

**Isolierung und Strukturaufklärung von entzündungshemmenden
Inhaltsstoffen aus Weihrauchharz**

Dissertation

zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III
Chemie, Pharmazie, Bio- und Werkstoffwissenschaften
der Universität des Saarlandes

von

Stefanie Seitz

Saarbrücken

2008

Tag des Kolloquiums:	21.11.2008
Dekan:	Prof. Dr. U. Müller
Vorsitzender:	Prof. Dr. U. Kazmaier
Berichterstatte:	Prof. Dr. J. Jauch
	Priv.-Doz. Dr. A. Speicher
	Dr. J. Zapp

Diese Arbeit entstand in der Zeit von April 2005 bis Oktober 2008 in der Fachrichtung 8.1 Chemie der Universität des Saarlandes unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Johann Jauch (Organische Chemie).

Ich danke Herrn Prof. Dr. Johann Jauch für die interessante Themenstellung, für seine stetige Diskussionsbereitschaft und die wissenschaftliche Gestaltungsfreiheit bei der Bearbeitung des Themas.

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Zusammenfassung der Dissertation	5
Abstract of the dissertation.....	6
Erläuterungen	7
Abkürzungsverzeichnis	7
A Einleitung und Problemstellung	10
1 Einleitung	10
1.1 Historische und botanische Bedeutung des Weihrauchharzes	10
1.2 Bekannte Inhaltsstoffe des Weihrauchharzes	12
1.2.1 Boswelliasäuren	12
1.2.2 Boswelliasäure-Artefakte	14
1.2.3 Lupansäuren	15
1.2.4 Tirucallensäuren	16
1.2.5 Säuren mit offenem A-Ring (3,4-seco-Triterpensäuren)	17
1.2.6 Sonstige Inhaltsstoffe im Weihrauchharz	18
1.3 Pharmakologische Wirkung des Weihrauchharzes	22
1.3.1 Entzündungsprozesse im menschlichen Körper	22
1.3.2 Entzündungshemmende Wirkung des Weihrauchharzes	23
2 Problemstellung	28
B Isolierung und Strukturaufklärung von Inhaltsstoffen aus den Weihrauch-Harzen	29
1 Inhaltsstoffe aus dem Harz <i>Boswellia papyrifera</i>	29
1.1 Extraktion und chromatographische Trennung von <i>Boswellia papyrifera</i>	29
1.2 Übersichtschromatogramm von <i>Boswellia papyrifera</i>	32
1.3 Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe von <i>Boswellia papyrifera</i>	33
1.3.1 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure	33
1.3.2 3-Oxo-Tirucallensäure	36
1.3.3 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure	39
1.3.4 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure	42
1.3.5 3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure	45

1.3.6	3 α -O-Acetyl-Lupansäure 11	47
1.3.7	3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure 9	50
1.3.8	3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure 7	54
1.3.9	3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure 8	56
2	Inhaltsstoffe aus dem Harz <i>Boswellia carteri</i>	60
2.1	Extraktion und chromatographische Trennung von <i>Boswellia carteri</i>	60
2.2	Übersichtschromatogramm von <i>Boswellia carteri</i>	61
2.3	Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe von <i>Boswellia carteri</i>	62
2.3.1	Serratol 48	62
2.3.2	3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure 72.....	64
2.3.3	3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure 73	68
3	Inhaltsstoffe aus dem Harz <i>Boswellia socotrana</i>	73
3.1	Extraktion und chromatographische Trennung von <i>Boswellia socotrana</i> 73	
3.2	Übersichtschromatogramm von <i>Boswellia socotrana</i>	75
3.3	Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe von <i>Boswellia socotrana</i>	76
3.3.1	Robursäure 74	76
3.3.2	4(23)-Dihydro-Robursäure 18	80
3.3.3	Keto-Robursäure 75	83
3.3.4	4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure 76	85
3.3.5	4(23)-Dihydro-Nyctantinsäure 19.....	87
C	Pharmakologische Ergebnisse.....	89
1	Aktivitätsmessungen an Cathepsin G	89
1.1	Messung der Rohsäurefraktionen von <i>Boswellia</i> Spezies	89
1.2	Messung einzelner Inhaltsstoffe aus <i>Boswellia</i> Spezies.....	90
2	Aktivitätsmessungen an Cyclooxygenase 1	91
3	Aktivitätsmessungen an p12-Lipoxygenase	93
4	Aktivitätsmessungen an 5-Lipoxygenase	94
D	Zusammenfassung und Ausblick.....	96
E	Experimenteller Teil.....	102
1	Material und Methoden	102
1.1	Harzmaterial	102
1.2	Verwendete Lösungsmittel	103

Inhaltsverzeichnis

1.3	Extraktion (allgemeines Verfahren).....	103
1.4	Chromatographie	104
1.5	Spektroskopie	106
1.6	Aktivitätsmessungen an verschiedenen Targets	107
1.6.1	Aktivitätsmessungen an Cathepsin G	107
1.6.2	Aktivitätsmessungen an Cox-1 und p12-Lox	108
1.6.2.1	Aufreinigung humaner Thrombozyten	108
1.6.2.2	Bestimmung der COX-1 bzw. p12-LO Produktbildung in intakten Thrombozyten.....	108
1.6.2.3	Bestimmung der COX-1 Produktbildung an isolierter COX-1	109
1.6.2.4	Bestimmung der p12-LO Produktbildung in S40 Überständen homogenisierter Thrombozyten	109
1.6.3	Aktivitätsmessungen an 5-Lox.....	110
2	Physikalische Daten der Naturstoffe	111
2.1	Naturstoffe aus <i>Boswellia papyrifera</i>	111
2.1.1	Isolierung aus dem Harzmaterial von <i>Boswellia papyrifera</i>	111
2.1.2	3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure 16	113
2.1.3	3-Oxo-Tirucallensäure 13	114
2.1.4	3 α -Hydroxy-Tirucallensäure 14	115
2.1.5	3 β -Hydroxy-Tirucallensäure 15.....	116
2.1.6	3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure 17	117
2.1.7	3 α -O-Acetyl-Lupansäure 11	118
2.1.8	3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure 9	119
2.1.9	3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure 7	120
2.1.10	3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure 8	121
2.2	Naturstoffe aus <i>Boswellia carteri</i>	122
2.2.1	Isolierung aus dem Harzmaterial von <i>Boswellia carteri</i>	122
2.2.2	Serratol 48	123
2.2.3	3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure 72.....	124
2.2.4	3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure 73	125
2.3	Naturstoffe aus <i>Boswellia socotrana</i>	126
2.3.1	Isolierung aus dem Harzmaterial von <i>Boswellia socotrana</i>	126
2.3.2	Robursäure 74	127

Inhaltsverzeichnis

2.3.3 4(23)-Dihydro-Robursäure 18	135
2.3.4 Keto-Robursäure 75	136
2.3.5 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure 76	137
2.3.6 4(23)-Dihydro-Nyctantinsäure 19	138
2.4 NMR-Tabellen	139
2.4.1 Übersicht Lupansäuren	139
2.4.2 Übersicht Tirucallensäuren	140
2.4.3 Übersicht Boswelliasäuren / Artefakte	141
2.4.4 Übersicht Robursäuren	142
Literaturverzeichnis	148
Danksagung	153

Zusammenfassung der Dissertation

Extrakte und Verarbeitungen des Weihrauchharzes *Olibanum* werden wegen ihrer entzündungshemmenden Eigenschaften von alters her in der indischen Volksmedizin „Ayurveda“ eingesetzt. Für diese Wirkung werden bisher die Boswelliasäuren verantwortlich gemacht, welche zur Substanzklasse der pentazyklischen Triterpensäuren gehören. Allerdings sind noch zahlreiche unbekannte Verbindungen im Weihrauchharz enthalten, welche auch zur entzündungshemmenden Wirkung beitragen oder einen synergistischen oder antagonistischen Einfluss auf die Boswelliasäuren besitzen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden aus drei verschiedenen Weihrauchharzen (*Boswellia papyrifera*, *Boswellia carteri*, *Boswellia socotrana*) sechs, bisher unbekannte, sowie zwölf literaturbekannte Verbindungen, welche nicht als Referenzmaterialien zur Verfügung standen, chromatographisch isoliert und deren Strukturen mittels 1D- und 2D-NMR-Techniken aufgeklärt. Mit den gefundenen Substanzen wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. WERZ (Universität Tübingen) Aktivitätsmessungen an verschiedenen Targets durchgeführt. In den Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass die in dieser Arbeit beschriebenen Substanzen ebenfalls für die entzündungshemmende Wirkung des Weihrauchharzes von Bedeutung sind und die Boswelliasäuren nicht allein dafür verantwortlich gemacht werden können.

Abstract of the dissertation

Extracts and preparations of frankincense are widely used in Indian folk medicine “Ayurveda” owing to their antiinflammatory activity. The Boswellic acids, belonging to the class of pentacyclic triterpenes, are the main components of the acidic fraction of frankincense. They were identified as effective compounds and are held so far responsible for the antiphlogistic effects of frankincense. But there are many unidentified substances remaining in the resin, which could also contribute to the antiinflammatory activity or affect the boswellic acids in a synergistic and/or antagonistic manner.

The present work focuses on the isolation and structure elucidation of those unidentified compounds from the different resins of *Boswellia papyrifera*, *Boswellia carteri* and *Boswellia socotrana* by chromatography and 1D- as well as 2D-NMR-methods. As result eighteen substances were found out of which twelve components were already known, but not available as reference material, and six components were not yet reported in the literature. The examination of the compounds concerning their antiinflammatory properties were carried out in cooperation with the group of Prof. Dr. WERZ (University Tübingen). The pharmacological investigations show the significance of the components described in this present work in relation to the antiphlogistic activity of frankincense and that the boswellic acids are not solely responsible for its effect.

Erläuterungen

Die im Text bzw. in den Abbildungen fettgedruckten Zahlen beziehen sich auf die in dieser Arbeit aufgeführten Verbindungen bzw. deren abgebildeten Strukturformeln.

Hochgestellte Zahlen verweisen auf Literaturzitate im Literaturverzeichnis.

Sämtliche Angaben von Retentionszeiten in dieser Arbeit beziehen sich bei der analytischen HPLC auf die Verwendung der Methode „Standard-Gradient“, welche im experimentellen Teil beschrieben ist.

Abkürzungsverzeichnis

δ	chemische Verschiebung (Spektrenzuordnung)
λ	Wellenlänge [nm]
μg	Microgramm
μl	Microliter
μM	Micromol
5-LOX	5-Lipoxygenase
Å	Ångström
AA	Arachidonsäure
ABA	3 α -O-Acetyl-boswelliasäure
AKBA	3 α -O-Acetyl-11-keto-boswelliasäure
BA	Boswelliasäure
Bcar	Boswellia carteri
Bpap	Boswellia papyrifera
br.	breit
Bsoc	Boswellia socotrana
c	Konzentration
CDC	Cinnamyl-3,4-dihydroxy-Cyanocinnamat
CI	chemical ionization (Massenspektrometrie)
COSY	Correlation Spectroscopy
COX	Cyclooxygenase
d	Dublett

Erläuterungen und Abkürzungen

DAD	Diodenarray-Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Dublett von Dubletts (Spektrenzuordnung)
ddd	Dublett von Dubletts von Dubletts (Spektrenzuordnung)
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
EI	electron impact (Massenspektrometrie)
et al.	und Mitarbeiter
Ether	Diethylether
eV	Elektronenvolt
Fa.	Firma
g	Gramm
HCl	Salzsäure
HETE	Hydroxyeicosatetraensäuren
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
HOAc	Essigsäure
HPETE	Hydroperoxyeicosatetraensäuren
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Hz	Hertz
J	Kopplungskonstante
KBA	11-Keto-boswelliasäure
KOH	Kalilauge
m	Multiplett
M	molar, Molarität
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis [Th]
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
MHz	Megahertz
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mol	Mol
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natronlauge

Erläuterungen und Abkürzungen

nm	Nanometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernresonanzspektroskopie)
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
NP	Normalphase
NSAR	nichtsteroidalen Antirheumatika / Antiphlogistika
ORTEP	Darstellung von Elektronenverteilungen
p12-LOX	p12-Lipoxygenase
pm	Pikometer
ppm	Parts per Million (Anzahl Teile pro 1 Million Teile)
R _f	Retentionsfaktor
RP	Reversed Phase (Umkehrphase)
RT	Raumtemperatur
R _t	Retentionszeit
s	Singulett
sek	Sekunde
SiO ₂	Kieselgel
T	Temperatur [°C]
t	Triplett
TFA	Trifluoressigsäure
UV	Ultraviolett
v. Chr.	vor Christi Geburt
1D	1-dimensional
2D	2-dimensional

A Einleitung und Problemstellung

1 Einleitung

1.1 Historische und botanische Bedeutung des Weihrauchharzes

Das Harz der Weihrauchbäume (*Olibanum*, *Salai gugal*) der Gattung *Boswellia* ist eines der bekanntesten Harze aus dem Altertum. Archäologische Funde von amorphem Weihrauchharz bei ägyptischen Ausgrabungen, die auf eine Zeit um 400–500 v. Chr. datiert werden, belegen zum einen die frühe Verwendung von Weihrauch als Räucherwerk und zum anderen die weiten und bedeutungsvollen Handelswege von Weihrauch im Alten Orient.^{1,2} *Olibanum* spielt allerdings nicht nur bei religiösen Riten eine Rolle, sondern ist von jeher in Parfüms, Seifen, Cremes und Lotionen der Kosmetikindustrie enthalten.^{3,4} Weiterhin sind die pharmakologischen Eigenschaften von Weihrauch von großem Interesse, da Weihrauchharz in der traditionellen indischen Volksmedizin „Ayurveda“ wegen seiner antiseptischen, antiarthritischen und antiphlogistische Eigenschaften verwendet wird.⁵ Aus diesen Gründen erfährt Weihrauch seit einigen Jahrzehnten eine wachsende Aufmerksamkeit von Wissenschaftlern und der Pharmaindustrie, welche sich in zahlreichen Publikationen und Patenten widerspiegelt.⁶

Die Rinde der Weihrauchbäume wird bei der Harzgewinnung vorsichtig eingeschnitten, so dass das Harz als balsamartige Masse austritt, welche an der Luft erstarrt. Das aromatische Gummi-Harz wird nach einigen Wochen mit einem Schabmesser von der Rinde gelöst und von alters her für kultische Zwecke verwendet.²

Die Gattung *Boswellia* gehört zur Familie der Balsambaumgewächse (*Burseraceae*) und teilt sich in über 25 bekannte Spezies auf, die in Indien, auf der arabischen Halbinsel und in Afrika beheimatet sind.² Als Stammpflanzen des Weihrauchharzes werden heute im wesentlichen drei Spezies angesehen: *Boswellia sacra*, *Boswellia carteri* und *Boswellia frereana*. Eine weitere somalische Spezies, *Boswellia bhau-dajiana*, ist mit der Stammpflanze *Boswellia carteri* identisch. An der Küste von Ostafrika, in Äthiopien, Eritrea und dem Sudan ist *Boswellia papyrifera* weit verbreitet. Dieses Harz ist der indischen Spezies *Boswellia serrata* ähnlich, welche umgangssprachlich auch als „*salai gugal*“ bezeichnet und hauptsächlich in der indischen Volksmedizin verwendet wird. Über die Zusammensetzung von drei von

BALFOUR auf der Insel Socotra (Jemen) gefundenen Arten *Boswellia ameero*, *Boswellia elongata* und *Boswellia socotrana* ist bis heute nichts näheres bekannt.² Auch die Harze zweier *Canarium*-Arten, *Canarium liebertianum* und *Canarium bengalese*, die ebenfalls zu den *Burseraceae* gehören, sollen als „Weihrauch“ im tropischen Afrika und in Indien Anwendung finden (Tabelle 1).²

Wegen verschiedenen Bezeichnungen einer Spezies durch die einheimische Bevölkerung ist oft nicht eindeutig geklärt, ob es sich um die gleichen Harze von Weihrauchbäumen handelt oder ob es Produkte von anderen harzliefernden Bäumen sind. Ebenso besteht bei den verschiedenen Spezies innerhalb der Weihrauchbäume teilweise immer noch Unklarheit darüber, ob die gewonnenen Harze dem Weihrauch angehören oder ob die gebildeten Produkte nicht anderen Harzen ähnlicher sind. Somit deckt der Begriff „Weihrauch“ ein breites Spektrum unterschiedlicher Produkte ab und eine Identifizierung der einzelnen Spezies von *Boswellia* ist auch heute noch erschwert.

Tabelle 1: Übersicht der wichtigsten Vertreter von Weihrauch ^{2,7,8,9}

Familie	Gattung	Spezies	Verbreitung	Produkt
Burseraceae	Boswellia	<i>B. sacra</i>	Südarabien	Olibanum
		<i>B. carteri</i>	Somalia	Olibanum
		<i>B. frereana</i>	Somalia	Olibanum
		<i>B. neglecta</i>	Kenia	Olibanumsorte
		<i>B. papyrifera</i>	Ost-Afrika	Olibanum
		<i>B. serrata</i>	Indien	„salai gugal“, Olibanum
		<i>B. ameero</i>	Insel Socotra	weihrauchähnliche Harze
		<i>B. elongata</i>		
		<i>B. socotrana</i>		
	Canarium	<i>C. liebertianum</i>	Afrika	weihrauchähnliche Harze
		<i>C. bengalese</i>	Indien	weihrauchähnliche Harze

1.2 Bekannte Inhaltsstoffe des Weihrauchharzes

1.2.1 Boswelliasäuren

Boswelliasäuren wurden bisher ausschließlich aus dem Harz der Weihrauchbäume isoliert und gelten somit als gattungsspezifisch. Untersuchungen von TSCHIRCH und HALBEY sowie von WINTERSTEIN und STEIN am Ende des 19. Jahrhunderts zeigten, dass Extrakte des Weihrauchharzes in saure und neutrale Bestandteile aufgetrennt werden können.^{10,11} Aus der von HALBEY gewonnenen „Boswellinsäure“ isolierten WINTERSTEIN und STEIN erstmals β -Boswelliasäure (β -BA) **1** und 3 α -O-Acetyl- β -Boswelliasäure (β -ABA) **2**, sowie deren Isomere α -Boswelliasäure (α -BA) **3** und 3 α -O-Acetyl- α -Boswelliasäure (α -ABA) **4** (Abbildung 1).¹¹

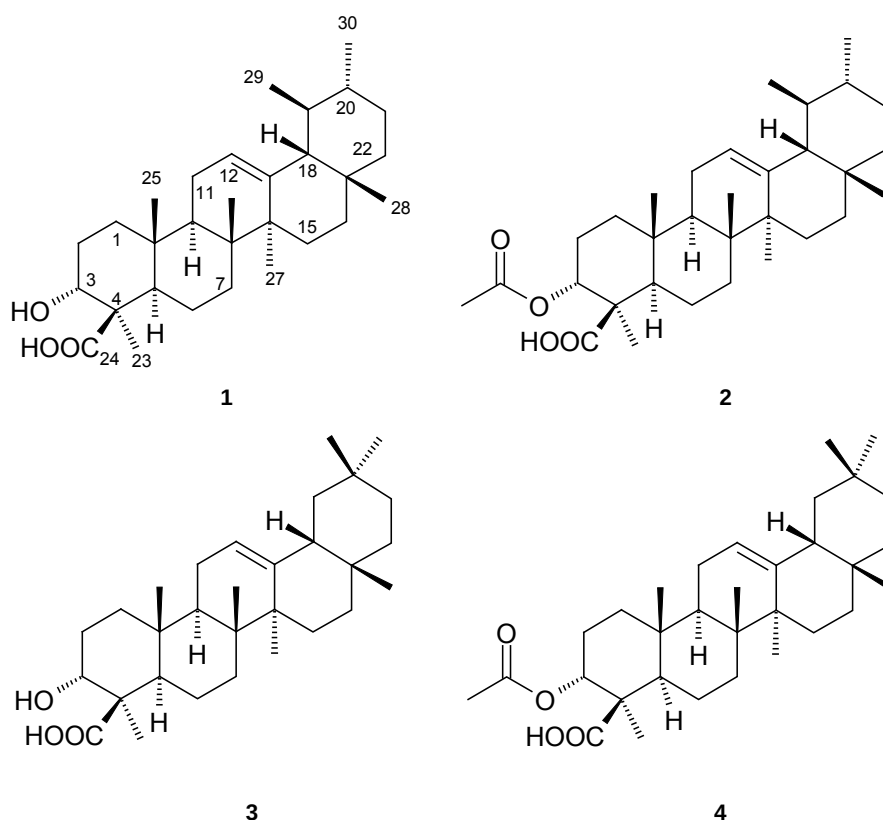


Abbildung 1: Struktur der Boswelliasäuren **1** - **4**

RUZICKA *et al.* gelang schließlich der Nachweis, dass es sich bei den isolierten Boswelliasäuren um Derivate des α - und β -Amyrins handelte und die systematische

Untersuchung der Triterpene konnte durch die Übertragung von Ergebnissen der Amyrine auf diejenigen der Boswelliasäuren vereinfacht werden.^{12,13}

Die Boswelliasäuren gehören daher zur Gruppe der pentacyclischen Triterpene und leiten sich formal vom Oleanan- (α -Reihe) bzw. Ursangerüst (β -Reihe) ab.^{14,15} Um 1950 ermittelte BETON *et al.* die Konfiguration der Hydroxylgruppe an C-3 (α) und der Carboxylgruppe an C-24 (β).^{16,17} Auch die von BUDZIKIEWICZ *et al.* veröffentlichten massenspektrometrischen Daten zu einer Reihe von Amyrinderivaten, trugen zur Strukturaufklärung der Boswelliasäuren bei.^{18,19} 1978 wurde die Gruppe der bekannten Boswelliasäuren durch säulenchromatographische Untersuchungen des Harzes von *Boswellia serrata* erweitert. PARDY und BHATTACHARYYA gelang damals die Isolierung von Boswelliasäuren mit einer Keto-Funktion an C-11 11-Keto- β -Boswelliasäure (β -KBA) **5** und 3 α -O-Acetyl-11-Keto- β -Boswelliasäure (β -AKBA) **6** und einige charakteristische ¹H-NMR-Daten wurden erstmals veröffentlicht (Abbildung 2).^{20,21,22,23,24}

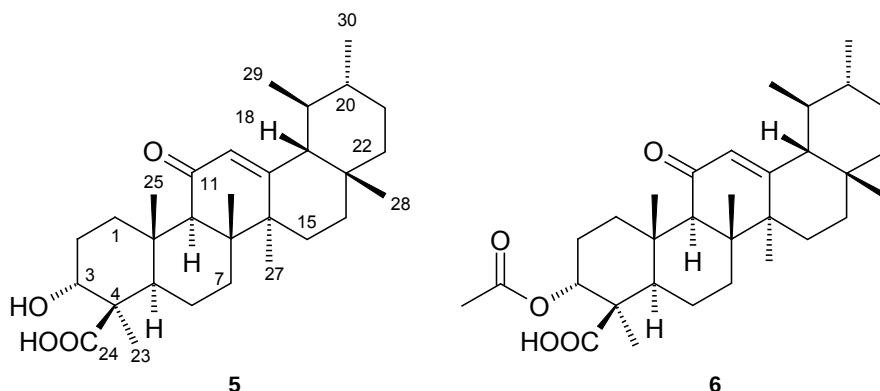


Abbildung 2: Strukturen der Boswelliasäuren **5** und **6**

Durch die Veröffentlichung der Röntgenstrukturen von β -ABA **4** und von β -AKBA **6** sowie der NMR-Daten der Boswelliasäuren **1-4** und **6** wurde die Strukturaufklärung nach und nach vervollständigt.^{25,26,27,28}

Wie quantitative Gehaltsuntersuchungen zeigen, machen die Boswelliasäuren ca. 25-35 Gewichtsprozent der Harzsäuremischung aus und gehören somit zu den Hauptbestandteilen des Weihrauchharzes (Tabelle 2).^{29,30,31} Die gefundenen Werte schwanken allerdings je nach Qualität des verwendeten Weihrauchharzes, dem Zeitpunkt der Ernte und in Abhängigkeit von der *Boswellia*-Spezies.

Tabelle 2: Prozentuale Anteile von Boswelliasäuren in Harzsäuremischungen

	β -BA 1	β -ABA 2	β -KBA 5	β -AKBA 6
ENNET <i>et al.</i> ²⁹	-	-	3.8%	4.2%
SHAO <i>et al.</i> ³⁰	21.1%	0.05%	7.7%	0.2%
MAJEED <i>et al.</i> ³¹	10.1%	6.8%	5.1%	3.8%

1.2.2 Boswelliasäure-Artefakte

Als Artefakt wurde die acetylierte Dehydro- β -Boswelliasäure **7** von BETON *et al.* bereits 1950 in der Literatur beschrieben (Abbildung 3).¹⁶ Auffallend waren widersprüchliche Angaben zum optischen Drehvermögen, so dass eine stark rechtsdrehende Verbindung im Weihrauchextrakt vermutet wurde. Weiterhin konnten BETON und Mitarbeiter nachweisen, dass die Bildung von **7** von der Art der Behandlung (Wärmezufuhr, Säurezusatz und Reaktionsdauer) des Weihrauchharzes abhängig ist und daher in unterschiedlichem Maße entsteht.

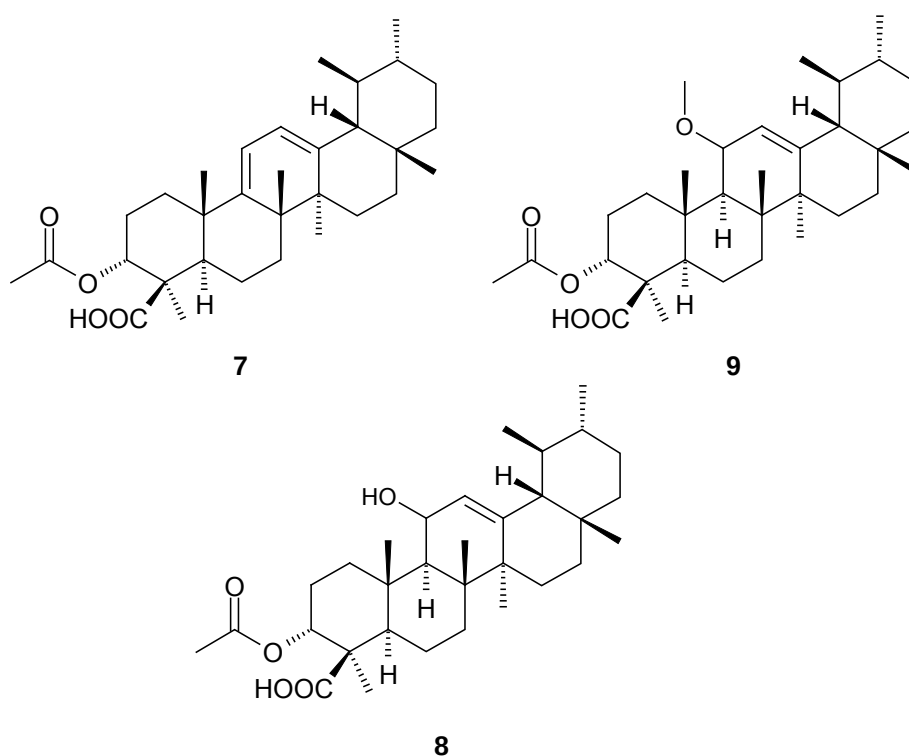


Abbildung 3: Strukturen der Artefakte von Boswelliasäuren **7** - **9**

Durch neuere Untersuchungen von SAFAYHI und AMMON an verschiedenen Weihrauchharzen mittels HPLC-MS wurde diese Vermutung bestätigt, da der Abbau der natürlich vorkommenden 3α -O-Acetyl-11-hydroxy- β -Boswelliasäure **8** zum thermodynamisch stabileren Artefakt **7** beobachtet wurde.³² Bei Verwendung eines säurefreien Eluenten konnte sogar die Bildung eines metastabilen Artefakts beobachtet werden (3α -O-Acetyl-11-methoxy- β -Boswelliasäure **9**). AMMON und Mitarbeitern gelang es aufgrund der Instabilität nicht, die 3α -O-Acetyl-11-hydroxy- β -Boswelliasäure **8** zu isolieren.

