



Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	XI
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis.....	XIII
1 Einleitung und Zielsetzung.....	1
2 Grundlagen und Kenntnisstand.....	3
2.1 Sekundäre Pflanzenstoffe – Polyphenole.....	3
2.1.1 Klassifizierung der Polyphenole.....	3
2.1.2 Phenolische Säuren: Hydroxybenzoesäure, Hydroxyzimtsäure.....	4
2.1.3 Flavonoide.....	5
2.1.3.1 Flavonole, Flavanone, Flavone und Flavanonole.....	6
2.1.3.2 Flavan-3-ole (Catechine).....	7
2.1.3.3 Proanthocyanidine.....	8
2.1.3.4 Anthocyanidine.....	11
2.1.4 Biosynthese.....	13
2.1.4.1 Biosynthese der Polyphenole.....	13
2.1.4.2 Biosynthese der Proanthocyanidine.....	15
2.1.5 Physiologische und gesundheitsbezogene Eigenschaften der Proanthocyanidine.....	17
2.1.5.1 Antioxidative Eigenschaften.....	18
2.1.5.2 Schutz vor Herz-Kreislaufferkrankungen.....	19
2.1.5.3 Anti-kanzerogene Eigenschaften und Krebsprävention.....	20
2.1.5.4 Weitere positive Wirkungen.....	21
2.1.6 Bioverfügbarkeit der Proanthocyanidine.....	21
2.2 Untersuchte Rohstoffe.....	23
2.2.1 Traubenkernextrakte.....	23
2.2.2 <i>Afzelia bipindensis</i>	24



II

2.2.2.1 Herkunft, Botanik und Verwendung.....	24
2.2.2.2 Gesundheitsbezogene Wirkungen.....	25
2.2.3 Kakaobohnen (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	25
2.2.4 Grüner Tee.....	26
2.3 Gegenstromverteilungschromatographie.....	27
2.3.1 High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC).....	27
2.3.2 Low-Speed Rotary Countercurrent Chromatography (LSRCCC).....	31
2.3.3 Spiral-Coil Low-Speed Rotary Countercurrent Chromatography (Spiral-Coil LSRCCC)	32
2.4 Aspekte zur Analytik von Proanthocyanidinen.....	33
2.4.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie.....	34
2.4.2 Semisynthetische Darstellung dimerer Proanthocyanidine.....	36
2.4.3 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu.....	38
2.4.4 Saure Butanolyse (Bate-Smith Assay).....	39
2.4.5 Vanillin Assay.....	40
3 Ergebnisse und Diskussion.....	42
3.1 Entwicklung einer HPLC-Methode zur Quantifizierung von Proanthocyanidinen in Traubenkernextrakten.....	42
3.2 Analyse von Traubenkernextrakten der Fa. Breko GmbH.....	44
3.2.1 Proanthocyanidin-Gehalt mittels HPLC.....	44
3.2.2 Analyse des Gesamtphenolgehaltes von Traubenkernextrakten.....	47
3.2.3 Bestimmung der oligomeren und polymeren Bestandteile mittels Bate-Smith Assay... ..	48
3.2.4 Bestimmung der oligomeren und polymeren Bestandteile mittels Vanillin Assay.....	49
3.2.5 Vergleich der einzelnen Methoden.....	51
3.3 Quantifizierung von Proanthocyanidinen in Nahrungsergänzungsmitteln.....	53
3.3.1 Anwendung der entwickelten HPLC-Methode auf Nahrungsergänzungsmittel.....	55
3.3.2 Analyse von Nahrungsergänzungsmitteln mittels Folin-Ciocalteu Reagenz.....	58
3.3.3 Bestimmung der oligomeren und polymeren Bestandteile mittels Bate-Smith Assay... ..	59
3.3.4 Bestimmung der oligomeren und polymeren Bestandteile mittels Vanillin Assay.....	60



