



MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Analytischer Vergleich von Pinaceen-Balsamen sowie
Datenauswertung einer Beobachtungsstudie bei Anwendung
einer Schweinsschmalz-basierten Fichtenfaulpechsalbe

verfasst von | submitted by
Paul Prochaska BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magister pharmaciae (Mag. pharm.)

Wien | Vienna, 2025

Studienkennzahl lt. Studienblatt | Degree
programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 605

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Pharmazie

Betreut von | Supervisor:

ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Sabine Glasl-Tazreiter

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Frau Univ. Prof. Sabine Glasl für die Möglichkeit bedanken, meine Diplomarbeit am Institut für Pharmakognosie durchführen zu dürfen und somit am Projekt Fichtenfaulpech mitarbeiten zu können. Frau Univ. Prof. Sabine Glasl hatte immer ein offenes Ohr für alle meine Probleme und Anliegen und hat mich während und nach der Arbeit mit viel Motivation, Zuspruch und Geduld unterstützt.

Weiters möchte ich mich bei Frau Mag. Dr. Elisabeth Eichenauer und Frau Franziska Höller, B.Sc. für die Unterstützung während der Laborarbeiten und bei Frau Dr. Magdalene Edlinger für die Bereitstellung der Patientenfragebögen bedanken.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern und Großeltern, sowie bei all meinen Freunden, insbesondere Simon und meiner Freundin Paula bedanken. Sie haben mich stets mit Motivation, Zuspruch und Verständnis unterstützt und waren während der gesamten Zeit immer für mich da. Ohne sie wäre das alles nicht möglich gewesen.

1. Einleitung	1
2. Phytochemischer Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate	3
2.1. Zielsetzung	3
2.2. Material und Methoden.....	3
2.2.1. Pflanzenmaterial	3
2.2.2. Chromatografie	3
2.2.2.1. Dünnschichtchromatografie (DC).....	4
2.2.2.2. Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC).....	6
2.2.3. Lösungsmittel	8
2.3. Ergebnisse	9
2.3.1.1. Dünnschichtchromatografische Vergleiche.....	9
2.3.1.2. Qualitativer Nachweis ausgewählter Verbindungen via HPLC	11
2.4. Diskussion	14
3. Retrospektive Beobachtungsstudie Fichtenfaulpechsalbe	16
3.1. Zielsetzung	16
3.2. Methodik.....	16
3.2.1. Studiendesign	16
3.2.2. Prüfpräparat	17
3.2.3. Datenerhebung und Auswertung.....	18
3.3. Ergebnisse	19
3.3.1. Wundheilung/Reduktion der Wundfläche	19
3.3.2. Schmerzempfinden	19
3.3.3. Wundeigenschaften	20
3.3.4. Exemplarisches Beispiel	21
3.4. Diskussion	21
4. Zusammenfassung/ Abstract	23
5. Literaturverzeichnis:	25
6. Abkürzungsverzeichnis	27
7. Anhang	28

1. Einleitung

Kieferngewächse (Pinaceae) dazu gehören Lärche (*Larix decidua* MILL.), Fichte (*Picea abies* (L.) H. KARST) oder Schwarzföhre (*Pinus nigra* J.F.ARNOLD), sind in Europa heimische Nadelbäume. Das Harz, das bei Verletzung der Rinde gebildet wird, wird seit Generationen in Mittel- und Nordeuropa in der Volksmedizin als Fettsalbe zur Behandlung von Wunden verwendet. (Sarić-Kundalić, 2011).



Quelle: J. Saukel

Abbildung 1: Fichtenstamm, mit austretendem Faulpech, darunter ist das Harz zu sehen

Das österreichische Arzneibuch definiert Fichtenbalsam als klebrige, knetbare Masse von hellgelbem, bernsteinfarbenem bis dunkelbraunem Aussehen welches. durch Abkratzen oder Entnehmen von Astlöchern oder Hohlräumen entnommen wird. (ÖAB, 2019). Das Harz der Kiefernarten Fichte und Lärche besteht aus einer komplexen Mischung aus Zimtsäurederivaten, wie beispielsweise Ferulasäure, Lignanen, wie zum Beispiel Pinoresinol, und Harzsäuren. Harzsäuren stellen dabei den größten Anteil da und gehören zur Gruppe der Diterpene (Sipponen,

2007). Die häufigsten Harzsäuren im Fichtenharz sind dabei Abietinsäure, Dehydroabietinsäure, Neoabietinsäure, Pimarsäure, Isopimarsäure, Sandaracopimarsäure, Levopimarsäure und Palustrinsäure. Alle relevanten Harzsäuren sind in Abbildung 1 auf Seite 2 abgebildet. (Göls, 2020)

In mehreren Studien wurde neben der antimikrobiellen Wirkung auch das wundheilungsfördernde Potenzial von Fichtenharz und seinen Inhaltsstoffen nachgewiesen. In zwei klinischen Studien zeigte eine Behandlung mit Fichtenharzsalbe positive Effekte auf die Wundheilung sowohl bei Patienten mit Ulcera (Sipponen, 2008) als auch bei schlecht heilenden Wunden nach Operationen (Sipponen, 2012). Zudem wurde in vitro eine bakteriostatische Wirkung gegen Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA), Vancomycin-resistenten *Enterococcus faecalis* (VRE) und andere grampositive Bakterien nachgewiesen (Rautio, 2007). Darüber hinaus konnte in vitro eine antimykotische Wirkung gegen Dermatophyten nachgewiesen werden (Rautio, 2012).

Göls (2020) zeigte zudem, dass die Harzsäuren sowie das Lignan Pinoresinol die Migration und Proliferation von Keratinozyten in vitro fördern. Diese Prozesse spielen eine wichtige Rolle bei der Neubildung von Epithelgewebe im Rahmen der Wundheilung.

Die Lärche ist in Bezug auf Ihr wundheilendes Potential noch wenig erforscht. Einzelnen Inhaltsstoffen, wie dem Larixylacetat wurde eine antimykotische Wirkung gegen *Peronosporales viticola* (Thuerig, 2018), und vermutlich entzündungshemmende Eigenschaften nachgewiesen (Pferschy-Wenzig, 2008).

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse erscheint es sinnvoll, Zubereitungen aus Pinaceae-Exsudaten in der Behandlung komplizierter Wunden einzusetzen und damit eine alte Behandlungsmethode gestützt durch wissenschaftliche Evidenz wieder aufleben zu lassen.

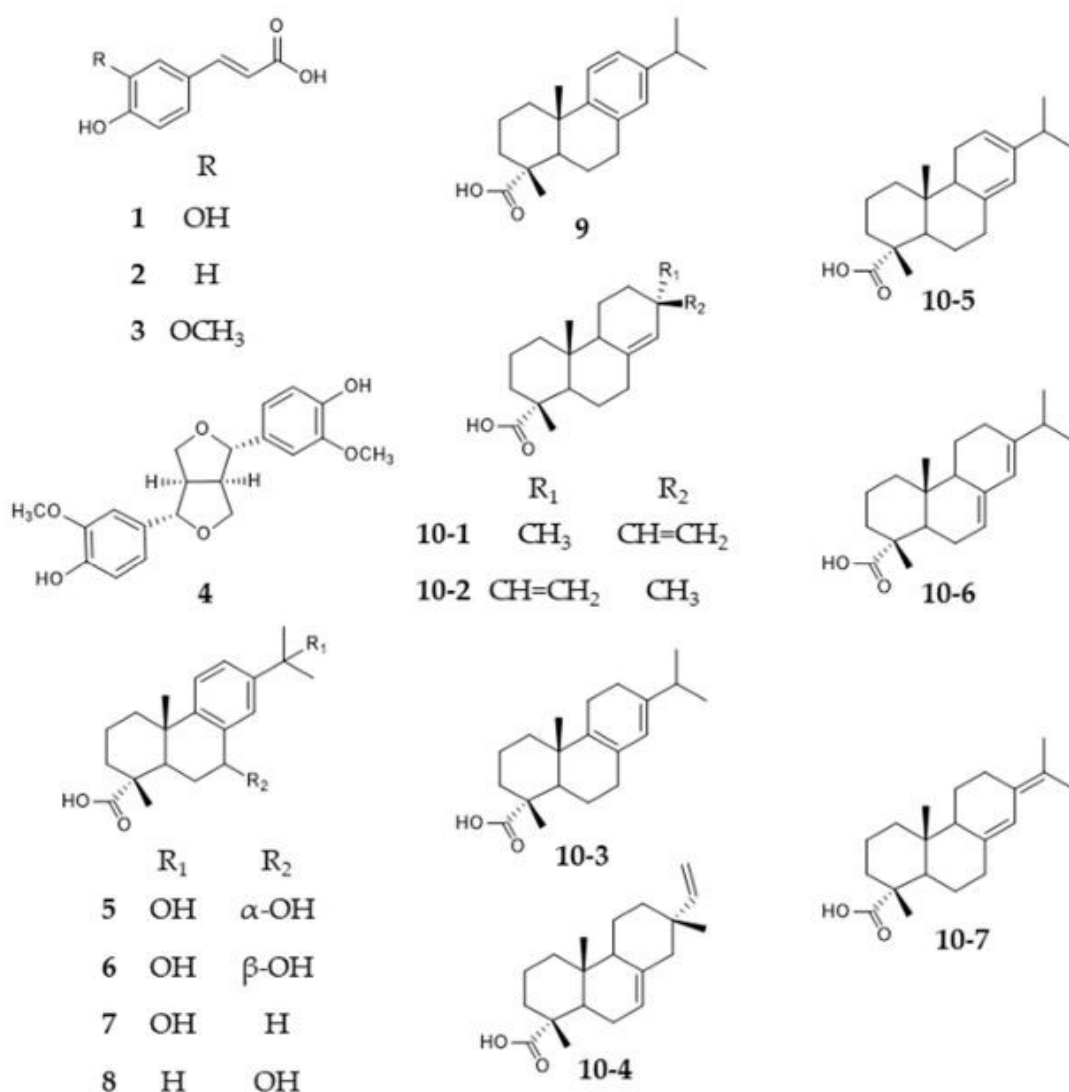


Abbildung 2: Strukturformel Inhaltstoffe *Picea abies* (L.) H. KARST

Um den Umfang einer Masterarbeit gerecht zu werden besteht diese Arbeit aus zwei Teilen. Ein Teil befasst sich mit der chemischen Analyse verschiedener Ausscheidungen aus Kieferngewächsen. Der andere Teil behandelt die Auswertung und Interpretation einer Beobachtungsstudie, welche im Zuge von Forschungsarbeiten zum Thema Fichtenfaulpech in Kooperation mit dem Klinikum Otterkring durchgeführt wurde.

2. Phytochemischer Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate

2.1. Zielsetzung

Die aktuelle Version der Monografie „Piceae abietis balsamum“ im Österreichischen Arzneibuch sieht eine einfache DC für Fichtenbalsam vor. Zusätzlich zu dieser Methode wären jedoch noch weitere analytische Parameter für die Qualitätskontrolle wünschenswert. Das erste Ziel dieser Arbeit war es, zwei verschieden komplexe chromatographische Methoden anzuwenden, um damit verschiedene Pinaceae Exsudate zu vergleichen.

2.2. Material und Methoden

2.2.1. Pflanzenmaterial

Das Fichtenfaulpech, welches eine weiß- bräunliche Farbe hat wurde in Kooperation mit den österreichischen Bundesforsten im Lungau, Salzburg gesammelt.

Das Fichtenharz ist im Vergleich zum Faulpech bernsteinfarben und hat eine sehr klebrige Konsistenz. Es wurde von Fichtenbrettern aus österreichischen Fichten gesammelt.

Das Harz sowie der Lärchenbalsam aus der Europäischen Lärche (*Larix decidua* MILL., Pinaceae) stammt von der Firma Schusser OG aus Kärnten.

Das Schwarzföhrenharz wurde von Schwarzföhren (*Pinus nigra* J.F.ARNOLD, Pinaceae) aus der Region Perchtoldsdorf in Niederösterreich gewonnen.

2.2.2. Chromatografie

Die Chromatographie ist ein Trennverfahren, das sich die unterschiedlichen Wechselwirkungen der Analyten zunutze macht, so dass sie sich zwischen einer stationären und einer mobilen Phase unterschiedlich verteilen. (Grey 2021) Für die qualitativen Analysen in dieser Arbeit wurden zwei Techniken aus dem Bereich der Flüssigchromatografie

verwendet., die Dünnschichtchromatografie (DC) und Hochleistungsflüssigchromatografie (HPLC).

2.2.2.1. Dünnschichtchromatografie (DC)

Die Dünnschichtchromatographie ist eine einfache und kostengünstige Analysenmethode. Die stationäre Phase befindet sich als dünne Schicht auf einem Trägermaterial, meist Glas oder Aluminium. Häufig verwendete Materialien für die stationäre Phase sind Silicagel, Aluminiumoxid oder Zellulose. Die mobile Phase besteht aus einem Gemisch apolarer Lösungsmittel, wobei durch das Mischungsverhältnis die Elutionskraft beeinflusst und spezifisch an die zu trennenden Substanzen angepasst werden kann.

Die Proben werden in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst und entweder manuell oder maschinell als Punkte oder Banden aufgetragen. Für die manuelle Probenaufgabe eignen sich genormte Einwegkapillaren. Eine Kapillare mit einem Volumen von 1-2 µl ergibt einen Punkt oder eine Bande von 3-4 mm. Die Proben sollten etwa 1 cm vom Rand entfernt aufgetragen werden, um eine gleichmäßige Migration der mobilen Phase zu ermöglichen. Nach dem Auftragen der Proben wird kurz gewartet, damit das Lösungsmittel verdampfen kann. Anschließend wird die Dünnschichtplatte in eine mit mobiler Phase gesättigte Entwicklungskammer überführt und mit einem Deckel verschlossen. Während die Eluentenfront durch das Absorbieren der stationären Phase wandert, wandern die zu trennenden Komponenten mit unterschiedlicher Geschwindigkeit mit. Abhängig von den chemischen Eigenschaften der Komponenten interagieren diese unterschiedlich stark mit den polaren Silanolgruppen der mobilen Phase, was zu einer Trennung führt.