1.2.3 Lupansäuren

Neben den gattungsspezifischen Boswelliasäuren wurden zu Beginn dieses Jahrhunderts erstmals Triterpene mit einem Lupan-Gerüst aus dem Weihrauchharz isoliert (Abbildung 4). VIEILLES CAZES *et al.* isolierten aus dem methanolischen Extrakt eines sudanesischen Weihrauchharzes, welches sie als „Erytrean-type“ bezeichneten, die Lupansäure **10**.²⁷ Kurz darauf berichteten SIMMET *et al.* von der Isolierung und Strukturaufklärung der 3α -O-Acetyl-Lupansäure **11** aus *Boswellia serrata*.³³

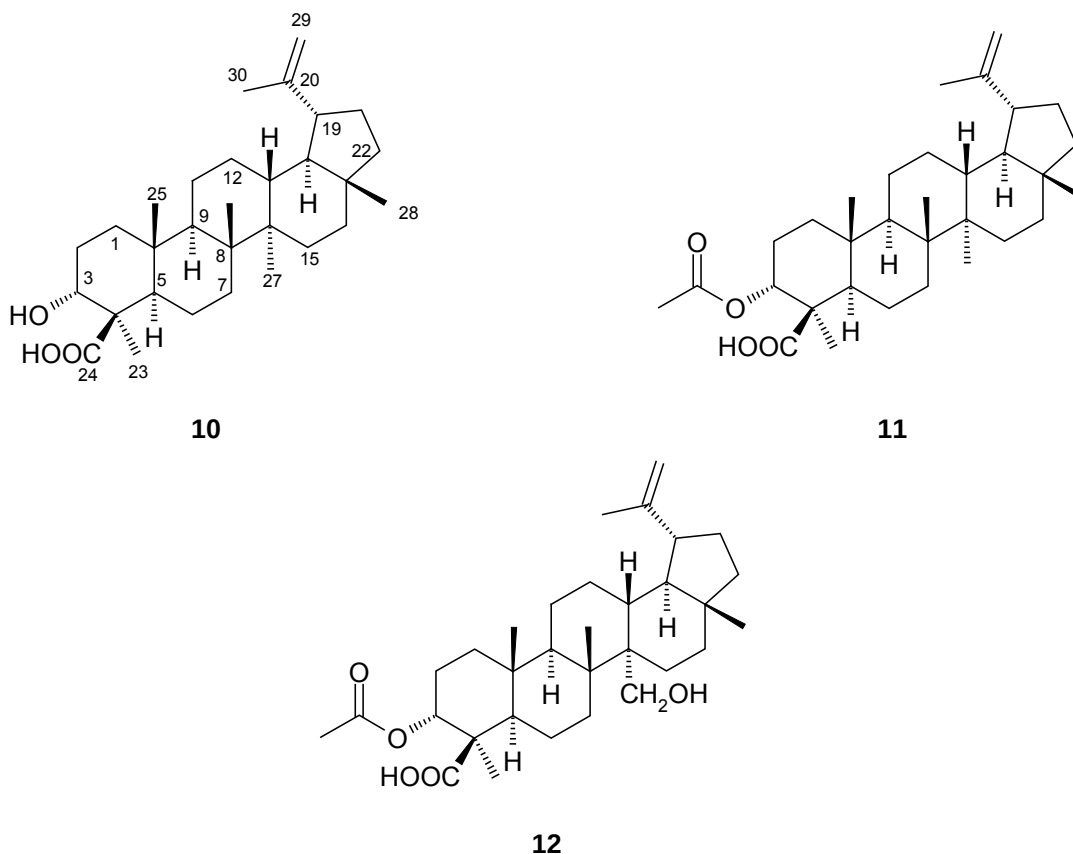


Abbildung 4: Strukturen der Lupansäuren **10** - **12**

In jüngster Zeit veröffentlichte die Arbeitsgruppe um CHOUDHARY eine neues Derivat der Lupansäure, welches aus der Rinde von *Boswellia papyrifera* gewonnen wurde. Dabei handelte es sich um eine acetylierte Lupansäure, die statt einer Methylgruppe an C-27 einen primären Alkohol trägt und als 3 α -O-Acetyl-27-hydroxy-Lupansäure **12** benannt wurde.³⁴

1.2.4 Tirucallensäuren

Neben den pentacyclischen Triterpensäuren **1-12** wurden von PARDHY und BHATTACHARYYA auch tetracyclische Triterpensäuren aus *Boswellia serrata* isoliert (Abbildung 5).³⁵

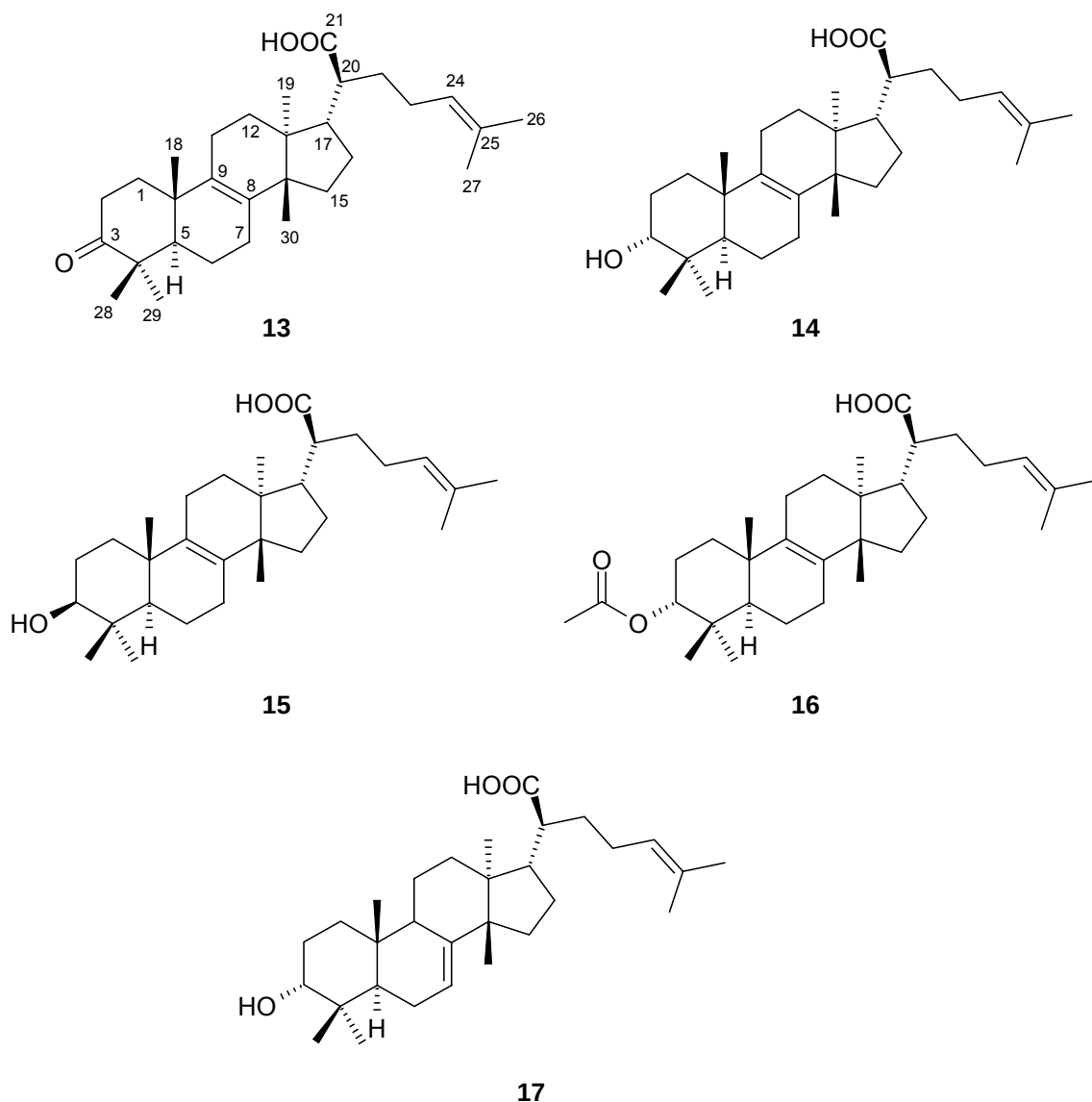


Abbildung 5: Strukturen der Tirucallensäuren **13 - 17**

Es handelt sich dabei um die 3-Oxo-Tirucallensäure **13**, die 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure **14**, die 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure **15** sowie die 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16**. Diese Verbindungen konnten auch von COTTERRELL und HALSALL aus dem Elemi-Harz (Gattung *Canarium*) isoliert werden.³⁶ Zusätzlich berichteten sie über die Isolierung der 3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure **17** aus dem gleichen Harz, die auch von AKIHISA *et al.* in *Boswellia carteri* gefunden wurde.³⁷

1.2.5 Säuren mit offenem A-Ring (3,4-seco-Triterpensäuren)

Als Vertreter der 3,4-seco-pentacyclischen Triterpensäuren im Weihrauchharz isolierte FATTORUSSO *et al.* erstmals die 4(23)-Dihydorobursäure **18** aus der Säurefraktion von *Boswellia carteri*.³⁸ Dabei handelte es sich um eine am A-Ring geöffnete (3,4-seco) Triterpensäure mit Ursan-Grundgerüst, welche an Position 5 eine Isopropylgruppe aufweist. 5-Isopropyl-3,4-seco-Triterpensäuren konnten zunächst nur aus Sediment-Material gewonnen werden, weshalb angenommen wurde, dass es sich bei den isolierten Substanzen um Abbauprodukte aus höheren Pflanzen handelt, die durch geochemische Prozesse entstanden sind.^{39,40}

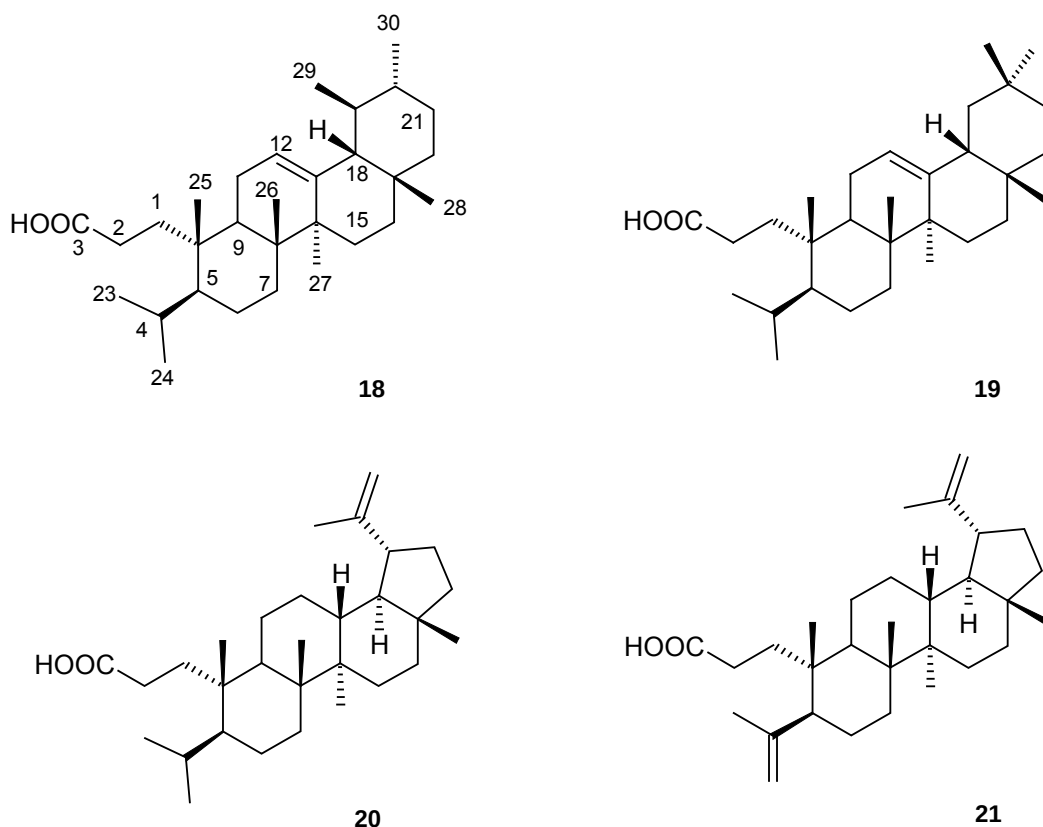


Abbildung 6: Strukturen der 3,4-seco-Triterpensäuren **18** - **21**

BAAS *et al.* isolierte weitere 3,4-seco-3-Triterpensäuren aus natürlichem Pflanzenmaterial mit unterschiedlichen Typen von Triterpengerüsten.⁴¹ So konnten aus dem Wachs der Blätter von *Hoya naumanii* (Familie *Asclepiadaceae*), die unter dem Namen „Porzellanblume“ bekannt ist, die 4(23)-Dihydronycthantinsäure **19** mit Oleanan-Grundgerüst und die 4(23)-Dihydrocanariensäure **20** mit Lupan-Grundgerüst isoliert werden (Abbildung 6).

BANDARANAYAKE *et al.* isolierte aus dem Harz *Canarium zeylanicum*, einem Baum, der zur Familie der *Burseraceae* gehört, die Canariensäure **21**.^{42,43} Diese wurde auch von der Arbeitsgruppe um DEKABO aus *Boswellia neglecta*, einem kenianischen Weihrauchharz, isoliert.⁴⁴

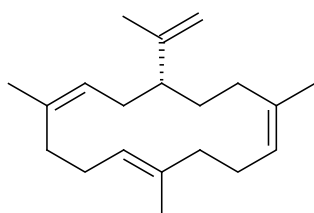
1.2.6 Sonstige Inhaltsstoffe im Weihrauchharz

Die Neutralbestandteile im Weihrauchharz wurden wegen ihrer oft geruchsintensiven Eigenschaften ausführlich untersucht. Generell befinden sich im Harz Monoterpene, Diterpene, Sesquiterpene und Triterpene (Abbildung 7).²

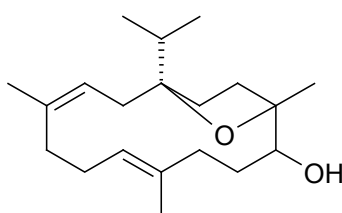
Dabei ist zu beachten, dass diese Verbindungen nicht in allen Weihrauchspezies auftreten. Auch die enthaltenen Mengen schwanken beträchtlich.^{45,46,47,48,49,50}

Wie AMMON *et al.* herausgefunden haben, besitzen die Amyrine, die in Abbildung 7 dargestellt sind, eine antagonistische Wirkung zu den entzündungshemmenden Boswelliasäuren.^{51,52} In Bezug auf die entzündungshemmende Wirkung dieser neutralen Bestandteile stehen ausführliche Untersuchungen noch aus.

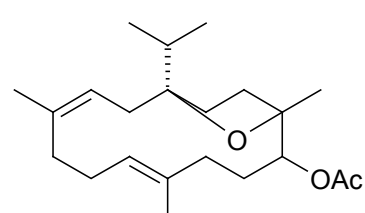
Diterpene



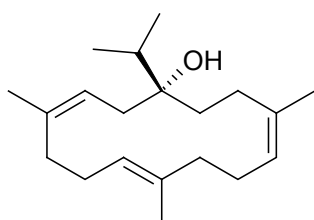
Cembren A **45**



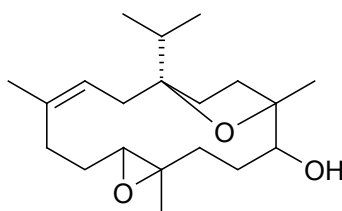
Inscensol **46**



Inscensolacetat **47**

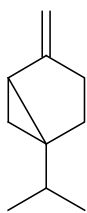


Serratol **48**

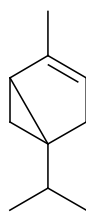


Inscensoloxid **49**

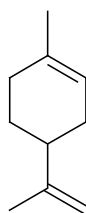
Monoterpene



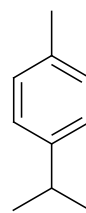
Sabinen 22



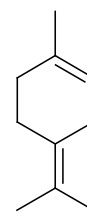
α - Thujaen 23



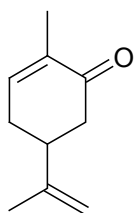
Limonen 24



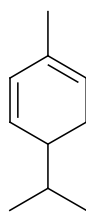
p-Cymen 25



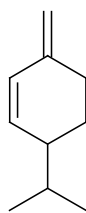
Terpinolen 26



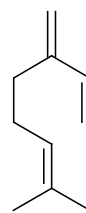
Carvon 27



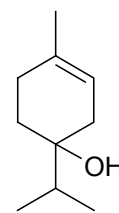
α - Phellandren 28



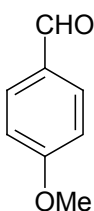
β - Phellandren 29



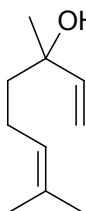
Mycren 30



Terpin-4-ol 31



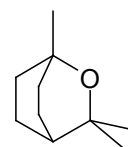
Anisaldehyd 32



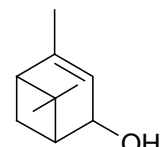
Linalool 33



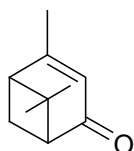
Camphen 34



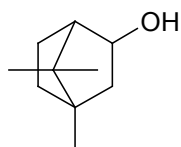
Cineol 35



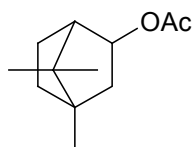
Verbenol 36



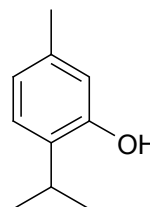
Verbenon 37



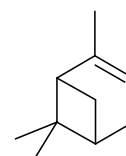
Borneol 38



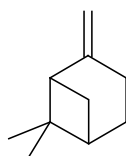
Bornylacetat 39



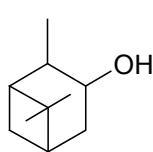
Thymol 40



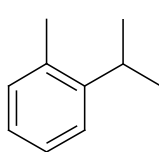
α - Pinen 41



β - Pinen 42

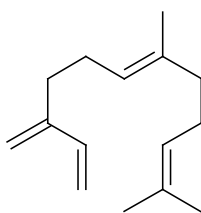


α - Pinocarveol 43

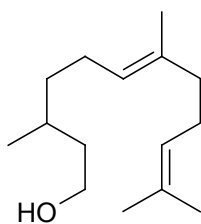


o-Cymen 44

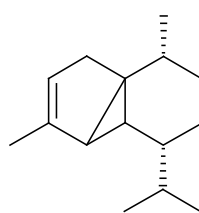
Sesquiterpene



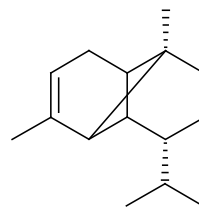
Farnesen **50**



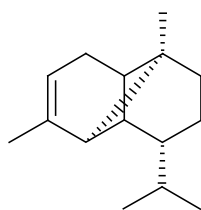
Farnesol **51**



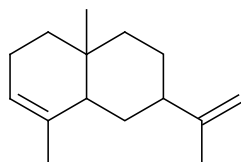
α - Cubeben **52**



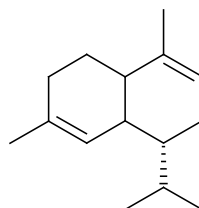
α - Copaen **53**



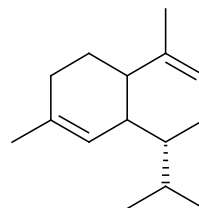
β - Ylengen **54**



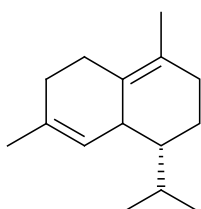
β - Selinen **55**



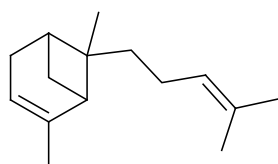
β - Cadinen **56**



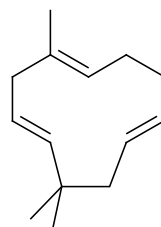
β - Muurolen **57**



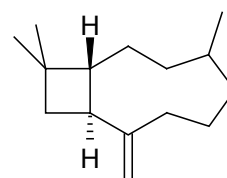
δ - Cadinen **58**



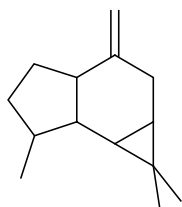
α - Bergamoten **59**



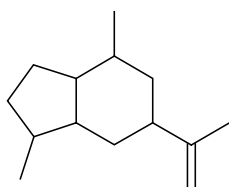
β - Humulen **60**



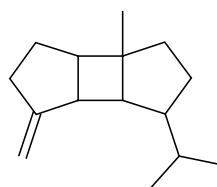
β - Caryophyllen **61**



Alloaromdendren **62**

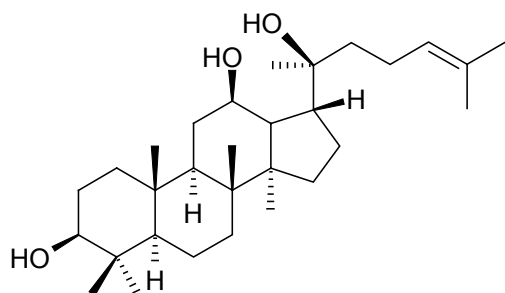


β - Alloaromdendren **63**

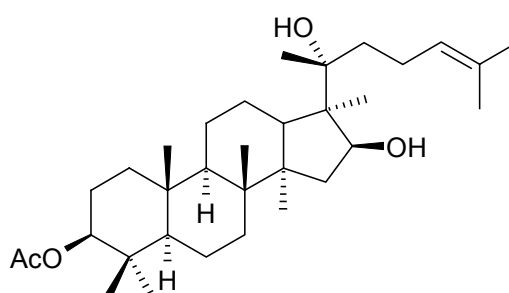


β - Alloaromdendren **64**

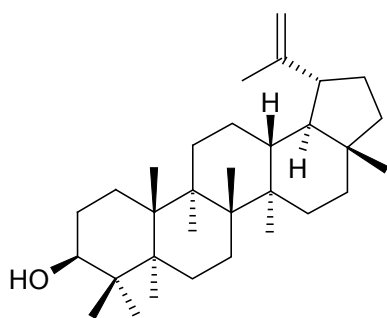
Triterpene



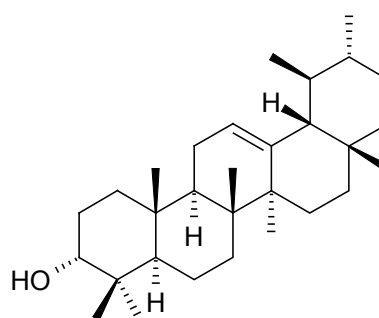
Protopanaxadiol **65**



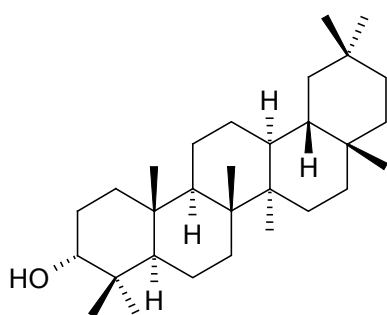
3-Acetoxy-16,20-dihydroxy-dammaren-24 **66**



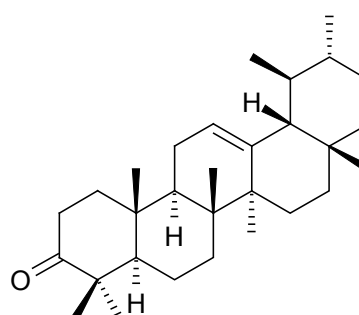
Lupeol **67**



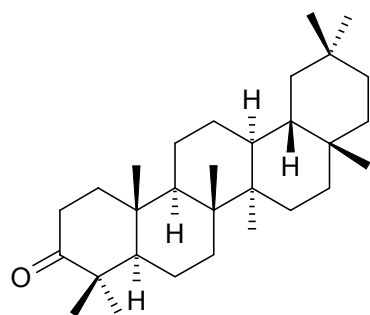
α - Amyrin **68**



β - Amyrin **69**



α - Amyrenon **70**



β - Amyrenon **71**

Abbildung 7: Strukturen der Neutralbestandteile im Weihrauchharz

1.3 Pharmakologische Wirkung des Weihrauchharzes

1.3.1 Entzündungsprozesse im menschlichen Körper

Fremdstoffe und Krankheitserreger, die in einen Organismus eindringen, müssen rasch eliminiert bzw. abgewehrt werden, um Schäden zu vermeiden. Dies geschieht normalerweise durch eine Entzündung, einer örtlich abgegrenzten Abwehrreaktion des Organismus, die durch Krankheitserreger, durch physikalische und chemische Einflüsse oder durch eine Überreaktion des Immunsystems (z.B. durch Allergene) ausgelöst wird. Diese Reaktion kennzeichnet sich symptomatisch üblicherweise durch Schmerz, Rötung, lokale Erwärmung oder Schwellung.^{53,54} Dabei werden zunächst verschiedene Immunzellen aktiviert, die auch zahlreiche Botenstoffe, die sogenannten Entzündungsmediatoren, freisetzen, welche die Abwehrleistung verstärken und koordinieren. Zu den wichtigsten Mediatoren gehören die Prostaglandine und die Leukotriene, die über die Arachidonsäurekaskade gebildet werden (Abbildung 8).⁵¹

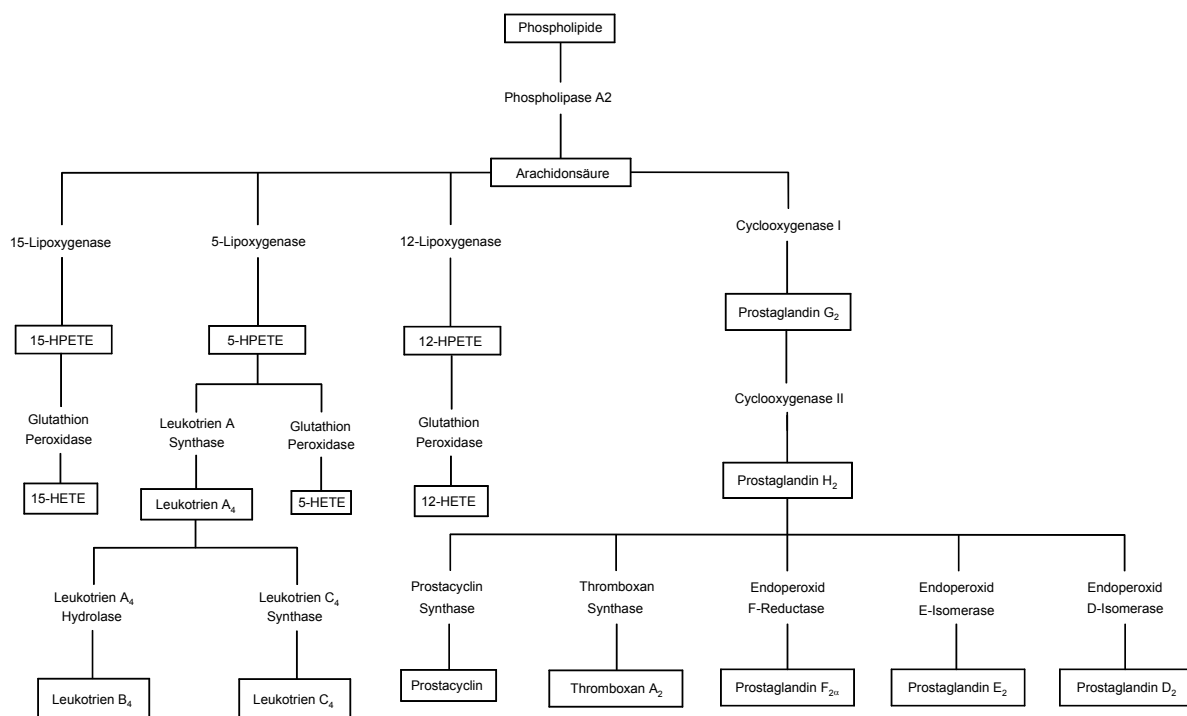


Abbildung 8: Arachidonsäurekaskade

Die gegenwärtige Behandlung von akuten Entzündungen erfolgt durch Substanzen, welche die Synthese von Prostaglandinen hemmen; sie werden als nicht steroidale Antiphlogistika/Antirheumatika (NSARs) bezeichnet. Die Wirkung beruht auf der

Hemmung der beiden Cyclooxygenasen in der Arachidonsäurekaskade, wodurch die Prostaglandinsynthese unterbunden werden kann.⁵⁵ Im Gegensatz zu den akuten Entzündungen ist das Immunsystem bei chronischen Prozessen nicht mehr in der Lage, seine eigene Aktivität zeitlich und örtlich zu begrenzen. Der Vorgang wird ständig aufrecht erhalten, auch wenn keine Abwehrreaktion erforderlich ist. Zu den chronisch entzündlichen Erkrankungen zählen z. B. Asthma, Rheuma, chronische Bronchitis, Schuppenflechte, Neurodermitis, Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa. Bei all diesen Erkrankungen liegt ein erhöhter Leukotrienwert, hauptsächlich Leukotrien B₄, vor.^{54,56,57} Die Leukotriene entstehen durch Umwandlung der Arachidonsäure in die Zwischenstufe der Hydroperoxyeicosatetraensäuren (HPETE) mittels Lipoxygenasen und anschließender Überführung durch weitere Enzyme in die Leukotriene (Abbildung 8). Auch bei den chronischen Entzündungen wird bei der Behandlung in die Arachidonsäurekaskade eingegriffen. Zum Einsatz kommen sogenannte Glukokortikoide, welche die Bildung von Prostaglandinen und Leukotrienen hemmen, da bereits die Phospholipase A₂ blockiert wird.⁵⁸

Beide Kategorien dieser entzündungshemmenden Arzneistoffe, NSARs und Glukokortikoide, sind aber mit einer Reihe von zum Teil schwerwiegenden Nebenwirkungen verbunden. Dies gilt insbesondere für die Anwendung der Glukokortikoide bei den chronischen Entzündungserkrankungen.⁵⁸ Ein weiterer Ansatzpunkt der Forschung war daher die Entwicklung von Redox- und Nicht-Redox-Lipoxygenaseinhibitoren, um gezielt die Leukotrien-Synthese zu unterbinden. Allerdings zeigten viele dieser Verbindungen in den verschiedenen Phasen der klinischen Studien massive Nebenwirkungen oder erwiesen sich als deutlich weniger wirksam als *in vitro* und wurden nicht weiter verfolgt.^{59,60}

1.3.2 Entzündungshemmende Wirkung des Weihrauchharzes

Extrakte des Weihrauchharzes (*Salai gugal*) von *Boswellia serrata* werden seit Jahrtausenden in der traditionellen indischen Volksmedizin „Ayurveda“ verwendet und kamen hauptsächlich bei chronischer Arthritis und chronischer Bronchitis zur Anwendung.² Bisher wird ein entfetteter methanolischer Extrakt von *Salai gugal* unter dem Namen *Sallaki*[®] vertrieben, welcher als *H15*[®] in einem Kanton der Schweiz (Appenzell-Außerrhoden) als Medikament gegen chronische Arthritis zugelassen ist.^{61,62}

In neuerer Zeit wurde die Wissenschaft durch die positiven Ergebnisse bei den Behandlungen von chronischen Entzündungskrankheiten auf die ayurvedische Medizin aufmerksam, so dass umfangreiche Versuche unternommen wurden, die entzündungshemmende Wirkung von Weihrauchharzen aufzuklären. Den Anfang dazu machten SINGH *et al.*, die erstmals 1986 über die entzündungshemmende Wirkung von Weihrauchextrakten berichteten.⁶³ Weitere zahlreiche Untersuchungen, die bis heute sowohl am Tier als auch am Menschen durchgeführt wurden, belegen die Wirksamkeit von Weihrauchextrakten bei der Behandlung von entzündlichen Krankheiten sowie von Gehirntumoren.^{5,64,65,66,67,68,69}

Die erste Untersuchung zu den entzündungshemmenden Eigenschaften des Weihrauchharzes unter pharmakologischen Gesichtspunkten wurde von AMMON *et al.* 1991 durchgeführt.^{51,52} Sie beobachteten die spezifische Hemmung der Leukotrien B₄-Bildung durch einen methanolischen Extrakt von *Salai gugal*. Um die Bildung von Leukotrien B₄ zu unterbinden, ist eine Hemmung der 5-Lipoxygenase erforderlich (Abbildung 8). Mit der Identifizierung der Boswelliasäuren β -BA **1**, β -ABA **2**, β -KBA **5** und β -AKBA **6** gelang ihnen die Isolierung der Substanzen, die für die Hemmung der 5-Lipoxygenase verantwortlich gemacht wurden.⁷⁰

Weiterhin konnten AMMON *et al.* zeigen, dass es sich bei den Boswelliasäuren um spezifische Nicht-Redox-nichtkompetitive Inhibitoren der 5-Lipoxygenase handelt und diese an eine Regulationsstelle binden, die nicht mit dem aktiven Zentrum der 5-Lipoxygenase identisch ist.^{71,72} Ebenfalls wiesen sie nach, dass die Säuregruppe der Boswelliasäuren essentiell für deren Wirkung ist.⁷³ Die Untersuchungen von AMMON *et al.* ergaben, dass die β -AKBA **6** der effektivste 5-Lipoxygenase-Inhibitor ist (IC₅₀ 1.5 μ M), gefolgt von β -KBA **5** und β -BA **1** (IC₅₀ jeweils 4.5 μ M). Die β -ABA **2** hat die geringste Hemmwirkung auf die 5-Lipoxygenase (IC₅₀ 7 μ M).⁷⁰ Dabei ist zu beachten, dass diese Untersuchungen mit Zellen von der Ratte durchgeführt wurden. Untersuchungen an anderen Zellsystemen und anderen Spezies ergaben allerdings ein anderes Bild. AMMON *et al.* fanden für die β -AKBA **6** an isolierter 5-Lipoxygenase des Menschen einen IC₅₀-Wert von 16 μ M.⁷¹ WERZ *et al.* bestimmten für die gleiche Boswelliasäure **6** einen IC₅₀-Wert von 50 μ M, wenn statt isolierter Zellen die cytosolische Fraktion des Menschen verwendet wurde.⁷⁴ Ebenso konnte in bestimmten Konzentrationsbereichen sogar eine stimulierende Wirkung der β -KBA **5** und β -AKBA **6** auf die 5-Lipoxygenase festgestellt werden.^{75,76}

Die Widersprüchlichkeit dieser einzelnen Werte und die ermittelte Konzentration an β -AKBA **6** im Plasma^{77,78} legt zum einen die Vermutung nahe, dass der Wirkmechanismus auf die 5-Lipoxygenase weitaus komplexer ist als bisher angenommen wurde.⁶⁴ Zum anderen können auch weitere, bisher unbekannte, Targets für die entzündungshemmenden Eigenschaften des Weihrauchharzes im allgemeinen und der Boswelliasäuren im speziellen eine Rolle spielen.

