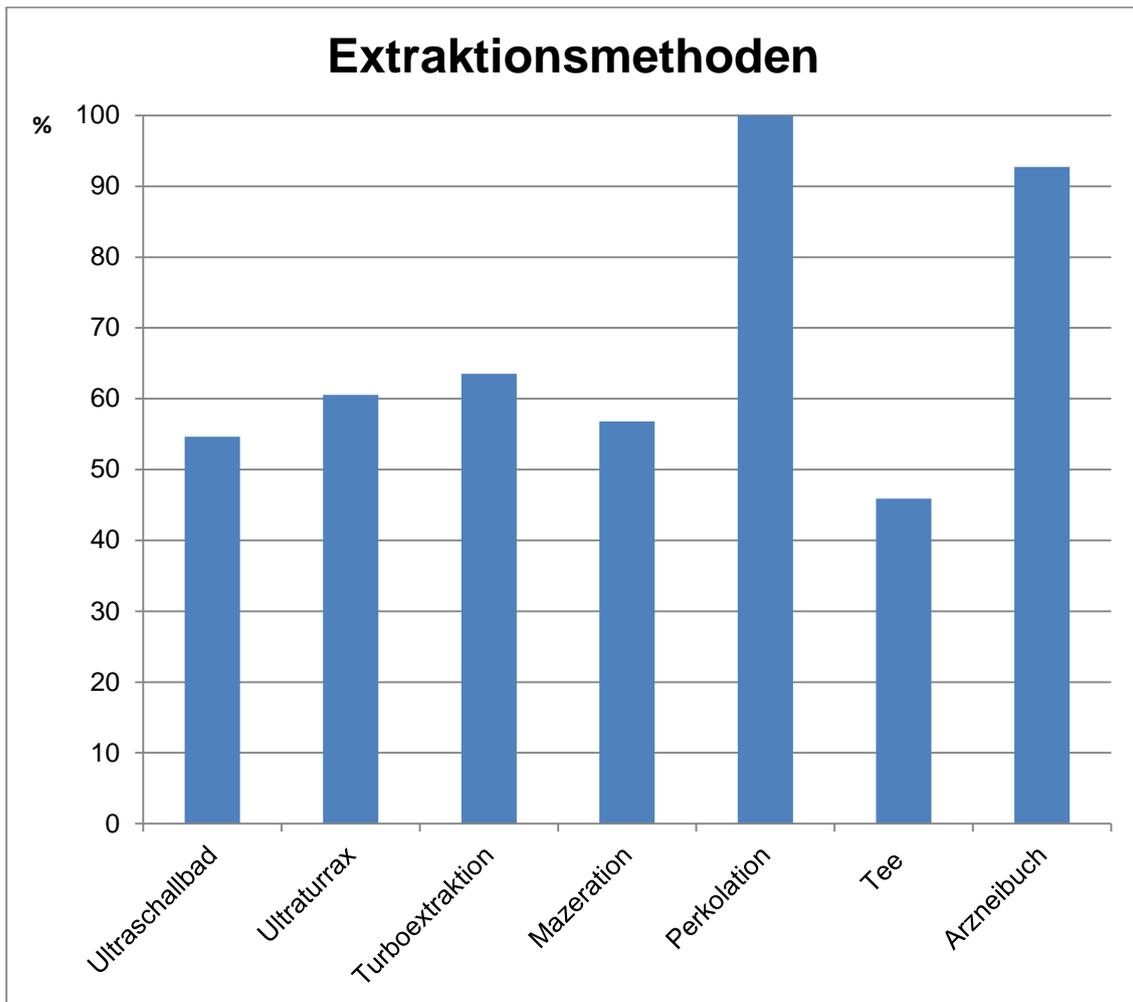


Diagramm 10: Vergleich der Extraktionsmethoden

- Extraktion durch Perkolation:
Die Perkolation war bei allen vier Arzneipflanzen die beste Extraktionsmethode. Das beruhte vor allem auf die Ergebnisse der Baldrianwurzel und der Efeublätter, die einen viel höheren Gehalt an Inhaltsstoffen durch die Extraktion mittels Perkolation besitzen. Bei den Arnikablüten und den Rotkleeb Blüten war der Gehalt an Inhaltsstoffen bei der Perkolation nur gering höher als bei den anderen Extraktionsmethoden.