3.3.5 Vergleich der einzelnen Methoden.....	61
3.4 Isolierung von Referenzsubstanzen aus Kakaobohnen und Traubenkernextrakten zur Validierung der entwickelten HPLC-Methode.....	66
3.4.1 Isolierung und Fraktionierung von Proanthocyanidinen aus einem Traubenkernextrakt mittels HSCCC.....	68
3.4.2 Isolierung und Fraktionierung von Proanthocyanidinen aus Kakaobohnen mittels Spiral-Coil LSRCCC.....	69
3.5 Potentielle Süßstoffe aus Naturstoffen.....	73
3.5.1 Analyse der pflanzlichen Rohstoffe.....	73
3.5.2 Fraktionierung und Isolierung der Flavan-3-ole (-)-Epiafzelechin und (+)-Afzelechin aus dem Filtrat der Hexanfällung des Extrakts der <i>Afzelia bipindensis</i>	78
3.5.2.1 Fraktionierung des Filtrats der Hexanfällung des Extrakts der <i>Afzelia bipindensis</i> mittels Spiral-Coil Low-speed Countercurrent Chromatography.....	79
3.5.2.2 HSCCC-Trennung der Fraktionen F13 bis F19 der Spiral-Coil LSRCCC-5.....	83
3.6 Semisynthese zur Darstellung dimerer Proanthocyanidine mit isolierten Nucleophilen aus <i>Afzelia bipindensis</i>	84
3.6.1 Optimierung der Reaktionsparameter mit (-)-Epiafzelechin als Nucleophil.....	86
3.6.2 Isolierung der Reaktionsprodukte der Semisynthese mittels CCC.....	97
3.6.2.1 Fraktionierung des Semisyntheseprodukts aus (-)-Epiafzelechin und einem Kakaopräzipitat mittels analytischer HSCCC.....	97
3.6.2.2 Fraktionierung des Semisyntheseprodukts aus (Epi)afzelechin und einem Kakaopräzipitat.....	98
3.6.2.3 Fraktionierung des Semisyntheseprodukts aus (Epi)afzelechin und einem <i>Afzelia bipindensis</i> Präzipitat.....	101
4 Strukturaufklärung von Proanthocyanidinen.....	103
4.1 Strukturaufklärung von (-)-Epiafzelechin-4 β \rightarrow 8-(-)-Epiafzelechin (A3).....	107
5 Zusammenfassung.....	113
6 Material und Methoden.....	117
6.1 Probenmaterial.....	117
6.1.1 Kommerziell erhältliche Extrakte der Firma Breko GmbH (Bremen).....	117
6.1.2 Kommerziell erhältliche Nahrungsergänzungsmittel.....	118
6.1.3 Rohstoffe.....	119



IV

6.2 Chemikalien und Lösungsmittel.....	120
6.3 Geräte und Parameter.....	122
6.3.1 Zerkleinerungsgeräte.....	122
6.3.2 Photometer.....	122
6.3.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).....	122
6.3.3.1 Analytische HPLC-Anlage.....	122
6.3.3.2 Präparative HPLC-Anlage.....	122
6.3.3.3 Säulen, Fließmittelsysteme und Gradienten.....	123
6.3.4 Massenspektrometrie.....	124
6.3.5 Kernspinresonanz (NMR).....	125
6.3.6 Countercurrent chromatography (CCC).....	125
6.3.6.1 High-speed countercurrent chromatography (HSCCC).....	125
6.3.6.2 High-performance countercurrent chromatography (HPCCC).....	125
6.3.6.3 Spiral-Coil low speed rotary countercurrent chromatography (Spiral-Coil LSRCCC)	126
6.3.7 Gelchromatographie.....	126
6.4 Präparative und analytische Methoden.....	127
6.4.1 Screening von Naturstoffen auf (Epi)Afzelechin und seine Derivate.....	127
6.4.2 Herstellung der Extrakte.....	127
6.4.3 Hexanfällung.....	128
6.4.4 Semisynthetische Darstellung von Proanthocyanidinen.....	128
6.4.4.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen.....	128
6.4.4.2 Reaktionsansatz zur Isolierung von Proanthocyanidinen mittels CCC.....	129
6.4.5 HSCCC-Trennung.....	129
6.4.6 HPCCC-Trennung.....	130
6.4.7 Spiral-Coil LSRCCC-Trennung.....	131
6.4.8 Bestimmung der Verteilungskoeffizienten für die CCC.....	131
6.4.9 Isolierung von Proanthocyanidinen mittels präparativer HPLC.....	132
6.4.10 Isolierung von Naturstoffen mittels Gelchromatographie an Toyopearl HW-40s.....	133



6.4.11 Dünnschichtchromatographie von Proanthocyanidinen.....	134
6.5 Quantitative Methoden.....	134
6.5.1 Quantifizierung mittels HPLC.....	134
6.5.1.1 (Epi)Afzelechin und seine Derivate in Naturstoffen.....	134
6.5.1.2 Niedermolekulare Proanthocyanidine.....	135
6.5.1.3 Höhermolekulare Proanthocyanidine.....	135
6.5.2 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu.....	136
6.5.3 Saure Butanolyse (Bate-Smith Assay).....	137
6.5.4 Vanillin Assay.....	138
6.6 Physikalisch-chemische Charakterisierung der isolierten Verbindungen.....	140
7 Literaturverzeichnis.....	146
8 Anhang.....	165
Anhang A: Zusammensetzung der untersuchten Traubenkernextrakte der Firma Breko GmbH...	165
Anhang B: Zusammenfassung der Ergebnisse der CCC-Trennungen.....	166