Um diese Vermutungen zu belegen, führten die Arbeitsgruppen um JAUCH und WERZ gezielte Targetfishing-Experimente durch, indem die beiden Boswelliasäuren β -BA **1** und β -KBA **5** an EAH Sepharose 4B[®] immobilisiert wurden.⁷⁹ In einem Zelllysats von menschlichen Leukozyten wurde die Anbindung der immobilisierten β -KBA **5** an die p12-Lipoxygenase beobachtet. Diese Wechselwirkung mit anderen Lipoxygenasen wurde bisher ausgeschlossen.⁷⁰ Eine spezifische Bindung der an EAH Sepharose 4B[®] angebundenen β -KBA **5** an die 5-Lipoxygenase konnte bei dieser Untersuchung nicht festgestellt werden.⁸⁰ Neben der p12-Lipoxygenase wurden als weitere Targets die beiden Cyclooxygenasen 1 und 2 gefunden, wobei festgestellt wurde, dass die Bindung an die Cyclooxygenase 1 stärker ist.^{79,81} Auch bei diesen Targets wurde eine Wechselwirkung der Boswelliasäuren mit diesen bisher ausgeschlossen.^{70,82} WERZ et. al bestimmten daraufhin die IC₅₀-Werte von β -AKBA **6** (Tabelle 3) an den neu gefundenen Targets.^{79,80,81}

Tabelle 3: IC₅₀-Werte der β -AKBA **6** an p12-Lipoxygenase und Cyclooxygenasen

	IC ₅₀ β -AKBA 6 [μ M]	Testsystem
p12-Lipoxygenase	15	Zellfreies System
Cyclooxygenase 1	6 - 23	Intakte Zellen
Cyclooxygenase 1	28	Isoliertes Enzym
Cyclooxygenase 2	100	Isoliertes Enzym

Ein Vergleich der ermittelten IC₅₀-Werte von β -AKBA **6** für p12-Lipoxygenase und Cyclooxygenase 1 mit den bestimmten Werten zur Inhibierung der 5-Lipoxygenase (siehe oben) zeigt eine große Ähnlichkeit.⁷⁹ WERZ et al. führten ebenfalls Vergleichsstudien mit bekannten Cyclooxygenase 1-Hemmern wie Ibuprofen und Aspirin[®] durch und zeigten, dass die Wirkung von β -AKBA **6** in zellfreien Systemen

vergleichbar mit der von Ibuprofen und besser als die von Aspirin ist.^{79,81} Sie konnten ebenfalls nachweisen, dass die Hemmung der Cyclooxygenase 1 wie bei Ibuprofen reversibel und im aktiven Zentrum des Enzyms erfolgt.^{79,81,83} Diese Untersuchungen belegen, dass mehrere Enzyme der Arachidonsäurekaskade durch die β -AKBA **6** beeinflusst werden und neben der Hemmung der Leukotrienbiosynthese auch eine Inhibierung der Prostaglandin-Synthese stattzufinden scheint. WERZ und JAUCH kommen zu dem Schluss, dass die β -AKBA **6** nicht mehr als selektiver 5-Lipoxygenasehemmer betrachtet werden kann.⁷⁹ Inwieweit diese Ergebnisse bei der Entzündungshemmung *in vivo* eine Rolle spielen ist allerdings weiterhin ungeklärt, da auch die IC_{50} -Werte bei der p12-Lipoxygenase und der Cyclooxygenase 1 weit über der Plasmakonzentration (0.10 – 0.56 μ M) von β -AKBA **6** liegen (siehe oben).^{77,78,84,85}

Neben den neu entdeckten Targets der Arachidonsäurekaskade konnte als weiteres Enzym bei den Targetfishing-Untersuchungen von WERZ und JAUCH das Cathepsin G als bisher völlig unbekanntes Enzym in Bezug auf die entzündungshemmende Wirkung von Boswelliasäuren identifiziert werden.^{79,86} Cathepsin G gehört zu den neutrophilen Serin-Proteasen, die in Lysosomen eingeschlossen sind und nach ihrer Freisetzung sowohl zur Phagocytose von Mikroorganismen als auch zur Aktivierung spezieller Rezeptoren, die bei entzündlichen Prozessen beteiligt sind, beitragen.^{79,87,88} Die bestimmten IC_{50} -Werte der verschiedenen Boswelliasäuren als Inhibitoren (Tabelle 4) liegen erstmals im Bereich der ermittelten Plasmakonzentration der β -AKBA **6** (siehe oben). Daher könnte die Hemmung des Cathepsin G eine tatsächliche Rolle für die antiphlogistische Wirkung von β -AKBA **6** *in vivo* spielen.^{79,86}

Tabelle 4: Hemmung von Cathepsin G durch Boswelliasäuren

	IC_{50} Cathepsin G [μ M]	Testsystem
β -AKBA 6	0.6	Zellfreies System
β -BA 1	0.8	Zellfreies System
β -ABA 2	1.2	Zellfreies System
β -KBA 5	3.7	Zellfreies System

Über die entzündungshemmenden Eigenschaften von Substanzen, welche im Weihrauchharz in geringeren Mengen vorkommen, sind noch keine ausführlichen Untersuchungen bekannt. Im Rahmen der Isolierung der 3α -O-Acetyl-11-hydroxy- β -Boswelliasäure **8** untersuchten AMMON *et al.* die entstandenen Artefakte **7** und **9** auf ihre Fähigkeit hin, die 5-Lipoxygenase-Aktivität zu beeinflussen.³² Sie fanden heraus, dass die 3α -O-Acetyl-11-methoxy- β -Boswelliasäure **9** eine unvollständige Inhibierung zeigt, während die 3α -O-Acetyl-dehydro- β -Boswelliasäure **7** die 5-Lipoxygenase-Aktivität fast vollständig unterdrückt. AMMON *et al.* haben weiterhin erkannt, dass die Amyrine, welche als neutrale Bestandteile im Weihrauchharz enthalten sind, sogar eine antagonistische Wirkung zu den entzündungshemmenden Boswelliasäuren besitzen (siehe Abschnitt 1.2.6).^{51,52}

Völlig ungeklärt ist, wie sich die noch unbekannten Verbindungen, welche im Weihrauchharz vorkommen, auf die entzündungshemmende Wirkung der Boswelliasäuren auswirken. Möglicherweise beeinflussen sich die einzelnen Substanzen in einer synergistischen oder antagonistischen Weise. Ebenso unklar ist, wie sich die unbekannten Verbindungen zum einen auf die von WERZ und JAUCH entdeckten Targets auswirken und zum anderen, ob diese Substanzen nicht selbst entzündungshemmende Eigenschaften besitzen, die gleich oder ähnlich gut wie die der Boswelliasäuren sind.

2 Problemstellung

In der Einleitung (Kapitel 1) wurde beschrieben, dass Extrakte des Weihrauchharzes entzündungshemmend wirken und dass die darin enthaltenen gattungsspezifischen Boswelliasäuren bisher dafür verantwortlich gemacht wurden. Völlig unklar ist allerdings, wie noch unbekannte Verbindungen, welche im Weihrauchharz vorkommen, die antiinflammatorische Wirkung der Boswelliasäuren beeinflussen und ob diese Eigenschaften der Weihrauchextrakte überhaupt auf die Boswelliasäuren zurückzuführen sind. Gegen die alleinige Wirkung der Boswelliasäuren spricht die in der Zelle gefundene Plasmakonzentration der β -AKBA **6**, welche bisher als spezifischer 5-Lipoxygenase-Inhibitor angesehen wird,⁷⁰ denn diese erreicht nicht die Konzentration, die für eine ausreichende Hemmung der 5-Lipoxygenase erforderlich ist.^{77,78,84,85}

Zielsetzungen dieser Arbeit waren die Isolierung und Identifizierung von noch unbekannten Substanzen aus der Säurefraktion unterschiedlicher botanischer *Boswellia*-Arten (*Boswellia Spezies*), die Gewinnung eines Überblicks, welche Säuren in diesen Spezies vorkommen und die Testung der identifizierten Verbindungen an bekannten sowie neu gefundenen Targets auf ihre antiinflammatorische Wirkung.

Dazu wurden *Boswellia papyrifera*, ein eng mit der indischen Spezies verwandtes Harz, *Boswellia carteri*, ein bevorzugt gehandeltes Harz, beide vom afrikanischen Kontinent, und *Boswellia socotrana* von der Insel Socotra, welche zu einer kleinen Inselgruppe im nordwestlichen Indischen Ozean gehört, ausgewählt. Durch unterschiedliche Isolierungstechniken (Extraktion, Chromatographie) sollten die komplexen Substanzgemische systematisch in Reinsubstanzen aufgetrennt werden und deren Strukturen anschließend durch hochauflösende Masse und verschiedene ein- und zweidimensionale NMR-Experimente (¹H, ¹³C, DEPT, HMQC-COSY, HMBC, HMQC, COSY, NOESY u.a.) aufgeklärt werden. Die neu gefundenen Substanzen sollten schließlich in Kooperation mit der Arbeitsgruppe WERZ (Pharmazeutische Analytik, Eberhard-Karls-Universität Tübingen) an der 5-Lipoxygenase, der p12-Lipoxygenase, der Cyclooxygenase 1 und am Cathepsin G auf ihre entzündungshemmenden Eigenschaften hin untersucht werden.

B Isolierung und Strukturaufklärung von Inhaltsstoffen aus den Weihrauch-Harzen

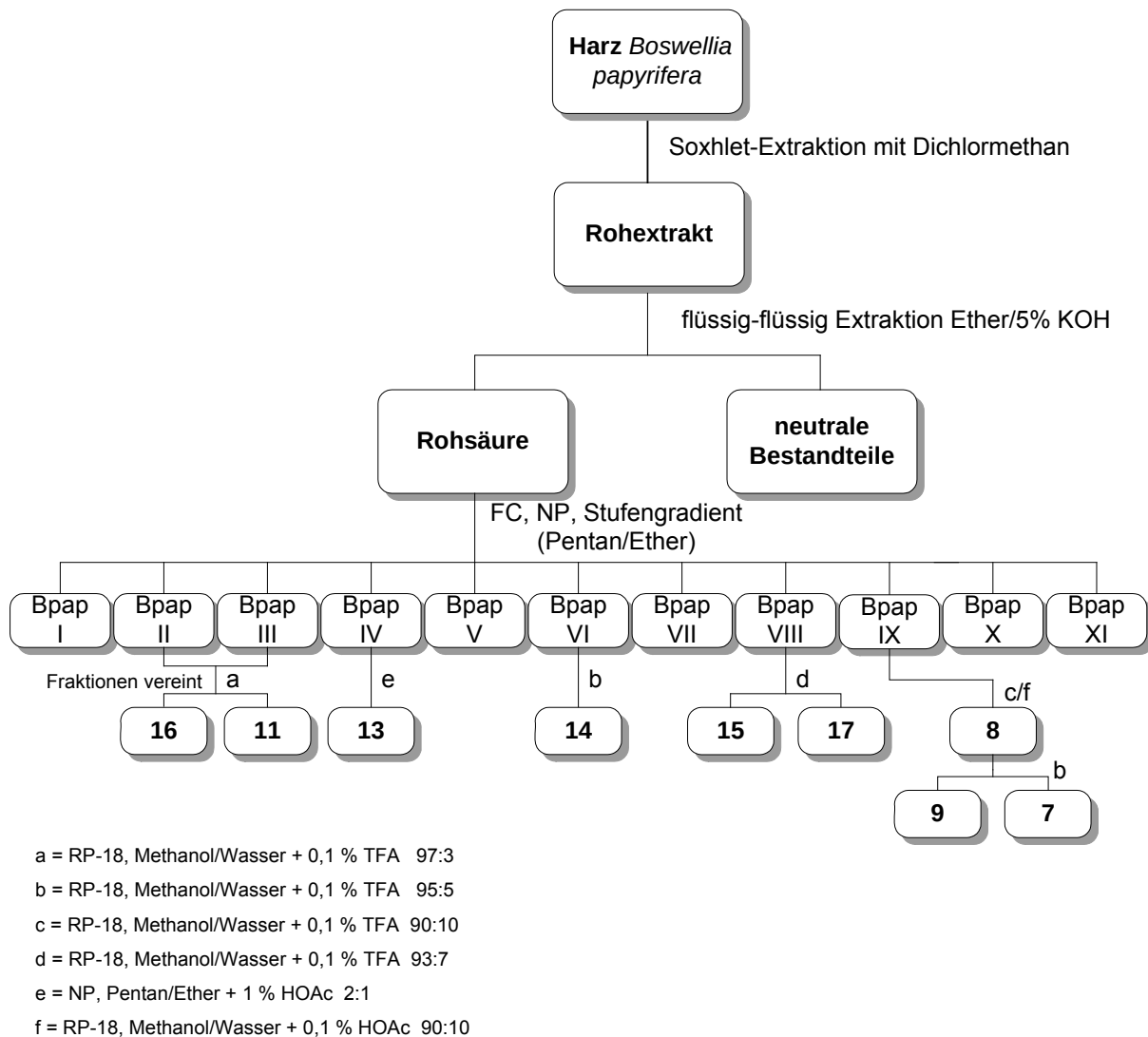
1 Inhaltsstoffe aus dem Harz *Boswellia papyrifera*

1.1 Extraktion und chromatographische Trennung von *Boswellia papyrifera*

Das in dieser Arbeit verwendete Harz von *Boswellia papyrifera* (*Bpap*) stammte aus Eritrea und wurde von der Fa. Gerhard Eggebrecht, Süderau, bezogen. Um die Harzprobe vor Umwelteinflüssen zu schützen, wurde sie trocken, dunkel und bei Raumtemperatur gelagert.

Da sich das Harz im gefrorenen Zustand im Mixer leichter zerkleinern ließ, wurde es vor der Verarbeitung tiefgefroren und anschließend in einer Soxhlet-Apparatur erschöpfend extrahiert. Zur Trennung der neutralen und sauren Bestandteile im Rohextrakt wurde dieser in Ether aufgenommen und die Lösung mit Kalilauge versetzt. Dabei gelangten die enthaltenen Säuren in deprotonierter Form in die wässrige Phase und wurden nach Phasentrennung durch Zugabe von anorganischen Säuren wieder freigesetzt (Säurefraktion). Die neutralen Bestandteile verblieben dabei in der organischen Phase (Neutralfraktion). Die Säurefraktion, welche aus einer komplexen Mischung von Substanzen bestand, wurde chromatographisch an Kieselgel vorgetrennt. Der Eluent setzte sich aus einer Mischung von Pentan/Ether und 1% Essigsäure zusammen, dessen Polarität stufenweise gesteigert wurde. Die aufgefangenen Reagenzglasfraktionen wurden dünnschichtchromatographisch analysiert und zu 11 einheitlichen Vorfraktionen vereint (siehe Schema 1).

Die zusammengefassten Fraktionen wurden schließlich hochdruckchromatographisch mit einer analytischen RP-18-Säule auf ihre Zusammensetzung hin untersucht. Die Chromatogramme zeigten deutlich, dass die vorgetrennten Fraktionen nicht mehr die gleiche Komplexität aufwiesen wie die Rohsäurefraktion.



Schema 1: Trennschema der Isolierung von *Boswellia papyrifera* (Bpap)

Die Isolierung der einzelnen Inhaltsstoffe aus den Fraktionen *Bpap* wurde schließlich an einer präparativen HPLC durchgeführt, wobei als stationäre Phase überwiegend eine RP-18-Säule verwendet wurde und die Eluenten sich meist aus Methanol/Wasser-Gemischen zusammensetzten.

Die Trennungen der einzelnen Substanzen aus den Vorfraktionen verliefen, bis auf die der Fraktion *Bpap* IX, unproblematisch. Die Trennung der Fraktion *Bpap* IX führte zunächst zu einem unerwarteten Resultat. Das Chromatogramm dieser Fraktion zeigte eine Hauptkomponente **8** mit einer Retentionszeit von 16.3 min und mehrere Peaks mit geringerer Intensität, wovon nur β -AKBA **6** identifiziert werden konnte. Die Trennung wurde mit Methanol/Wasser und 0.1% TFA als flüssiger Phase an einer RP-18-Säule (siehe Schema 1, Bedingung c) durchgeführt. Eine Reinheitskontrolle des isolierten Peaks durch analytische HPLC zeigte allerdings nicht mehr den

ursprünglichen Peak bei 16.3 min, sondern zwei neu entstandene Peaks, welche bei 20.1 und 24.9 min in einem Flächenverhältnis von 6:1 eluierten. Dies ließ auf die Zersetzung der ursprünglichen Hauptkomponente schließen. Zusätzlich zur Verschiebung der Retentionszeit konnten die beiden neu entstandenen Peaks auch bei anderen Wellenlängen als die ursprüngliche Substanz ($\lambda = 210$ nm und 254 nm) detektiert werden. Beide Verbindungen waren, wie die unzersetzte Hauptkomponente, bei einer Wellenlänge von 210 nm und 254 nm detektierbar. Der Peak bei 24.9 min konnte zudem bei $\lambda = 283$ nm detektiert werden. Dies ließ auf eine Substanz schließen, welche eine konjugierte Doppelbindung enthält.

Die NMR- sowie massenspektrometrische Analyse der beiden Verbindungen ergab, dass es sich bei den Zersetzungsprodukten um 3 α -O-Acetyl-11-methoxy- β -Boswelliasäure **9** und 3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure **7** handelte. Dies war auch in Übereinstimmung mit Angaben aus der Literatur (siehe auch Abschnitt. 1.3.7 und 1.3.8).

Die Bildung der Zersetzungsprodukte war durch die Verwendung einer starken Säure, hier TFA, zu erklären. Standardmäßig wurde den HPLC-Eluenten 0.1% TFA zugesetzt, um eine Dissoziierung der Säuren in der Rohsäurefraktion des Weihrauchharzes zu verhindern und so die Trennleistung durch Wechselwirkung mit der C-18-Oberfläche der HPLC-Säule zu verbessern. Zudem verbesserte der Zusatz von TFA die Peakform, wodurch Selektivität und Auflösung der Trennung positiv beeinflusst wurden.⁸⁹

Die Isolierung der unzersetzten Hauptsubstanz **8** gelang schließlich durch die Modifikation des Eluenten. Bei der chromatographischen Vortrennung durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit einem Gehalt von 1% Essigsäure im Laufmittel bildeten sich die beiden Zersetzungsprodukte **7** und **9** nicht. Daher wurde dem Eluenten für die HPLC-Trennung verschiedene Konzentrationen an Essigsäure zugesetzt und die Trennleistung beobachtet. Ein Gehalt von 0.1% Essigsäure reichte bereits aus, um eine noch akzeptable Auflösung der Peaks zu erhalten und um die unerwünschte Eliminierungsreaktion zu verhindern. Weiterhin wurde der Eluent nicht mit dem üblichen Vakuum einer Membranpumpe entfernt, sondern durch das Anlegen einer Hochvakuumpumpe an den Rotationsverdampfer. Damit wurde der säurehaltige Eluent so schnell wie möglich abgezogen und die Bildung der Zersetzungsprodukte **7** und **9** verhindert.

1.2 Übersichtschromatogramm von *Boswellia papyrifera*

Um bekannte Substanzen von noch zu isolierenden Verbindungen zu unterscheiden, wurde ein Chromatogramm der Rohsäure-Fraktion von *Boswellia papyrifera* mittels analytischer HPLC aufgenommen (Abbildung 9).

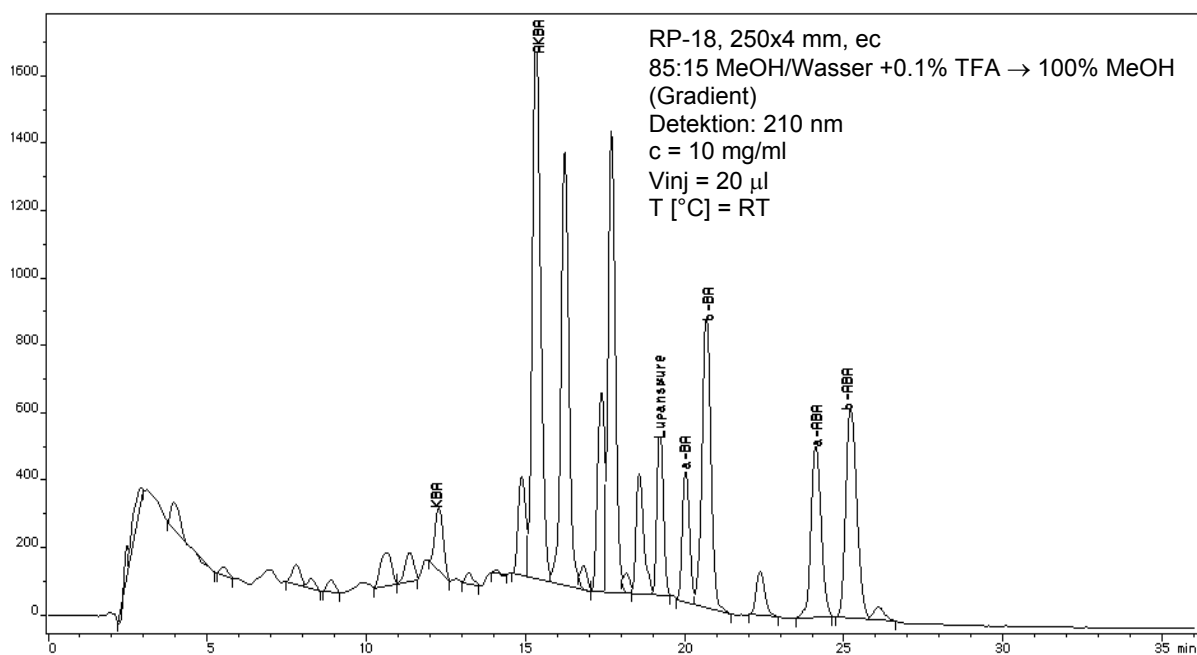


Abbildung 9: Übersichtschromatogramm von *Boswellia papyrifera*

Die Zuordnung der Peaks zu den Referenzsubstanzen erfolgte durch Vergleich der Retentionszeiten und deren Koinjektion mit der Säurefraktion von *Boswellia papyrifera*. Als Referenzen waren sechs Boswelliasäuren in größeren Mengen vorhanden: β -BA **1**, β -ABA **2**, α -BA **3**, α -ABA **4**, β -KBA **5** und β -AKBA **6**.⁹⁰ Als weitere Referenz wurde Lupansäure **10** aus einer deacetylierten Mischung⁹⁰ isoliert und durch NMR und Masse charakterisiert.²⁷ Die Retentionszeiten der Referenzsubstanzen (Tabelle 5) wurden ebenfalls mittels analytischer HPLC ermittelt. Dabei wurden die gleichen Bedingungen verwendet wie zur Messung des Übersichtschromatogramms.

Tabelle 5: Retentionszeiten R_t der Referenzsubstanzen

Substanz	Retentionszeit R_t [min]
β -KBA 5	12.24
β -AKBA 6	15.30
Lupansäure 10	19.19
α -BA 3	20.00
β -BA 1	20.65
α -ABA 4	24.09
β -ABA 2	25.18

1.3 Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe von *Boswellia papyrifera*

1.3.1 3α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16**

Die Verbindung **16** wurde aus den Vorfraktionen *Bpap* II und *Bpap* III erhalten. Auf dem Dünnschichtchromatogramm zeigte die Substanz nach dem Besprühen mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen eine braun-violette Färbung. Das Laufverhalten der Substanz **16** war auf Kieselgel-DC-Platten ähnlich dem einiger Referenzsubstanzen. So lag der R_f -Wert von 0.26 (SiO₂, Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure) im Elutionsbereich von β -BA **1**, α -BA **3**, Lupansäure **10** und 3α -O-Acetyl-Lupansäure **11**. Die Hochauflösung des Molekülonen-Peaks (m/z 498) ergab eine Masse von 498.3702, woraus sich auf eine Summenformel von C₃₂H₅₀O₄ schließen ließ. Diese entsprach den Summenformeln der acetylierten Boswelliasäuren **2** und **4**, wie auch der acetylierten Lupansäure **11**.

Eine Koinjektion der Referenzsubstanzen mit Verbindung **16** (R_t = 19.33 min) zeigte auf einer analytischen RP-HPLC-Säule allerdings keine Übereinstimmung. Im ¹³C-NMR-Spektrum waren 30 Signale sichtbar, welche sich mithilfe der DEPT-Spektren in 9 quartäre Kohlenstoffatome, 5 Methingruppen, 8 Methylengruppen und 8 Methylgruppen unterteilen ließen. Zwei weitere CH₂-Signale fanden sich im DEPT 135-Spektrum, die im Bereich des Lösungsmittels (Aceton-d₆) absorbierten (C-12 30.6 ppm, C-15 31.1 ppm) und deshalb im ¹³C-NMR-Spektrum nicht zu erkennen waren. Die Anzahl der Kohlenstoffatome, die sich aus der Summenformel ergab, konnte durch die gefundenen Kohlenstoffatome in den NMR-Spektren bestätigt werden. Sehr auffällig waren die beiden Tieffeld-Signale bei 178.3 und 171.5 ppm.

Aufgrund der chemischen Verschiebung konnten diese einer Carboxylgruppe und einem Carbonylkohlenstoffatom einer Acetoxygruppe zugeordnet werden. Vier weitere Signale waren in einem Bereich zwischen 137 und 125 ppm zu finden, die zwei C=C-Doppelbindungen zugeordnet werden konnten. Dabei handelte es sich um eine tetrasubstituierte (C-8 134.9 ppm, C-9 136.3 ppm) und um eine trisubstituierte (C-24 125.8 ppm, C-25 133.2 ppm) Doppelbindung, die durch ein vinylishes Proton und eine Isopropyliden-Gruppe als Substituenten charakterisiert war. Das vinylishes Proton absorbierte im ^1H -NMR-Spektrum bei 5.13 ppm (H-24), die Methylgruppen der Isopropylidengruppe waren bei 1.66 ppm (H-26) und 1.58 ppm (H-27) zu finden. Das Signal bei einer Verschiebung von 79.1 ppm (C-3) entsprach einem Kohlenstoffatom eines sekundären Alkohols. Das zugehörige Proton (H-3) trat im ^1H -NMR-Spektrum bei 4.61 ppm auf, was darauf hinweist, dass der Alkohol acetyliert war (vergleiche NMR-Daten von Verbindung **14**, Tabelle 8). Die übrigen Signale lagen in einem Bereich zwischen 51 und 17 ppm. Im ^1H -NMR-Spektrum fanden sich die Resonanzen von 50 Protonen. Sehr charakteristisch waren die bereits erwähnten Protonen von H-24 (5.13 ppm, t, $J = 7.2$ Hz), H-3 (4.61 ppm, t, $J = 2.7$ Hz), H-26 (1.66 ppm, s), H-27 (1.58 ppm, s) und die der Acetylgruppe H-32 (2.00 ppm, s). Die restlichen Methylgruppen lagen in einem für Alkylgruppen typischen Bereich von 1.0 bis 0.8 ppm. Die beiden Methylenprotonen an C-22 und C-23 konnten im HMQC nicht ermittelt werden. Auch die Analyse des HMQC-COSY-Spektrums brachte in dieser Hinsicht kein Ergebnis, so dass davon ausgegangen werden musste, dass die beiden fehlenden Protonen durch Überlagerungen nicht sichtbar waren. Aus dem DEPT 135-Spektrum war in jedem Fall eindeutig zu entnehmen, dass es sich bei den Kohlenstoffatomen C-22 und C-23 um CH_2 -Gruppen handelte.

Die Auswertung der vorliegenden NMR-Daten (Tabelle 6) und ein Vergleich mit literaturbekannten Substanzen im Weihrauchharz ergaben, dass es sich bei Verbindung **7** um 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure handelte, die bereits von PARDHY und BHATTACHARYYA (1978) aus *Boswellia serrata* isoliert wurde (Abbildung 10).³⁵

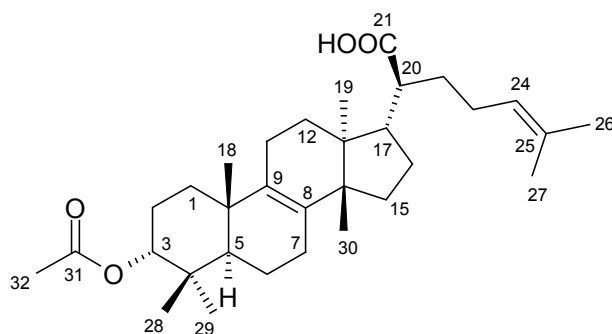


Abbildung 10: Struktur der 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16**

Tabelle 6: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	32.15	1.54	1.46		3, 5, 18			
2	25.01	1.62	1.93	1 α , 1 β			3	
3	79.07		4.61		1 β , 28, 29	2 α , 2 β		2 α , 2 β , 28, 29
4	38.46							
5	47.79		1.64	6 α , 6 β	3, 18, 28, 29			
6	20.34	1.67	1.47	5			5	
7	28.84	2.14	1.96	6 α , 6 β				
8	134.92			7 α	6 β , 30			
9	136.27				7 α , 12 α , 12 β , 18			
10	38.93			1 α , 18				
11	23.01	?	1.98	12 α				
12	30.58	1.66	1.52		17, 19			
13	45.67			12 α , 12 β , 19	11 α , 30			
14	51.42			30	12 α , 12 β , 29			
15	31.08	1.63	1.27			16 α , 16 β		30
16	28.51	1.42	1.99	17				
17	48.63		2.07		19, 20	16 α		12 β , 30
18	21.30	1.00			1 β , 5	1 α	18	1 β , 6 β , 2 β
19	17.20	0.89			12 α , 12 β , 17		19	
20	49.35	2.29		17, 22 α	16 α	17, 22 α		16 α , 17, 19, 22 α
21	178.29			20	22 α			
22	34.35	1.53	?	20, 23 α				
23	27.68	1.96	?	22 α , 24				
24	125.81	5.13		23 α	26, 27	23 α , 26, 27		23 α , 26, 27
25	133.22			26, 27	23 α			

Fortsetzung Tabelle 6

26	26.82	1.66		24, 27		26	
27	18.69	1.58		24, 26		27	
28	29.06	0.88		29	5	28	
29	23.22	0.93		5, 28	5	29	
30	25.77	0.92				30	
31	171.47		32				
32	22.10	2.00				32	

1.3.2 3-Oxo-Tirucallensäure **13**

Verbindung **13** wurde aus Fraktion *Bpap* IV als farbloser Feststoff erhalten. Der ermittelte R_f -Wert von 0.24 (SiO_2 , Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure) lag, wie bei der 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16**, in einem Elutionsbereich vieler Inhaltsstoffe aus dem Weihrauchharz und war damit unspezifisch.

Beim Besprühen mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen zeigte die Substanz **13** zunächst eine grünliche Färbung, die mit zunehmendem Erhitzen in eine bräunliche Färbung umschlug. Die Retentionszeit an einer analytischen RP-18-HPLC-Säule von 17.66 min unterschied sich allerdings deutlich von den Retentionszeiten der Referenzsubstanzen.