- Ultraschall-, Ultra-Turrax- und Turboextraktion:
Die nicht offizinellen Extraktionsmethoden lieferten ebenfalls gute Ergebnisse. Im Vergleich zu der Perkolation allerdings deutlich geringere Extraktionsausbeuten. Jedoch war der zeitliche Vorteil von 12 Minuten im Vergleich zu 6 Tagen zu berücksichtigen.
Im Allgemeinen war die Ultraschallextraktion verglichen mit der Ultra-Turrax- und Turboextraktion als weniger effizient zu betrachten.

- Extraktion durch Mazeration:
Die Ergebnisse der Mazeration waren im Vergleich mit der Perkolation viel schlechter. Im Vergleich zu den nicht offizinellen Extraktionsmethoden lieferte sie allerdings nur etwas geringere Werte. Zu berücksichtigen war auch hier der zeitliche Vorteil von 12 Minuten im Vergleich zu 9 Tagen bei der Mazeration.

- Teezubereitung:
Im Efeublätter-Tee war ein hoher Gehalt an Hederacosid C nachzuweisen. Bei den Baldrianblüten, Rotkleebblüten und Arnikablüten waren im Tee jedoch geringe Inhaltsstoffe, entsprechend der geringeren Löslichkeit der apolaren Verbindungen, enthalten.

Parallel zu dieser Arbeit hat meine Kollegin Hartl Dorothea [2] an drei weiteren Arzneipflanzen die effektivste Extraktionsmethode untersucht:

- Holunderblüten (Flavonoide)
- Salbeiblätter (ätherisches Öl)
- Thymian (ätherisches Öl)

Auch hier wurde die Perkolation als am weitaus effektivsten beurteilt, mit Abstand gefolgt von der Mazeration und den nicht offizinellen Extraktionsmethoden.

Jedoch sind durch die relativ geringe Anzahl der Arzneipflanzen weitere Untersuchungen an anderen Arzneipflanzen mit gleichen und unterschiedlichen Wirkstoffklassen notwendig, um eine endgültige Aussage über die effektivste Extraktionsmethode treffen zu können.

12. Zusammenfassung

Es gibt unterschiedliche Extraktionsmethoden für Arzneidrogen zur Herstellung von Arznei-Zubereitungen. Welche Extraktionsmethode und welche Extraktionsflüssigkeit man verwendet, hängt von den Eigenschaften der Inhaltsstoffe, vor allem von deren Löslichkeit ab [1].

In den Arzneibüchern werden bestimmte Extraktionsmethoden bei bestimmten Arzneipflanzen vorgeschrieben. Der Grund dafür ist nicht immer klar. Anhand der Diplomarbeit sollte die Effektivität und die Reproduzierbarkeit verschiedener Extraktionsverfahren vergleichend untersucht werden. Es wurden sowohl offizielle Extraktionsmethoden, wie Mazeration und Perkolation, als auch nicht offizielle Extraktionsmethoden, wie Ultraschall-, Ultra-Turrax- und Turboextraktion, durchgeführt. Als Extraktionsmittel wurde 70 % Ethanol, mit Ausnahme der Teezubereitung mit Wasser, verwendet.

Die Quantifizierung der Wirkstoffe erfolgte mit der Hochleistungsflüssigchromatographie.

Extraktionsmethode	Extraktionszeit
Ultraschallextraktion	12 Minuten
Ultra-Turrax- Extraktion	12 Minuten
Turboextraktion	12 Minuten
Mazeration	9 Tage
Perkolation	6 Tage
Tee	10 Minuten

Tabelle 44: Extraktionsmethoden

Die untersuchten Arzneipflanzen und deren Wirkstoffgruppen waren:

- Arnikablüten Sesquiterpenlactone
- Baldrianwurzel Sesquiterpensäuren
- Efeublätter Saponine
- Rotkleeblüten Isoflavone

Es konnte festgestellt werden, dass

- die Perkolation die besten Extraktionsausbeuten lieferte.
- die Ultra-Turrax- Extraktion und die Turboextraktion ebenfalls gute Ergebnisse zeigten.
- die Ultraschallextraktion und die Mazeration vergleichsweise schlechtere Ausbeuten ergaben.
- die Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitung) die geringsten Ausbeuten lieferte.

13. Summary

There are different extraction methods for the production of pharmaceutical preparations. Which extraction method and which extraction liquid is used, depends on the properties of the ingredients especially on their solubility [1].