Nach der Trennung der Komponenten wird die Dünnschichtplatte aus der Kammer entnommen und getrocknet. Die Spots oder Banden werden anschließend meist durch Derivatisierung oder eine andere chemische Behandlung sichtbar gemacht, um die Ergebnisse interpretieren zu können. (Wall, 2006)

Für die Versuche wurden Dünnschichtplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ aus Aluminium und Glas der Firma Merck verwendet. Mobile Phase A: Chloroform, Methanol, Ameisensäure im Verhältnis 97+2+1; Mobile Phase B: Chloroform, Methanol, und Trifluoressigsäure im Verhältnis 97+3+0,1. Eine Auflistung der verwendeten Lösemittel finden sich im Kapitel Lösemittel.

Zur Herstellung der Standards wurde das Pflanzenmaterial eingewogen und mit einer Kolbenhubpipette die erforderliche Menge Lösungsmittel (Aceton oder Dichlormethan) zu pipettiert, um die in Tabelle 1(S.5) angegebenen Konzentrationen zu erhalten. Danach wurden zentrifugiert, um vorhandene Schwebstoffe zu entfernen.

Die verwendeten Reinsubstanzen wurden in Methanol gelöst. Eine Auflistung der verwendeten Standardkonzentrationen findet sich in Tabelle1, am Ende dieses Kapitels. Die Rf-Werte wurde mit folgender Formel berechnet:

$$Rf = \frac{\text{Laufmittelstrecke Substanz}}{\text{Laufmittelstrecke mobile Phase}}$$

Die Proben wurden händisch mit einer Glaskapillare, im Abstand von 2cm oder via CAMAG Automatic TLC sampler 4 bandenförmig aufgetragen. Die aufgetragenen Volumina finden sich in der Tabelle am Ende dieses Kapitels. Die Entwicklung der Platten erfolgte händisch oder wurde durch CAMAG Automatic Developing Chamber (ADC2) mit einer der oben genannten mobilen Phasen durchgeführt. Anschließend wurden die getrockneten Platten via CAMAG TLC Visualizer unter Tageslicht und unter UV-Licht bei Wellenlänge 254nm und 366nm fotografiert. Durch Derivatisierung mit Anisaldehyd/Schwefelsäure konnte eine bessere Sichtbarkeit der Spots erreicht werden.

Tabelle1: Konzentrationen und appliziertes Volumen der DC-Standards.

Probe	Konzentration [mg/mL]	Volumen [µL]
LH	10	5
LB	10	5
SF	10	5
FH	10	5
"13"	10	5
NAA	0,5	10
PR	1	5
DHAA	1	15
p-CU	5	5
FA	2,5	5

2.2.2.2. Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Seit über 50 Jahren ist die Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) eine der wichtigsten analytischen Methoden in der pharmazeutischen Analytik. Mit ihr lassen sich bis zu 80 % aller Substanzen präzise und reproduzierbar analysieren. Im Vergleich zur klassischen Flüssigchromatografie (LC) werden für die HPLC spezielle Trennsäulen eingesetzt, die in der Regel eine Länge von etwa 25 cm und eine Partikelgröße der stationären Phase von rund 5 μm aufweisen. Diese feinkörnige Packung der Säule führt zu einer höheren Trennleistung, da die Oberfläche für Wechselwirkungen zwischen Analyten und stationärer Phase vergrößert wird (Grey, 2020).

Durch die feine Packung der stationären Phase erhöht sich jedoch der Strömungswiderstand innerhalb der Säule erheblich. Während in der klassischen LC die Schwerkraft ausreicht, um die mobile Phase durch die Säule zu transportieren, erfordert die HPLC den Einsatz leistungsstarker Pumpen, die Drücke von mehreren hundert bar erzeugen können. Diese Hochdruckpumpen gewährleisten einen gleichmäßigen Fluss der mobilen Phase durch die dicht gepackte Säule und ermöglichen so eine schnelle und effiziente Trennung der Analyten.

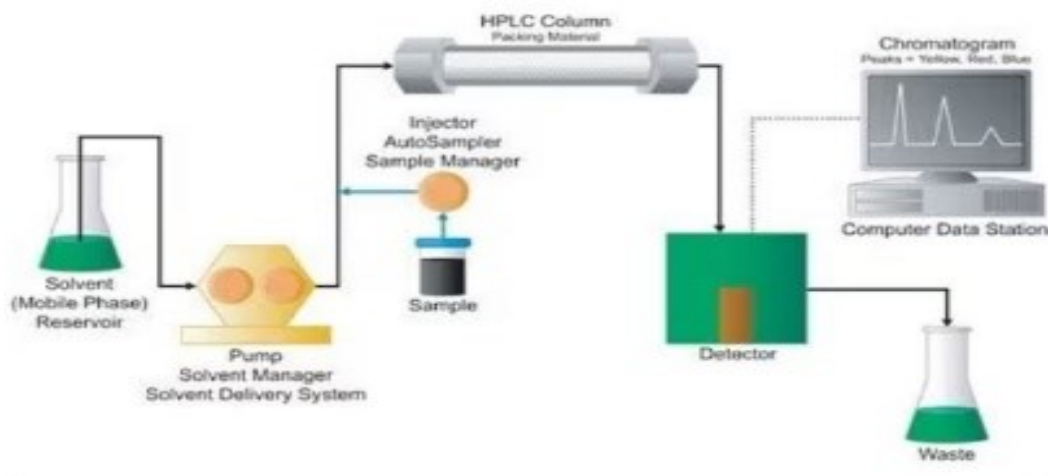


Abbildung 3: Schema HPLC- System

Eine der am häufigsten verwendeten stationäre Phase ist die C-18-Umkehrphase (RP). Die C-18-Umkehrphase besteht aus modifizierten Kieselgelen, welche Alkylgruppen eingefügt wurden, um die lipophilen Eigenschaften zu erhöhen. Für die mobile Phase werden häufig Gemische aus Acetonitril/Wasser oder Methanol/Wasser eingesetzt, wobei Zusätze wie Pufferlösungen, Säuren oder Ionenpaarreagenzien verwendet werden, um die Trennungseffizienz zu verbessern und die Retention von Analyten zu steuern.

Die mobile Phase wird mit einer Fließgeschwindigkeit von 0,1–10 ml/min und einem Druck von bis zu 400 bar durch die Säule gepumpt. Die Injektion der Probe erfolgt über ein

Probenaufgabeventil, das mit einer Dosierschleife ausgestattet ist. Dies ermöglicht eine präzise Probenaufnahme bei konstantem Druck, was zu einer gleichmäßigen Injektion und damit zu einer besseren Reproduzierbarkeit der Analyse führt.

Nach der Trennung der Komponenten erfolgt die Detektion mittels eines Photodiodenarray-Detektors (PDA). Für die Detektion mit einem PDA-Detektor ist ein chromophores System erforderlich, das Licht absorbieren kann. Fehlt ein solches System, kann eine Derivatisierung der Proben durchgeführt werden, um lichtabsorbierende Derivate zu erzeugen, die eine effektive Detektion ermöglichen. (Dominik, 2013)

Für die HPLC Untersuchungen kam ein System der Firma Shimadzu zum Einsatz. Eine genau Auflistung der Geräte befindet sich in der nachstehenden Tabelle.

Tabelle 2: Auflistung HPLC Instrumente

HPLC Geräte	SHIMADZU Degasser DGU-20A5 Shimadzu Auto Sampler SIL-20AC HAT Shimadzu Communications Bus Module CBM-20A Shimadzu Liquid Chromatograph LC-20AD Shimadzu Column Oven CTO-20AC Shimadzu Diode Array Detector SPD-M20A
Software	Shimadzu Lab Solutions Software
Stationäre Phase	LiCrospher 100 RP18e, 5 m, 250 mm x 4 mm, Merck KGaA, Darmstadt
Mobile Phase	Solvent A: Wasser + 0,1% Ameisensäure Solvent B: Acetonitril + 0,1% Ameisensäure

Die Elution erfolgte als Gradientenelution, beginnend mit 15% Solvent B, Steigerung bis 95% Solvent B. Eine grafische Darstellung des Gradienten befindet sich im Anhang. Die Herstellung der Standards wird im Kapitel 2.2.2.1 DC beschrieben. Die verwendeten Standardkonzentrationen finden sich in Tabelle3.

Tabelle 3: Konzentration und Einspritzvolumen der HPLC Standards

Probe	Konzentration [mg/mL]	Volumen [µL]
LH	10	5
LB	10	5
SF	10	5
FH	10	5
"13"	10	5
NAA	0,5	5
PR	1	5
DHAA	1	5
p-CU	5	5
IPA	1	5
SPA	1	5
LPA	1	5
FA	2,5	5

2.2.3. Lösungsmittel

In diesem Kapitel sind alle in dieser Arbeit verwendeten Lösungsmittel aufgelistet.

Tabelle 4: Auflistung Lösungsmittel

Lösungsmittel	Bezeichnung	Hersteller
Methanol	HiPer Solv Chromanorm HPLC-MS grade	VWR
Chloroform	AnalaR NORMAPUR	VWR
Aceton	AnalaR NORMAPUR	VWR
Dichlormethan	AnalaR NORMAPUR	VWR
Ameisensäure	Ameisensäure 99-100%	Chem-Lab NV
Wasser	Doppelt destilliertes Wasser	Uni Wien
Acetonitril	Acetonitril HiPerSolv Chromanorm	VWR
Trifluoressigsäure	Trifluoroacetic Acid 61030	Riedel- de Haen AG

2.3. Ergebnisse

2.3.1.1. Dünnschichtchromatografische Vergleiche

In Vorversuchen wurden verschiedene Laufmittelkombinationen getestet, um eine zufriedenstellende Trennung der Komponenten zu gewährleisten. Zwei Laufmittelkombinationen zeigten die besten Ergebnisse: Chloroform, Methanol, Trifluoressigsäure im Verhältnis 97+3+0,1 und Chloroform, Methanol, Ameisensäure im Verhältnis 97+2+1. Diese beiden Laufmittelkombinationen wurden als mobile Phase für die weiteren Versuche verwendet.

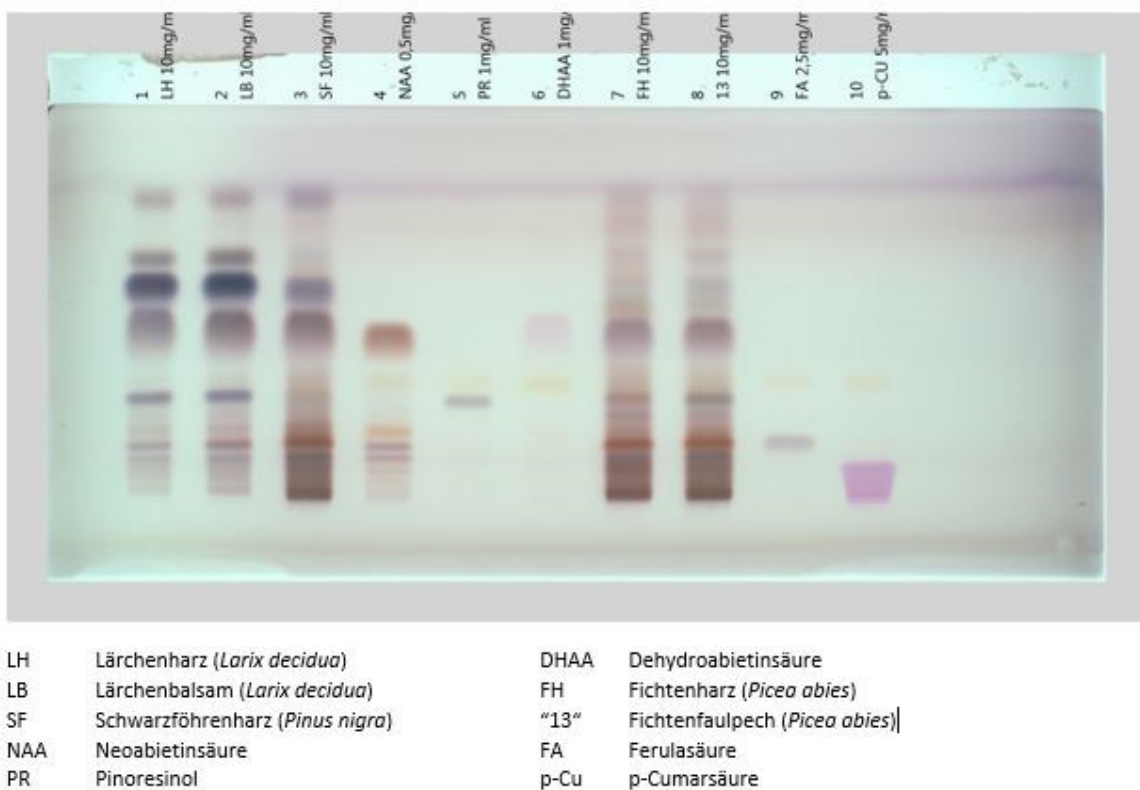


Abbildung 4: TLC-Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate und Referenzsubstanzen (Details siehe Kapitel 2.2.2.1 DC); Stationäre Phase: Silica gel 60G F₂₅₄; Mobile Phase: Chloroform-Methanol-Trifluoressigsäure (97+3+0,1); Derivatisiert mit Anisaldehyd/Schwefelsäure unter Vis; Aufgetragen und entwickelt via CAMAG TLC System

Lärchenharz und Lärchenbalsam zeigten die deutlichsten Unterschiede im Bereich R_f 0,6-0,8 und R_f 0,2-0,3. Das Harz der Schwarzföhre zeigte eine zusätzliche Bande bei R_f 0,7. Fichtenharz und Fichtenfaulpech zeigten vergleichbare Banden über das gesamte Chromatogramm. Das gleiche gilt für Lärchenharz und Lärchenbalsam. Die Harzsäuren konnten nicht getrennt werden. NAA, DHAA und alle anderen Harzsäuren erschienen als eine große Bande bei R_f 0,5