Die Hochauflösung des Molekülionen-Peaks (m/z 454) ergab eine Masse von 454.3450, welche einer Summenformel von $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$ entsprach. Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren die Signale von 28 Kohlenstoffatomen zu beobachten. Im tiefen Feld lagen 6 Signale, die aufgrund ihrer chemischen Verschiebungen einer Carbonylgruppe (217.3 ppm), einer Carboxylgruppe (178.3 ppm) und zwei substituierten Doppelbindungen (136.2 – 125.8 ppm) zugeordnet werden konnten. Eine Doppelbindung war tetrasubstituiert (C-8 136.2 ppm, C-9 134.8 ppm), während die andere ein vinylisches Proton (C-24 125.8 ppm, H-24 5.13 ppm) und eine Isopropyliden-Gruppe trug (C-25 133.2 ppm, C-26 26.8 ppm, C-27 18.69 ppm).

Die Protonen der beiden Methylgruppen in der Isopropyliden-Einheit absorbierten im ^1H -NMR-Spektrum bei 1.66 ppm (H-26) und 1.58 ppm (H-27). Durch die DEPT-Spektren konnten die Multiplizitäten der übrigen Signale ermittelt werden. Die Signale teilten sich in 9 quartäre Kohlenstoffatome, 4 CH-Gruppen, 10 CH_2 -Gruppen und 7 CH_3 -Gruppen auf. Zwei Methylengruppen konnten dabei nur im DEPT 135-Spektrum beobachtet werden, da diese im Bereich des Lösungsmittels (Aceton- d_6) absorbierten (C-12 30.5 ppm, C-15 31.0 ppm) und daher im ^{13}C -NMR-Spektrum nicht

erkennbar waren. Die restlichen Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum waren im Bereich von 53 bis 17 ppm zu finden. Die berechneten 46 Protonen aus der Summenformel fanden sich im ^1H -NMR-Spektrum wieder. Besonders auffällig waren die bereits erwähnten Protonen H-24 (5.13 ppm, br. t, $J = 7.2$ Hz), H-26 (1.66 ppm, s) und H-27 (1.58 ppm, s). Die übrigen Methylgruppen lagen gut sichtbar in einem Bereich von 1.0 bis 0.8 ppm.

Bereits die Auswertung der charakteristischen Signale deutete darauf hin, dass es sich bei Verbindung **13** um die von PARDHY und BHATTACHARYYA (1978) aus *Boswellia serrata* isolierte 3-Oxo-Tirucallensäure handelte (Abbildung 11).³⁵ Eine vollständige Auswertung der vorliegenden NMR-Daten (Tabelle 7) war mit dieser Zuordnung in Übereinstimmung. Wie schon bei 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16** konnten die Protonen H-22 und H-23 nicht vollständig ermittelt werden (siehe Abschnitt 1.3.1).

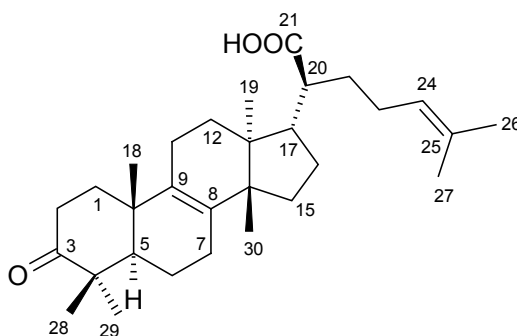


Abbildung 11: Struktur 3-Oxo-Tirucallensäure **13**

Tabelle 7: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3-Oxo-Tirucallensäure **13**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	37.13	1.64	2.00	2 α , 2 β	5, 18		2 α , 2 β	
2	35.88	2.41	2.53	1 α , 1 β		1 α , 1 β	1 α , 1 β	1 α , 1 β , 18
3	217.30			2 α , 2 β	1 α , 1 β , 28, 29			
4	38.94			5, 28	2 α , 2 β , 6 α , 6 β			
5	53.25	1.76		6 α , 6 β	7 α , 7 β , 18/28, 29	6 α , 6 β		6 α , 7 α , 29
6	21.93	1.52	1.67	7 α , 7 β		7 α	5	
7	29.19	2.02	2.18	6 α , 6 β	5	6 β		6 α , 6 β , 15a, 30
8	136.22			7 β	6 α , 15 β , 30			
9	134.83				7 β , 12 α , 18			
10	48.64			18	5			
11	22.91	2.04	2.18	12 α , 12 β			12 β	
12	30.54	1.53	1.68		17, 19	11 α , 19	11 α	30
13	45.71			12 α , 12 β , 17, 19	30			
14	51.48			30	12 α , 19			
15	31.07	1.61	1.29	16 α	30	16 α , 16 β		7 β , 16a, 16b, 30
16	28.52	1.42	2.00	15 α , 17		15 α , 15 β	17	15 β , 19
17	48.70		2.09	16 β , 20	12 β , 15 β , 19	16 α , 20		
18	21.05	1.07			1 α , 1 β , 5			2 β
19	17.17	0.86			12 α , 12 β , 17	12 α		11 α , 15 α , 20
20	49.40	2.28		17, 22 α		17, 22 α	17, 22 α	16 β , 19, 22a, 23a
21	178.31			20	22 α			
22	34.34	1.55	?	20				
23	27.69	1.99	?	22 α , 24	20		24	
24	125.82	5.13		23 α	26, 27	23 α , 26, 27	26, 27	23 α , 26, 27
25	133.23			26, 27	23 α			
26	26.82	1.66			24, 27			
27	18.69	1.58			24, 26			
28	22.39	1.03			5, 28			6 α , 6 β
29	28.01	1.07			5, 29			
30	25.56	0.94			15 α , 15 β			12 β , 17

1.3.3 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure **14**

Substanz **14** wurde aus der Fraktion *Bpap* VI als farbloser Feststoff isoliert. Bei der dünnschichtchromatographischen Kontrolle der Fraktion durch Besprühen mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen war eine intensive lila Anfärbung sichtbar. Der R_f -Wert der Verbindung lag im Elutionsbereich der Keto-Boswelliasäure **5** (R_f = 0.14, Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure).

Die Hochauflösung des Molekülionen-Peaks (m/z 456) ergab eine Masse von 456.3599, woraus sich eine Summenformel von $C_{30}H_{48}O_3$ ableitete, die mit der Summenformel der beiden Boswelliasäuren **1** und **3** übereinstimmte. Die Retentionszeit an der analytischen HPLC-RP-Säule betrug unter Standardbedingungen 17.45 min und wich damit deutlich von den Retentionszeiten der genannten Boswelliasäuren **1**, **3** und **5** ab. Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren die Signale von 27 Kohlenstoff-Atomen sichtbar. Fünf Signale waren in einem Bereich zwischen 180 und 125 ppm zu finden, die aufgrund ihrer chemischen Verschiebungen einer Carboxylgruppe und zwei C=C-Doppelbindungen zugeordnet werden konnten. Dabei handelte es sich um eine tetrasubstituierte (C-8 134.7 ppm, C-9 136.6 ppm) und um eine trisubstituierte (C-24 125.8 ppm, C-25 133.2 ppm) Doppelbindung, deren Proton im 1H -NMR-Spektrum bei 5.12 ppm absorbierte.

Ein weiteres Signal bei einer Verschiebung von 76.4 ppm entsprach einem hydroxysubstituiertem Kohlenstoffatom (C-3). Das dazugehörige Proton zeigte im 1H -NMR-Spektrum eine Resonanz von 3.35 ppm. Die übrigen Signale lagen im Bereich zwischen 49 und 17 ppm. Die sich aus den DEPT-Spektren ergebenden Multiplizitäten der Signale verteilten sich auf 7 quartäre Kohlenstoffatome, 5 CH-Gruppen, 8 CH₂-Gruppen und 7 CH₃-Gruppen. Zwei weitere CH₂-Signale fanden sich im DEPT 135-Spektrum, welche im Bereich des Lösungsmittels (Aceton-d₆) absorbierten (C-12 30.6 ppm, C-15 31.1 ppm) und deshalb im ^{13}C -NMR-Spektrum von diesem überdeckt wurden. Ein Vergleich mit der gefundenen Summenformel aus der hochauflösenden Masse zeigte, dass ein Signal eines quartären Kohlenstoffatoms fehlte und daher mit einem anderen Signal überlagert sein musste. Die Auswertung des HMBC-Spektrums bestätigte die Überlagerung der Kohlenstoffatome C-13 und C-14. Die Auswertung der in Tabelle 8 vorliegenden Daten, wie auch ein Vergleich mit literaturbekannten Substanzen im Weihrauchharz ergaben, dass es sich bei Verbindung **14** um eine 3-Hydroxy-Tirucallensäure handelte. Die Konfiguration der Hydroxylgruppe wurde durch das NOESY-Spektrum

ermittelt, welches in Abbildung 12 gezeigt ist. Es war eine Kopplung von H-3 mit H-28, H-29, H-2 α und H-2 β zu beobachten, während eine Kopplung mit H-5 fehlte.

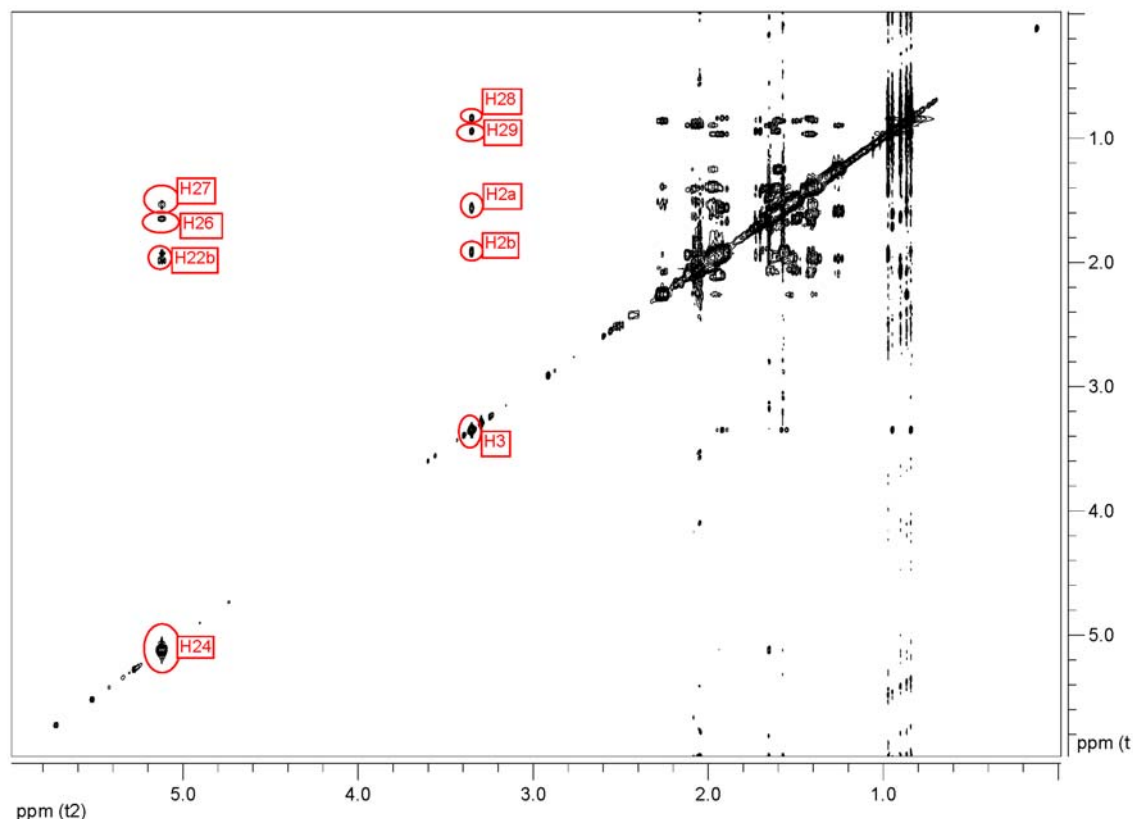


Abbildung 12: : NOESY-Spektrum von Verbindung **14**

Diese Ergebnisse sprachen dafür, dass das hydroxylsubstituierte stereogene Zentrum (*R*)-konfiguriert war. Deshalb handelte es sich bei Verbindung **14** um 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure, welche ebenfalls von PARDHY und BHATTACHARYYA (1978) aus *Boswellia serrata* isoliert wurde (Abbildung 13).³⁵

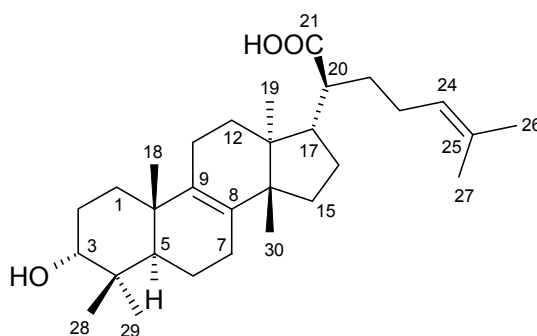


Abbildung 13: Struktur von 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure **14**

Tabelle 8: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure **14**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-TCOSY	NOESY
		α	β					
1	31.53	1.41	1.67	2 α	3, 18			
2	27.88	1.57	1.93					1a
3	76.40		3.35	2 α	1 α , 1 β , 28, 29	2 α , 2 β		2a, 2b, 28, 29
4	39.33			3, 28, 29				
5	46.37	1.71		6 β	3, 18, 28, 29	6 α , 6 β		
6	20.47	1.62	1.42	5				18
7	29.05	2.11	1.95	6 α , 6 β	5	6 β		
8	134.69				6 α , 11 α , 11 β , 30			
9	136.63			11 α , 11 β	5, 12 α , 12 β , 18			
10	38.99			18	6 β , 11 β			
11	23.02	2.09	1.94	12 α , 12 β				
12	30.61	1.50	1.65			11 α		
13	45.68			11 α , 11 β , 12 α , 19, 30				
14	45.68							
15	31.09	1.59	1.25			16 α , 16 β , 30		16a, 16b, 17, 19, 30
16	28.50	1.40	1.97					15a, 19
17	48.63		2.06	20	15 β , 19	20		
18	21.43	0.97			1 α , 5	1 β	18	2 β , 6 β , 28
19	17.14	0.87			12 α , 12 β	12 β	19	11 α , 12 α , 15 α , 16 α , 19
20	49.38	2.27		17, 22 α	23 β	17, 22 α		
21	178.48			20	17, 22 α			
22	34.35	1.53	1.96	20	23 β			
23	27.66	1.06	2.02		20			
24	125.81	5.12			26, 27	26/27		22*, 16*, 26, 27
25	133.19			26, 27				
26	26.81	1.65			24, 27		26	
27	18.68	1.58			24, 26		27	
28	23.70	0.84			3, 5, 29	29	28	3, 2 β , 6 β , 29
29	29.83	0.95			3, 5, 28	28	29	3, 5, 6 α , 28
30	25.76	0.90			15 α , 15 β	15 α	30	12 β , 15 β , 16 β , 17

1.3.4 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure **15**

Die Verbindung **15** konnte als farbloses Pulver aus der Fraktion *Bpap* VIII isoliert werden. Die Substanz eluierte bei einer Retentionszeit von 17.64 min und färbte auf der DC-Platte mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen braun an. Das Elutionsverhalten sowohl auf RP-Phase als auch auf NP-Phase war dem der 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure **14** sehr ähnlich. Der R_f -Wert der beiden Substanzen unterschied sich auf der NP-DC bei Verwendung des gleichen Laufmittels um 0.01. Auch die Retentionszeiten unterschieden sich auf einer analytischen RP-Säule der HPLC kaum voneinander. Die Abweichung lag in der üblichen Schwankungsbreite von unter 5%. Die Verschiedenartigkeit der beiden Verbindungen zeigte sich zum einen darin, dass die beiden Substanzen **14** und **15** durch den auf Seite 29 beschriebenen Stufengradienten auf einer Kieselgelsäule getrennt werden konnten und zum anderen, dass ein unterschiedliches Anfärbe-Verhalten mit Anisaldehyd/Schwefelsäure unter Erhitzen vorlag. 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure **14** färbte lila an, während die vorliegende Verbindung **15** eine bräunliche Färbung zeigte.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren die Signale von 30 quartären Kohlenstoffatomen zu erkennen. Im tiefen Feld trat ein Kohlenstoffatom in Resonanz, welches einer Carboxylgruppe zugeordnet werden konnte (C-21, 176.8 ppm). Vier weitere Signale lagen in einem Bereich zwischen 133.9 und 123.7 ppm. Ein zusätzliches Signal war bei 76.6 ppm zu finden. Alle übrigen Signale traten im höheren Feld zwischen 50 und 10 ppm in Resonanz. Durch DEPT-Spektren wurden die Multiplizitäten der Signale ermittelt, woraus sich 8 quartäre Kohlenstoffatome, 5 Methingruppen, 10 Methylengruppen und 7 Methylgruppen ergaben. Im ^1H -NMR-Spektrum waren die Resonanzen von 46 Protonen zu erkennen. Die Signale von 5 Methylgruppen befanden sich im hohen Feld in einem Bereich zwischen 0.9 und 0.7 ppm, während zwei Methylgruppen leicht zum tiefen Feld hin bei 1.63 und 1.52 ppm verschoben waren. Charakteristisch für eine hydroxylsubstituierte CH-Gruppe war das Protonen-Signal bei 3.00 ppm (H-3, dd, $J=10.8, 5.2$ Hz), welches im HMQC dem Kohlenstoff-Atom bei 76.6 ppm zugeordnet werden konnte (C-3). Ebenso unverwechselbar war das Signal bei 5.07 ppm (H-24, t, $J = 6.5$ Hz), welches einem vinyllischen Proton an einer C=C-Doppelbindung entsprach. Aufgrund der vorliegenden Daten (Tabelle 9) und einem Vergleich mit bekannten Substanzen im Weihrauchharz muss es sich bei Verbindung **15** um eine 3-Hydroxy-Tirucallensäure handeln. Die Konfiguration der

Hydroxylgruppe wurde mit Hilfe des NOESY-Spektrums ermittelt (Abbildung 14). Eine Kopplung war zwischen H-3 und H-29, H-5, H-1_α sowie H-2_α zu beobachten.

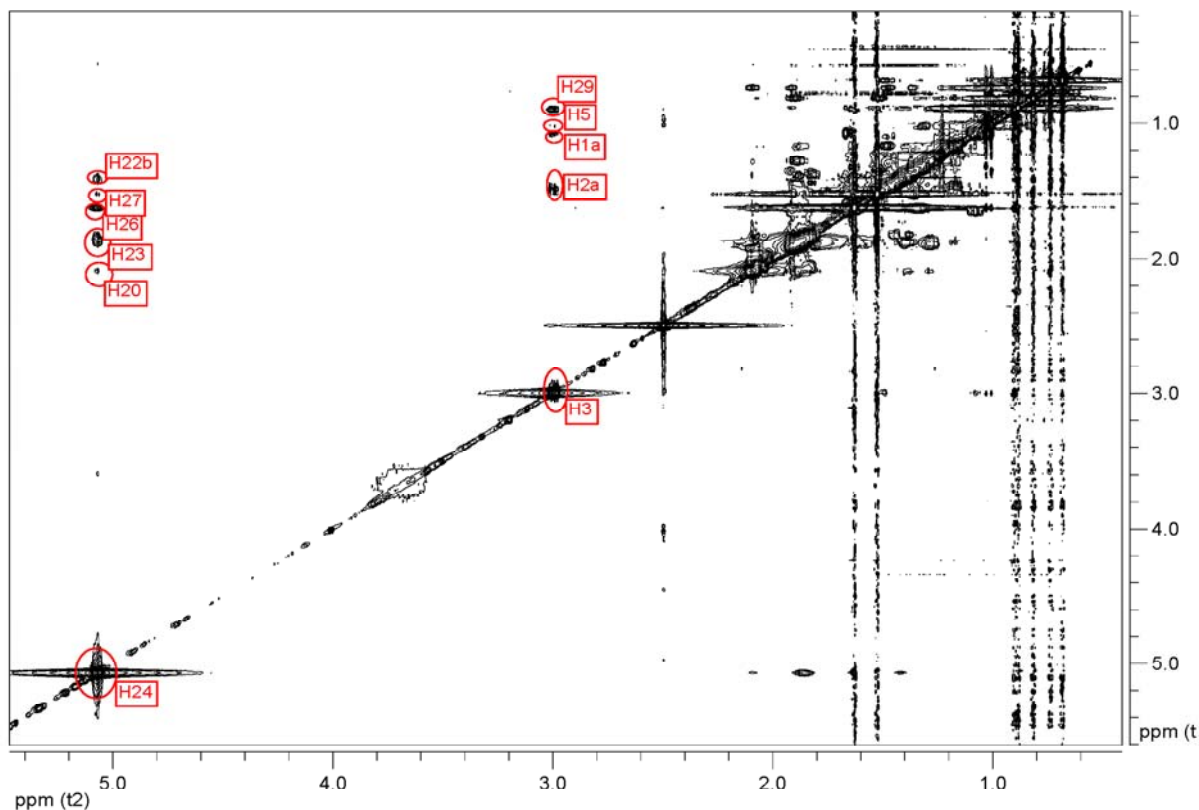


Abbildung 14: NOESY-Spektrum von Verbindung **15**

Diese Ergebnisse sprachen dafür, dass das hydroxylsubstituierte stereogene Zentrum (S)-konfiguriert war, weshalb es sich bei Verbindung **15** um 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure handelte, die bereits von PARDHY und BHATTACHARYYA (1978) in *Boswellia serrata* nachgewiesen wurde (Abbildung 15).³⁵

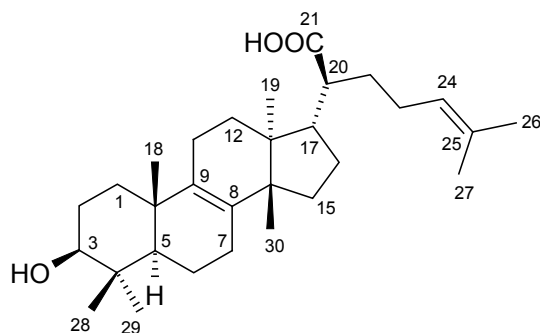


Abbildung 15: Struktur von 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure **15**

Tabelle 9: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure **15**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC ($J = 2$)	HMBC ($J = 3$)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	34.72	1.08	1.66	2 α	18	2 α , 2 β		
2	27.51	1.50	1.47	1 β		1 α , 1 β	1 α , 3	
3	76.56	3.00		2 α	1 β , 28, 29	2 α , 2 β		2 α , 1 α , 5, 28
4	38.45			3, 5, 28, 29	2 α			
5	50.53	1.01		6 α , 6 β	7 α , 18, 28, 29	6 α , 6 β		
6	18.44	1.33	1.63	5		5, 7 α , 7 β	5	
7	27.08	2.05	1.85	6 α	5	6 α		
8	132.44			7 α	30			
9	133.84				18			
10	36.73			1 β , 5, 18				
11	20.72	1.83	1.91	12 α , 12 β			12 α , 12 β	19
12	28.22	1.37	1.50		19	11 α , 11 β , 19		
13	43.30			12 α , 12 β , 19	11 β , 30			
14	48.97			30	12 α , 15 α , 19			
15	28.87	1.47	1.23		30	30		
16	32.11	1.39	?					
17	46.20		1.92	20	19			
18	19.88	0.88			1 β , 5	1 α , 28		1 β , 2 β , 11 β
19	15.37	0.73			12 α , 12 β , 17	12 β		
20	47.23	2.09				22 α , 22 β		11 α , 15 α , 20
21	176.83			20				
22	26.21	1.91	1.42			20		
23	25.43	1.83	?	24				
24	123.71	5.07			22, 26, 27	22, 26, 27	26, 27	22 β , 23 α , 26, 27, 20
25	131.03			26, 27	23			
26	25.35	1.63				27	24	27
27	17.34	1.52			24, 26	26		26
28	15.85	0.68			3, 5, 29	29		29
29	28.08	0.90			3, 5, 28			6 β , 28
30	24.06	0.81			15 α	15 α		12 β , 17

1.3.5 3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure **17**

Die Substanz **17** konnte als farbloses Pulver aus der Fraktion *Bpap* VIII isoliert werden. Eine Unterscheidung der Verbindung zu 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure **15**, die ebenfalls aus dieser Fraktion erhalten wurde, war allein mittels DC-Analytik nicht möglich. Sowohl das Lauf- als auch das Färbeverhalten mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen waren vollkommen identisch (Werte siehe Seite 42). Die Retentionszeit an einer analytischen RP-18-Säule betrug 19.13 min, so dass die Substanz **17** mit Lupansäure **10** (R_t = 19.19 min) fast identisch eluierte und die beiden Verbindungen auch nicht durch eine Koinjektion unterschieden werden konnten. Dass es sich um eine andere Substanz als Lupansäure handeln musste, zeigten allerdings die unterschiedlichen R_f -Werte auf einer NP-DC-Platte. Dieser lag bei Lupansäure **10** bei 0.25, während Verbindung **17** bei 0.12 eluierte (Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure).

Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren die Signale von 30 Kohlenstoff-Atomen zu erkennen. Das Signal im tiefen Feld bei 178.2 ppm konnte wegen der chemischen Verschiebung einer Carboxylgruppe zugeordnet werden (C-21). Vier weitere Signale zwischen 147.7 und 120.2 ppm entsprachen zwei trisubstituierten Doppelbindungen. Dabei war eine Doppelbindung (C-24 125.8 ppm, C-25 133.2 ppm) charakterisiert durch ein vinylnisches Proton bei 5.12 ppm (H-24, t, J = 6.5 Hz) und durch eine Isopropyliden-Gruppe, deren Methylgruppen bei 1.66 ppm (H-26, s) und 1.56 ppm (H-27, s) im Protonenspektrum zu finden waren. Die zweite Doppelbindung (C-7 120.2 ppm, C-8 147.7 ppm) war sowohl durch ein quartäres Kohlenstoffatom als auch durch ein vinylnisches Proton bei 5.28 ppm (H-7, m) gekennzeichnet. Ein weiteres charakteristisches Signal war bei einer Verschiebung von 76.7 ppm (C-3) zu finden und kann einem hydroxylsubstituierten Kohlenstoffatom zugeordnet werden. Durch die Auswertung der DEPT-Spektren konnten die Multiplizitäten der übrigen Resonanzen bestimmt werden, die in einem Bereich zwischen 52.8 und 14.5 ppm lagen. Daraus ergaben sich 4 weitere quartäre Kohlenstoffatome, 4 zusätzliche CH-Gruppen, 9 CH₂-Gruppen und weitere 5 CH₃-Gruppen. Im ^1H -NMR-Spektrum waren die Resonanzen von insgesamt 48 Protonen zu erkennen, die überwiegend in einem Bereich zwischen 2.4 und 0.8 ppm lagen. Bereits die Auswertung der charakteristischen Signale von Verbindung **17** deuteten auf eine Tirucallensäure hin. Wie schon bei den anderen isolierten Tirucallensäuren **13** und **16** konnten die beiden

Protonen an C-22 und C-23 nicht vollständig ermittelt werden (siehe Abschnitt 1.3.1). Die komplette Analyse der vorliegenden Daten (Tabelle 10) und der Vergleich mit der Literatur bestätigten, dass es sich bei der isolierten Substanz um 3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure **17** (Abbildung 16) handelte. Diese wurde von MORA *et al.* (2001) aus dem Harz von *Protium crenatum* (Burseraceae) isoliert. Die Struktur wurde sowohl durch NMR-Spektroskopie als auch durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt.⁹¹ Zudem wurde die Verbindung von AKIHISA *et al.* (2006) aus *Boswellia carteri* isoliert und auf ihre entzündungshemmende Wirkung hin getestet.⁹²

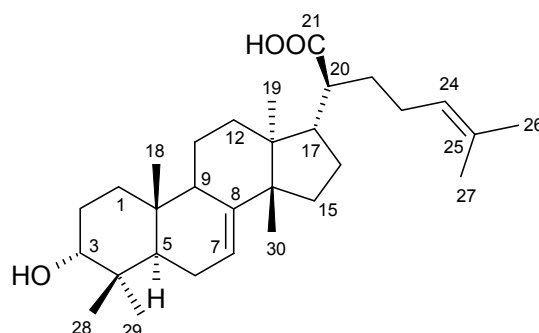


Abbildung 16: Struktur von 3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure **17**

Tabelle 10: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure **17**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	33.05	1.61	1.30		3, 5, 18	2 β	2 α , 2 β	
2	27.49	1.56	1.91				1 α , 1 β , 3	
3	76.74	3.38			1, 5, 29	2 α , 2 β	2 α , 2 β	2 α , 2 β , 28, 29
4	39.08			3, 5, 29	2 α			
5	46.24	1.86			1 α , 3, 7, 18, 29	6 α , 6 β	6 α , 6 β	
6	25.65	2.05	1.91	5, 7			7	
7	120.19	5.28		6 α		6 α , 6 β , 9	6 α , 6 β	6 α , 6 β , 15 α , 15 β , 18, 30
8	147.66				6 α , 11 β , 30			
9	50.42	2.37			5, 7, 12 β , 30	11 α , 11 β	7	5, 19
10	36.51			1 α , 5, 18				
11	19.10	1.96	1.51	12 α , 12 β			9, 12 α , 12 β	
12	32.25	1.52	1.77		19	19		
13	45.13			17, 19	11 β , 30			
14	52.80			15 β , 30	7, 19			
15	35.29	1.57	1.49		30		16 α , 16 β , 30	
16	28.79	1.32	1.99	15 α , 17	20	15 α , 17	15 α , 15 β , 17	

Fortsetzung Tabelle 10

17	51.50		2.05	16 β , 20	19	16 α , 20	16 α , 20	
18	14.46	0.79			1 α , 1 β , 5	1 α		2 β , 11 β
19	23.09	0.93			12 α , 12 β	12 β		9, 20
20	49.19	2.27		17, 22 α	16 α	17, 22 α	17, 22 α	16 α , 19, 22 α
21	178.15			20	22 α			
22	34.26	1.53	?	20, 23 α	24		20, 23 α	
23	27.74	1.99	?	22 α	20		24	
24	125.82	5.12		23 α	22 α , 26, 27	23 α , 26, 27	23 α , 26, 27	23 α , 26, 27
25	133.23			26, 27	23 α			
26	26.82	1.66		27	24			
27	18.69	1.56		26	24			
28	23.24	0.91			3, 5, 29			5
29	29.53	0.92			5, 28			
30	28.65	1.00				15 α , 15 β		11 β , 12 β , 17

1.3.6 3 α -O-Acetyl-Lupansäure 11

Die Verbindung **11** wurde aus den Vorfraktionen *Bpap* II und *Bpap* III zusammen mit 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16** isoliert. Das Laufverhalten der beiden Substanzen auf der NP-DC-Platte war identisch. Beide eluierten bei einem R_f -Wert von 0.26 (SiO₂, Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure).

Auch die Hochauflösung des Molekülionen-Peaks (m/z 498) mit einer Masse von 498.3731 lieferte kein Unterscheidungsmerkmal, da sich die Summenformel ebenso wie bei 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16** zu C₃₂H₅₀O₄ bestätigte. Durch das Elutionsverhalten auf einer analytischen RP-HPLC-Säule konnten die beiden Substanzen allerdings eindeutig getrennt werden.