In pharmacopoeias certain extraction methods on specific medicinal plants are used. The reason is sometimes unclear. On the basis of the diploma thesis the effectiveness and reproducibility of different extraction methods was studied comparatively. There are both officinal extraction methods, such as maceration and percolation, and non-official extraction methods, such as ultrasound, ultra-Turrax and Turboextraction performed. As solvent 70% ethanol was used, with the exception of tea-preparation with water. Quantification was performed using high performance liquid chromatography.

extraction method	extraktion time
ultrasound extraction	12 minutes
Ultra-Turrax-Extraction	12 minutes
Turboextraction	12 minutes
Maceration	9 days
Percolation	6 days
Tea	10 minutes

Tabelle 45: extraction methods

The studied medicinal plants and their active groups were:

- Arnica flowers sesquiterpenlactones
- Valerian root sesquiterpenacid
- Ivy leaves saponins
- Red clover flowers isoflavones

It was found that

- the percolation provided the best results
- the Ultra-Turrax-extraction and the Turboextraction also provided good results
- Ultrasonic-extraction and maceration were comparatively poor
- the extraction of hot water provided the least amount of ingredients.

14. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
conc.	Konzentration
DEV	Droge- Extrakt- Verhältnis
engl.	Englisch
EuAB	Europäisches Arzneibuch
EW	Einwaage
Maz.	Mazeration
MW	Mittelwert
MOF	Methoxyflavanon
ÖAB	Österreichisches Arzneibuch
Perk.	Perkolation
Ph.Eur.	Pharmacopoea Europaea
Pr.nr.	Probennummer
QV	Quantifizierungsvorschrift
%RSD	Relative Standardabweichung
TE	Turboextraktion
u.a.	und andere
USB	Ultraschallbad, -extraktion
UT	Ultra-Turrax- Extraktion
V	Volumen
z. B.	zum Beispiel

Tabelle 46: Abkürzungstabelle

15. Diagrammverzeichnis

Diagramm 1: Ergebnisse der vergleichenden Extraktionsverfahren von Holunderblüten	19
Diagramm 2: Vergleich der Extraktionsmethoden von Arnikablüten	54
Diagramm 3: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Arnikablüten	56
Diagramm 4: Vergleich der Extraktionsmethoden von Baldrianwurzel	65
Diagramm 5: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Baldrianwurzel	67
Diagramm 6: Vergleich der Extraktionsmethoden von Efeublätter	72
Diagramm 7: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Efeublättern.....	75
Diagramm 8: Vergleich der Extraktionsmethoden von Rotkleeblüten	83
Diagramm 9: DEV nach verschiedenen Extraktionen von Rotkleeblüten	85
Diagramm 10: Vergleich der Extraktionsmethoden.....	87

16. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Holunderblüten, Flavonoidgehalt (%), berechnet als Isoquercitrin.....	16
Tabelle 2: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Holunderblüten, Flavonoidgehalt (%), berechnet als Isoquercitrin.....	17
Tabelle 3: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Holunderblüten, Flavonoidgehalt (%), berechnet als Isoquercitrin.....	18
Tabelle 4: Ergebnisse der Flavonoidgehalte von Holunderblüten nach verschiedenen Extraktionen.....	20
Tabelle 5: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml).....	47
Tabelle 6: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml).....	48
Tabelle 7: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml).....	49
Tabelle 8: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml).....	50
Tabelle 9: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0097 mg/ml).....	51
Tabelle 10: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0098 mg/ml).....	52

Tabelle 11: Ergebnisse der Extraktion nach der Arzneibuch-Vorschrift für Arnikablüten, Sesquiterpenlactone (%), berechnet als Dihydrohelenalintiglat (Konzentration des Santonins: 1,0098 mg/ml).....	53
Tabelle 12: Diagrammdaten von Arnikablüten.....	54
Tabelle 13: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Arnikablüten.....	55
Tabelle 14: Diagrammdaten des DEV von Arnikablüten.....	56
Tabelle 15: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03047 g)	58
Tabelle 16: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03047 g)	59
Tabelle 17: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des	60
Tabelle 18: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03047 g)	61
Tabelle 19: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03300 g)	62
Tabelle 20: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03300 g)	63
Tabelle 21: Ergebnisse der Extraktion nach der Arzneibuch-Vorschrift für Baldrianwurzel, Sesquiterpensäuren (%), berechnet als Valerensäure, (Einwaage des Dantrons: 0,03300 g)	64
Tabelle 22: Diagrammdaten von Baldrianwurzel	65
Tabelle 23: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Baldrianwurzel	66