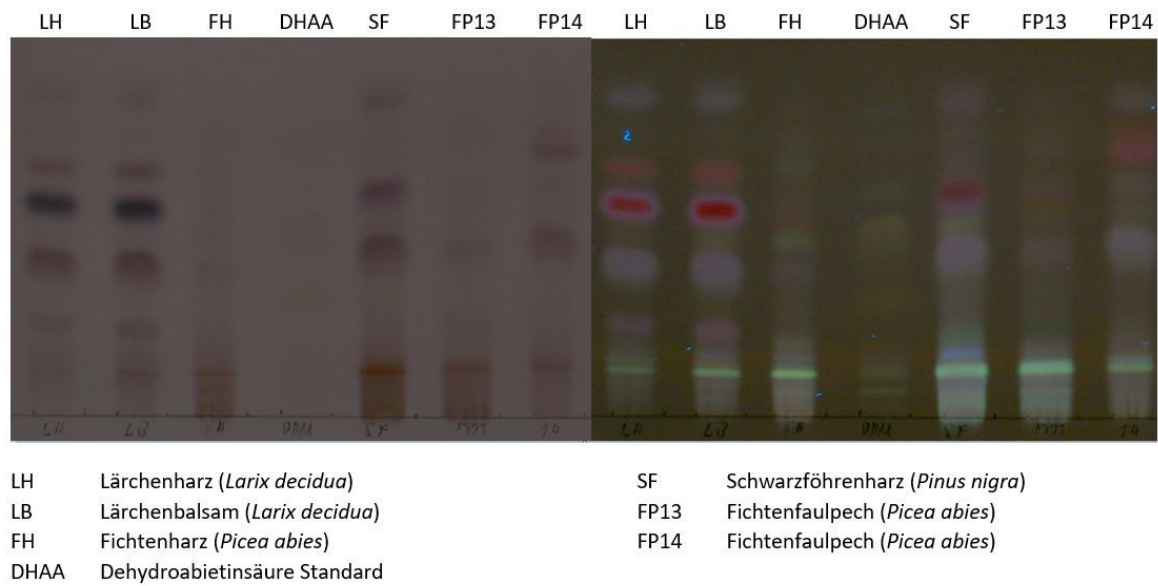


Abbildung 5: TLC-Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate und Referenzsubstanzen. (Details siehe Kapitel 2.2.2.1 DC) Stationäre Phase: Silica gel 60G F₂₅₄; Mobile Phase: Chloroform-Methanol-Ameisensäure (97+2+1); Derivatisiert mit Anisaldehyd/Schwefelsäure unter Vis;

2.3.1.2. Qualitativer Nachweis ausgewählter Verbindungen via HPLC

Im folgenden Kapitel finden sich alle relevanten Ergebnisse der HPLC-Analysen. Die Peaks wurden durch Vergleich mit den jeweiligen Reinsubstanzen bei ihren jeweiligen Absorptionsmaximum zugewiesen.

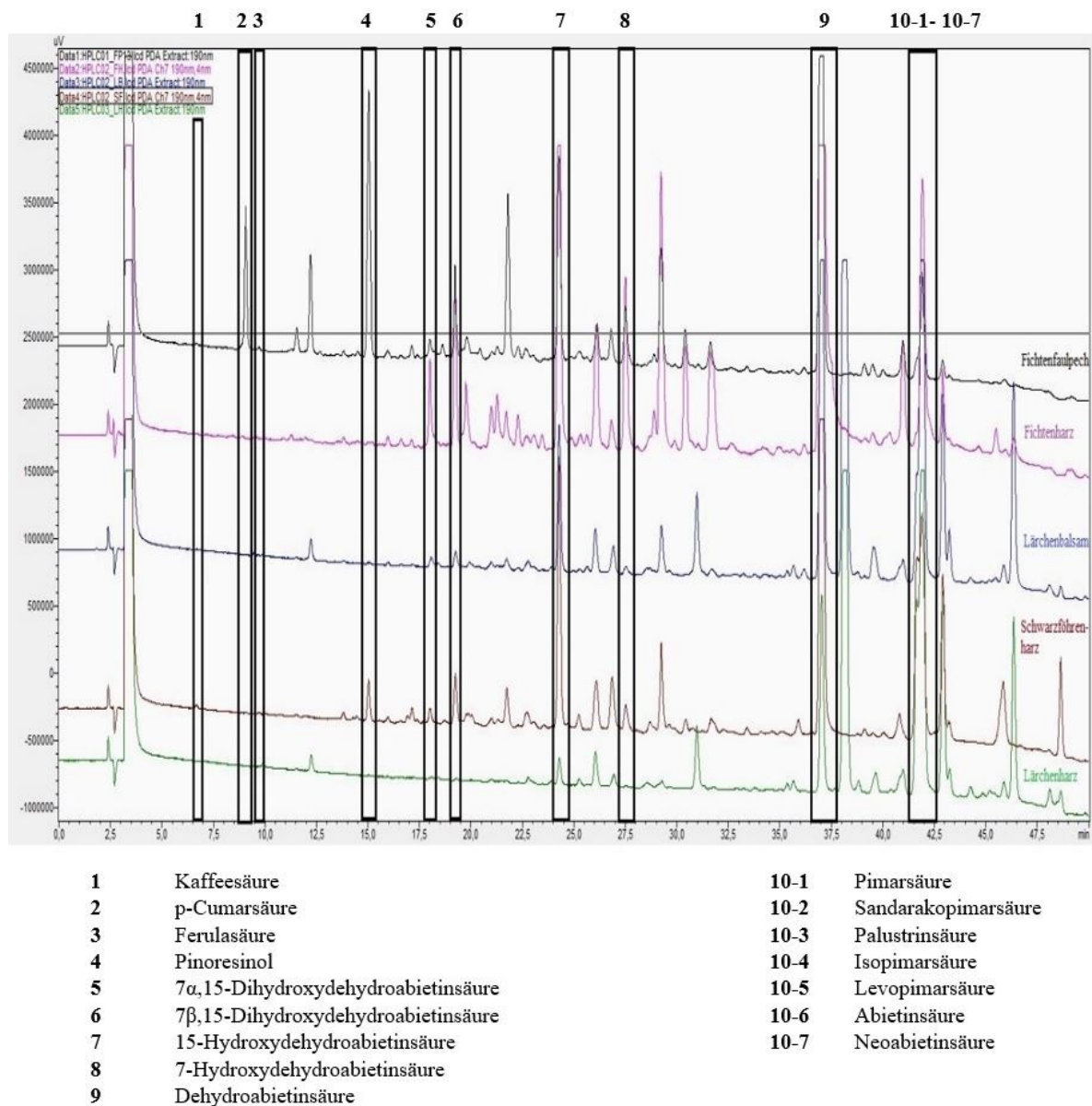


Abbildung 6: HPLC-PDA verschiedener Pinaceae- Exsudate (Herstellung und Konzentrationen Siehe Kapitel 2.2.2.2. HPLC), bei 190nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser, + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril, +0.1% Ameisensäure, Injiziertes Volumen 5 μ L

Diese Abbildung stellt eine Übersicht der identifizierten Inhaltsstoffe verschiedener Pinaceae Exsudate dar. Die Analytik der hydroxylierten Harzsäuren (**5-8**) wurde aus praktischen Gründen nicht vom Autor dieser Masterarbeit durchgeführt, sondern in der Publikation „Exudates of *Picea abies*, *Pinus nigra*, and *Larix decidua*: Chromatographic Comparison and Pro-Migratory Effects on Keratinocytes In Vitro“ (Göls, 2022), bereits erörtert.

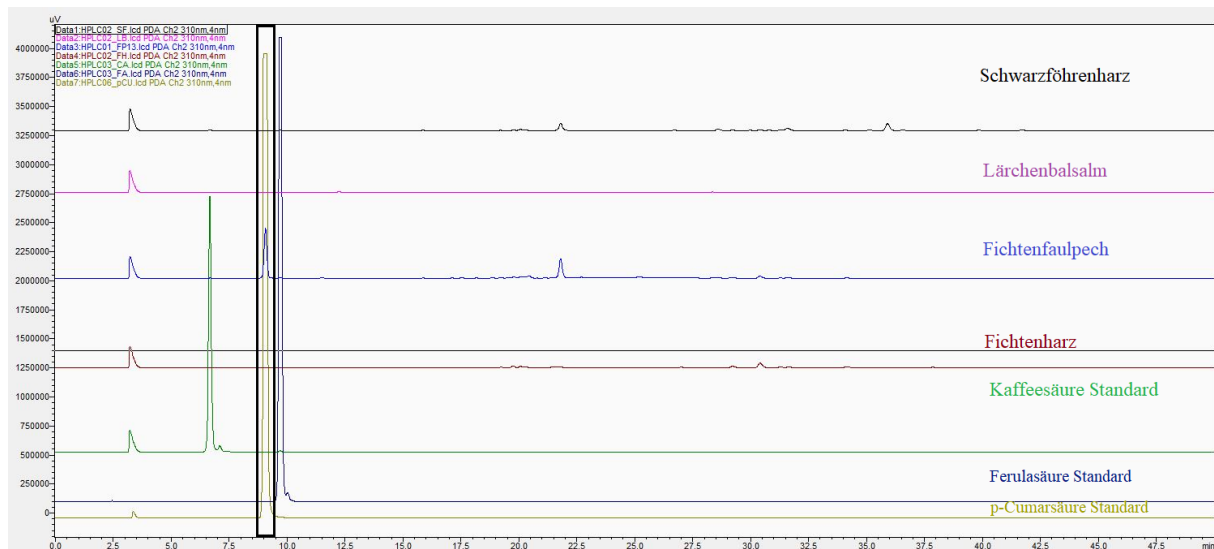


Abbildung 7: HPLC-PDA Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate inkl. Reinsubstanzen (Std.- Details siehe Kapitel 2.2.2.2.HPLC), bei 310nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser, + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril, +0.1% Ameisensäure, Injiziertes Volumen 5µL

Von den Hydroxyzimtsäuren, Kaffeesäure, p-Cumarsäure und Ferulasäure ist nur p-Cumarsäure von Relevanz, diese konnte im Fichtenfaulpech nachgewiesen werden bei einer Retentionszeit von ungefähr 9 Minuten.

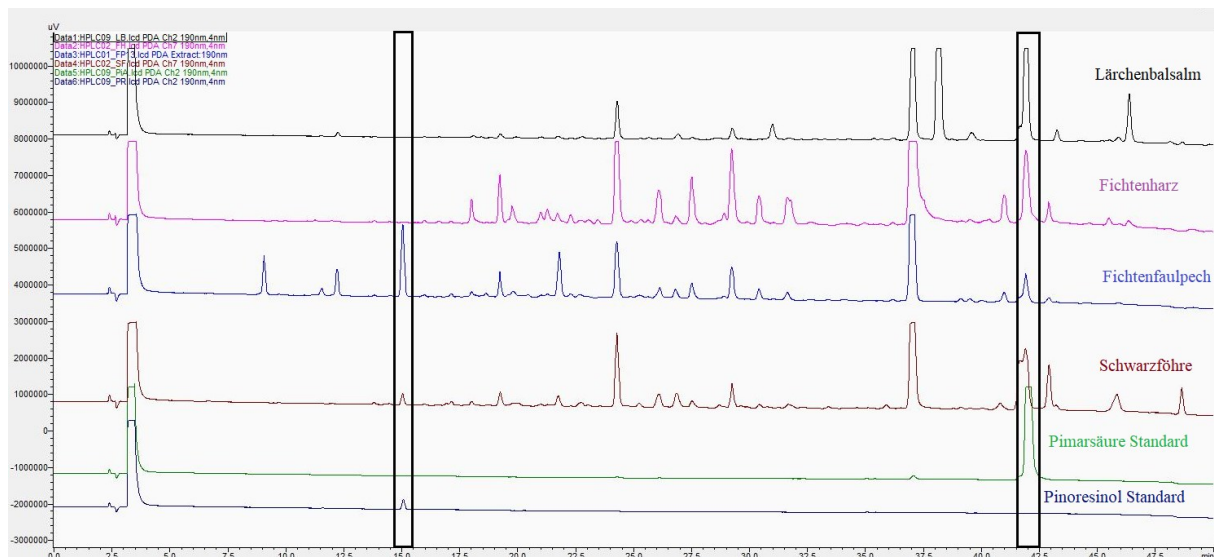


Abbildung 8: HPLC-PDA Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate inkl. Reinsubstanzen (Std.- Details siehe Kapitel 2.2.2.2. HPLC), bei 190nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser, + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril, +0.1% Ameisensäure, Injiziertes Volumen 5µL

Das Lignan Pinoresinol wurde im Fichtenfaulpech und, im geringeren Ausmaß, auch in der Schwarzföhre (*Pinus nigra*) nachgewiesen.

Die vier hydroxylierten Harzsäuren (siehe Abbildung 1 5-8), 7 α ,15-Dihydroxydehydroabietinsäure, 7 β ,15-Dihydroxydehydroabietinsäure, 15-Hydroxydehydroabietinsäure, 7-Hydroxydehydroabietinsäure konnten in allen Proben nachgewiesen werden. Die kleinsten Peaks bei allen vier hydroxylierten Harzsäuren war bei den beiden Exsudaten der Lärche (*Larix decidua*) zu sehen.