Verbindung **11** eluierte bei 22.34 min und lag damit außerhalb des Elutionsbereiches der Referenzsubstanzen (siehe auch Tabelle 5, Seite 33) und der 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure **16** (R_t = 19.33 min). Im ¹³C-NMR-Spektrum waren 32 Signale zu erkennen, die sich durch die DEPT-Spektren in 8 quartäre Kohlenstoffatome, 6 CH-Gruppen, 11 CH₂-Gruppen und 7 CH₃-Gruppen einteilen ließen. Damit wurde die Anzahl der Kohlenstoffatome, die sich aus der berechneten Summenformel ergab, durch die NMR-Spektren bestätigt. Die beiden Tieffeld-Signale bei 179.0 und 171.4 ppm, die im ¹³C-NMR-Spektrum sichtbar waren, konnten einer Carboxylgruppe und einem Carbonylkohlenstoffatom einer Acetoxygruppe zugeordnet werden. Ein sehr auffälliges Muster wurde durch die Signale einer terminalen Olefin-Gruppe gebildet, deren vinyllische Protonen im ¹H-NMR-Spektrum bei 4.6 und 4.7 ppm zu

finden waren (C-20 152.5 ppm, C-29 110.9 ppm). Eine Methylgruppe (C-30) befand sich dazu in vinyli-scher Position, wie aus den Kopplungen im H,H-COSY und HMBC hervorging (C-30 20.5 ppm, H-30 1.71 ppm). Das Signal bei 75.1 ppm (C-3) mit einem Proton bei 5.25 ppm (H-3) konnte einem sekundären Alkohol zugeordnet werden, welcher acetyliert vorlag. Die übrigen Kohlenstoff-Signale lagen in einem Bereich zwischen 52.1 und 15.0 ppm.

Im ^1H -NMR-Spektrum fanden sich die Resonanzen von 50 Protonen. Charakteristisch waren die bereits erwähnten Protonen von H-29 (4.72 ppm, d, $J = 2.4$ Hz; 4.58 ppm, dd, $J = 1.4$ Hz, $J = 2.5$ Hz), H-3 (5.25 ppm, t, 2.6 Hz), H-30 (1.71 ppm, s) und diejenigen der Acetylgruppe (H-32 2.05 ppm, s). Die übrigen Methylgruppen lagen in einem Bereich zwischen 1.2 und 0.8 ppm (H-23, H-25, H-26, H-27, H-28). Ebenso auffallend war das Signal von H-19 bei 2.5 ppm, welches in ein Dublett von Triplets aufspaltete ($J = 5.7$ Hz, $J = 11.0$ Hz). Die große Kopplungskonstante erforderte eine planare Anordnung von H-21 $_{\alpha}$, H-18 und H-19, so dass H-13 und H-18 wiederum transdiaxial angeordnet sein mussten.

Die Auswertung der vorliegenden Daten (Tabelle 11) sowie ein Literaturvergleich ergaben, dass es sich bei Verbindung **11** um 3 α -O-Acetyl-Lupansäure (Abbildung 17) handelte, die von SIMMET *et al.* (2003) aus *Boswellia serrata* isoliert wurde.³³

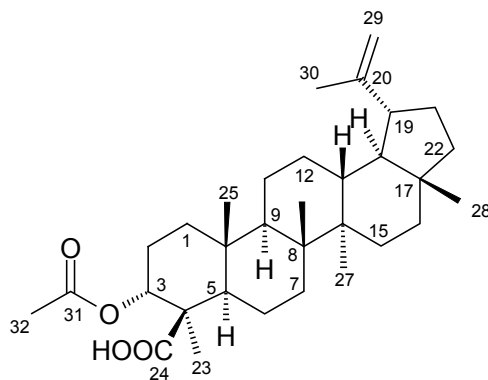


Abbildung 17: Struktur von 3 α -O-Acetyl-Lupansäure **11**

Tabelle 11: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 α -O-Acetyl-Lupansäure **11**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	NOESY
		α	β				
1	36.32	1.21	1.53		25		
2	25.48	1.58	2.16			1 α , 1 β	1 α , 1 β , 25
3	75.04		5.25		1 α	2 α , 2 β	2 α , 2 β , 23
4	48.26			5			
5	52.13	1.49			1 α , 25		
6	21.51	1.71	1.95	7 β			25, 26
7	35.96	1.44	1.47		26		
8	42.65			9, 26	27		
9	51.56	1.44			25, 26		
10	39.43				9, 25		
11	22.82	1.25	1.48	9, 12 α			
12	27.09	1.72	1.13	11 α , 11 β			
13	40.01	1.74			27		
14	44.76						
15	29.21	1.07	1.75		27	16 β	
16	41.62	1.26	1.40		28		
17	44.66			18, 28			
18	50.01	1.47		13, 19	28		
19	49.81	2.46			29	21 α , 21 β , 18	21 β , 28, 30
20	152.51			19, 30	18, 21 α		
21	31.57	1.33	1.96	19		19, 22 α , 22 β	19
22	37.27	1.43	1.52		18, 28		
23	25.03	1.19					3, 6 α
24	178.95				5, 23		
25	15.02	0.86			1, 5		2 β
26	17.40	1.11			9		6 β , 13, 25
27	16.01	1.03			13		9
28	19.34	0.84			16 α , 22 α		15 β , 19
29	110.98	4.58	4.72		19, 30	29 α , 29 β , 30	12 α , 18, 19, 30
30	20.51	1.71			19, 29		
31	171.40			32			
32	22.12	2.05					

1.3.7 3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure **9**

Die Verbindung **9** konnte aus der Fraktion *Bpap* IX als weißes Pulver isoliert werden. Es handelte sich hierbei um ein Zersetzungsprodukt, was durch eine deutliche Änderung der Retentionszeit zum ursprünglichen Hauptpeak der Fraktion an einer analytischen HPLC-RP-Säule erkennbar war (siehe auch Seite 30). Substanz **9** eluierte bei 20.1 min, während die ursprüngliche Hauptkomponente **8**, bei Verwendung der gleichen Methode, eine Retentionszeit von 16.3 min zeigte.

Die Hochauflösung des Molekülionen-Peaks (m/z 528) zeigte eine Masse von 528.3860, woraus sich eine Summenformel von $C_{33}H_{52}O_5$ ableitete. Im ^{13}C -NMR-Spektrum fanden sich die Resonanzen von 33 Kohlenstoffatomen, die sich durch die DEPT-Spektren in 8 quartäre Kohlenstoffatome, 8 CH-Gruppen, 8 CH_2 -Gruppen und 9 CH_3 -Gruppen einteilen ließen. Auffällig waren besonders die vier Signale im tiefen Feld zwischen 179.0 und 74.9 ppm, die sich aufgrund ihrer chemischen Verschiebung und ihrer Kopplung im HMBC einer Carboxylgruppe (C-24), einem Carbonylkohlenstoffatom (C-31) einer Acetoxygruppe sowie zwei sekundären Alkoholen zuordnen ließen. Die Hydroxylgruppe an C-3 war dabei acetylierte, während der Alkohol an C-11 durch einen Methylether gekennzeichnet war.

Auch die entsprechenden Resonanzen aus dem 1H -NMR-Spektrum bestätigten die gefundenen Funktionalitäten (Tabelle 12). Die gefundene Masse, die Art der Zersetzung und die Auswertung der charakteristischen Signale aus den 1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und den DEPT-Spektren bestätigten, dass es sich bei der Verbindung **9** um die literaturbekannte 3 α -O-Acetyl-11-methoxy- β -Boswelliasäure handelte, die von SAFAYHI *et al.* (2000) aus verschiedenen Harzen der Spezies *Boswellia* isoliert und mittels RP-HPLC-ESIMS, IR, 1H -NMR und ^{13}C -NMR identifiziert wurde.³² Allerdings fehlte bei den Analysen von SAFAYHI *et al.* eine vollständige Auswertung von 1D- und 2D-NMR-Daten. Daher konnte auch die Konfiguration der Methoxy-Gruppe an C-11 bisher noch nicht bestimmt werden. Deshalb wurden HMBC und H,H-COSY-Spektren aufgenommen, um das Grundgerüst eindeutig bestimmen zu können (Tabelle 12). Besonders auffällig und gut aufgelöst waren die Signale von H-11 und H-12 im 1H -NMR-Spektrum (Abbildung 18).

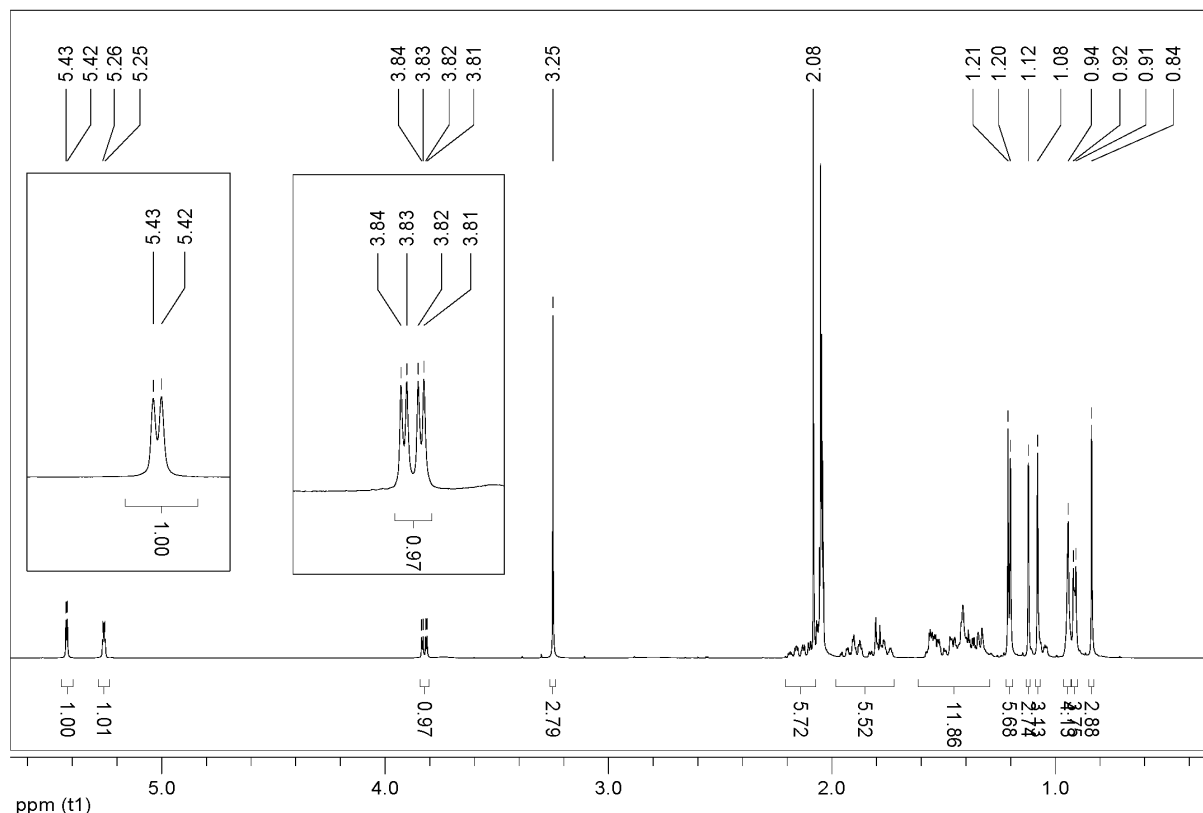


Abbildung 18: ¹H-NMR-Spektrum mit Vergrößerung der H-11 und H-12-Protonen von Verbindung **9**

Wie erwartet spaltete H-12 (5.42 ppm) zu einem Dublett auf und die Kopplungskonstante zu H-11 berechnete sich zu 3.0 Hz. H-11 (3.82 ppm) zeigte ein Dublett von Dubletts, in welchem die gleiche Kopplungskonstante von 3.0 Hz zu H-12 zu finden war. Ebenso konnte die Kopplung von H-11 zu H-9 mit einer Konstanten von 9.0 Hz angegeben werden. Aus dieser Beobachtung ergab sich, dass H-11 und H-9 zueinander diaxial angeordnet sein mussten. Die Hydroxylgruppe war somit α -ständig. Die räumliche Anordnung wurde auch mithilfe des NOESY ermittelt. Wie in Abbildung 19 zu sehen ist, zeigten H-11 und H-25 eine Korrelation, so dass H-11 β -ständig war und sich die Methoxygruppe in äquatorialer Position befand. Somit stimmten die Resultate von Protonenspektrum und NOESY überein. Eine vergleichbare Beobachtung zeigte sich auch bei der Strukturaufklärung von Verbindung **8** (siehe Abschnitt 1.3.9).

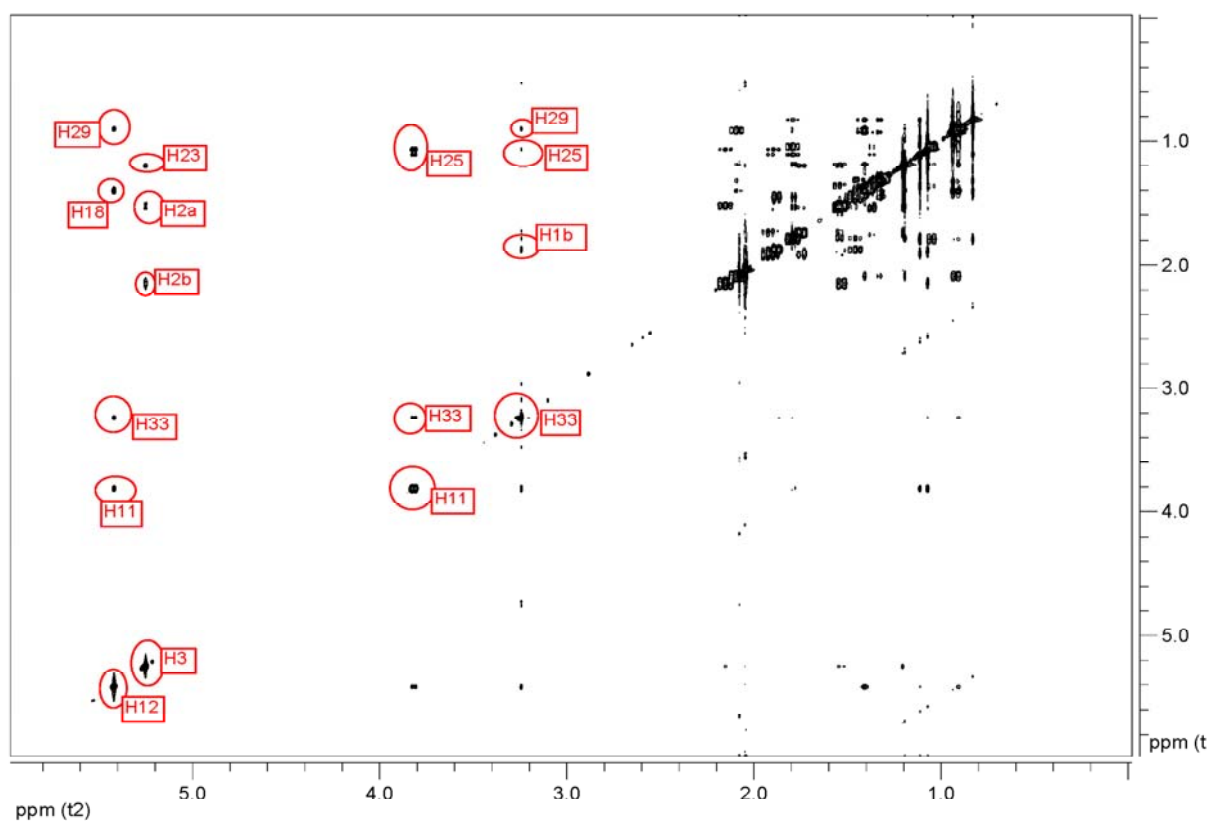


Abbildung 19: NOESY-Spektrum von Verbindung **9**

Die Strukturformel von 3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure **9** mit räumlicher Zuordnung der Methoxygruppe ist in Abbildung 20 zu sehen.

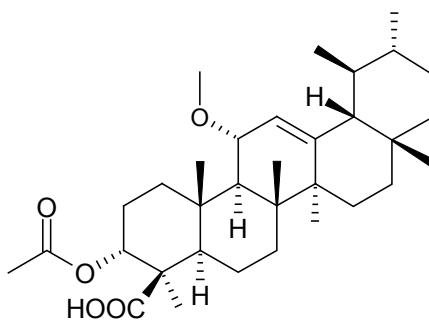


Abbildung 20: Struktur von 3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure **9**

Tabelle 12: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure **9**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	NOESY
		α	β				
1	37.70	1.46	1.88	2 α , 2 β	3, 9, 25	2 β , 25	
2	25.56	1.54	2.15			1 α , 1 β	25
3	74.95		5.25		1, 23	2 α , 2 β	2 α , 2 β , 23
4	48.31			3, 5, 23			
5	52.27	1.54		6 α , 6 β	3, 7 α , 7 β , 23, 25		
6	21.47	1.75	1.91	7 α , 7 β		7 α , 7 β	25
7	35.43	1.54	1.37			6 α , 6 β , 26	
8	44.68			7 α , 7 β , 9, 26			
9	53.21	1.79			7 α , 7 β , 12, 25, 26,		27
10	40.37			1 α , 1 β , 9, 25	11		
11	78.46		3.82	9, 12	33	9, 12	12, 25, 33
12	126.72	5.42		11	9	11	11, 18, 29, 33
13	144.59			12, 18	11		
14	43.99			15 α	12, 16 β		
15	28.42	1.05	1.79	16 α , 16 β	27	16 α , 16 β , 27	26, 28
16	29.72	2.11	0.92	15 α , 15 β	28, 22 β	15 α , 15 β , 28	27
17	35.39			16 α , 16 β , 18, 22 α , 22 β , 28	15 β , 19		
18	60.45		1.41		12, 16 α , 16 β , 28		
19	41.24	1.41					
20	41.38		0.94	30	22 α , 22 β , 29		
21	32.85	1.34	1.45	22 α , 22 β	20		
22	43.15	1.42	1.33		16 α , 28		
23	25.40	1.20			3, 5		
24	179.00				3, 5, 23		
25	16.05	1.07			1 α , 1 β , 5, 9	1 α , 9	1 β , 2 β
26	19.75	1.12			7 α , 7 β , 9	7 α , 9	6 β , 15 β
27	23.86	1.19			15 α , 15 β	15 β	7 α , 9
28	30.21	0.83			16 α	16 α	15 β , 18, 22 β
29	18.80	0.91					
30	22.61	0.94			19, 21 α		
31	171.41			32	3		
32	22.14	2.08					
33	55.61	3.25			12		1 β , 11, 12, 25, 29

1.3.8 3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure 7

Aus der Fraktion *Bpap* IX wurde Substanz 7 als farbloses Pulver erhalten. Wie bei 3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure 9 handelte es sich um ein Zersetzungsprodukt der Hauptkomponente 8. Die Retentionszeit änderte sich noch stärker als bei Verbindung 9 (R_t = 20.1 min) auf 24.9 min. Die Substanz war nicht nur bei Wellenlängen von λ = 210 nm und 254 nm detektierbar, sondern auch bei λ = 283 nm. Dies ließ darauf schließen, dass im Molekül eine konjugierte Doppelbindung vorlag. SAFAYHI *et al.* hatten bei ihren Untersuchungen die gleichen Beobachtungen gemacht, so dass es sich bei der Substanz 7 um die in der Literatur beschriebene 3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure handelte (Tabelle 13).³². Die zugehörige Strukturformel von 7 findet sich in Abbildung 21.

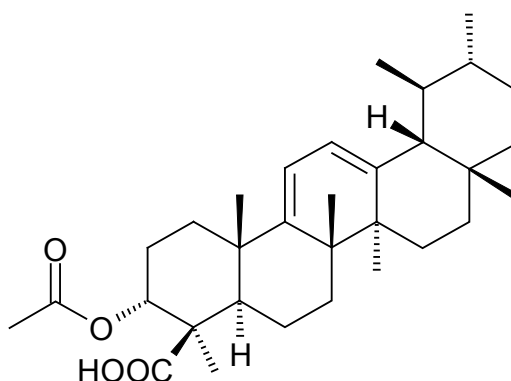


Abbildung 21: Struktur von 3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure 7

Tabelle 13: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure 7

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	NOESY
		α	β				
1	35.10	1.56	1.79		3, 5, 25		
2	26.09	1.66	2.14			1 α , 1 β , 3	25
3	74.52		5.25	2 α	1 β , 23	2 α , 2 β	2 α , 2 β , 23
4	48.41			3, 5, 23			
5	49.00	1.61		6 α , 6 β	25	6 α , 6 β	
6	21.48	1.84	1.96	5, 7 α , 7 β		5, 7 β	
7	33.64	1.73	1.40	6 β	5	6 α , 6 β	
8	42.41				27		
9	155.00			11	5, 12, 25, 26		
10	40.81			1 β , 5	2 α , 2 β , 11		
11	118.29	5.70		12		12	1 β , 12, 25
12	125.09	5.49		11	18	11, 18	11, 18, 29
13	143.24			12, 18	11		
14	45.18			15 β , 27	26		
15	32.87	1.06	1.90			16 β	
16	29.95	2.05	0.93	15 α , 15 β	22 α , 22 β , 28	15 β	
17	35.41			18, 22 β , 28			
18	59.23		1.51		16 α , 22 α , 22 β , 12, 29	19	
19	40.85	1.33		29	30		
20	41.24		0.91		22 β		
21	27.91	1.32	1.41		30		
22	43.07	1.47	1.51		28		
23	25.03	1.21			3, 5		
24	179.04				3, 5, 23		
25	23.41	1.14				1 α	1 β , 2 β , 6 β
26	24.83	1.20				7 α	
27	18.84	0.96			15 α , 15 β		7 α
28	30.17	0.86			16 α , 18	16 α	
29	18.84	0.82			18, 20	19	19
30	22.78	0.92			21 β		19
31	171.33			3, 32			
32	22.03	1.99					

1.3.9 3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure **8**

Die Verbindung **8** wurde aus der Fraktion *Bpap* IX als farbloser Feststoff isoliert, indem ein säurefreier Eluent verwendet und das Lösungsmittel durch eine Hochvakuum-Pumpe entfernt wurde.

Die Substanz eluierte mit einer Retentionszeit von 16.3 min an einer analytischen HPLC-RP-Säule und unterschied sich daher deutlich von den Zersetzungsprodukten **7** und **9**. Der R_f -Wert betrug 0.14 und war dem der Keto-Boswelliasäure **5** ($R_f = 0.11$) ähnlich (SiO₂, Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure). Die Anfärbung mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen zeigte eine braun-violette Farbe. Aufgrund der vorherigen Isolierung der Zersetzungsprodukte ließ sich die Hypothese aufstellen, dass es sich bei der isolierten Substanz um die in der Literatur beschriebene 3 α -O-Acetyl-11-hydroxy- β -Boswelliasäure **8** handelte, die SAFAHYHI *et al.* mittels RP-HPLC-ESIMS nachgewiesen hatten.³²

Durch Hochauflösung des Ions mit der höchsten Masse (m/z 496) wurde ein Wert von 496.3509 gefunden, welcher einer Summenformel von C₃₂H₄₈O₄ (C₃₂H₅₀O₅–H₂O) entsprach. Die berechnete Summenformel und die Auswertung der 1D- und 2D-NMR-Daten (Tabelle 14) bestätigten die getroffene Annahme.

Da es bisher nicht gelungen war, die 3 α -O-Acetyl-11-hydroxy- β -Boswelliasäure **8** zu isolieren, fehlten in der Literatur Angaben über die Konfiguration der Hydroxylgruppe an C-11. Durch die Auswertung der ¹H-NMR- und NOESY-Spektren konnte diese nun eindeutig bestimmt werden. In Abbildung 22 ist das Protonenspektrum von 3 α -O-Acetyl-11-hydroxy- β -Boswelliasäure **8** abgebildet, und die relevanten Protonen von H-11 und H-12 sind gekennzeichnet.

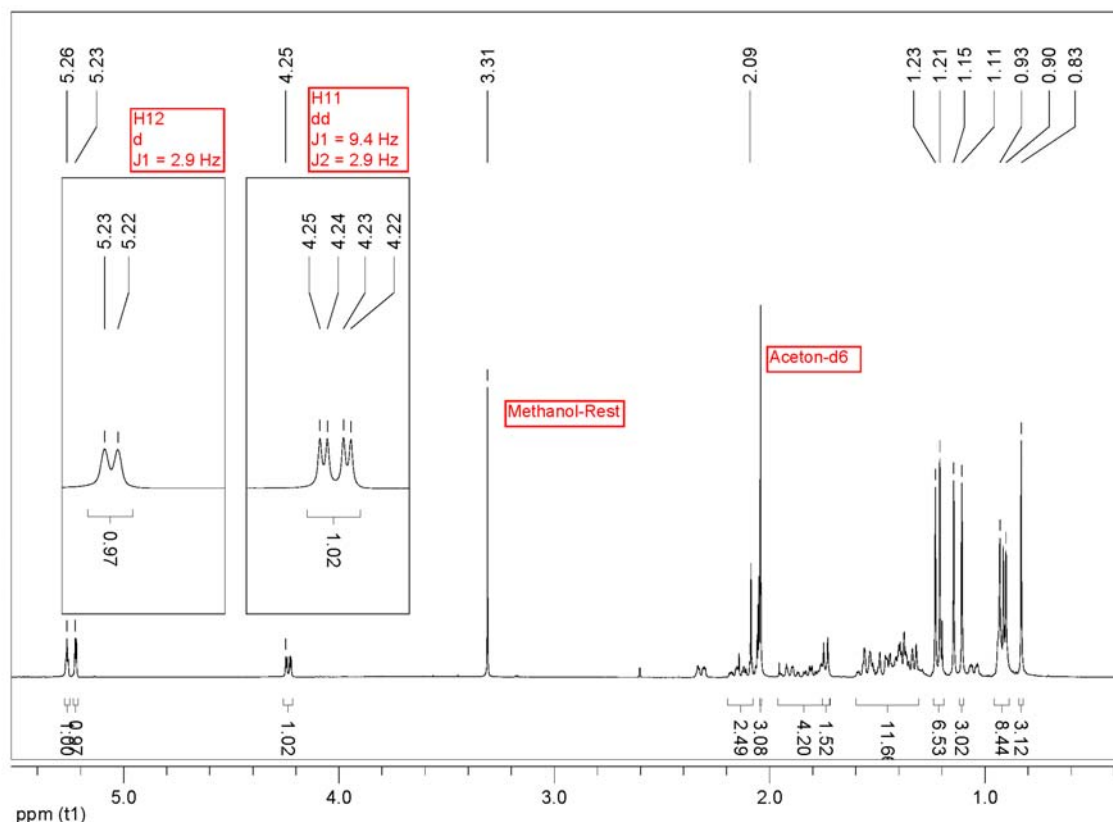


Abbildung 22: ^1H -NMR-Spektrum von $3\alpha\text{-O-Acetyl-11-hydroxy-}\beta\text{-Boswelliasäure 8}$ mit Vergrößerung

Das Signal von H-12 bei 5.23 ppm spaltete erwartungsgemäß zu einem Dublett auf, welches eine Kopplungskonstante von 2.9 Hz aufwies. Diese Kopplungskonstante war auch als kleinere Kopplungskonstante (J_2) von H-11 bei 4.24 ppm zu finden. Das Signal (H-11) zeigte eine Aufspaltung von einem Dublett von Dubletts, welche sich auch aus der Theorie ergab. Die größere Kopplungskonstante (J_1) des Dublett von Dubletts betrug 9.4 Hz und entsprach daher einem Wert, der eine diaxiale Kopplung zu H-9 zeigte. Aufgrund der diaxialen Kopplung von H-11 zu H-9 musste sich die Hydroxylgruppe an C-11 in äquatorialer Stellung befinden und somit α -ständig sein. Ein vergleichbares Kopplungsmuster, wie auch die Zuordnung, konnte bei der Strukturaufklärung von Verbindung **9** beobachtet werden (siehe Abschnitt 1.3.7). Ein weiterer Beleg für diese Anordnung lieferte das NOESY-Spektrum (Abbildung 23). Es konnten Kopplungen zwischen H-11 und H-25 sowie zwischen H-11 und H-26 beobachtet werden.

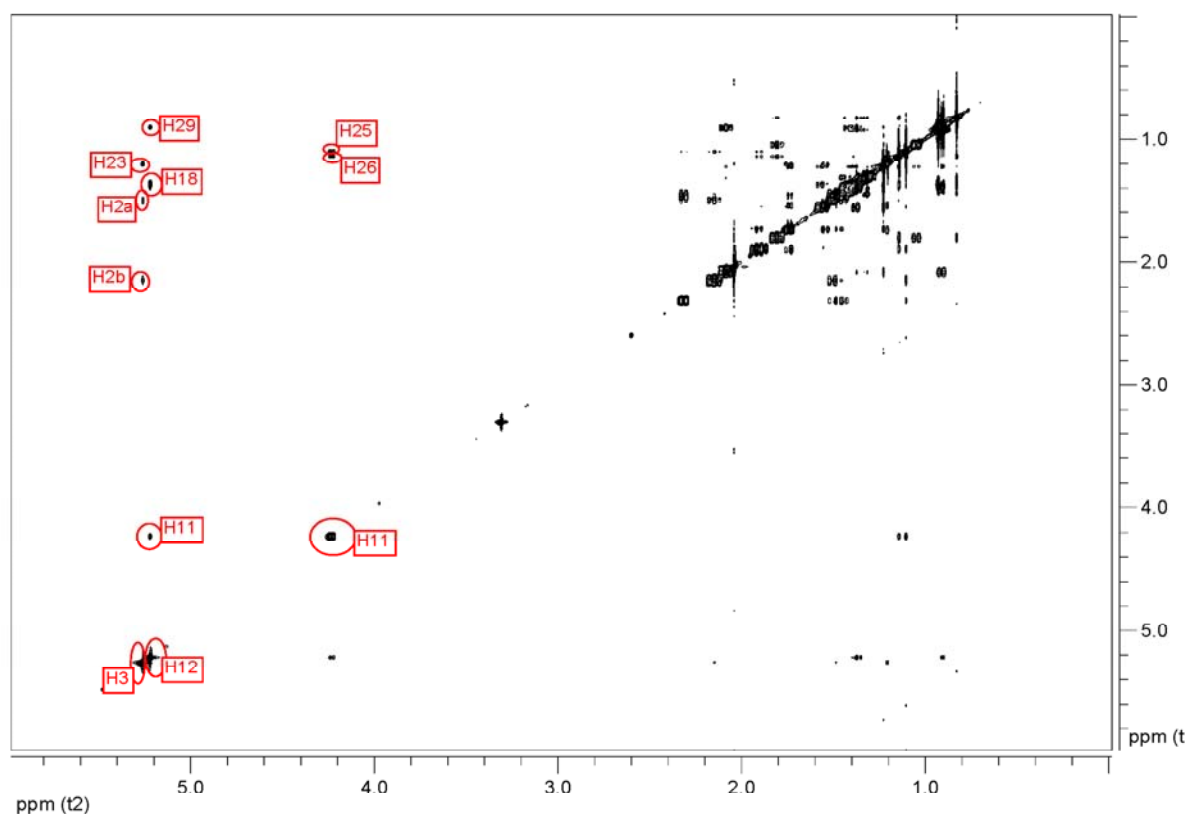


Abbildung 23: NOESY-Spektrum von Verbindung **8**

Die Konfiguration von 3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure **8** konnte daher eindeutig vorgenommen werden und ist in der Strukturformel von Abbildung 24 gezeigt.