Tabelle 24: Diagramm Daten des DEV von Baldrianwurzel	67
Tabelle 25: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)	69
Tabelle 26: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)	69
Tabelle 27: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)	70
Tabelle 28: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Efeublättern, Hederacosid C (%).....	70
Tabelle 29: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Efeublättern, Hederacosid C (%).....	71
Tabelle 30: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Efeublättern, Hederacosid C (%), (Einwaage des Standards: 5,10 mg)	71
Tabelle 31: Ergebnisse nach der Extraktion gemäß dem Arzneibuch für Efeublätter, Hederacosid C, (Einwaage des Standards: 5,10 mg).....	72
Tabelle 32: Diagramm Daten von Baldrianwurzel	73
Tabelle 33: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Efeublättern	74
Tabelle 34: Diagramm Daten des DEV von Efeublättern	75
Tabelle 35: Ergebnisse der Extraktion am Ultraschallbad (USB) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%), (Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g).....	77
Tabelle 36: Ergebnisse der Extraktion am Ultra-Turrax (UT) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%),(Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g).....	78
Tabelle 37: Ergebnisse der Extraktion am Turboextraktor (TE) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%), (Einwaage des 6-Methoxyflavanons: 0,00060788 g).....	79
Tabelle 38: Ergebnisse der Extraktion durch Mazeration von Rotkleeblüten,	80
Tabelle 39: Ergebnisse der Extraktion durch Perkolation von Rotkleeblüten,	81
Tabelle 40: Ergebnisse der Extraktion mit heißem Wasser (Teezubereitungen) von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%).....	82

Tabelle 41: Ergebnisse der Extraktion nach der Quantifizierungsvorschrift von Rotkleeblüten, Isoflavonoide (%).....	82
Tabelle 42: Diagramm Daten von Rotkleeblüten.....	83
Tabelle 43: Ergebnis der Droge-Extrakt-Verhältnisse von Rotkleeblüten.....	84
Tabelle 44: Diagramm Daten des DEV von Rotkleeblüten	85
Tabelle 45: Extraktionsmethoden	89
Tabelle 46: extraction methods	91
Tabelle 47: Abkürzungstabelle	92

17. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Braunglasgefäß für die Extraktion durch Mazeration	4
Abbildung 2: Perkolator.....	6
Abbildung 3: Ultraschallbad.....	7
Abbildung 4: Ultra-Turrax-Gerät	8
Abbildung 5: Turboextraktor	9
Abbildung 6: Aufbau einer HPLC Säulenchromatographie [9]	11
Abbildung 7: HPLC-Injektor (Probenaufgabeeventil) [10]	11
Abbildung 8: schematisches HPLC-Chromatogramm [13].....	12
Abbildung 9: Arnikablüten [29]	22
Abbildung 10: Strukturformeln des Helenalins (links) und des Dihydrohelenalins (rechts)	22
Abbildung 11: Chromatogramm von Arnikablüten	28
Abbildung 12: Baldrianwurzel [30].....	29
Abbildung 13: Strukturformeln (Valerensäure und Acetoxyvalerensäure).....	29
Abbildung 14: Chromatogramm von Baldrianwurzel.....	35
Abbildung 15: Efeublätter [32].....	36
Abbildung 16: Strukturformel von Hederacosid C.....	36
Abbildung 17: Chromatogramm von Efeublättern.....	41
Abbildung 18: Chromatogramm vom externen Standard.....	42
Abbildung 19: Rotkleeblüten [33]	43
Abbildung 20: Strukturformeln (Formononetin, Biochanin A)	43
Abbildung 21: Chromatogramm von Rotkleeblüten	46

„Ich habe mich bemüht, sämtliche Inhaber der Bildrechte ausfindig zu machen und ihre Zustimmung zur Verwendung der Bilder in dieser Arbeit eingeholt. Sollte dennoch eine Urheberrechtsverletzung bekannt werden, ersuche ich um Meldung bei mir.“