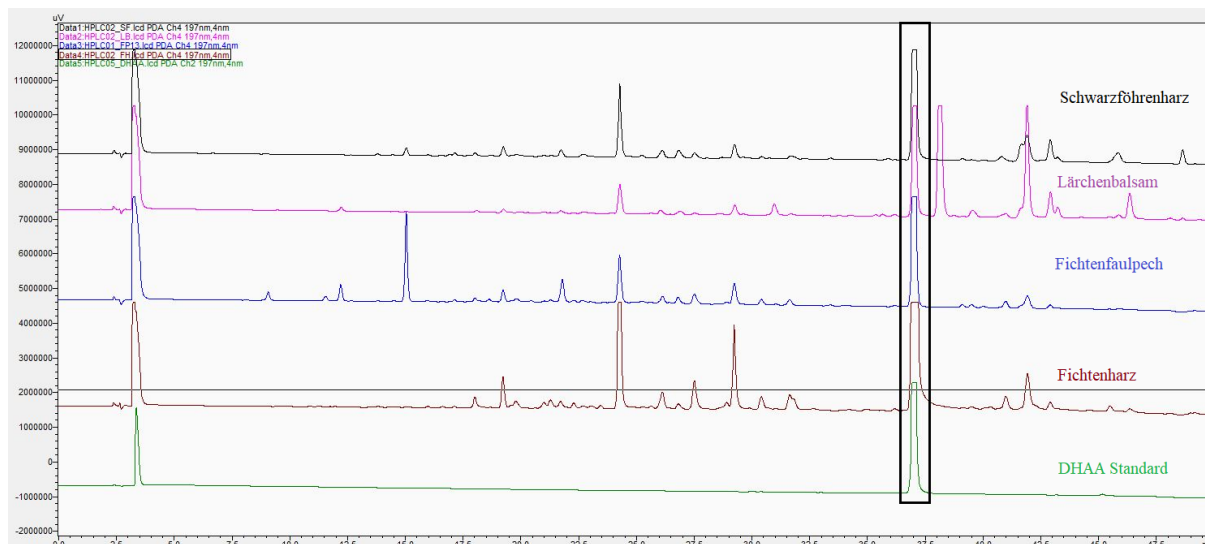


Abbildung 9: HPLC-PDA Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate inkl. Dehydroabietinsäure (Std.- Details siehe Kapitel 2.2.2.2 HPLC), bei 190nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser, + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril, +0.1% Ameisensäure, Injiziertes Volumen 5 μ L

Dehydroabietinsäure war in allen Pinaceae Exsudaten in vergleichbaren Konzentrationen vorhanden und eluiert etwa 5 Minuten vor allen anderen Diterpensäuren.

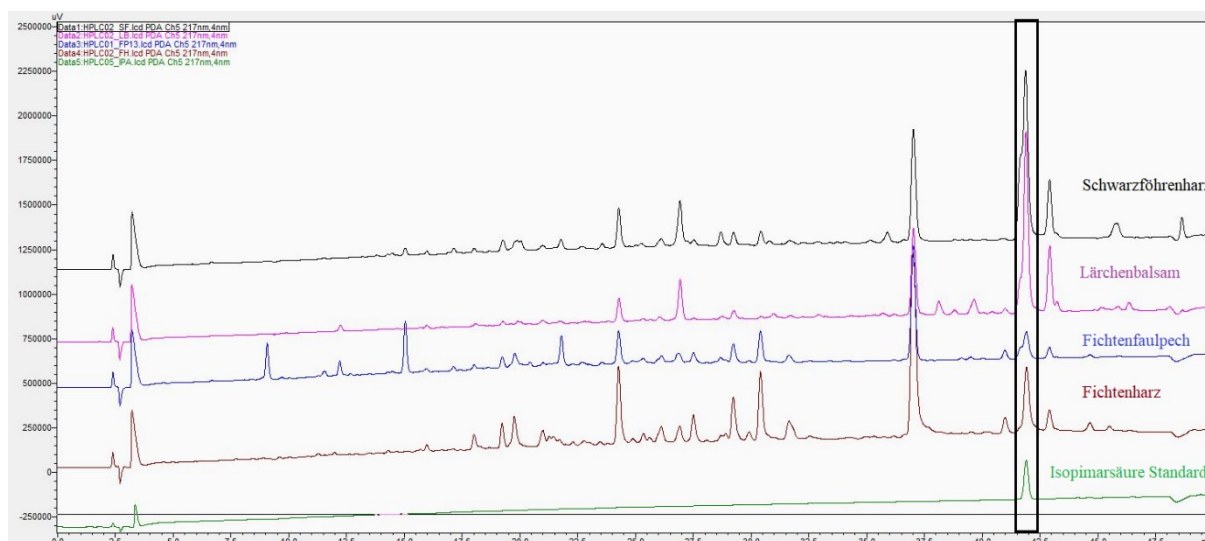


Abbildung 10: HPLC-PDA Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate inkl. Isopimarsäure (Std.- Details siehe Kapitel 2.2.2.2. HPLC), bei 217nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril +0.1% Ameisensäure, Injiziertes Volumen 5 μ L

Pimarsäure (siehe S.2 Abb. 3), Isopimarsäure (siehe S.2 Abb. 5) sowie alle anderen Diterpensäuren (siehe S. 2 **10-1 - 10-6**) erscheinen im Chromatogramm als ein Peak nach etwa 42 Minuten Laufzeit. Weitere Chromatogramme, die den Vergleich mit den Reinsubstanzen zeigen, befinden sich im Anhang. Es wurde versucht, durch Veränderung des Gradienten der mobilen Phase eine Trennung der Harzsäuren zu erreichen, was jedoch nicht gelang.

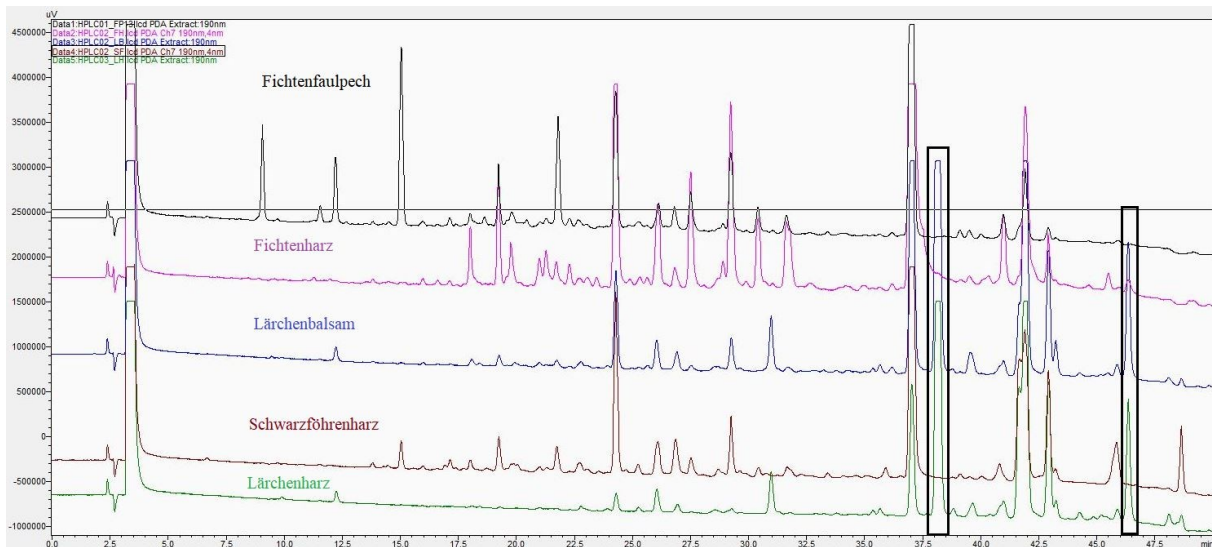


Abbildung 11: HPLC-PDA Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate (Std.-Details siehe Kapitel 2.2.2.2. HPLC), bei 190nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril +0.1% Ameisensäure, Injiziertes Volumen 5µL

Im Chromatogramm der beiden Lärchenproben sind zwei markante Peaks bei Minute 38 und bei Minute 46 vorhanden. Diese Peaks sind in den anderen Exsudaten nicht vorhanden und konnten auch keiner Reinsubstanz zugeordnet werden.

2.4. Diskussion

Ein Ziel dieser Masterarbeit war es, Exsudate von Kieferngewächsen mit unterschiedlich aufwendigen Analysemethoden zu vergleichen und die jeweiligen Grenzen der einzelnen Methoden hinsichtlich ihrer Trennleistung aufzuzeigen. Beginnend mit der Dünnschichtchromatographie (DC) konnte eine Methode entwickelt werden, mit der Unterschiede in der Zusammensetzung der verschiedenen Exsudate dargestellt werden können (siehe Abb.4, S. 8). Die Ergebnisse zeigen, dass sich die beiden Lärchenexsudate durch 3 unterschiedlich gefärbte Banden von den anderen untersuchten Pinaceae-Exsudaten unterscheiden.

Die Schwarzföhre unterscheidet sich durch eine gefärbte Bande von den anderen Pinaceae Exsudaten. Lärchenharz und Lärchenbalsam wiesen sehr ähnliche Banden auf, sodass eine Unterscheidung mittels Dünnschichtchromatografie nicht möglich war. Das gleiche galt für Fichtenharz und Fichtenfaulpech. Die Hydroxyzimtsäuren (siehe S.2 **1-3**) können via DC unterschieden werden, nachfolgende Untersuchungen zeigten jedoch, sie sind in den Verschiedenen Exsudaten kaum vorhanden. Die Harzsäuren (siehe S.2 **10-1 - 10-6**) konnten mittels DC nicht voneinander aufgetrennt werden. (siehe Abb.4, S.8)

Eine bessere Auftrennung wurde durch den Einsatz einer HPLC erreicht. (siehe Abb.6, S.8) Es konnten alle untersuchten Stoffgruppen mit Ausnahme der Harzsäuren (siehe Abb.1 **10-1 bis 10-6**) aufgetrennt werden.

Eine Trennung der hydroxylierten Harzsäuren (**5-8**) sowie Dehydroabietinsäure (**9**) konnte aufgrund ihrer Unterschiede in Bezug auf Masse und Struktur von den anderen Harzsäuren erreicht werden.

Die Harzsäuren (**10-1 - 10-6**) konnten nicht voneinander getrennt werden. Die kaum vorhandenen strukturellen Unterschiede dieser bei gleichen molaren Massen stellen die Grenze eines herkömmlichen HPLC- Systems dar.

Im Zuge weitere Forschung konnte eine Auftrennung der oben genannten Harzsäuren durch den Einsatz von Ultra-High-Performance Supercritical Fluid Chromatography mit einem nachgeschalteten Massenspektrometer erreicht werden. (Göls, 2022)

Dennoch konnten mit Ausnahme der Lärche die meisten Unterschiede in der Zusammensetzung der Exsudate aufgezeigt werden.

Zwei Peaks, die nur in den Lärchenproben auftraten, konnten keiner Reinsubstanz zugeordnet werden und blieben unidentifiziert.

In der Literatur wird neben den Pimarinsäure- und Abietinsäurederivaten eine weitere Gruppe von Diterpenen beschrieben, die in der Lärche vorkommen, die Labdane wie z.B. Epimanol, Larixol oder Larixylacetat. (Batista, 2022). Zukünftige Untersuchungen können zeigen, ob einer der nicht identifizierten Peaks zu dieser Substanzgruppe gehört.

Die Zusammensetzungen der beiden Exsudate von *Picea abies* wiesen eine große Ähnlichkeit auf, mit der bemerkenswerten Ausnahme von Pinoresinol, das im Fichtenfaulpech nachweisbar war. Göls (2020) konnten zeigen, dass sowohl Harzsäuren als das Lignan Pinoresinol einen proliferationsfördernden Effekt in vitro auf Keratinozyten hatten. Dies könnte von Bedeutung sein und möglicherweise einen Mehrwert in der Anwendung von Fichtenfaulpech gegenüber Fichtenharz-Zubereitungen in der Wundbehandlung bieten.

3. Retrospektive Beobachtungsstudie Fichtenfaulpechsalbe

Dieser Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Auswertung von Patientendaten, die im Zuge der Wundversorgung dokumentiert wurden. Das Studiendesign wurde im Rahmen früherer Forschungsarbeiten entwickelt und in Kooperation mit der Abteilung für Plastische Chirurgie des Krankenhauses Ottakring durchgeführt.

3.1. Zielsetzung

In früheren Arbeiten wurde ein positiver Effekt von Fichtenfaulpech auf die Regeneration humaner Epithelzellen beobachtet (Göls, 2020). Das Ziel der Studie ist es, diesen positiven Effekt in vivo nachzuweisen, indem die Heilungsrate von komplizierten Wunden unterschiedlichen Ursprungs nach Behandlung mit einer auf Schweineschmalz basierenden Fichtenfaulpechsalbe evaluiert wird.

3.2. Methodik

3.2.1. Studiendesign

Das Studiendesign ist eine Anwendungsbeobachtung ohne Vergleichsgruppe. Patienten mit schlecht heilenden Wunden wurden über einen Zeitraum von bis zu 4 Wochen mit einer Fichtenfaulpechsalbe behandelt. Die Dokumentation der Wunden erfolgte durch direkte Beobachtung und anschließende Dokumentation mittels eines Fragebogens.

Einschlusskriterium für die Teilnahme war das Vorliegen von mindestens einer unzureichend schnell heilenden Wunde, bei der die konventionelle Wundbehandlung keinen oder nur geringen Erfolg zeigte. Insgesamt wurden 22 Patientinnen und Patienten in die Studie eingeschlossen. Sie wurden zwischen Jänner 2018 und März 2019 im Krankenhaus Ottakring, Abteilung für Plastische Chirurgie, Pavillon 20, behandelt. Zum Schutz der Persönlichkeitsrechte wurden die Namen der Patientinnen und Patienten anonymisiert und jeweils mit einer Nummer versehen. Die persönlichen Daten der Patientinnen und Patienten liegen dem Autor vor.

Aufgrund fehlender Nachuntersuchungen konnten die Daten von 7 Patienten nicht in die Auswertung der Ergebnisse einbezogen werden. Von den verbleibenden 15 Patienten waren 10 männlich und 5 weiblich mit einem Durchschnittsalter von 67,5 Jahren (Spanne 43-95 Jahre).

Die Ursachen der behandelten Wunden sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 5: Wundursachen der Patienten

Wundursache	Anzahl an Patienten
Postoperative Wunde	6
Dekubitus durch Immobilität	2
Arterieller Ulcus	2
Verbrennung	2
Diabetische Läsion	1
Unbekannt	2

Als Hauptkriterium für den Behandlungserfolg wurde die Verkleinerung der Wundfläche im Verlauf der Behandlung mit dem Prüfpräparat gewählt. Weitere Kriterien waren die Verbesserung der Wundeigenschaften wie Wundschmerz, Sekretmenge, Beschaffenheit des Wundrandes sowie der Wundumgebung.