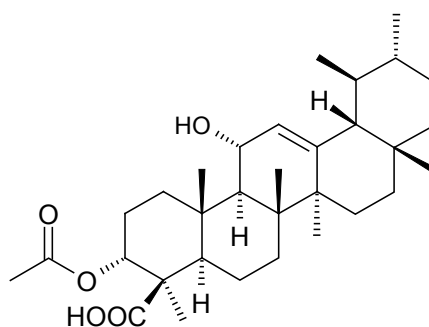


Abbildung 24: Struktur von 3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure **8**

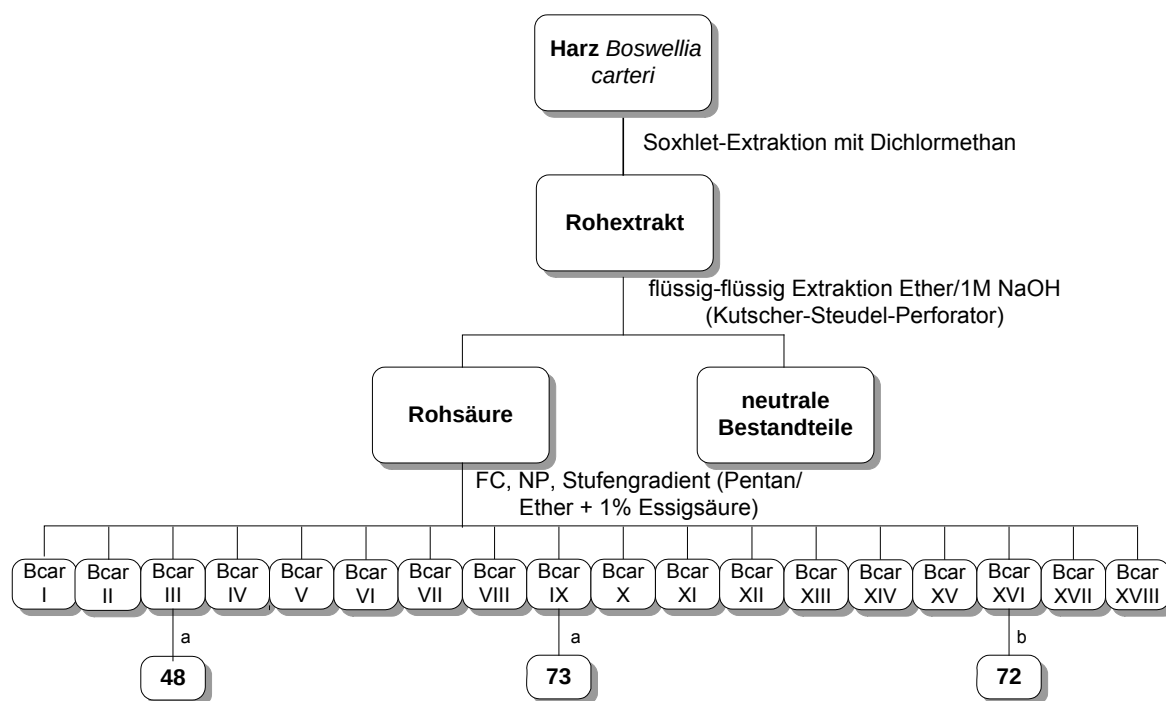
Tabelle 14: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure **8**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	NOESY
		α	β				
1	38.28	1.46	2.32		3, 9, 25	2 α , 2 β	25
2	25.48	1.52	2.16	1 α , 1 β		1 α , 1 β	3, 25
3	75.04		5.27		1 α , 1 β , 23	2 α , 2 β	2 α , 2 β , 23
4	48.30			3, 5, 23			
5	52.41	1.55			1 β , 3, 23, 25	6 α , 6 β	23
6	21.49	1.75	1.92	5, 7 β		7 α , 7 β	23, 25
7	35.83	1.56	1.39		5, 26	6 α , 6 β	
8	43.97			7 α , 9, 26	15 β , 27		
9	55.19	1.74		11	12, 25, 26	11	1 α , 7 α , 27
10	40.34			1 α , 1 β , 5, 9, 25	11		
11	69.40		4.24	9, 12		9, 12	12, 25
12	132.55	5.23		11	18	11, 18	11, 18, 29
13	142.19			18	11, 15 α , 27		
14	44.87			15 β , 27	7 α , 7 β , 9, 26		
15	28.25	1.06	1.82	16 α , 16 β	27	15 α , 15 β , 27	7 β , 16 β , 26, 27, 28
16	29.74	2.10	0.91	15 α , 15 β	28	15 α , 15 β , 28	15 α , 19, 21 α , 27
17	35.41			16 α , 16 β , 18, 28	15 α		
18	60.18		1.36		12, 22 α , 28, 29		12
19	41.30	1.39		29	20, 30		
20	41.38		0.94		18		
21	32.80	1.33	1.43	20, 22 α , 22 β			
22	43.14	1.46	1.33		28		
23	25.44	1.22					3, 5, 6 α
24	179.22			3, 5, 23			
25	15.64	1.12			1 α , 1 β , 5, 9	1 α	1 β , 2 β , 6 β
26	19.65	1.16			7 α , 7 β , 9	7 α , 9	15 β
27	24.26	1.23			15 α , 15 β	15 β	7 α , 9, 16 α , 19
28	30.19	0.84			16 α , 18	16 α	15 β
29	18.88	0.91			18	19	12, 19
30	22.60	0.93			21 α , 21 β		
31	171.38			3, 32			
32	22.16	2.05					

2 Inhaltsstoffe aus dem Harz *Boswellia carteri*

2.1 Extraktion und chromatographische Trennung von *Boswellia carteri*

Das Harz von *Boswellia carteri* (Bcar) stammte aus Somalia und wurde, wie auch die Harzprobe von *Boswellia papyrifera*, von der Fa. Eggebrecht in Süderau bezogen. Die Lagerung des Harzes erfolgte trocken, dunkel und bei Raumtemperatur. Das vor der Verarbeitung gefrorene Harz wurde im Mixer zermahlen und in einer Soxhlet-Apparatur erschöpfend extrahiert. Im Gegensatz zum Harz *Boswellia papyrifera* erfolgte die flüssig-flüssig-Extraktion nicht diskontinuierlich im Scheidetrichter, sondern in einer kontinuierlichen Extraktion mittels Kutscher-Steudel-Perforator. Mit dieser Extraktionsweise wurde angestrebt, die oft auftretende Emulsionsbildung beim diskontinuierlichen Verfahren zu umgehen. Die auf diese Weise erhaltene Säurefraktion des Rohextrakts lag als komplexe Mischung von Substanzen vor. Um die Komplexität zu verringern, wurde die Säurefraktion durch Flash-Chromatographie an einer NP-Phase vorgetrennt. Dabei wurde eine Gradientenmethode verwendet, indem die Polarität des Eluenten stufenweise erhöht wurde. Als Eluent waren Mischungen aus Pentan/Ether und 1% Essigsäure im Einsatz.



a = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 95:5

b = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 85:15

Schema 2: Trennschema der Isolierung von *Boswellia carteri* (Bcar)

Die einzelnen Fraktionen wurden mittels DC-Kontrolle auf ihre Zusammensetzung hin überprüft. Nach dieser ersten analytischen Überprüfung wurden die gesammelten Reagenzglasfraktionen zu 18 Fraktionen vereint und eine weitere analytische Untersuchung mittels HPLC an RP-18-Phase durchgeführt. Die einzelnen Inhaltsstoffe wurden schließlich durch präparative HPLC isoliert (Schema 2).

2.2 Übersichtschromatogramm von *Boswellia carteri*

Um bereits bekannte Substanzen von noch zu isolierenden Verbindungen unterscheiden zu können, wurde ein Übersichtschromatogramm der Rohsäurefraktion von *Boswellia carteri* mittels analytischer HPLC aufgenommen (Abbildung 25).

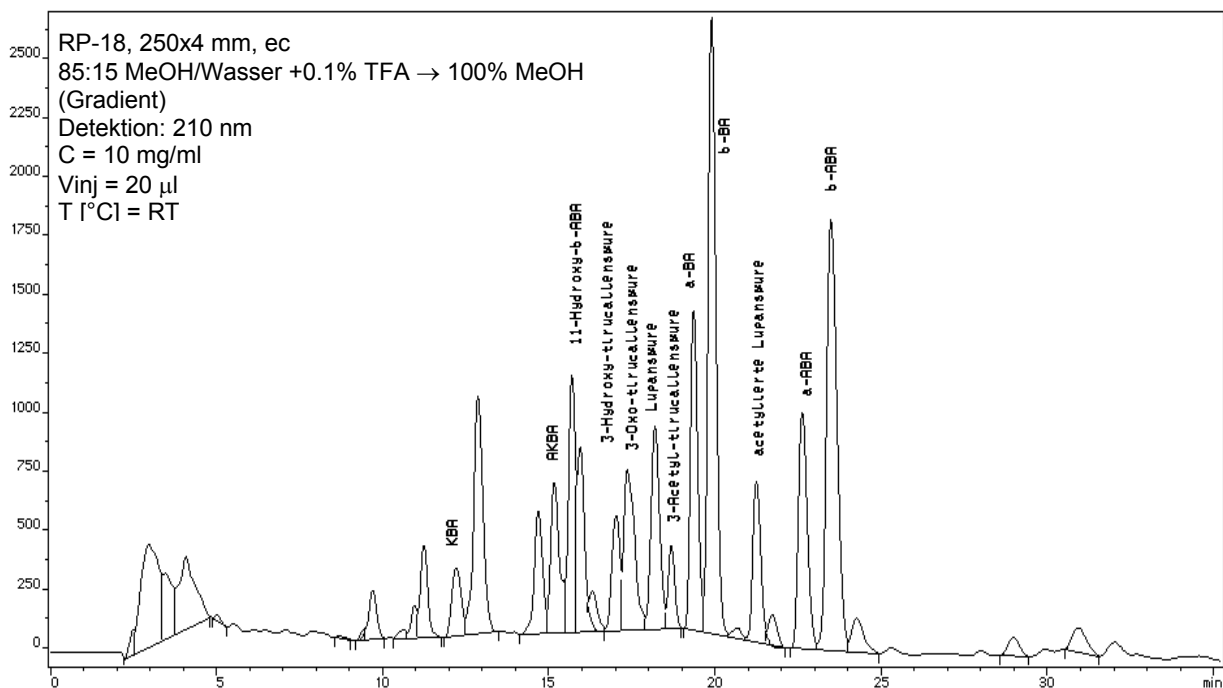


Abbildung 25: Übersichtschromatogramm von *Boswellia carteri*

Anschließend wurden die gemessenen Retentionszeiten nicht nur mit den Retentionszeiten der Referenzsubstanzen verglichen, welche zu Beginn der Arbeit bekannt waren (vergleiche Tabelle 5), sondern auch mit denen der isolierten Substanzen aus *Boswellia papyrifera*. Zusätzlich wurden die Referenzsubstanzen sowie die neu isolierten Substanzen der Säurefraktion von *Boswellia carteri* zugesetzt, um Überlagerungen sichtbar zu machen (Tabelle 15).

Tabelle 15: Retentionszeiten der Referenzsubstanzen für die Isolierung aus *Boswellia carteri*

Substanz	Retentionszeit R_t [min]
β -KBA 5	12.24
β -AKBA 6	15.30
3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -BA 8	16.30
3 α -Hydroxy-Tirucallensäure 14	17.45
3 β -Hydroxy-Tirucallensäure 15	17.64
3-Oxo-Tirucallensäure 13	17.66
Lupansäure 10	19.19
3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure 11	19.33
α -BA 3	20.00
β -BA 1	20.65
3 α -O-Acetyl-Lupansäure 11	22.34
α -ABA 4	24.09
β -ABA 2	25.18

2.3 Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe von *Boswellia carteri*

2.3.1 Serratol **48**

Verbindung **48** wurde aus der Fraktion *Bcar* III als leicht gelbliches Öl isoliert. Der R_f -Wert auf einer NP-DC-Platte betrug 0.44 (Pentan/Ether 1:1 und 1% Essigsäure). Ein Besprühen mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendes Erhitzen zeigte eine dunkelbraune Anfärbung. Auf einer analytischen RP-18-Säule war die Substanz bei 15.86 min ($\lambda = 210$ nm) detektierbar und befand sich damit im Schulterbereich der β -AKBA **6**, welche bei 15.30 min eluierte, allerdings mit dem gleichen Sprühreagenz eine violette Anfärbung zeigte.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren die Resonanzen von 20 Kohlenstoff-Atomen sichtbar, die sich mithilfe der DEPT-Spektren in 4 quartäre Kohlenstoffatome, 4 CH-Gruppen, 7 CH_2 -Gruppen und 5 CH_3 -Gruppen einteilen ließen. Auffällig war das Fehlen einer Carboxylgruppe, obwohl es sich bei Verbindung **48** um eine Säure handeln müsste, da der erste Trennungsschritt des Weihrauchharzes auf einer Trennung in saure und neutrale Bestandteile basierte (siehe Abschnitt Teil B 2.1). Durch die Extraktion im

Kutscher-Steudel-Perforator gelang es anscheinend nicht, diese Trennung vollständig durchzuführen. Aufgrund der 20 Kohlenstoffatome konnte die Hypothese aufgestellt werden, dass es sich bei Verbindung **48** um ein Diterpen handelte. Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren in einem Bereich zwischen 137.0 und 124.1 ppm drei C=C-Doppelbindungen zu erkennen, die je ein vinylishes Proton sowie eine vinyliche CH_3 -Gruppe trugen. Ebenso auffällig war das Signal eines hydroxylsubstituierten, quartären Kohlenstoffatoms bei 77.3 ppm. Eine Isopropylgruppe war im ^1H -NMR-Spektrum durch die Aufspaltung zu einem Dublett und einer Integration von 6 H-Atomen bei 0.92 ppm zu erkennen. Die Auswertung der vollständigen 1D- und 2D-NMR-Daten ist in Tabelle 16 dargestellt. Ein Vergleich mit literaturbekannten Diterpenen im Weihrauchharz ergibt, dass es sich bei Verbindung **48** um Serratol (siehe Abbildung 7) handelte, welches bereits von PARDHY und BHATTACHARYYA (1978) aus *Boswellia serrata* isoliert wurde.⁹³

Tabelle 16: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für Serratol **48**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	37.60	1.58	1.65	2 β	13 α , 13 β		2 α , 2 β	
2	35.65	1.67	1.89	1 α , 1 β	4		1 α	
3	136.99			2 α , 2 β , 18	1 β			
4	124.85	4.96		5 α	2 α , 2 β , 18	5 α , 18	5 α , 18	5 α , 5 β , 18
5	25.30	2.07	1.88	4, 6 α , 6 β			4	
6	41.85	1.92	2.10	5 α	8, 20		5 α , 18	
7	134.40			6 α , 6 β , 19	9 α , 9 β			
8	128.02	4.86		9 α , 9 β	6 α , 19	9 α , 9 β , 19	9 β , 19	6 α , 9 α , 9 β , 10 α , 19
9	26.45	2.05	2.35	8, 10 α		10 α	8, 10 α	
10	41.11	2.16	2.24	9 β	12, 20		9 α , 9 β	
11	136.11			10 α , 10 β , 20	11 β			
12	124.10	5.31		13 α , 13 β	10 α , 10 β , 20	13 α , 13 β , 20	13 α , 13 β , 20	16, 13 α , 20
13	36.64	2.14	2.25	12	1 α , 1 β		12	
14	77.25			1 β , 13 β , 15	2 β , 16, 17			
15	35.99	1.63		16, 17	1 α , 1 β , 13 β		16, 17	
16	18.07	0.92		15	17	15	15	
17	18.00	0.92		15	16	15	15	
18	17.22	1.56			2 α , 2 β , 4			
19	16.26	1.57			6 α , 8			
20	15.98	1.53			12, 10 α			

2.3.2 3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **72**

Substanz **72** wurde aus der Fraktion *Bcar* XVI als farbloser Feststoff isoliert. Die Anfärbung zeigte nach Erhitzen nicht den typisch violetten, sondern einen gelb-bräunlichen Fleck. Als Anfärbe-Reagenz wurde Anisaldehyd/Schwefelsäure verwendet. Der R_f -Wert lag mit 0.20 (SiO₂, Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure) auch außerhalb des Elutionsbereiches der üblichen Boswelliasäuren **1–6**, der gefundenen Tirucallensäuren **13–17** und der isolierten Lupansäuren **11**.

Aus dem Molekülionenpeak (m/z 514) konnte die Summenformel zu C₃₂H₅₀O₅ berechnet werden. Die Retentionszeit an der analytischen HPLC-RP-Säule betrug 12.84 min und war als Schulterpeak an der β -KBA **5** zu sehen (siehe Abbildung 25). Aufgrund der Masse, der Retentionszeit und des Anfärbeverhaltens wurde deutlich, dass es sich bei der isolierten Verbindung um eine bisher unbekannte Substanz handeln musste. Da sich die Substanz **72** schlecht in Aceton bzw. Chloroform löste, wurde als Solvens für die NMR-Experimente Methanol-d₄ gewählt. Im ¹³C-NMR-Spektrum waren die Resonanzen von 32 Kohlenstoffatomen zu sehen. Besonders auffällig waren dabei die charakteristischen Signale einer Carboxylgruppe (C-24 179.8 ppm) und der Carbonylgruppe einer Acetoxygruppe (C-31 172.4 ppm), deren Methylgruppe ein Signal bei 21.3 ppm (C-32) zeigte. Ebenso auffällig waren die Signale einer terminalen olefinischen Doppelbindung bei 151.9 ppm (C-20) und 110.3 ppm (C-29), sowie das Signal eines acetylierten sekundären Alkohols bei 75.3 ppm (C-3). Dem Signal bei 60.4 ppm (C-28) konnte aufgrund der chemischen Verschiebung ein primärer Alkohol zugeordnet werden. Die restlichen Kohlenstoff-Resonanzen befanden sich in einem Bereich zwischen 51.8 und 14.2 ppm.

Im Protonenspektrum waren die Signale von 50 Protonen sichtbar. Die gefundenen charakteristischen Resonanzen im ¹³C-NMR-Spektrum wurden durch entsprechende Signale im ¹H-NMR-Spektrum gestützt. So war das Signal der zugehörigen Methylgruppe der Acetoxygruppe bei 2.08 ppm (H-32) als Singulett zu finden. Die Signale der terminalen olefinischen Doppelbindung zeigten eine Resonanz bei 4.69 und 4.58 ppm (H-29). Weiterhin war im HMBC und im H,H-COSY eine Kopplung zu einer Methylgruppe (C-30) ersichtlich, was auf ein olefinisches Strukturelement aus der Reihe der Lupansäuren schließen ließ. Auch die Protonenverschiebung des H-Atoms an C-3 bestätigte den acetylierten Alkohol, da die chemische Verschiebung mit 5.24 ppm bezeichnend war und das Signal durch die Protonen an C-2 zu einem

Triplett aufgespalten wurde. Der primäre Alkohol zeigte sich auch an der Verschiebung der beiden diastereotopen Methylenprotonen der CH₂-Gruppe von C-28 bei 3.3 und 3.8 ppm, deren Protonensignale sich jeweils zu einem Dublett aufspalteten und eine geminale Kopplung von rund 11 Hz zeigten. Durch Kopplungen im H,H-COSY (siehe Abbildung 26) von H-28 zu H-22_α und H-16_α, die sich durch ⁴J_W-long range-Kopplungen ergaben, konnte die Position von C-28 im Molekül bestimmt werden.⁹⁴ Ebenfalls typisch für ein Lupansäuren-Grundgerüst war das Signal von H-19, welches in der Theorie ein ddd-Muster zeigt, allerdings wegen ähnlicher Kopplung von H-21_α und H-18 zu einem Dublett von Triplets mit einem charakteristischen Intensitätsmuster von 1:1:2:2:1:1 aufspaltete. Durch die große Kopplung von H-21_α und H-18 (~11 Hz) konnte auf eine transdiaxiale Anordnung zwischen H-13 und H-18 geschlossen werden.³³

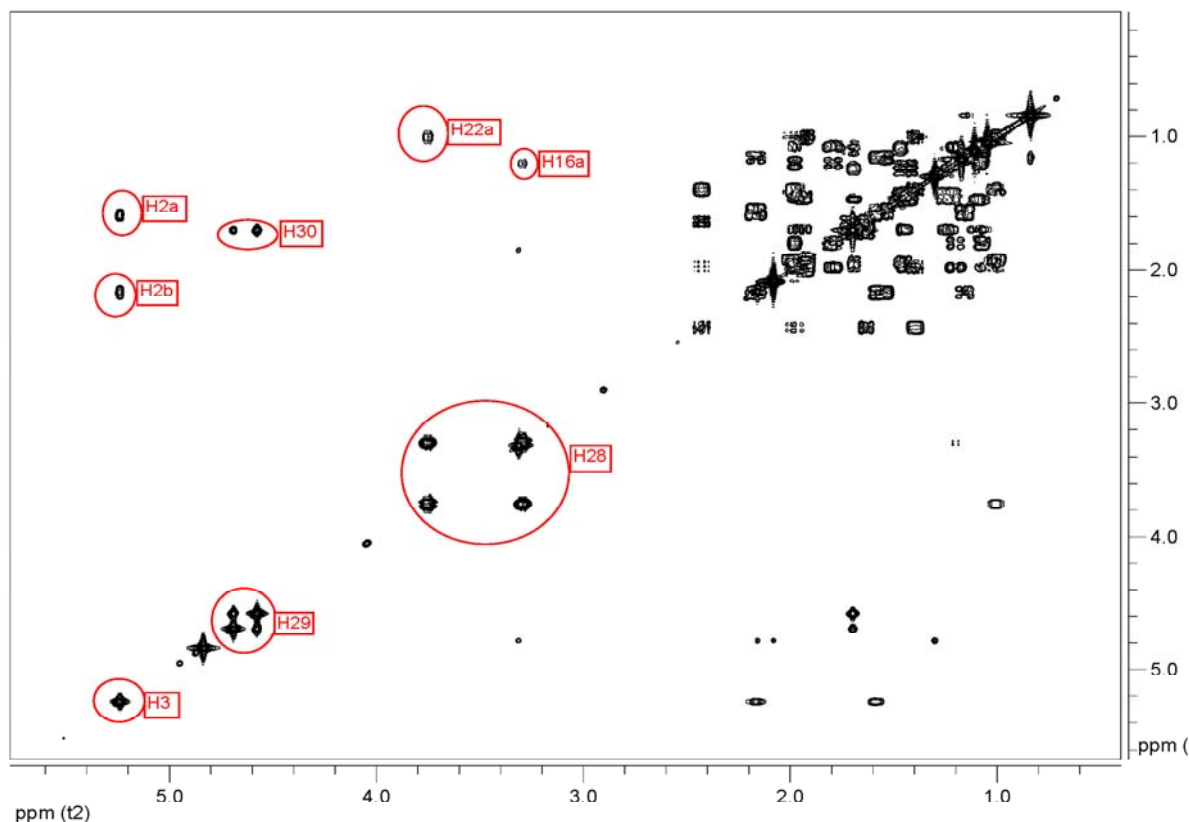


Abbildung 26: H,H-COSY der Verbindung **72**

Die übrigen Signale lagen im Protonenspektrum in einem Bereich zwischen 2.2 und 0.8 ppm, von denen 4 Resonanzen weiteren Methylgruppen (H-23, H-25, H-26, H-27) zugeordnet werden konnten. Die detaillierte Auswertung aller NMR-Daten lieferte

als Grundgerüst eine Lupansäure (Tabelle 17). Die Struktur von Verbindung **72** ist in Abbildung 27 abgebildet.

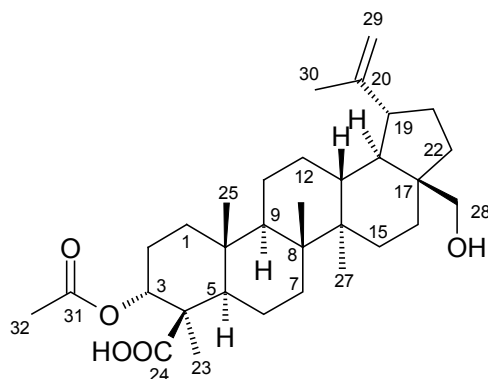


Abbildung 27: 3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **72**

Die räumliche Anordnung von H-13, H-18 und H-19 wurde durch das NOESY-Spektrum (Abbildung 28) bestätigt, da H-13 und H-19 mit H-28 in Resonanz traten und somit β -ständig waren. H-18 konnte daher die transdiaxiale Anordnung zu H-13, die sich aus dem Kopplungsmuster von H-19 aus dem ^1H -NMR-Spektrum ergab, eingehen. Die Konfiguration der Acetoxygruppe an C-3 war α -ständig, da keine Kopplung von H-3 mit H-5 im NOESY-Spektrum beobachtet werden konnte.

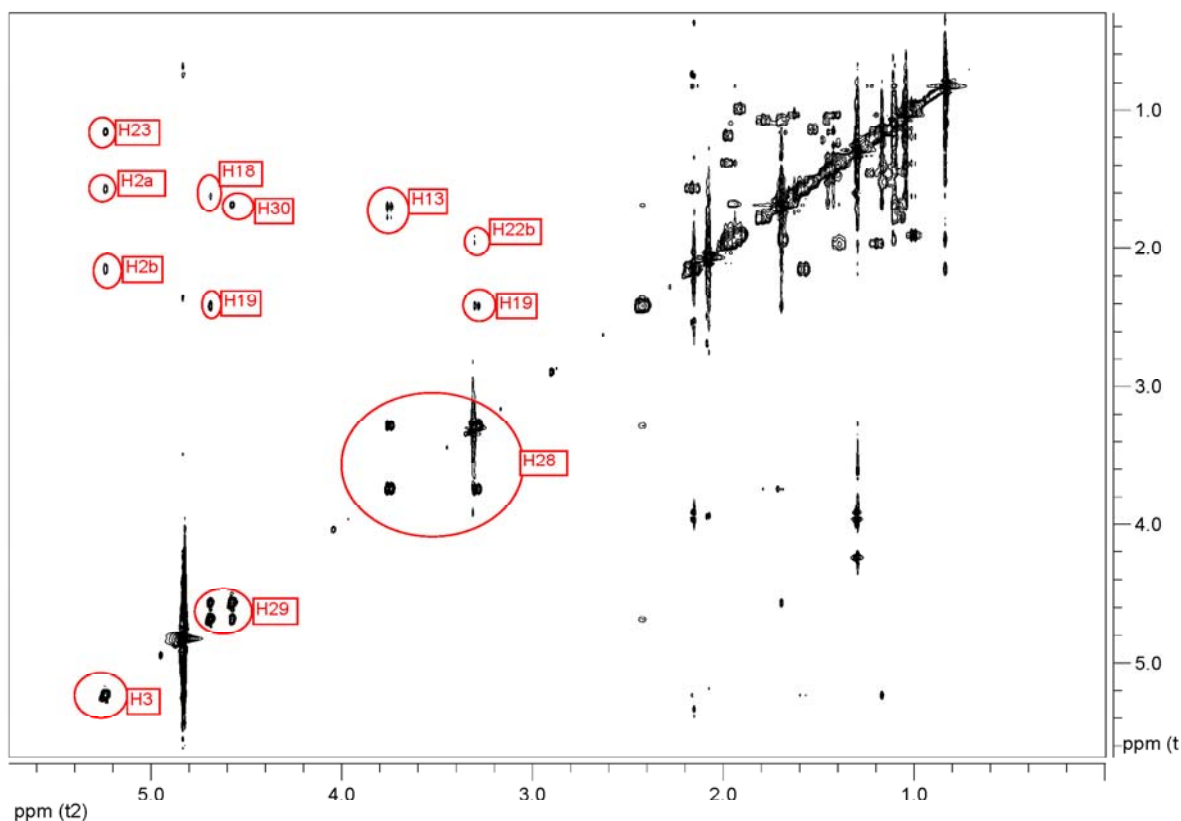


Abbildung 28: NOESY-Spektrum der Verbindung **72**

Die isolierte 3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **72** stellte eine neue Verbindung aus dem Weihrauchharz dar und zeigte interessante pharmakologische Eigenschaften (siehe Abschnitt Teil C).

Tabelle 17: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **72**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	35.82	1.16	1.54		3, 25	2 α , 2 β	2 β	
2	24.89	1.58	2.17			1 α , 1 β	3	1 β , 25
3	75.35		5.24		1 β , 23	2 α , 2 β		2 α , 2 β , 23
4	47.82			3, 5, 23				
5	51.80	1.44			5, 23, 25		6 β	
6	20.88	1.70	1.95	5				
7	35.35	1.43	1.46					
8	42.18			7 β , 26	27			
9	51.13	1.40			25, 26			
10	38.85			9, 25				
11	22.17	1.22	1.47					
12	26.72	1.09	1.69			11 α , 11 β		
13	38.74		1.71	18	19, 27		18	
14	43.94			27	26			
15	28.17	1.08	1.79		27	16 α , 16 β	16 α	
16	30.40	1.20	1.98		28			
17	30.71			28				
18	50.03	1.63		13, 19	16 β		13, 19	
19	49.42	2.43		18	13, 29	21 β	18, 21 β	13, 21 β , 28
20	151.89			19, 30	18, 21 α			
21	30.91	1.38	1.98	19, 22			19	19
22	35.14	1.00	1.93	21 α	28	21 α		
23	24.31		1.17		5			
24	179.82				5, 23			
25	14.14		0.84		1 α , 5	1 α		
26	16.48		1.11		7 α			
27	15.24		1.06		15 β			
28	60.42	3.29	3.76		22 α , 22 β , 16 α , 18	16 α , 22 α		13, 19, 22 β
29	110.28	4.58	4.69		19, 30	30	30	12 β , 19, 30
30	19.42		1.70		19, 29		29	
31	172.35			32				
32	21.20		2.08					

2.3.3 3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure **73**

Die Verbindung **73** wurde aus der Fraktion *Bcar* IX als farbloser Feststoff isoliert. Auf dem DC (R_F -Wert 0.31 Pentan/Ether 1:1 + 1% Essigsäure) war die Substanz durch Anfärbung mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen detektierbar und zeigte eine intensiv bräunliche Farbe.

Aus dem Moleküllenpeak (m/z 456) ergab sich eine Summenformel von $C_{30}H_{48}O_3$, welche auch bei den 3 α -Hydroxy- α -/ β -Boswelliasäuren **3** und **1**, sowie den 3 α -/ β -Hydroxytirucallensäuren **14** und **15** als auch bei der Lupansäure **10** zu finden war. Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren die Resonanzen von 30 Kohlenstoffatomen sichtbar, die sich durch die DEPT-Spektren in 7 quartäre Kohlenstoffatome, 7 CH-Gruppen, 9 CH₂-Gruppen und 7 CH₃-Gruppen unterteilen ließen. Diese Anzahl und Zuordnung von Signalen fand sich ebenfalls in der 3 α -Hydroxy- β -Boswelliasäure **1**, und die vollständige Auswertung der 1D- und 2D-NMR-Daten bestätigte das gleiche Grundgerüst (siehe Tabelle 18).

Dass es sich bei aller Ähnlichkeit mit bereits bekannten Substanzen aus dem Weihrauch um eine unbekannte Verbindung handeln musste, zeigte das völlig unterschiedliche Elutionsverhalten auf der analytischen RP-18-Phase (vergleiche Tabelle 15). Verbindung **73** erschien als Schulter der 3 α -O-Acetyl- β -Boswelliasäure **2** (siehe Abbildung 25) und zeigte auch bei Koinjektion der bekannten Inhaltsstoffe aus dem Weihrauchharz keine Übereinstimmung.