18. Literaturverzeichnis

- [1] R. Voigt, Pharmazeutische Technologie - Für Studium und Beruf, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 2006, p. 523.
- [2] D. Hartl, Vergleichende Untersuchung zur Extraktion von Arzneidrogen, Diplomarbeit Universität Wien, 2015.
- [3] Österreichisches Arzneibuch, Österreich, 2013, p. 36.
- [4] Europäisches Arzneibuch, 6. Ausgabe, Grundwerk 2008, pp. 964-965.
- [5] Bauer/Frömming/Führer, Pharmazeutische Technologie - Mit Einführung der Biopharmazie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2012, p. 646.
- [6] R. Voigt, Pharmazeutische Technologie - Für Studium und Beruf, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 2006, p. 530.
- [7] H. Ammon, Hunnius - Pharmazeutisches Wörterbuch, Walter de Gruyter, 9. Auflage, 2004, p. 1477.
- [8] M. Wichtl, Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 5. Auflage, 2009, p. 15.
- [9] Dominik, Steinhilber und Wurglics, Instrumentelle Analytik kompakt, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 3. Auflage, 2013, p. 244 ff..
- [10] Dominik, Steinhilber und Wurglics, Instrumentelle Analytik kompakt, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 3. Auflage, 2013, p. 248.
- [11] Dominik, Steinhilber und Wurglics, Instrumentelle Analytik kompakt, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 3. Auflage, 2013, p. 243 ff..
- [12] Dominik, Steinhilber und Wurglics, Instrumentelle Analytik kompakt, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 3. Auflage, 2013, p. 215 f..
- [13] Dominik, Steinhilber und Wurglics, Instrumentelle Analytik kompakt, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 3. Auflage, 2013, p. 246.
- [14] M. Wichtl, Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 5. Auflage, 2009, p. 31.
- [15] Europäisches Arzneibuch, 6. Ausgabe, Grundwerk 2008, pp. 1753-1754.
- [16] Länger und Kubelka, Phytokodex - Pflanzliche Arzneispezialitäten in Österreich, Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, 2001/2002, p. 207 f..
- [17] Europäisches Arzneibuch, 6. Ausgabe, Grundwerk 2008, pp. 1706-1708.
- [18] Europäisches Arzneibuch, 6. Ausgabe, Grundwerk 2008, pp. 2777-2778.
- [19] Länger und Kubelka, Phytokodex - Pflanzliche Arzneispezialitäten in Österreich,

Krause & Pachnernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, 2001/2002, p. 210 ff..

- [20] Europäisches Arzneibuch, 5. Ausgabe, Grundwerk 2005, p. 1465 f..
- [21] Arbeitsvorschriften für das Praktikum „Gewinnung und instrumentelle Analytik biogener Arzneimittel“, Universität Wien, Pharmakognosie Department, 2013, p. 35 f..
- [22] Länger und Kubelka, Phytokodex - Pflanzliche Arzneispezialitäten in Österreich, Krause & Pachnernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, 2001/2002, p. 242 f..
- [23] Europäisches Arzneibuch, 6. Ausgabe, Grundwerk 2008, p. 2412 f..
- [24] Arbeitsvorschriften für das Praktikum „Gewinnung und instrumentelle Analytik biogener Arzneimittel“, Universität Wien, Pharmakognosie Department, 2013, p. 39.
- [25] M. Wichtl, Teedrogen und Phytopharmaka, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 5. Auflage, 2009, p. 739.
- [26] L. Krenn, I. Unterrider und R. Rupprechter, „Quantification of isoflavones in red clover by high-performance liquid chromatography,“ *ELSEVIER*, pp. 123-128, 2002.
- [27] Arbeitsvorschriften für das Praktikum „Gewinnung und instrumentelle Analytik biogener Arzneimittel“, Universität Wien, Pharmakognosie Department, 2013, p. 37.
- [28] H. Ammon, Hunnius - Pharmazeutisches Wörterbuch, Walter de Gruyter, 2004, p. 1477.
- [29] „Wachstum mit Verantwortung,“ 04 05 2015. [Online]. Available: <http://www.wachstum-mit-verantwortung.de/2013/06/kneipp-das-arnika-anbau-projekt/>.
- [30] Europäisches Arzneibuch, 6. Ausgabe, Grundwerk 2008, pp. 1704-1706.
- [31] „PharmWiki,“ 04 05 2015. [Online]. Available: <http://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Baldrian>.
- [32] Europäisches Arzneibuch, Österreich, 7. Ausgabe, Grundwerk 2011.
- [33] „Print Textures,“ 04 05 2015. [Online]. Available: <http://www.print-textures.com/natur-texturen/blatter/efeublatter.html?vmcchk=1>.
- [34] „Kissler,“ 04 05 2015. [Online]. Available: <http://www.kessler-aqua.de/pages/nagerfutter/rotklee-blueten.php>.

19. Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name: Sara Hassanein
Geburtsdatum: 10.05.1988
Geburtsort: Kairo, Ägypten
Wohnhaft: seit 1992 in Wien
Staatsangehörigkeit: Österreich



Schulbildung

1994 – 1998 Volksschule in der Gilgegasse
1998 – 2002 Unterstufe im Erich- Fried- Realgymnasium
2002 – 2006 Oberstufe im Erich- Fried- Realgymnasium und in der
Karajangasse
Juni 2006 Matura mit Ausgezeichnetem Erfolg

Studium

Seit WS 2006 Diplomstudium Pharmazie

Kenntnisse

Arabisch – Muttersprache
Deutsch
Englisch