3.2.2. Prüfpräparat

Das Prüfpräparat ist eine auf Schweineschmalz basierende Fichtenfaulpechsalbe zur lokalen Anwendung.

Name: VULPURAN® Fichtenfaulpechsalbe

Inhaltsstoffe: Adeps suillus (Schweineschmalz), Piceae abietis pix putorie (Fichtenfaulpech)

Hersteller: Lupuca Pharma GmbH, Gewerbering 4, A-3484 Grafenwörth

**Abbildung 12:** Vulpuran Salbe

3.2.3. Datenerhebung und Auswertung

Die Patienten wurden zwischen Jänner 2018 und März 2019 behandelt. Die Behandlung und Dokumentation der Wunden erfolgte zum Teil stationär in der Abteilung für Plastische Chirurgie im Klinikum Ottakring durch medizinisches Fachpersonal und zum Teil im Rahmen der Selbstmedikation und Selbstdokumentation durch die Patienten zu Hause.

Als Erhebungsinstrument wurde ein zweiseitiger Fragebogen entwickelt, der zum Teil von den Patienten selbst und zum Teil vom behandelnden Personal ausgefüllt wurde. Ein Muster des Fragebogens befindet sich im Anhang.

Der Fragebogen gliedert sich in 3 Teile: Persönliche Daten (Geschlecht, Alter, Körpergröße, Gewicht, Datum der Verletzung), Beurteilung der Wunde und Wundverlauf. Die Beurteilung der Wunde, die vom medizinischen Fachpersonal durchgeführt wurde, umfasst Wundart, Lokalisation, Wundursache, Wundgröße zu Beginn der Behandlung, Angaben zu Exsudat, Wundrändern, Wundumgebung und Wundschmerz.

Wundverlauf mit Datum der Vermessung, Fotonummer, Länge und Breite in Zentimetern, Angaben zu Exsudat, Wundrändern, Wundumgebung und Wundschmerz sowie ein Feld für zusätzliche Bemerkungen.

Für die Ermittlung der Wundfläche wurden Länge und Breite der Wunde gemessen und als rechteckig angenähert. Die Verkleinerung der Fläche wurde als Maß für die Heilung angesehen.

Da das Intervall der Datenerhebung und die Gesamtbehandlungsdauer der einzelnen Patienten sehr individuell war, wurde eine durchschnittliche Heilungsrate pro Tag über alle Patienten berechnet.

In die statistische Auswertung gingen nur Daten von Patienten ein, für die mindestens 2 schriftlich dokumentierte Datenpunkte vorlagen.

Weitere Angaben zu den Wundcharakteristika erfolgen über eine numerische Ratingskala mit Werten zwischen 1 und 10. 1 entspricht wenig Schmerz, Sekretion, normaler Wundrand; 10 entspricht sehr starker Schmerz, viel Sekretion, stark veränderter Wundrand.

3.3. Ergebnisse

In diesem Kapitel erfolgt die statistische Auswertung der Patientenfragebögen. Eine Transkription der Daten findet sich im Anhang.

3.3.1. Wundheilung/Reduktion der Wundfläche

Für die Auswertung der Wundflächenreduktion wurden die Daten von 11 Patienten ausgewertet.

Die Auswertung ergab eine durchschnittliche Reduktion der Wundfläche von 5,2% pro Tag. Somit konnte nach einer durchschnittlichen Behandlungsdauer von 13 Tagen eine durchschnittliche Wundflächenreduktion von 67% beobachtet werden.

20% (n=3) der behandelten Wunden heilten im Untersuchungszeitraum vollständig ab.

Bei einem Patienten trat während der Behandlung eine Infektion auf, die zu einer Verschlechterung des Wundzustandes führte.

Bei 3 Patienten musste die Behandlung aufgrund von Komplikationen abgebrochen werden (Juckreiz und Schwellung n=1, optische Verschlechterung n=1, Wundgranulation n=1).

3.3.2. Schmerzempfinden

Zur Beurteilung des Schmerzempfindens vor und nach der Behandlung konnten die Daten von 7 Patienten ausgewertet werden.

Die Patienten dokumentierten zu Beginn der Behandlung leichte bis mittelstarke Schmerzen von 1-5 NRA.

Bei 4 Patienten konnte eine Reduktion des Wundschmerzes beobachtet werden. Bei allen 4 Patienten reduzierte sich der Wundschmerz vom jeweiligen Ausgangswert (5,5,3,2) auf 0 NRS.

Bei 2 Patienten zeigte die Auswertung keine Veränderung der Schmerzen während der Behandlung. Der Ausgangswert von 1 NRS blieb unverändert.

Bei einem Patienten kam es zu einem Infekt, in dessen Folge die Schmerzen von 5 auf 10 NRS anstiegen.

3.3.3. Wundeigenschaften

Im Kapitel Wundeigenschaften werden die Auswertungen der Parameter Sekretmenge, Wundrand und Wundeigenschaften zusammengefasst.

Für die Beurteilung der Sekretmenge konnten die Daten von 8 Patienten ausgewertet werden. Die Patienten hatten zu Beginn der Behandlung leicht bis mäßig exsudierende Wunden mit Werten zwischen 2 und 4 NRA.

Bei 4 Patienten konnte im Behandlungszeitraum eine Reduktion der Sekretmenge vom jeweiligen Ausgangswert auf 0 beobachtet werden.

Bei 2 Patienten zeigte sich keine Veränderung. Der NRA-Wert blieb während der Behandlung unverändert.

Bei einem Patienten wurde eine Zunahme der Sekretmenge um einen NRA-Punkt dokumentiert.

Zur Beurteilung des Wundrandes und der Wundumgebung konnten die Daten von 6 Patienten ausgewertet werden.

Die Patienten gaben den Zustand der Wundumgebung sowie des Wundrandes zu Beginn der Behandlung mit 2-4 NRA an.

Bei 3 Patienten verbesserte sich der Zustand beider Parameter im Verlauf der Behandlung, bei zwei Patienten bis auf den Wert 0, bei einem Patienten um 1 NRA-Punkt.

Bei zwei Patienten wurde keine Veränderung dokumentiert. Bei einem Patienten kam es während der Behandlung zu einer Infektion, seine Angaben zu Wundrand und Wundumgebung erhöhten sich um 2 NRA-Punkte.

3.3.4. Exemplarisches Beispiel

Patient 20, 64-jähriger Mann mit Diabetes mellitus und infolgedessen einer schlecht verheilenden Wunde aufgrund einer Druckbelastung.



Abbildung 13: (a) Wunde zu Behandlungsbeginn; (b) nach 14 Tagen; (c) 28 Tagen Behandlung mit Fichtenfaulpechsalbe

Die Wundgröße hat sich geringfügig von 16,5 cm² auf 15 cm² verringert. Es ist jedoch eine optische Verbesserung der Wundtiefe erkennbar. Weiterhin konnte eine Reduktion des Schmerzwertes von ursprünglich 5 (mittelstarke Schmerzen) auf 0 (keine Schmerzen) erreicht werden.

3.4. Diskussion

Die Wirkung von Fichtenharz bei der Behandlung von komplizierten Wunden ist wissenschaftlich gut dokumentiert (Sipponen, 2008). Darüber hinaus konnte ein positiver Effekt von Fichtenfaulpech auf die Neubildung von Epithelgewebe beobachtet werden (Goels, 2020). Ziel dieser Untersuchung war es, diese positiven Effekte in einer Beobachtungsstudie an schlecht verheilenden Wunden nachzuweisen.

Von den 15 Teilnehmern zeigte sich bei 10 Patienten ein positiver Effekt der Behandlung, was sich in einer Verkleinerung der Wunde oder einer vollständigen Abheilung äußerte. Diese Ergebnisse können einen Beitrag für weiterführende Forschung im Bereich der Wundbehandlung mit Fichtenfaulpech-Präparaten sein.

Vier Patienten mussten die Behandlung aufgrund negativer Effekte auf die Wunde abbrechen. In der Literatur wird ein erhöhtes allergenes Potenzial von Baumharzen bei Hautkontakt erwähnt, was bei der Anwendung berücksichtigt werden sollte (Estlander, 2001).

Ob ein direkter Zusammenhang zwischen den beobachteten Reaktionen und der Behandlung mit Fichtenfaulpech besteht, kann aufgrund der geringen Teilnehmerzahl und der individuellen Gesundheitszustände der Patienten jedoch nicht geklärt werden.

Obwohl die Auswertung der Ergebnisse deutliche Hinweise auf die Wirksamkeit von Fichtenfaulpech bei schlecht verheilenden Wunden gibt, ist die Aussagekraft dieser Ergebnisse aufgrund der niedrigen Teilnehmerzahl und des gewählten Studiendesigns eher begrenzt. Ein Problem bei der Auswertung war zudem die unvollständige und nicht einheitliche Dokumentation der Patienten- und/oder Fachpersonaldaten. Der Zeitraum zwischen den Wunddokumentationen variierte erheblich, was die Auswertung und Interpretation der Ergebnisse erschwerte, da eine durchschnittliche Behandlungsdauer errechnet werden musste.

Für zukünftige Studien sollte, wenn möglich, die Anzahl der Teilnehmer erhöht werden. Darüber hinaus wäre die Ernennung eines Studienkoordinators von Vorteil, um eine höhere Qualität und Konsistenz in der Datenerfassung sicherzustellen. Ein interessanter Ansatz für weiterführende Forschung könnte auch eine Studie sein, in der die Wirkung von Fichtenfaulpech mit Fichtenharz bei der Behandlung von komplizierten Wunden verglichen wird.

4. Zusammenfassung/ Abstract

Obwohl Zubereitungen aus Harzen von Kieferngewächsen wie Lärche oder Fichte in der traditionellen Medizin zur Behandlung schlecht heilender Wunden verwendet werden, wird erst seit etwa 20 Jahren daran geforscht. Während die Ergebnisse auf einen Zusammenhang zwischen den Inhaltsstoffen des Fichtenharzes und der Wundheilung hindeuten, gibt es kaum Daten zu Fichtenfaulpech, Lärche oder Schwarzkiefer.

Ein Teil dieser Arbeit befasst sich mit dem Vergleich verschiedene Kiefernexsudate mit zwei verschiedenen aufwändigen Analysemethoden, um Unterschiede und Gemeinsamkeiten aufzuzeigen. Dies kann einen wichtigen Beitrag im Bereich der Qualitätskontrolle in der pharmazeutischen Industrie sein.

Die Dünnschichtchromatographie ist eine kostengünstige Methode, die es erlaubt, eine große Anzahl von Proben anhand ihrer DC Fingerprints zu vergleichen. Die Ergebnisse zeigen, dass durch den Einsatz der DC Unterschiede in den Exsudaten der verschiedenen Kiefernarten dargestellt werden können. Die Lärche unterscheidet sich durch drei sichtbare Banden, die Schwarzkiefer durch eine sichtbare Bande von den Exsudaten der Fichte.

Mit Hilfe der HPLC konnten bis auf die nicht hydroxylierten Harzsäuren alle relevanten Substanzgruppen aufgetrennt und damit die meisten Unterschiede in den Exsudaten aufgezeigt werden. Zwei Peaks konnten nur in den Lärchenproben beobachtet werden, was ein Unterscheidungsmerkmal zu den anderen Kiefernexsudaten darstellt. Ein erwähnenswerter Unterschied in der Zusammensetzung zwischen Fichtenfaulpech und Fichtenharz ist das Lignan Pinoresinol, dem in vitro positive Effekte bei der Regeneration von Epithelzellen nachgewiesen werden konnten,

Im zweiten Teil dieser Arbeit werden die Ergebnisse einer Anwendungsbeobachtung vorgestellt, bei der eine Fichtenfaulpechsalbe zur Behandlung schlecht heilender Wunden eingesetzt wurde. Bei 10 von 15 behandelten Patienten konnte eine Verbesserung des Wundstatus erreicht werden (10 Wunden verkleinerten sich, drei heilten vollständig ab). Vier Patienten mussten die Behandlung wegen Nebenwirkungen abbrechen.

Nach einer durchschnittlichen Behandlungsdauer von 13 Tagen konnte eine durchschnittliche Wundreduktion von 67% beobachtet werden.

Abstract:

Although preparations made from the resins of pine plants such as larch or spruce have been used in traditional medicine to treat serious wounds, research has only been carried out for around 20 years. While the results indicate a connection between the ingredients of spruce resin and wound healing, there is hardly any data on spruce pitch, larch or black pine. One part of this thesis deals with the comparison of different pine exudates with two different elaborate methods of analysis in order to show differences and similarities. This can make an important contribution to quality control in the pharmaceutical industry.

Thin-layer chromatography is a cost-effective method that allows a large number of samples to be compared on the basis of their DC fingerprints. The results show that differences in the exudates of the different pine species can be visualized by using DC. The larch differs from the spruce exudates by three visible bands, the black pine by one visible band. With the aid of HPLC, it was possible to separate all relevant substance groups except for the non-hydroxylated resin acids, thus revealing most of the differences in the exudates. Two peaks could only be observed in the larch samples, which is a distinguishing feature from the other pine exudates. A notable difference in the composition between spruce pitch and spruce resin is the lignan pinoresinol, which has been shown to have positive effects on the regeneration of epithelial cells in vitro.

In the second part of this paper, the results of an observational study are presented in which a spruce rot ointment was used to treat poorly healing wounds. An improvement in the wound status was achieved in 10 out of 15 patients treated (10 wounds were reduced in size, three healed completely). Four patients had to discontinue treatment due to side effects. After an average treatment period of 13 days, an average wound reduction of 67% was observed.