Im NOESY- und im 1H -NMR-Spektrum war schließlich die Ursache der Abweichung ersichtlich, da die Hydroxylgruppe nicht die bekannte α -Stellung einnahm, sondern β -ständig war. Dies wurde durch Kopplungen im NOESY-Spektrum von H-3 mit H-5, H-1 $_{\alpha}$, H-2 $_{\alpha}$ sowie H-23 deutlich (Abbildung 29).

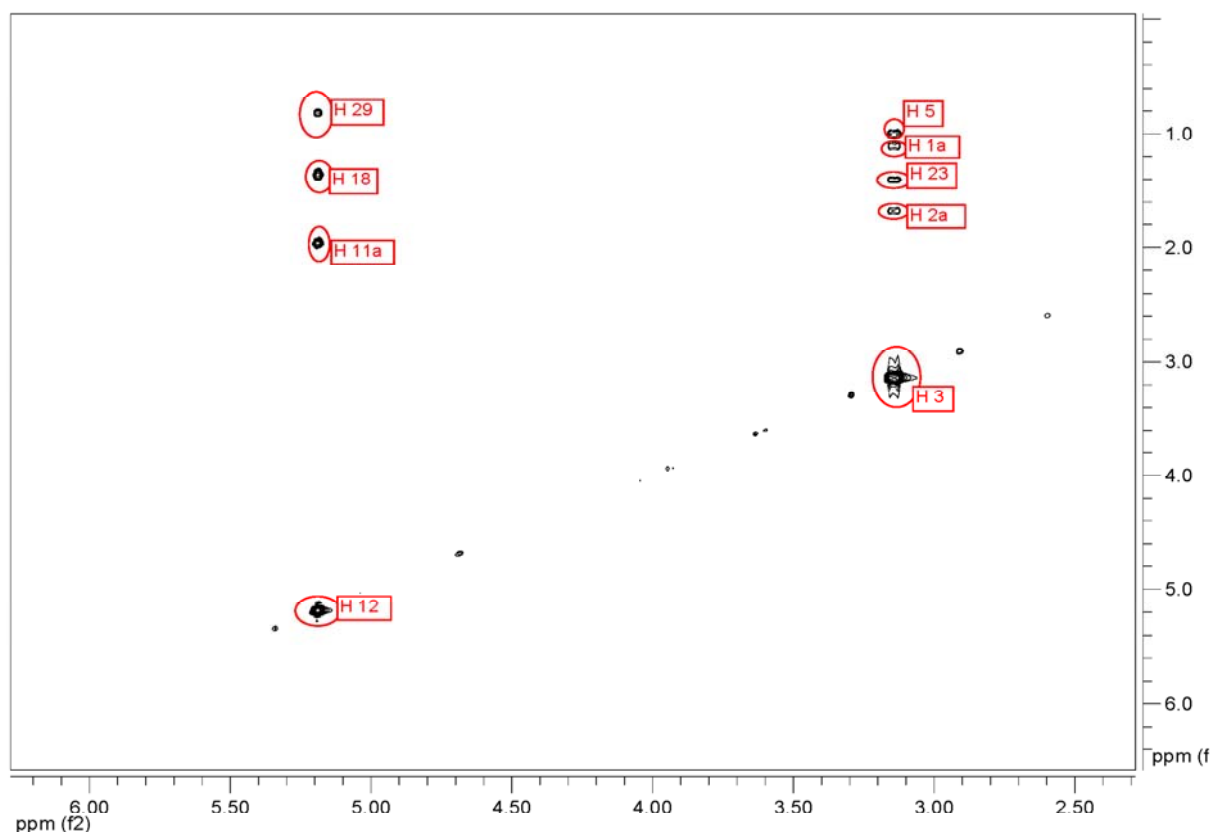


Abbildung 29: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von Verbindung **73**

Im ^1H -NMR-Spektrum war für H-3 ein Dublett von Dubletts sichtbar, welches durch die unterschiedliche Kopplung mit den Protonen von H-2 entstand (Abbildung 30). Durch die β -ständige Hydroxylgruppe befand sich das H-3 in *trans*-Position zu H-2 $_{\beta}$ und in *cis*-Position zu H-2 $_{\alpha}$, was sich in unterschiedlichen Kopplungskonstanten widerspiegelte. Das Signal von H-3 erschien als Dublett von Dubletts mit Kopplungskonstanten von 12.1 und 4.5 Hz. Die größere Kopplungskonstante ergab sich dabei aus der diaxialen Anordnung zwischen H-3 und H-2 $_{\beta}$, während die kleinere Kopplung auf eine *gauche*-Anordnung zwischen H-3 und H-2 $_{\alpha}$ schließen ließ.⁹⁵

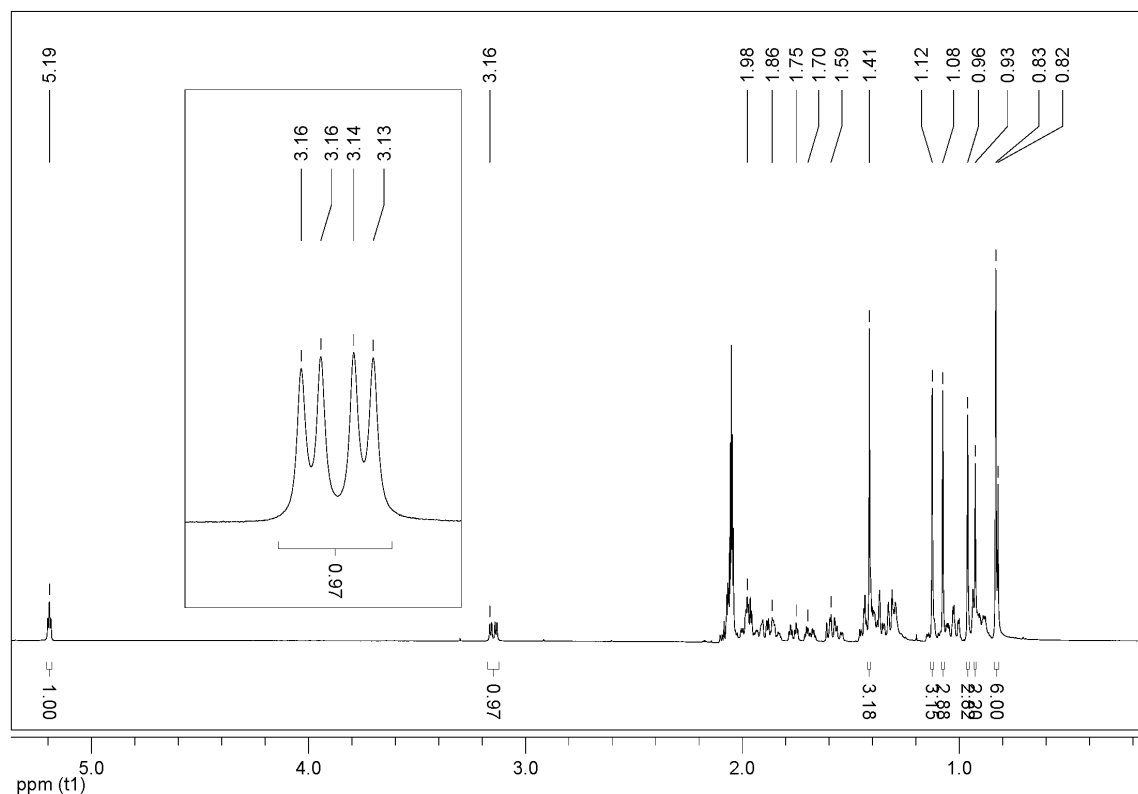


Abbildung 30 ^1H -NMR-Spektrum mit Vergrößerung des H-3-Protons von Verbindung **73**

Die Substanzen, bei denen die Hydroxylgruppe α -ständig war, zeigten im ^1H -NMR-Spektrum für H-3 ein Triplett. In Abbildung 31 ist exemplarisch das ^1H -NMR-Spektrum der 3α -Hydroxy- β -Boswelliasäure **1** gezeigt. Durch die axiale Hydroxylgruppe war das H-3 in *trans*-Stellung zu H-2 $_{\alpha}$ und in *cis*-Stellung zu H-2 $_{\beta}$, was sich in der geringeren Kopplungskonstante von 2.7 Hz bemerkbar machte.

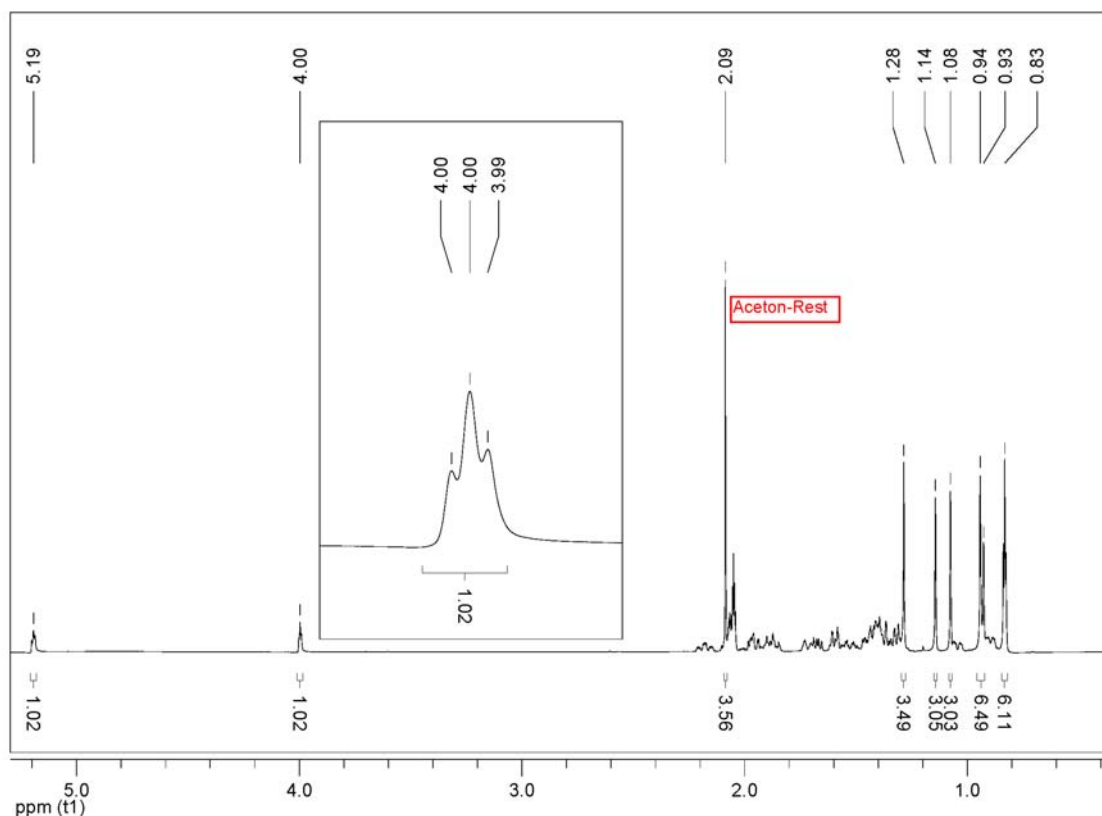


Abbildung 31: ^1H -NMR-Spektrum mit Vergrößerung des H-3-Protons von 3α -Hydroxy- β -Boswelliasäure **1**

Für die in der Literatur unbekannte Verbindung **73** ergab sich die in Abbildung 32 dargestellte Struktur. Aufgrund der Ähnlichkeit zu den bereits bekannten Boswelliasäuren im Weihrauchharz wurde diese als 3β -Hydroxy- β -Boswelliasäure bezeichnet.

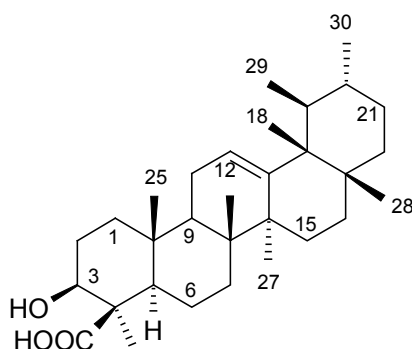


Abbildung 32: Struktur von Verbindung **73**

Tabelle 18: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für Verbindung 3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure **73**

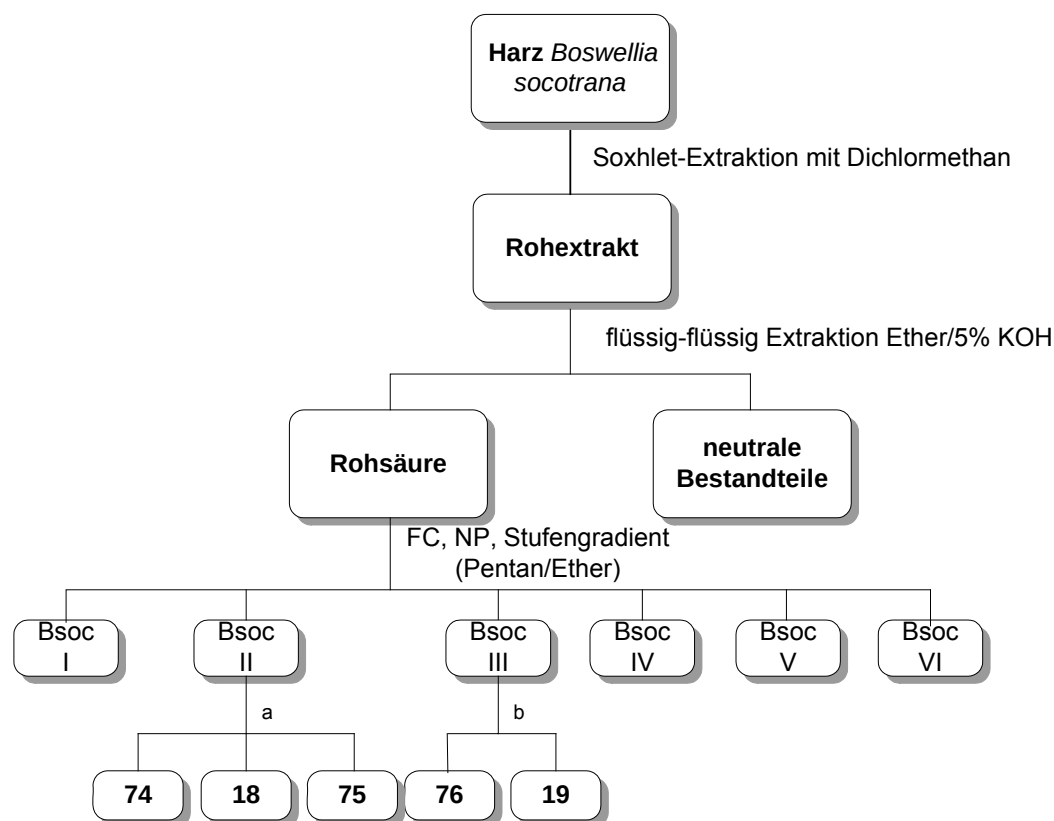
Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	41.14	1.12	1.76	2 α	3, 25	2 α , 2 β	2 α , 2 β	2 β , 3, 5, 25
2	30.09	1.68	1.98			1 α , 1 β		1 α , 25
3	79.16	3.14		2 α , 2 β	1 α , 1 β , 5, 23	2 α , 2 β	2 α , 2 β	
4	50.28			3, 5, 23	2 α , 2 β			
5	57.94	1.01		6 α	1 β , 3, 7 α , 7 β		6 α , 6 β	
6	21.90	1.93	1.84	5, 7 α , 7 β				
7	35.00	1.42	1.57		26	6 α , 6 β , 26	6 α	6 β
8	39.08			7 β	11 α			
9	48.83	1.60		11 α	7 α , 12, 25, 26		11 α	1 α , 5, 11 α , 27
10	41.74			1 α	6 β			
11	25,27	1.96	1.98	12				26
12	126.57	5.19		11 α	18	11 α , 11 β	11 α	
13	141.40			12, 18	11 α , 27			
14	43.98			15 α , 15 β , 27	9, 12, 18, 26			
15	28.31	1.04	1.88	16 α	27	16 α , 16 β , 27		7 β , 16 α , 28
16	29.83	2.07	0.89			15 α , 15 β		15 α , 22 β , 27
17	35.52			16 α , 16 β , 28				
18	61.08		1.35		12, 16 α , 16 β , 28			
19	41.51	1.37				29	20, 29	
20	41.43		0.92		29		19, 29	18, 29
21	32.93	1.40	1.30	22 α , 22 β	30			
22	43.27	1.45	1.31					
23	25.37	1.41			3			
24	180.21				3, 5, 23			
25	15.61	0.95			1 α , 1 β , 5, 9			1 β , 2 β , 26
26	18.38	1.07			7 α , 7 β			25
27	24.62	1.12			15 β			16 α , 19, 29
28	30.25	0.83			16 α			
29	18.91	0.83			18, 20	19		
30	22.65	0.92			21 α , 21 β			

3 Inhaltsstoffe aus dem Harz *Boswellia socotrana*

3.1 Extraktion und chromatographische Trennung von *Boswellia socotrana*

Das Harz von *Boswellia socotrana* (Bsoc) war eine Harzprobe aus der Sammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums (BGBM) in Berlin-Dahlem. Das Probenmaterial stand nur in geringerer Menge (< 30 g) zur Verfügung, so dass wiederholte Extraktionen und Isolierungen nicht möglich waren.

Das Harz wurde, wie auch schon die anderen verwendeten Harze dieser Arbeit, trocken, dunkel und bei Raumtemperatur gelagert. Das vor der Verarbeitung gefrorene Harz wurde im Mixer zerkleinert und in einer Soxhlet-Apparatur erschöpfend extrahiert. Die Trennung des Rohextrakts in saure und neutrale Bestandteile erfolgte wie schon bei der Trennung aus *Boswellia papyrifera* durch Ausschütteln mit Kalilauge und anschließendem Ansäuern der alkalischen Phase mit einer anorganischen Säure. (Schema 3). Obwohl durch diese Extraktion die neutralen Bestandteile abgetrennt waren, lag die Säurefraktion immer noch als komplexe Mischung von Substanzen vor und wurde deshalb mit Hilfe der Flash-Chromatographie unter Verwendung einer NP-Phase vorgetrennt. Als Eluent wurde eine Mischung aus Pentan/Ether und 1% Essigsäure verwendet und die Polarität des Laufmittels stufenweise erhöht. Die erhaltenen Fraktionen wurden im Anschluss dünnschichtchromatographisch analysiert und zu 6 Hauptfraktionen zusammengefasst. Diese wurden anschließend auf ihre genaue Zusammensetzung hin mit Hilfe von analytischer HPLC untersucht. Die Chromatogramme zeigten deutlich, dass die so vorgetrennten Fraktionen an Komplexität verloren haben.



a = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 90:10

b = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 95:5

Schema 3: Trennschema der Isolierung von *Boswellia socotrana* (Bsoc)

Die weitere Trennung aus den Hauptfraktionen in die einzelnen Substanzen erfolgte an einer präparativen HPLC-Anlage. Als stationäre Phase wurde eine RP-18-Säule eingesetzt, und die Eluenten bestanden aus Methanol/Wasser-Mischungen. Die relevanten Peaks der Substanzen fanden sich in den Fraktionen *Bsoc II* und *Bsoc III* wieder (siehe Abschnitt 3.2). Alle übrigen Fraktionen bestanden aus mehreren Verbindungen, die nicht durch isokratische Bedingungen an der RP-18-Phase der präparativen HPLC getrennt werden konnten. Ursache hierfür war, dass die Methodenoptimierung nicht zu baseline-getrennten Peaks führte und die Probenmengen der Vorfraktionen zu gering war, um mehrere Isolierungsschritte hintereinander durchführen zu können. Wegen mangelnder Auflösung gestaltete sich auch die Trennung der Fraktion *Bsoc II* schwierig, so dass häufige Aufreinigungsschritte nötig waren, die zu einem Substanzverlust von ca. 20% führten. Fraktion *Bsoc III* hingegen konnte unproblematisch an der RP-18-Phase aufgetrennt werden.

3.2 Übersichtschromatogramm von *Boswellia socotrana*

Um eine Übersicht der einzelnen Verbindungen in der Rohsäurefraktion von *Boswellia socotrana* zu erhalten, wurde ein Übersichtschromatogramm (Abbildung 33) mittels analytischer HPLC aufgenommen. Die für Weihrauchharze gattungsspezifischen Boswelliasäuren waren in dieser Harzprobe nicht vertreten. Dies ergab sich aus einem Vergleich der gemessenen Retentionszeiten mit den Retentionszeiten der Referenzsubstanzen (siehe Tabelle 15). Um diese Beobachtung eindeutig zu bestätigen, wurde dem Extrakt zur Kontrolle ein Standard, der aus den Boswelliasäuren bestand, zugesetzt, um einerseits mögliche Überlagerungen von Peaks und andererseits einen möglichen geringen Gehalt an Boswelliasäuren zu erkennen. Diese Kontrolle bewies, dass Boswelliasäuren in dieser Probe nicht vorhanden waren. Stattdessen zeigten sich im Chromatogramm (Abbildung 33) zwei Verbindungen in einem Bereich von 20-30 min, welche nicht nur bei $\lambda = 210$ nm detektiert werden konnten, sondern auch bei $\lambda = 254$ nm sichtbar („UV-aktiv“) waren. Üblicherweise fanden sich einige der Referenzsubstanzen in diesem Zeitbereich (siehe Tabelle 15), allerdings fehlten diesen die beobachtbare Detektion bei $\lambda = 254$ nm. Weiterhin eluierten vier Verbindungen im Bereich von über 30 min, die in den beiden anderen untersuchten Spezies bisher nicht zu finden waren.

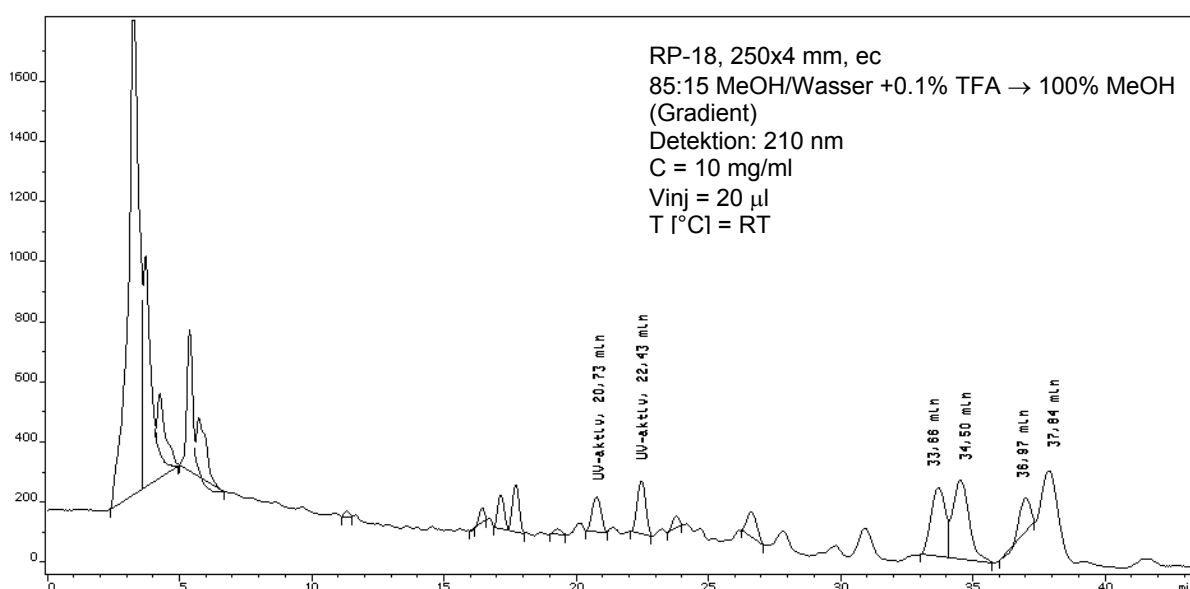


Abbildung 33: Übersichtschromatogramm von *Boswellia socotrana*

3.3 Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe von *Boswellia socotrana*

3.3.1 Robursäure 74

Die Substanz **74** konnte aus der Fraktion *Bsoc* II nur mit erheblichem Substanzverlust isoliert werden. Es war nicht möglich, die bei 34.5 min eluierende Verbindung ohne Schwierigkeiten vom vorherigen Peak zu trennen (siehe Abbildung 33). Daher waren einige Aufreinigungsschritte nötig, bei denen das Laufmittel aus 100% Methanol bestand, um eine schnellere Trennung auf der präparativen HPLC-Säule zu erreichen. Nachdem die Substanz **74** weitgehend aufgereinigt war, kristallisierte diese spontan aus Methanol in farblosen Nadeln aus.

Die Strukturaufklärung konnte daher durch eine Röntgenstrukturanalyse ergänzt werden, deren ermittelte Struktur in Abbildung 34 zu sehen ist. Diese Untersuchung ergab eine offenkettige Triterpensäure mit Ursan-Grundgerüst. Aus den röntgenkristallographischen Daten (siehe Seite 128) war ersichtlich, dass es sich bei den Bindungen zwischen C-4 und C-24 (Bindungslänge 136 pm) und sowie zwischen C-12 und C-13 (Bindungslänge 133 pm) um Doppelbindungen handelte, da beide Bindungslängen im typischen Bereich von C=C-Doppelbindungen (Bindungslänge ~ 134 pm) lagen.⁹⁶

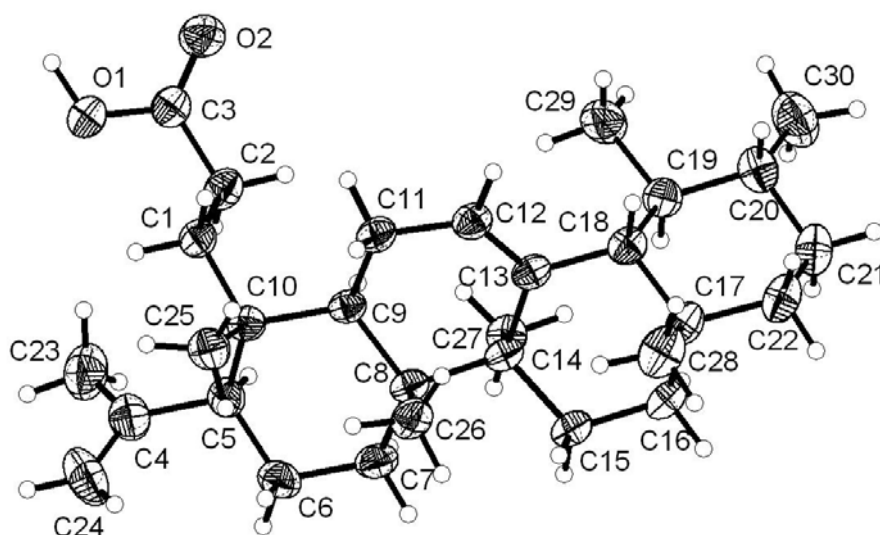


Abbildung 34: ORTEP-Darstellung der Röntgenstruktur von Verbindung **74**

Im ^{13}C -NMR-Spektrum ist die gleiche Anzahl von Kohlenstoffatome zu erkennen, die sich auch aus der Röntgenstruktur ergaben. Die 30 Signale ließen sich mittels der DEPT-Spektren in 6 quartäre Kohlenstoffatome, 6 CH-Gruppen, 10 CH_2 -Gruppen und 7 CH_3 -Gruppen einteilen und entsprachen auch darin der Röntgenstruktur. Die Carboxylgruppe (C-3) befand sich bei 175.9 ppm. Die weiteren Signale in einem Bereich zwischen 149.5 und 115.0 ppm konnten zum einen der Doppelbindung zwischen C-12 und C-13 (C-12 126.5 ppm, C-13 141.4 ppm) und zum anderen der Doppelbindung zwischen C-4 und C-24 (C-4 149.5 ppm, C-24 115.0 ppm) zugeordnet werden. Sowohl die Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum als auch die gefundenen Bindungslängen in der Röntgenstrukturanalyse standen im Einklang mit Doppelbindungen. Das Grundgerüst der Substanz **74** wurde über HMQC- und HMBC-Korrelationen ermittelt, die in der Tabelle 19 zusammengefasst sind. Diese Daten belegten ebenfalls das Gerüst eines Ursan-Typs. Die vicinalen Bindungsabstände konnten aus dem H,H-COSY-Spektrum ermittelt werden, da die gefundenen Daten auf vicinale Protonen schließen ließen. Zusätzlich zeigte das H,H-COSY-Spektrum in diesem Fall aber auch $^4J_{\text{W}}$ -Kopplungen, wie sie auch in den Boswelliasäuren **2** und **4** zu finden waren.^{97,28}

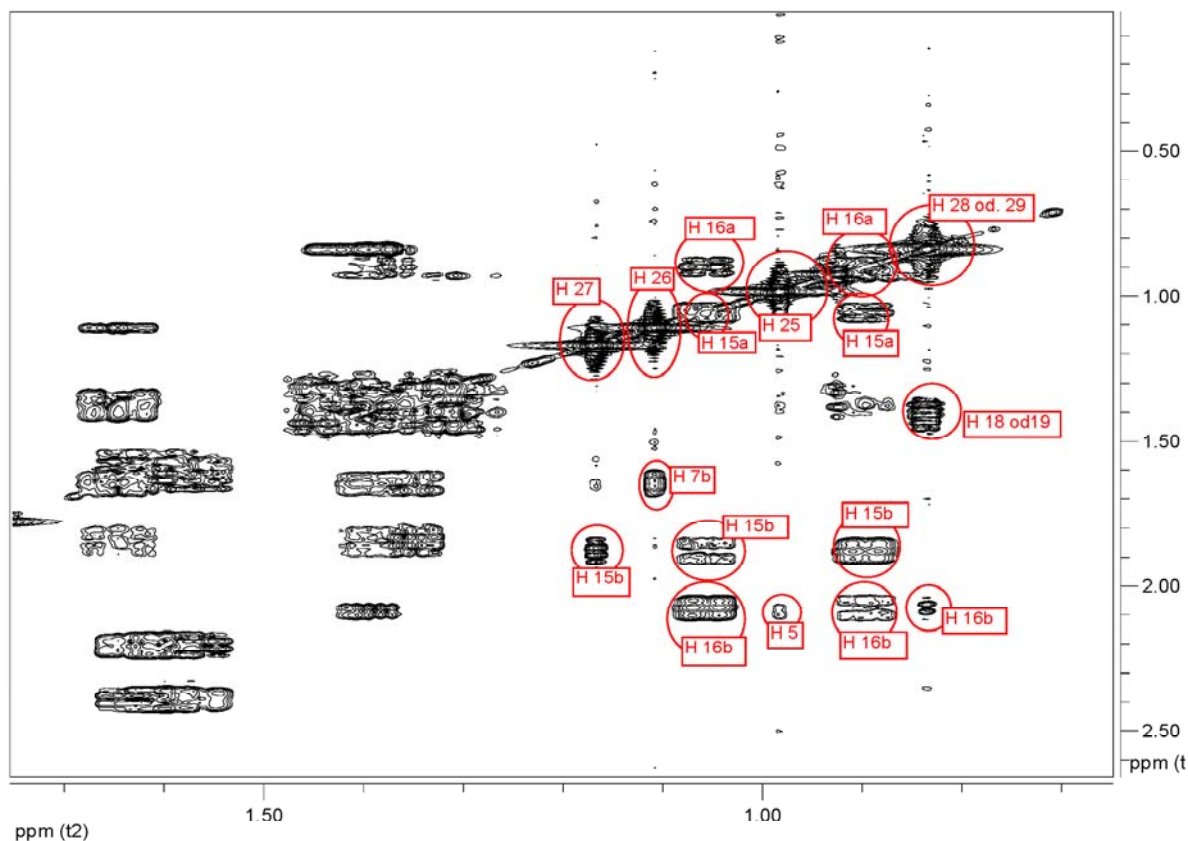


Abbildung 35: Ausschnitt I des H,H-COSY-Spektrum von Verbindung **74**

Diese zusätzlich gewonnenen Informationen aus den 4J_W -Kopplungen erleichterten die eindeutige Zuordnung von sich stark überlagerten Resonanzen. Um dies zu verdeutlichen wurde in Abbildung 36 das H,H-COSY-Spektrum von Substanz **74** in einem größeren Ausschnitt als in Abbildung 35 gezeigt. Die Überlappung in den Bereichen zwischen 1.8 und 2.0 ppm und zwischen 1.3 und 1.4 ppm ist deutlich zu erkennen.