5. Literaturverzeichnis:

- Batista, J. V. C., Uecker, A., Holandino, C., Boylan, F., Maier, J., Huwyler, J., & Baumgartner, S. (2022). A Scoping Review on the Therapeutic Potential of Resin From the Species *Larix decidua* Mill. [Pinaceae] to Treat Ulcerating Wounds. *Frontiers in pharmacology*, 13, 895838
- Dominik A, Steinhilber D, Wurglics M. (2013) Instrumentelle Analytik kompakt (3. Auflage). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart
- Estlander, T., Jolanki, R., Alanko, K., & Kanerva, L. (2001). Occupational allergic contact dermatitis caused by wood dusts. *Contact dermatitis*, 44(4), 213–217.
- Gey, M. H. (2021). Instrumentelle Analytik und Bioanalytik: Biosubstanzen, Trennmethode, Strukturanalytik, Applikationen (4. Auflage). Springer Verlag.
- Goels, T., Eichenauer, E., Tahir, A., Prochaska, P., Hoeller, F., Heiß, E. H., & Glasl, S. (2022). Exudates of *Picea abies*, *Pinus nigra*, and *Larix decidua*: Chromatographic Comparison and Pro-Migratory Effects on Keratinocytes In Vitro. *Plants*, 11(5), 599.
- Göls, T., Eichenauer, E., Langeder, J., Hoeller, F., Sykora, C., Tahir, A., Urban, E., Heiss, E. H., Saukel, J., & Glasl, S. (2020). Norway spruce balm: Phytochemical composition and ability to enhance re-epithelialization in vitro. *Planta Medica*, 86(15), 1080–1088
- Sarić-Kundalić B, Dobeš C, Klatte-Asselmeyer V, Saukel J. (2011) Ethnobotanical survey of traditionally used plants in human therapy of east, north and north-east Bosnia and Herzegovina. *J Ethnopharmacol.*133(3), 1051-1076.
- Rautio, M., Sipponen, A., Lohi, J., Lounatmaa, K., Koukila-Kähkölä, P., & Laitinen, K. (2012). In vitro fungistatic effects of natural coniferous resin from Norway spruce (*Picea abies*). *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 31(8), 1783–1789.
- Rautio, M., Sipponen, A., Peltola, R., Lohi, J., Jokinen, J. J., Papp, A., Carlson, P., & Sipponen, P. (2007). Antibacterial effects of home-made resin salve from Norway spruce (*Picea abies*). *Apmis*, 115(4), 335–340.

Sipponen A, Kuokkanen O, Tiihonen R, Kauppinen H, Jokinen JJ. (2012) Natural coniferous resin salve used to treat complicated surgical wounds: pilot clinical trial on healing and costs. *Int J Dermatol*. 51(6), 726-732.

Sipponen A, Rautio M, Jokinen JJ, Laakso T, Saranpää P, Lohi J. (2007) Resin-salve from Norway spruce--a potential method to treat infected chronic skin ulcers?. *Drug Metab Lett*. 1(2), 143-145.

Sipponen, A., Jokinen, J. J., Sipponen, P., Papp, A., Sarna, S., & Lohi, J. (2008). Beneficial effect of resin salve in treatment of severe pressure ulcers: A prospective, randomized and controlled multicentre trial. *British Journal of Dermatology*, 158(5), 1055–1062.

Sipponen, Arno, Kuokkanen, O., Tiihonen, R., Kauppinen, H., & Jokinen, J. J. (2012). Natural coniferous resin salve used to treat complicated surgical wounds: Pilot clinical trial on healing and costs. *International Journal of Dermatology*, 51(6), 726–732

Pferschy-Wenzig, E. M., Kunert, O., Presser, A., and Bauer, R. (2008). In Vitro antiinflammatory Activity of Larch (*Larix Decidua* L.) Sawdust. *J. Agric. Food Chem*. 56 (24), 11688–11693. doi:10.1021/jf8024002

Thuerig, B., James, E. E., Schärer, H. J., Langat, M. K., Mulholland, D. A., Treutwein, J., et al. (2018). Reducing Copper Use in the Environment: the Use of Larixol and Larixyl Acetate to Treat Downy Mildew Caused by *Plasmopara Viticola* in Viticulture. *Pest Manag. Sci*. 74 (2), 477–488

6. Abkürzungsverzeichnis

AA	Abietinsäure
DC	Dünnschichtchromatografie
DHAA	Dehydroabietinsäure
FA	Ferula acid /Ferulasäure
FH	Fichtenharz
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
IPA	Isopimarsäure
LB	Lärchenbalsam
LH	Lärchenharz
LPA	Levopimarsäure
NAA	Neoabietinsäure
NRA	Numerische Rating Skala
ÖAB	Österreichisches Arzneibuch
p-CU	p-Cumarsäure
PDA	photodiode array
PR	Pinoresinol
R _f	Retentionsfaktor
RP	reversed phase
SF	Schwarzföhre
SPA	Sandarakopimarsäure
TLC	thin layer chromatography
“13”	Fichtenfaulpech Probe 13

7. Anhang

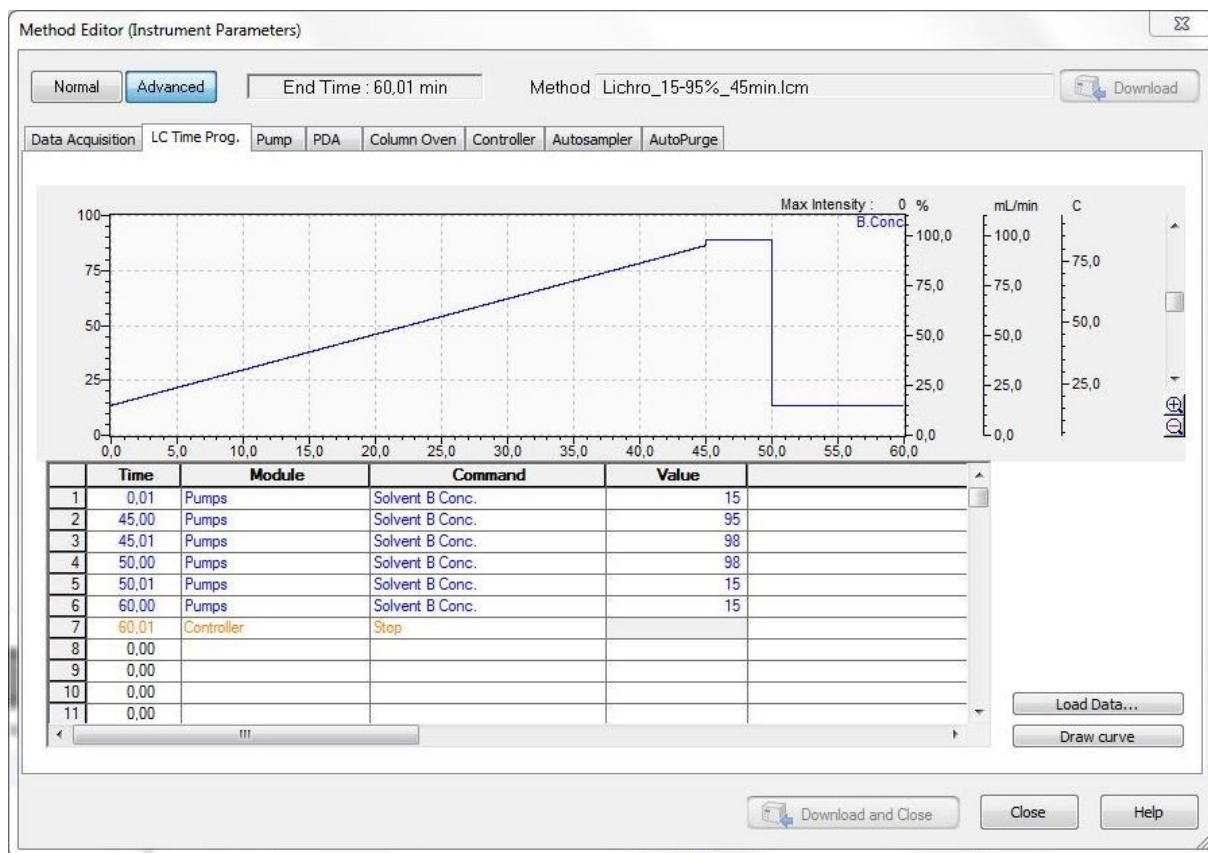


Abbildung: Gradient der mobilen Phasen

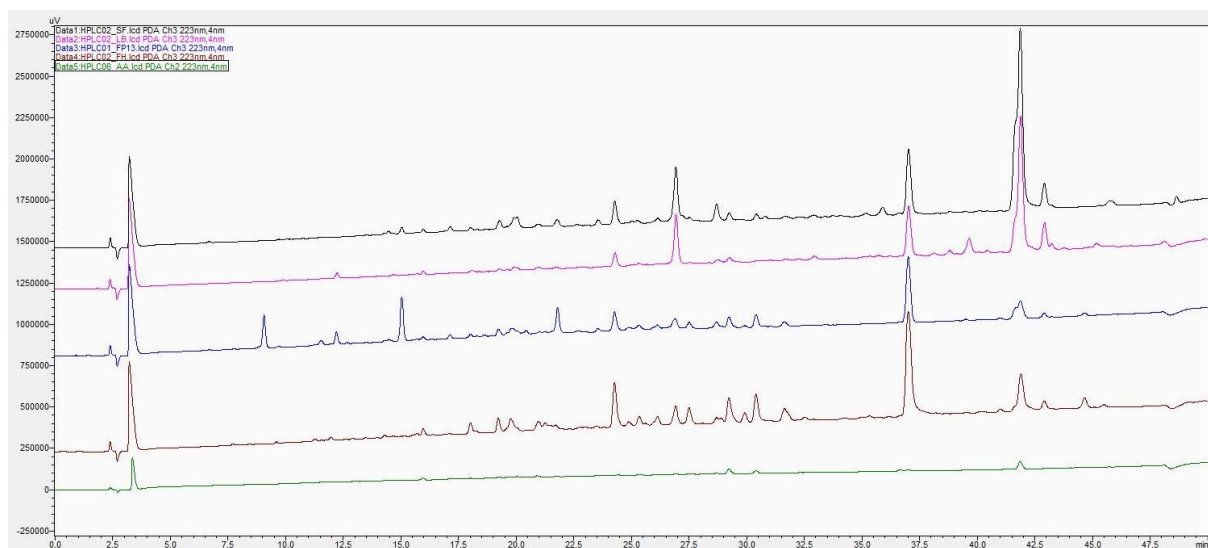


Abbildung: HPLC-PDA Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate inkl. Abietinsäure, bei 223nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser, + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril, +0.1% Ameisensäure

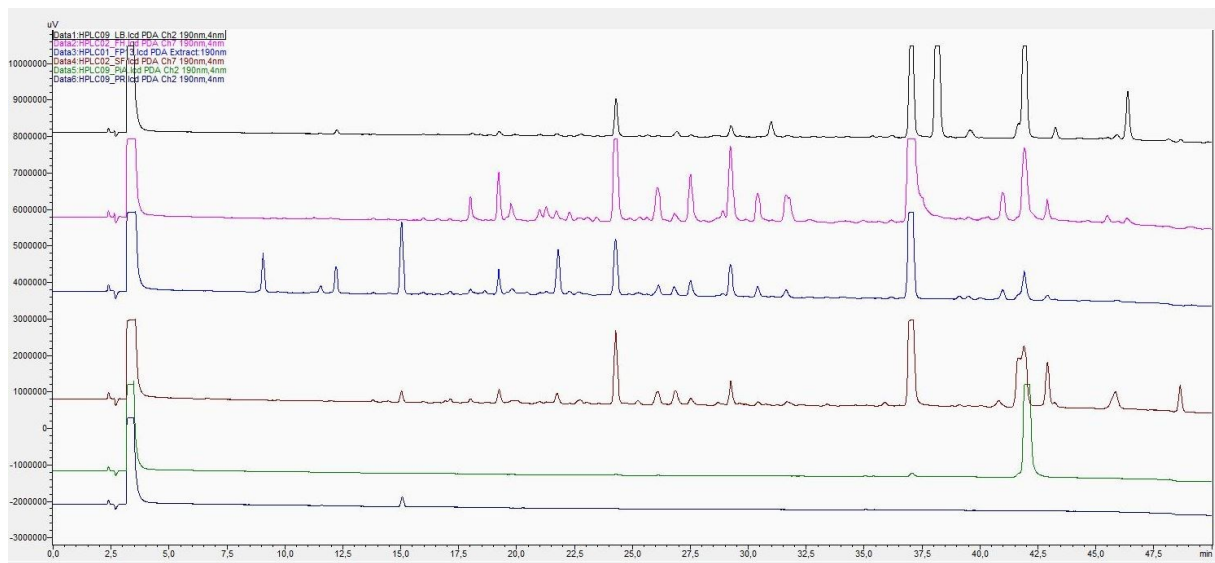


Abbildung: HPLC-PDA Vergleich verschiedener Pinaceae Exsudate inkl. Pimarsäure, bei 190nm, stat. Phase: RP18e, Mobile Phase: Wasser, + 0,1% Ameisensäure, Acetonitril, +0.1% Ameisensäure

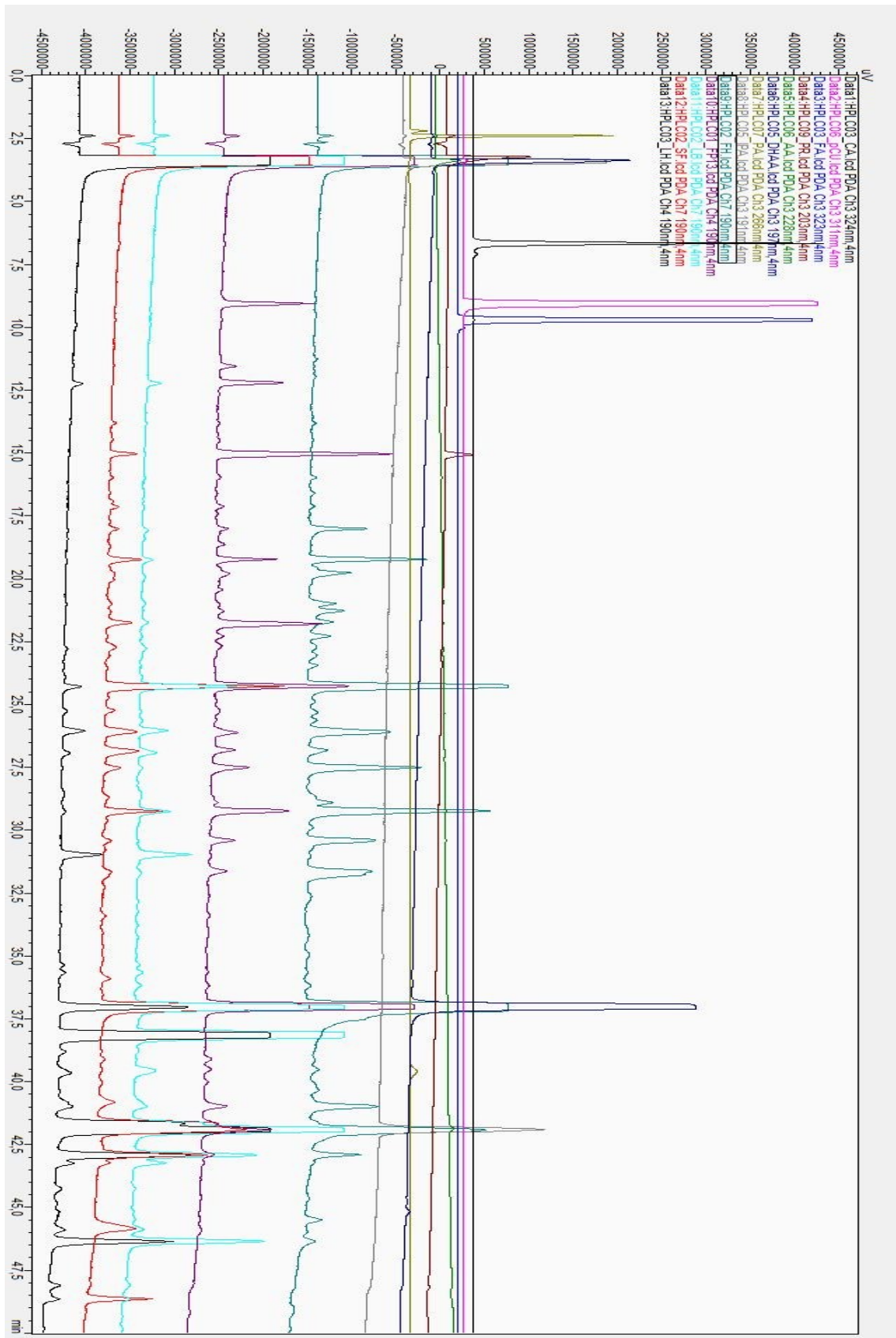
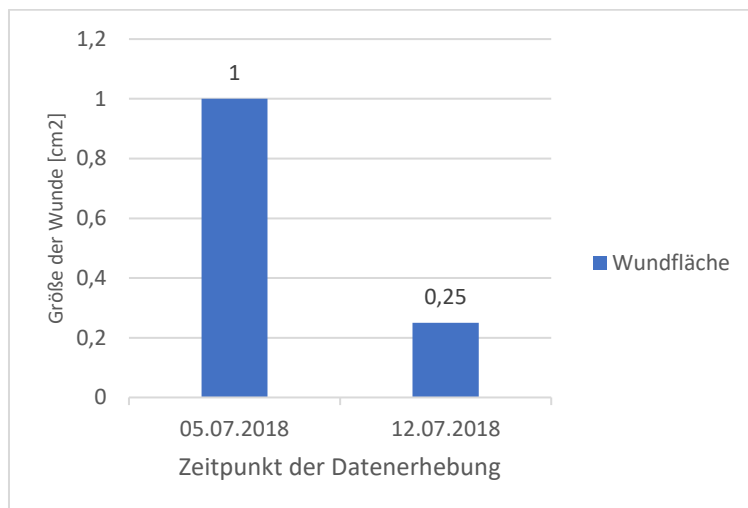


Abbildung: Patientenfragebogen Seite 2**Patientendaten:**

Die folgenden Daten sind eine Transkription der ausgefüllten Fragebögen. Wenn möglich, wurden die Daten graphisch dargestellt.

Patient 1:

Untersuchung 05.07.2018: Sekret 4; Wundrand 4; Wundumgebung 3; Wundschmerz keine Daten

Untersuchung 12.07.2018: keine Daten

Patient 2:

Abbruch der Behandlung aufgrund einer Hypergranulation; Umstellung auf Decoderm

Patient 3:

Abbruch der Behandlung nach 4 Tagen aufgrund von Juckreiz und Schwellung

Patient4:

Es wurden folgende Daten dokumentiert:

0,3cm² große Wunde mit den Eigenschaften: Sekret wenig; Wundumgebung 1;

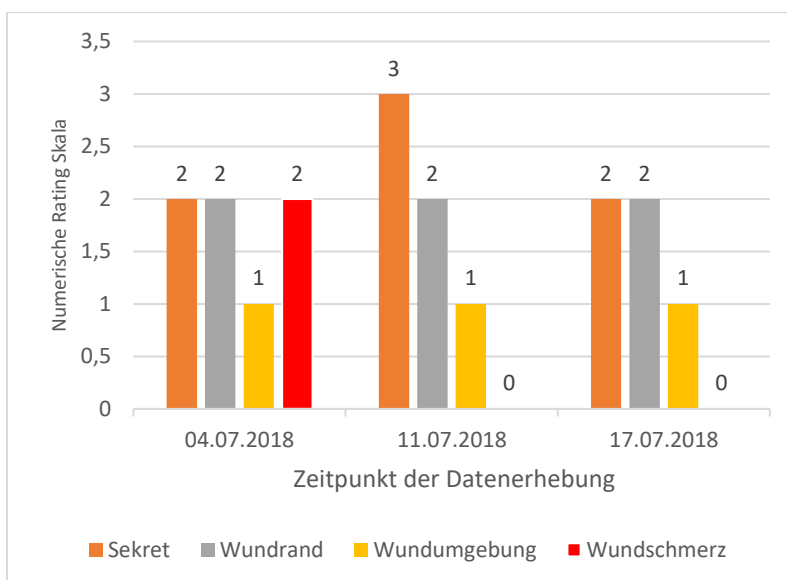
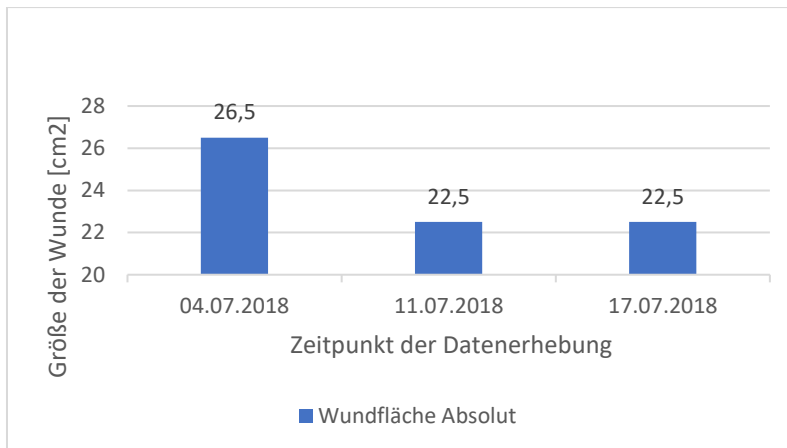
Wundschmerz 0

Folgeuntersuchung 7 Tage später: keine Daten, Kommentar: „kleine Oberfläche Wunde“

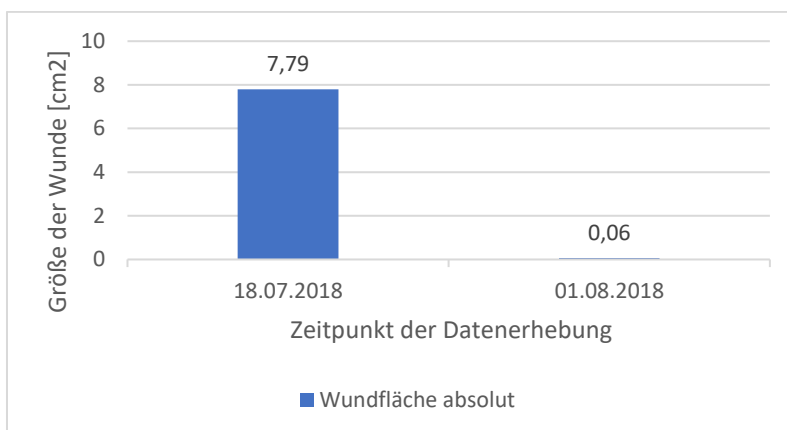
Folgeuntersuchung 14 Tage später: keine Daten, Kommentar „abgeheilt“

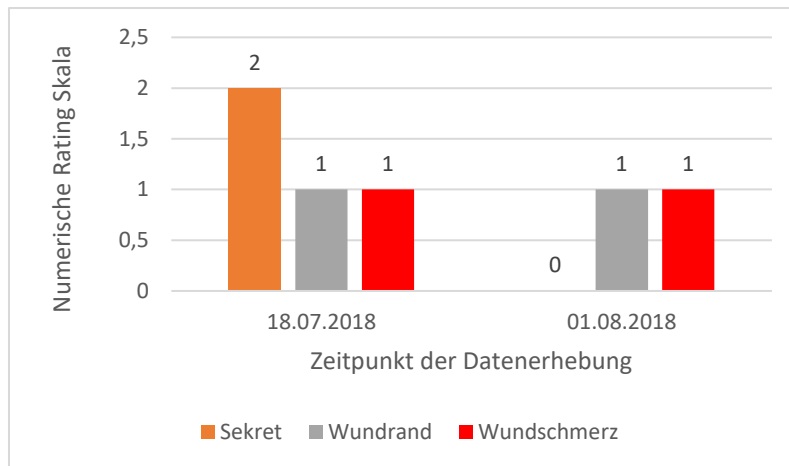
Diese Daten lassen auf einen positiven Outcome schließen, eine weitere statistische Interpretation ist nicht möglich.

Patient 5:



Patient 6:

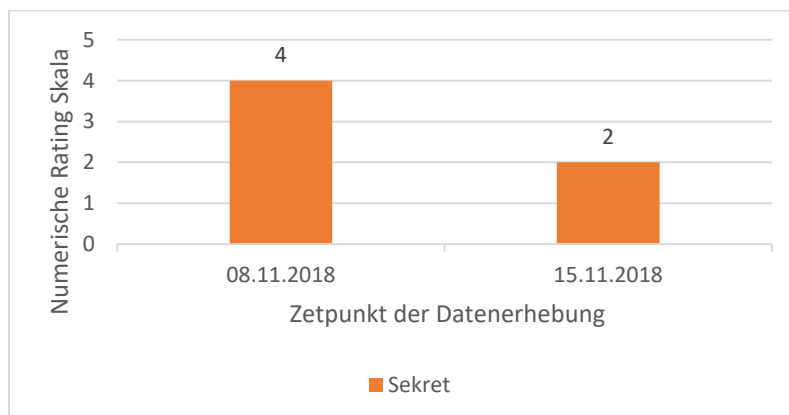
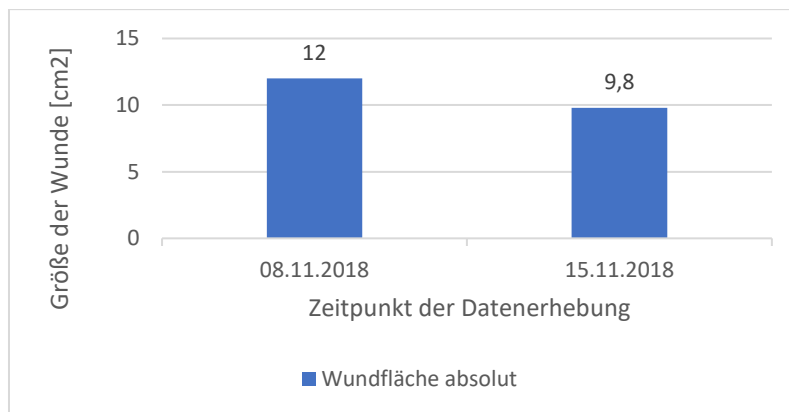




Patient 7:

Keine Daten

Patient 8:



8.11.2018: Wundrand: „ok“; Wundschmerz 0

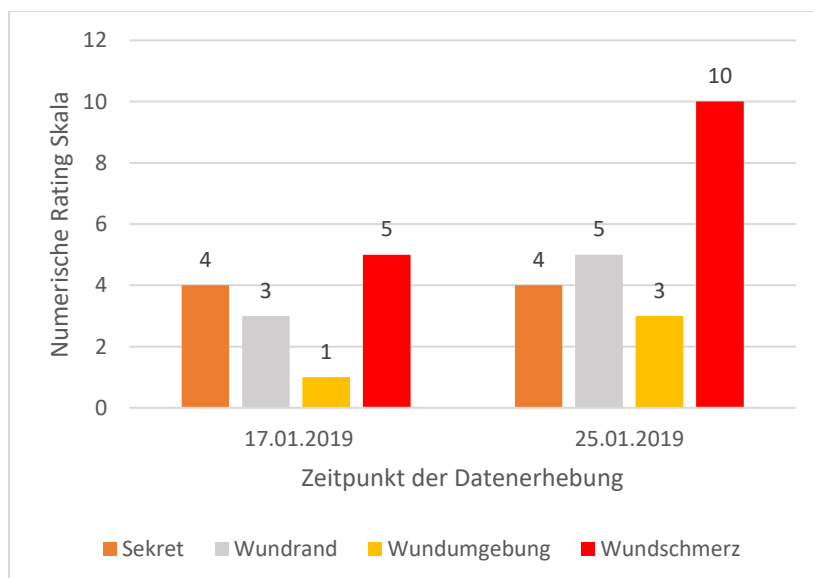
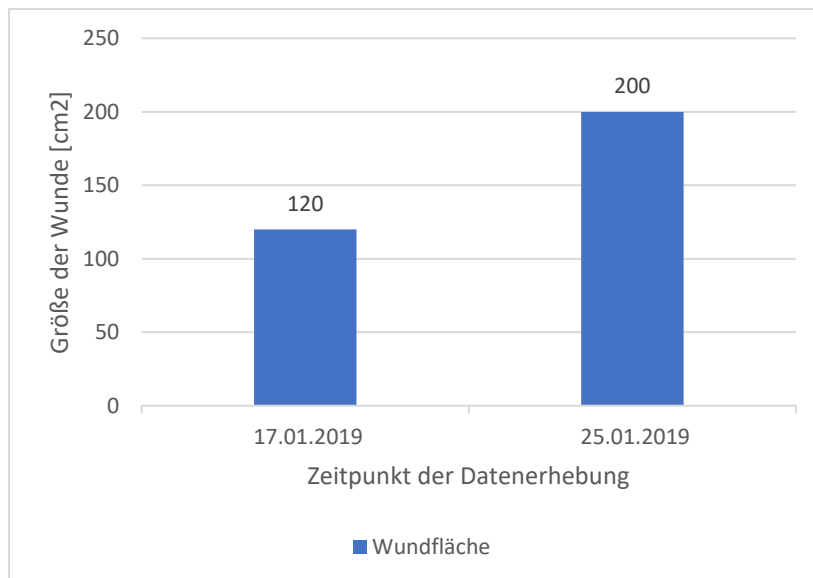
15.11.2018: Wundrand „ok“; Wundschmerz 0

Patient 9:

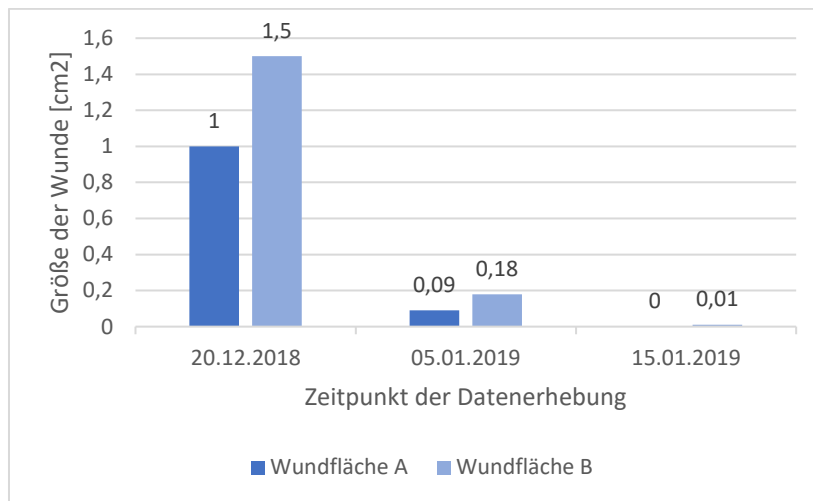
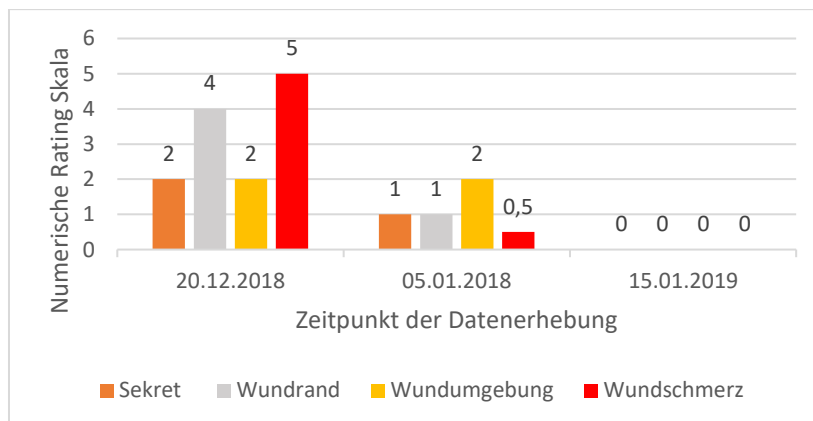
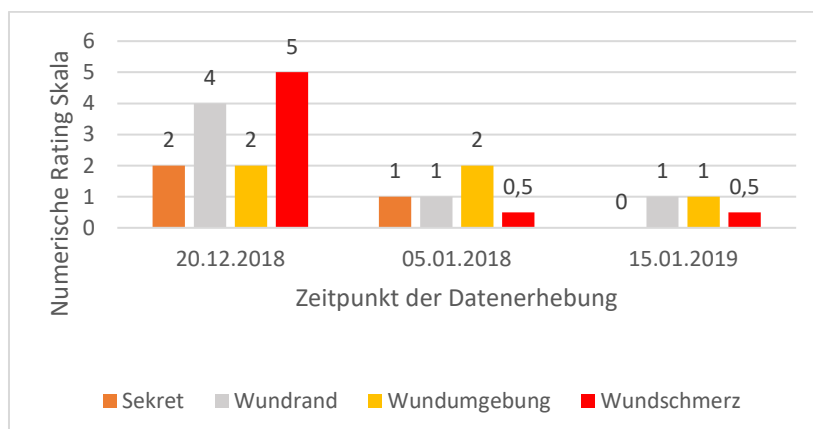
Keine Daten vorhanden

Patient 10:

Keine Daten vorhanden

Patient 11:

25.01.2019: Bemerkung: „Patient hat eine Infektion“

Patient 12:**Wundeigenschaften Wunde A:****Wundeigenschaften Wunde B:****Patient 13:**

Keine Daten vorhanden

Patient 14:

Keine Daten vorhanden

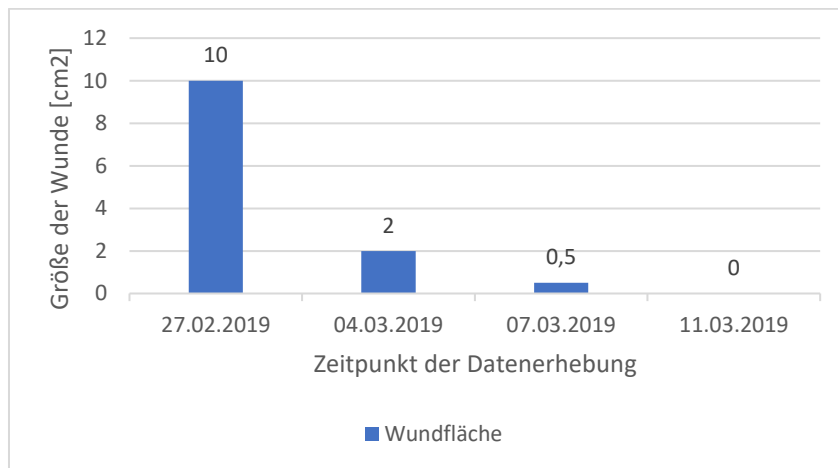
Patient 15:

11.03.2019: Wundgröße 10cm²; Sekret 4; Wundrand 4; Wundumgebung 1; Wundschmerz 0;

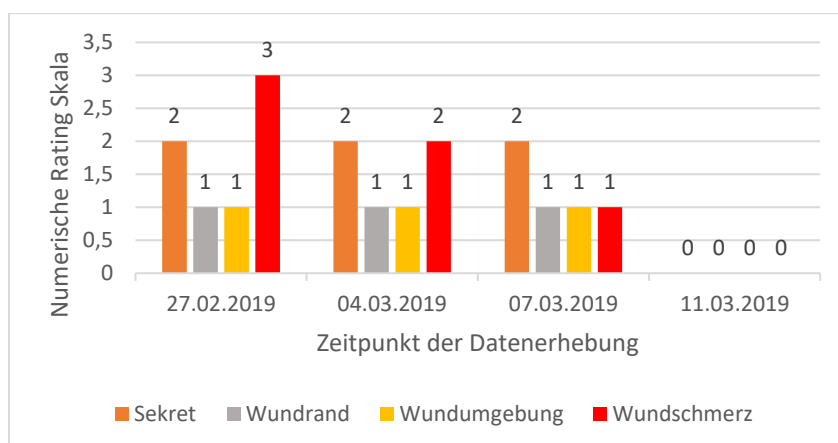
Bemerkung: Wunde wurde größer, übelriechend, PAUSE

Patient 16:

Wundgröße:

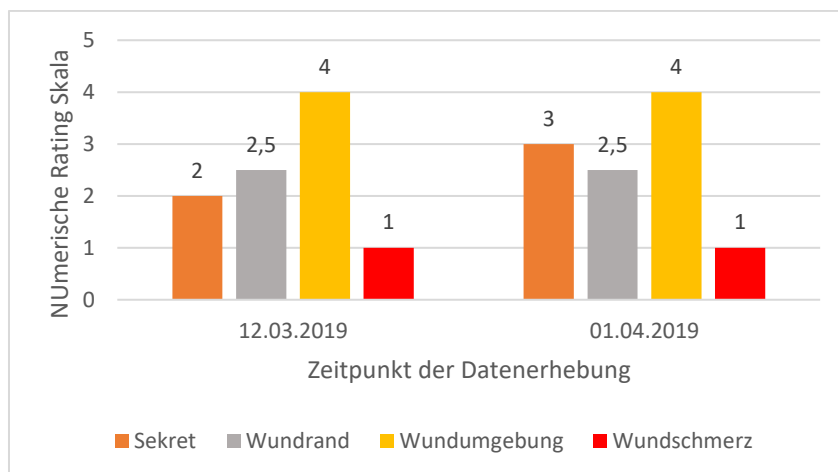
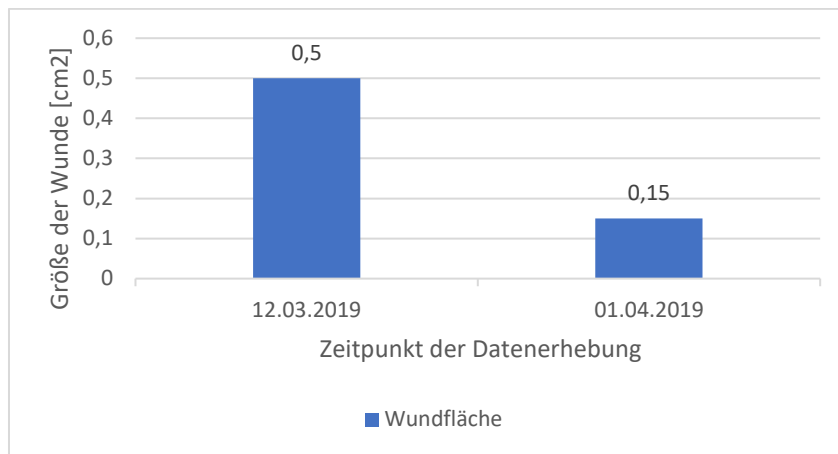


Wundeigenschaften:

Patient 17:

Keine Daten vorhanden

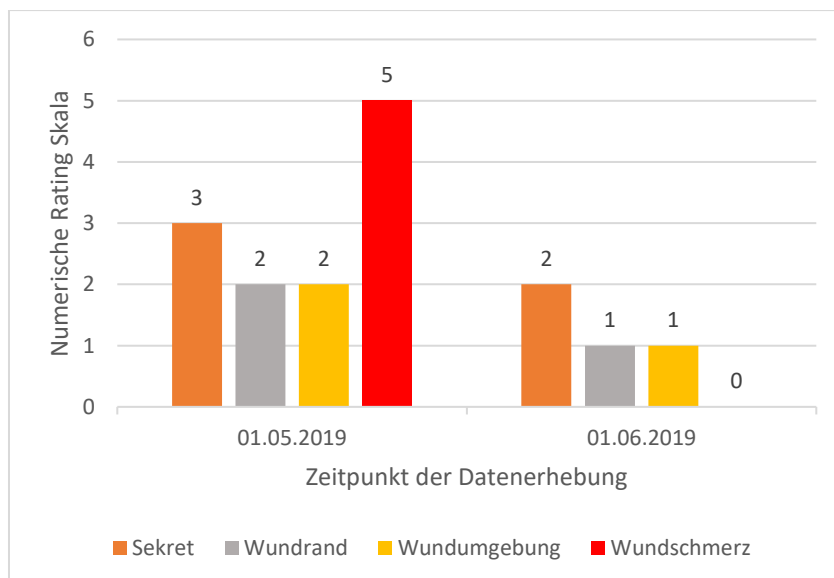
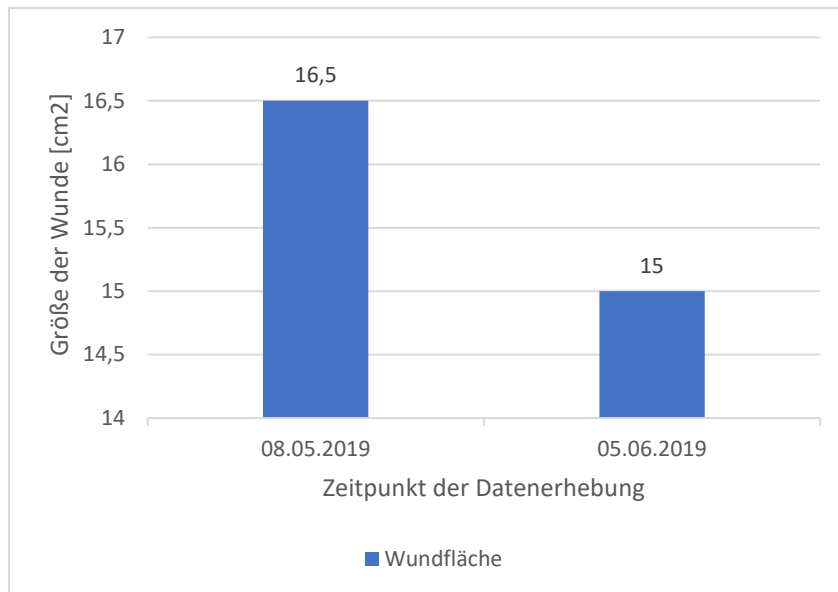
Patient 18:



Patient 19:

Keine Daten vorhanden

Patient 20:



05.06.2019: Bemerkung: Tiefe besser

Patient 21:

17.05.2019: Wundgröße 4cm²

22.05.2019: nur Bemerkung: abgeheilt/bland

Patient 22:

17.06.2019: Wundgröße: idem (gleichbleibend); Sekret 3; Wundrand: 3-4; Wundumgebung 1

04.07.2019: Wundgröße: idem (gleichbleibend); keine weitere Dokumentation vorhanden