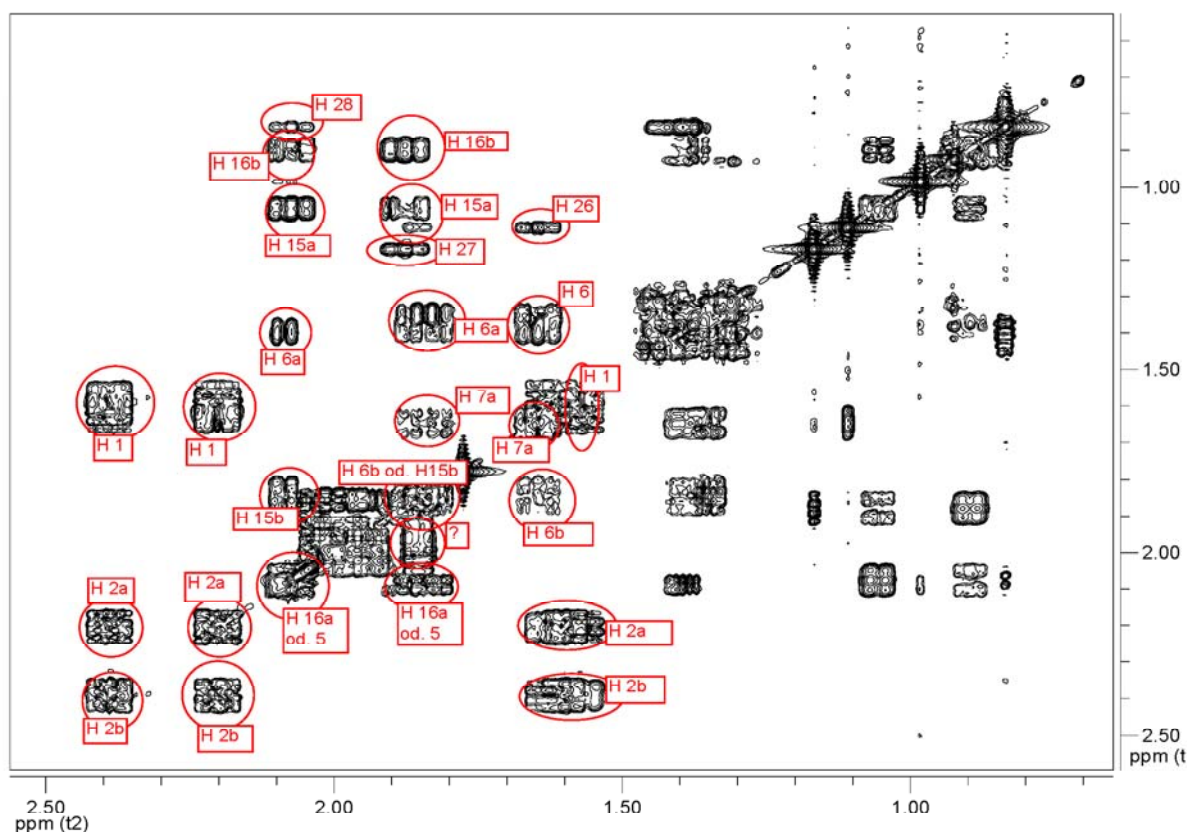


Abbildung 36: Ausschnitt II des H,H-COSY-Spektrum von Verbindung **74**

Die vollständig ausgewerteten NMR-Daten (Tabelle 19) sowie die Daten aus der Röntgenstrukturanalyse (siehe Seite 128) ergaben, dass es sich bei der isolierten Substanz um Robursäure **74** (Abbildung 37) handelte, die von JONG *et al.* (1994) aus *Gentiana macrophylla* isoliert und durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt wurde.⁹⁸ Die Robursäure gehört zu den 3,4-seco-Triterpensäuren und konnte in dieser Arbeit erstmals in einem zur Gattung *Boswellia* gehörenden Harz nachgewiesen werden. Aufgrund der Abwesenheit der gattungsspezifischen Boswelliasäuren stellte sich hier allerdings die Frage, ob die untersuchte Harzprobe von *Boswellia socotrana* tatsächlich der Gattung *Boswellia* zugeordnet werden kann.

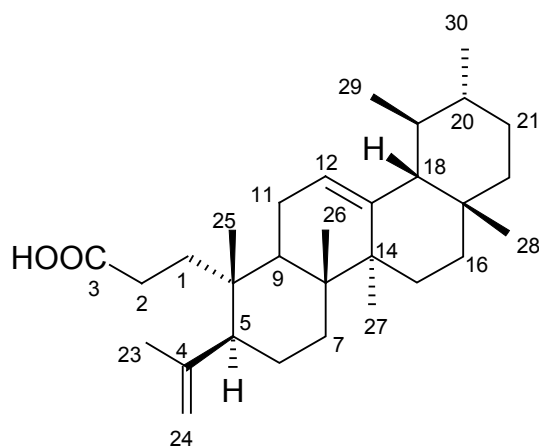


Abbildung 37: Struktur von Robursäure 74

Tabelle 19: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für Robursäure 74

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	36.10	1.61	?	2 α , 2 β	25	2 α , 2 β	2 α , 2 β	
2	29.82	2.40	2.20	1		1	1	1 α , 5, 9
3	175.94			2 α , 2 β	1 α			
4	149.48			5, 23, 24				
5	51.93	2.08		6	7, 24, 25	6	6 od. 9	2 β , 7 α , 9, 23
6	26.37	1.40	1.85	5, 7		7	5, 7	
7	33.40	1.64	1.34	6	5, 26	6, 26	6	
8	44.46			7, 9	27			
9	39.60	1.86		11	1, 12, 25, 26		11	
10	40.80			1, 25	2			
11	25.33	1.93	2.04	12			9, 12	
12	126.47	5.21		11	18	11, 18	11	11 β , 18, 29
13	141.41			18	11, 15, 27			
14	44.46			27	7, 9, 12			
15	28.34	1.06	1.88	16	27	16, 27	16	
16	29.76	2.07	0.90	15	22, 28	15, 28	15	15 α , 15 β , 19, 27
17	35.52			16, 21, 28				
18	61.11		1.37		12, 16, 22, 28		28	
19	41.55	1.38		18				
20	41.43		0.92					
21	32.94	1.41	1.31	22	30			
22	43.26	1.44	1.32		28			
23	24.99	1.77			5, 24	24	24	
24	114.95	4.88/4.72			5, 23	5, 23	23	5, 6 α , 23, 25
25	21.23	0.99			5	5		1 α , 6 β , 23
26	18.52	1.11			7, 9	7		6 β , 25
27	24.65	1.17			15	15		7 α , 9, 16 α , 19
28	30.26	0.84			16	16		15 β
29	19.00	0.84					18	
30	22.65	0.92			21			

3.3.2 4(23)-Dihydro-Robursäure **18**

Verbindung **18** konnte ebenfalls aus der Fraktion *Bsoc* II isoliert werden und fiel als farbloser Feststoff an. Die Substanzen aus dieser Fraktion waren nicht durch Dünnschichtchromatographie zu trennen, da alle ein ähnliches Lauf- und Anfärbeverhalten zeigten. Der R_f -Wert betrug 0.61 auf Kieselgel-DC-Platten (Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure). Die Anfärbung mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und anschließendem Erhitzen zeigte eine tief violette Färbung. Selbst auf RP-Phase waren die verschiedenen Substanzen aus Fraktion II schwierig zu trennen, so dass die Verbindungen **18** ($R_t = 37.8$ min) und **19** ($R_t = 36.9$ min) beispielsweise nicht basislinien-getrennt werden konnten (Abbildung 33) und mehrere Trennungen für die Aufreinigung notwendig waren.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum, welches in Aceton- d_6 aufgenommen wurde, fanden sich 29 Kohlenstoffatome. Auffällig war das Fehlen des Signals bei 175.9 ppm, welches aber im HMBC sichtbar war. Aufgrund der chemischen Verschiebung konnte es einer Carboxylgruppe (C-3) zugeordnet werden. Charakteristische Signale im tiefen Feld waren weiterhin die Kohlenstoffatome bei 141.4 ppm (C-13) und 126.7 ppm (C-12), die einer C=C-Doppelbindung mit vinylischem Proton entsprachen. Die übrigen Signale lagen in einem Bereich von 61.1 bis 18.6 ppm. Aus den DEPT-Spektren ließen sich 6 quartäre Kohlenstoffatome, 7 Methingruppen, 9 Methylengruppen und 8 Methylgruppen ermitteln. Aus der Auswertung von HMBC- und H,H-COSY-Spektren ergaben sich eine Isopropylgruppe aus C-4, C-23 und C-24, welche an C-5 positioniert war. Aus den beiden Spektren war auch ersichtlich, dass die chemische Verschiebung der Protonen H-1 und H-2 identisch sein mussten, da im HMBC-Spektrum die gleichen Korrelationen für verschiedene C-Atome (C-1 und C-2) zu finden waren und im H,H-COSY-Spektrum nur ein Kreuzsignal zu sehen war (Abbildung 38).

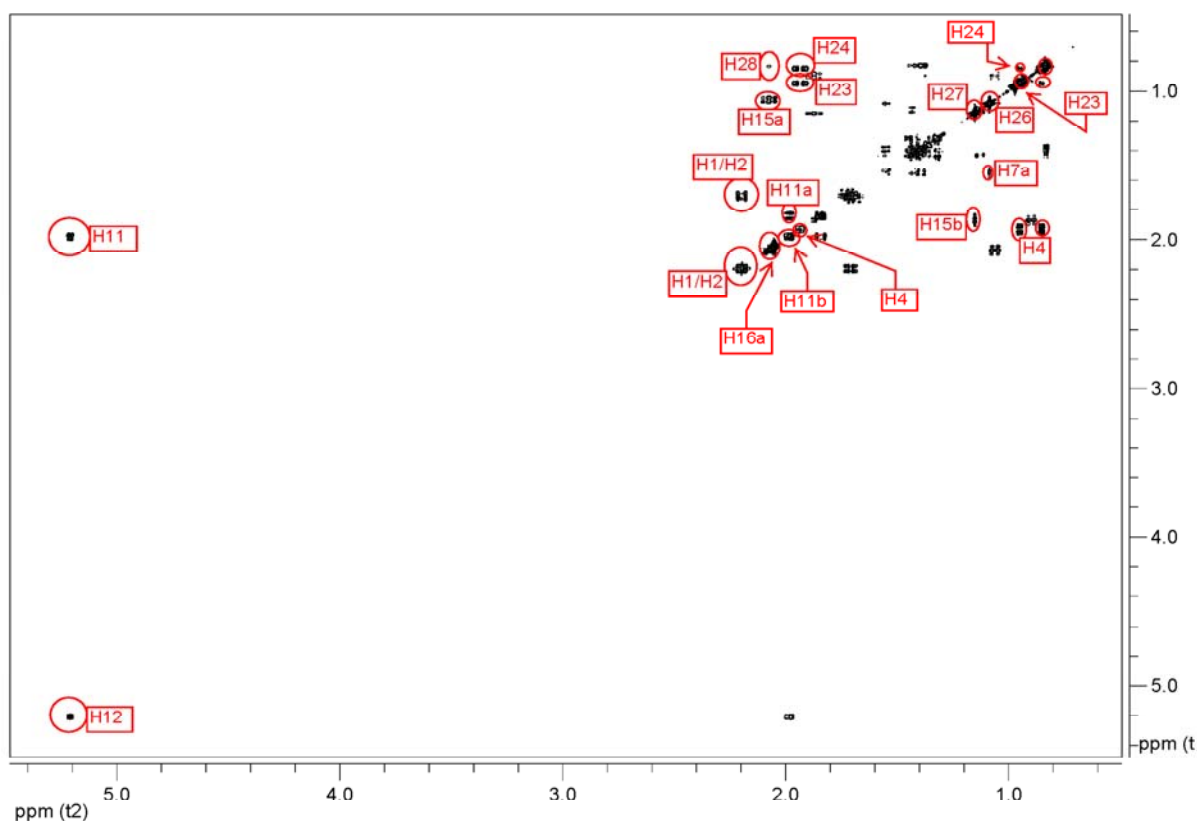


Abbildung 38: H,H-COSY-Spektrum von Verbindung **18**

Die vollständige Auswertung der 1D- und 2D-NMR-Spektren (Tabelle 20), sowie ein Vergleich mit den chemischen Verschiebungen der Robursäure **74** zeigte, dass es sich bei Substanz **18** um die von FATTORUSSO *et al.* (1983) aus *Boswellia carteri* isolierte 4(23)-Dihydro-Robursäure handelte (Abbildung 39).³⁸

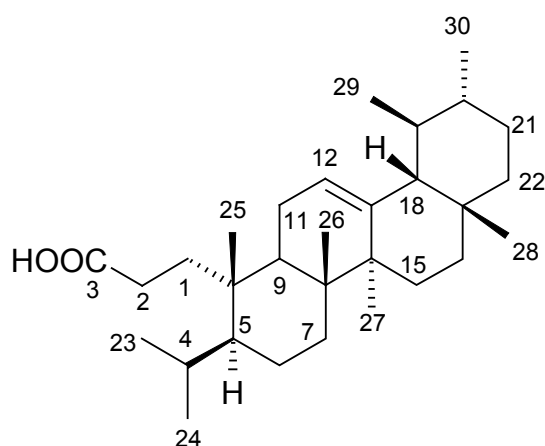


Abbildung 39: Struktur von 4(23)-Dihydro-Robursäure **18**

Tabelle 20: ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von Verbindung 4(23)-Dihydro-Robursäure **18**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	35.04	1.71	2.20	2 β	25	2 α		2 β , 5, 11 α
2	29.82	2.20	1.71	1 α		1 α		1 α , 9, 11 α , 25
3	175.93			2 β	1 α			
4	26.85	1.94		23, 24		23, 24	23, 24	1 α , 2 β , 23, 24
5	49.35	1.14		6 α , 23, 24, 25	7 β	4, 25		
6	19.85	1.44	1.54	7 α , 7 β				
7	33.75	1.54	1.38	6 α	26	6 α , 26		27
8	44.47			9, 26	15 β , 27			
9	39.60	1.85		11 α	1 α , 7 β , 12, 25, 26	11 α		2a, 27
10	41.64			5				
11	25.44	1.85	1.98	9, 12		9, 12		2, 25, 26
12	126.69	5.21		11 α	18	11 α		11 α , 11 β , 18, 29
13	141.35				11 α , 27			
14	44.47			15 β , 27	12, 26			
15	28.31	1.06	1.87	16 α	27	16 α , 16 β , 27		28
16	29.76	2.06	0.89			15 α , 15 β , 28		19, 27, 28
17	35.52			16 α	28			
18	61.11	1.36			12, 28, 22 α			
19	41.54		1.38	20, 29	30			
20	41.42	0.93						
21	32.92	1.40	1.28	20, 22 α , 22 β				
22	43.26	1.45	1.32		28			
23	26.07	0.95		4, 24		4, 24		
24	20.28	0.85		4, 23	5	4, 23		
25	21.01	0.97			1 α , 9			
26	18.56	1.09			7 β , 9	7 α , 9		15 β
27	24.54	1.15			15 α , 15 β	15 β		9, 16 α
28	30.25	0.84			16 α	16 α , 22 α		
29	19.00	0.84				19		
30	22.64	0.93			21 α			

3.3.3 Keto-Robursäure 75

Die Substanz **75** wurde aus Fraktion *Bsoc* III als farbloser Feststoff isoliert. Auf dem DC (R_f -Wert = 0.44, SiO_2 , Pentan/Ether 2:1 und 1% Essigsäure) war die Verbindung durch UV-Löschung bei $\lambda = 254 \text{ nm}$ detektierbar und färbte mit Anisaldehyd/Schwefelsäure hellrosa an.

Die Retentionszeit an der analytischen RP-Säule betrug 20.7 min, wobei auch hier die Substanz bei $\lambda = 254 \text{ nm}$ mittels DAD detektiert werden konnte.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum fanden sich die Resonanzen von 29 Kohlenstoffatomen, die sich mit Hilfe der DEPT-Spektren in 8 quartäre Kohlenstoffatome, 6 Methingruppen, 8 Methylengruppen und 7 Methylgruppen aufteilen ließen. Im DEPT 135-Spektrum wurde das Signal einer Methylengruppe bei 30.4 ppm sichtbar, welches im ^{13}C -NMR-Spektrum durch das verwendete Lösungsmittel (Aceton- d_6) überlagert wurde. Auffallend waren 6 zum tiefen Feld hin verschobene Signale in einem Bereich zwischen 199.8 und 115.4 ppm, die aufgrund ihrer chemischen Verschiebung einer α,β -ungesättigten Carbonylgruppe (C-11), einer Carboxylgruppe (C-3) und zwei C=C-Doppelbindungen zugeordnet werden konnten. Die Doppelbindungen konnten in eine terminale Doppelbindung (C-4, C-24) und in eine trisubstituierte Doppelbindung (C-12, C-13) unterschieden werden. Bestätigt wurde diese Einteilung durch die Signale im ^1H -NMR-Spektrum. So zeigte das vinyliche Proton an C-12 eine Verschiebung von 5.51 ppm, während die beiden vinylichen Protonen des endständigen Olefins an C-24 bei 4.75 und 4.90 ppm in Resonanz traten. Aus dem HMBC-Spektrum wurde deutlich, dass die terminale Doppelbindung mit einer Methylgruppe (C-23) eine Isopropenylgruppe bildete, da Korrelationen von C-4 und C-24 zu H-23 zu beobachten waren. Ebenso zeigt C-23 eine 3J -Kopplung zu den beiden vinylichen H-Atomen an C-24.

Die übrigen Signale waren im ^{13}C -NMR-Spektrum in einem Bereich von 60.7 bis 18.8 ppm sichtbar. Die Position der Ketogruppe konnte zum einen durch die 2J -Kopplung im HMBC von C-11 zu H-9 bestimmt werden. Zum anderen war dies aber auch in der chemischen Verschiebung des Signals des vinylichen Protons H-12 (5.51 ppm) und dessen Aufspaltung als Singulett nachweisbar. Auch H-9 wurde durch die benachbarte Ketogruppe beeinflusst. So zeigte dieses Signal im ^1H -NMR-Spektrum eine Resonanz bei 2.71 ppm als Singulett, und das zugehörige Kohlenstoffatom war durch die Korrelation im HMQC bei 53.9 ppm zu finden. Diese

chemischen Verschiebungen, Multiplizitäten und Kopplungsmuster wurden auch für die Ketogruppe an Position 11 bei der β -AKBA **6** beobachtet.²⁸

Aus der Auswertung der 2D-Experimente wurde deutlich, dass es sich bei der Substanz **75** ebenfalls um eine 3,4-seco-Säure handelte, da Kopplungen von der Carboxylgruppe (C-3) zu H-1 und H-2 im HMBC-Spektrum beobachtet werden konnten. Bei Säuren, in denen der A-Ring geschlossen ist, trat üblicherweise eine Korrelation von der Carboxylgruppe (C-24) zu H-5 und H-23 auf (z. B. Tabelle 18, Seite 72). Wie schon bei der Robursäure **74** beobachtet wurde, ist die endständige Doppelbindung ebenfalls mit C-5 verknüpft, wie entsprechende Kopplungen im HMBC- und NOESY-Spektrum belegten (Tabelle 21).

Eine Literaturrecherche ergab keine Übereinstimmung der Struktur von Verbindung **3** mit bekannten Substanzen. Daher handelte es sich bei der Substanz um einen literaturunbekannten Naturstoff, dem der Name Keto-Robursäure (Abbildung 40) gegeben wurde.

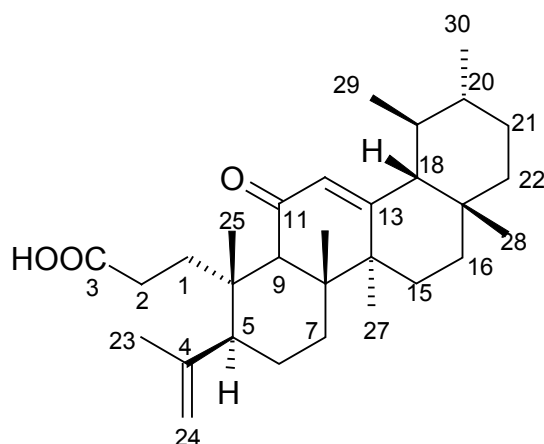


Abbildung 40: Struktur von Keto-Robursäure **75**

Tabelle 21: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für Keto-Robursäure **75**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	36.51	1.69	2.63	2 α	5, 25	2 α , 2 β	2 α , 2 β	2a, 2b, 25
2	30.38	2.08	2.36			1 α , 1 β	1 β	1a, 1b, 9
3	175.99			2 α , 2 β	1 α , 1 β			
4	148.85			5, 23				
5	52.01	2.12			1 β , 23, 24, 25	6 α , 6 β		
6	32.58	1.47	1.37					
7	33.13	1.84	1.41		9, 26	6 α , 6 β		
8	45.92			9, 26	6 β			

Fortsetzung Tabelle 21

9	53.97	2.71			1 α , 12, 25, 26			2a, 2b, 27
10	46.49			25	6 β			
11	199.84			9				
12	132.04	5.51			18	18		18, 29
13	165.97			18	15 α , 27			
14	40.43							
15	29.01	1.28	1.93		27	16 α , 16 β		28
16	29.19	2.18	1.04			15 α , 16 β	15 β	15b, 27
17	35.62			16 α , 18, 28	15 α , 27			
18	60.71	1.61					19	
19	40.89		1.49			18	18, 29	16a
20	41.08	0.96		29	30			
21	25.79	1.43	1.90			20		
22	42.67	1.52	1.38		28			
23	25.03	1.79			24			
24	115.37	4.75	4.90		5, 23	23	23	5, 23
25	21.08	1.20			1 β , 5, 9			
26	19.96	1.24			7 β , 9			
27	21.96	1.42			15 α , 15 β			
28	30.25	0.87						
29	18.80	0.84			18			
30	22.37	0.97						

3.3.4 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure 76

Die Verbindung **76** wurde ebenfalls aus Fraktion *Bsoc* III als farbloser Feststoff isoliert und zeigte das gleiche Lauf- und Anfärbeverhalten auf der DC-Platte wie die Keto-Robursäure **75**. Die Retentionszeit betrug 22.4 min und der Peak war ebenfalls bei $\lambda = 254$ nm detektierbar (Abbildung 33).

Aus dem Molekülionenpeak (m/z 456) konnte die Summenformel von $C_{30}H_{48}O_3$ berechnet werden. Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren 28 Resonanzen von Kohlenstoffatomen zu beobachten, die sich durch die DEPT-Spektren in 6 quartäre Kohlenstoffatome, 7 CH-Gruppen, 7 CH_2 -Gruppen und 8 CH_3 -Gruppen unterscheiden ließen. Wie auch bei der Keto-Robursäure **75** fand sich im DEPT 135-Spektrum eine zusätzliche Methylengruppe bei 30.4 ppm, welche im ^{13}C -NMR-Spektrum durch das Lösungsmittel (Aceton- d_6) überlagert war. Aus dem HMBC-Spektrum wurde deutlich, dass die quartären Kohlenstoffatome C-10 und C-14 ebenfalls überlagert sein mussten, da sie die gleiche Resonanz bei 46.5 ppm zeigten. Wie aus einem Vergleich der Resonanzen der Verbindung **76** mit denen der

Keto-Robursäure **75** zu entnehmen war, fehlte die Isopropenylgruppe in Verbindung **76** und war durch eine Isopropylgruppe ersetzt (vergleiche Tabelle 21 und 22). Die vollständige Auswertung der 1D- und 2D-NMR-Daten ergab für Verbindung **76** die in Abbildung 41 dargestellte Struktur. Aufgrund der Ähnlichkeit der Struktur mit der Keto-Robursäure **75** wurde der bisher literaturunbekannten Verbindung **76** der Name 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure gegeben.

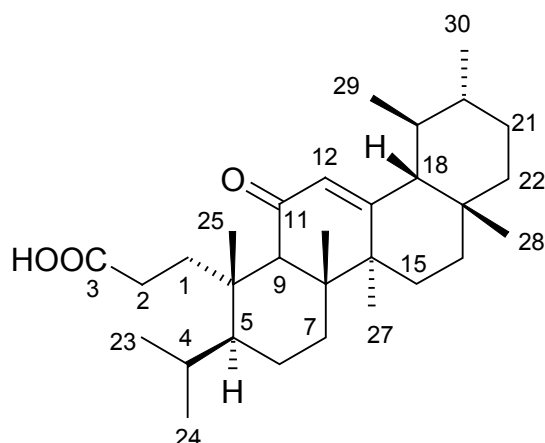


Abbildung 41: Struktur der 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure **76**

Tabelle 22: ^1H - und ^{13}C -NMR-Zuordnungen für 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure **76**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	35.34	1.77	2.75			2a, 2 β		2a, 2b, 4, 5
2	30.37	2.11	2.22	1 β		1 α , 1 β	1 α , 1 β	1a, 1b
3	176.14			2 α , 2 β	1 α , 1 β			
4	26.08	1.99		5, 23, 24		23, 24	23, 24	1 β , 23, 24
5	49.16	1.14		4, 6 α	1 α , 1 β , 9			4, 9
6	19.19	1.47	1.12					
7	32.59	1.37	1.47					
8	45.94			7 β	6 α , 27			
9	53.81	2.73			12, 25			1a, 5, 27
10	46.56			9				
11	199.99			9				
12	132.27	5.50			18	9, 18		18, 19
13	165.54			18	15 β , 27			
14	46.56			27	26			
15	28.99	1.28	1.93	16 α , 18, 28	27	16 α , 16 β , 27	16 α	28
16	29.21	2.19	1.05	15 β	18, 28	15 β	15 α , 15 β	15a, 15b, 27
17	35.65			16 α , 18, 28				
18	60.73	1.60		19	12, 29	19, 28	19	12, 29

Fortsetzung Tabelle 22

19	40.89		1.48	20, 29			18, 29	
20	41.08	0.96						16b, 27
21	33.48	1.75	1.45					
22	42.68	1.53	1.39		28			
23	26.00	0.95		4	5, 24	4	4, 24	4
24	20.25	0.86				4	4	4
25	20.74	1.22						
26	19.92	1.21						
27	21.83	1.40						
28	30.24	0.86				16 β		
29	18.79	0.83					19	12, 18, 27
30	22.36	0.99						

3.3.5 4(23)-Dihydro-Nyctantinsäure 19

Substanz **19** wurde aus der Fraktion *Bsoc* II als farbloser Feststoff isoliert. Die Trennung der Verbindung **19** ($R_t = 36.9$ min) gestaltete sich schwierig, da die 4(23)-Dihydro-Robursäure **18** nicht in einem Schritt völlig abgetrennt werden konnte. Somit waren mehrere Aufreinigungsschritte notwendig.

Aus der Hochauflösung des Molekülionenpeaks (m/z 442) ergab sich eine Masse von 442.3780, aus der sich eine Summenformel von $C_{30}H_{50}O_2$ berechnete. Im ^{13}C -NMR-Spektrum waren die Resonanzen von 29 Kohlenstoffatomen zu sehen, die durch die DEPT-Spektren in 6 quartäre Kohlenstoffatome, 5 Methingruppen, 10 Methylengruppen und 8 Methylgruppen eingeteilt wurden. Auffällig waren die Signale im tiefen Feld bei 176.1 ppm, 146.8 ppm und 123.9 ppm. Ersteres wurde einer Carboxylgruppe (C-3) zugeordnet, während die beiden anderen Signale wieder einer typischen C=C-Doppelbindung mit vinylischem Proton entsprachen. Eine Isopropylgruppe aus C-4, C-23 und C-24, welche an C-5 positioniert war, ergab sich, wie schon bei der 4(23)-Dihydro-Robursäure, aus der Auswertung des HMBC- und H,H-COSY-Spektrums. Ebenso war bei Verbindung **19** zu beobachten, dass sich die Protonen von C-1 und C-2 überlagerten (Tabelle 23). Durch die Auswertung der Literaturrecherche im Zusammenhang mit den anderen isolierten 3,4-*seco*-Triterpensäuren lag die Hypothese nahe, dass es sich bei der Substanz **19** um die von BAAS *et al.* aus *Hoya naumanii* (Familie *Asclepiadaceae*) isolierte 4(23)-Dihydro-Nyctantinsäure handelte. Die vollständige Auswertung der 1D- und 2D-NMR-Daten, die in Tabelle 23 zusammengefasst ist, bestätigte diese Annahme. Die Struktur der 4(23)-Dihydronyctantinsäure **19** ist in Abbildung 42 dargestellt.

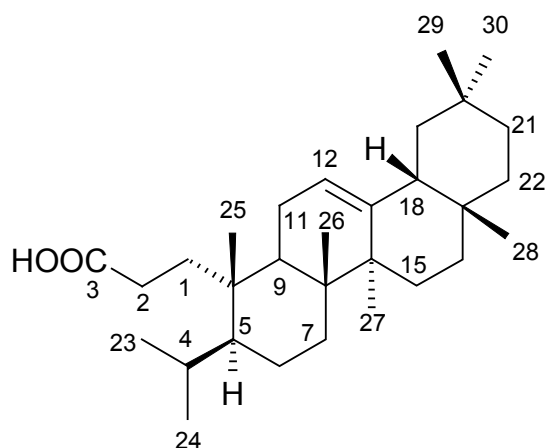


Abbildung 42: Struktur von 4(23)-Dihydronyctantinsäure **19**

Tabelle 23: ^1H -und ^{13}C -NMR-Daten von Verbindung 4(23)-Dihydronyctantinsäure **19**

Atom-Nr.	^{13}C δ [ppm]	^1H δ [ppm]		HMBC (J = 2)	HMBC (J = 3)	COSY	HMQC-COSY	NOESY
		α	β					
1	34.96	1.69	2.19	2 α , 2 β	9, 23	2 α , 2 β		23
2	29.68	2.19	1.69			1 α , 1 β		4, 11 α
3	176.06			1 β , 2 α				
4	26.82	1.94		23, 24		23, 24	5, 23, 24	5, 23
5	49.34	1.12		4	23, 24	6 α		
6	19.88	1.44	1.12	7 α	4			
7	33.43	1.37	1.52	6 α	26			
8	41.46			1 β , 9, 26				
9	39.64	1.86		11 β	12, 25, 26			1 α , 27
10	41.46			9, 25	27			
11	25.52	1.88	2.00	9		12	12	
12	132.90	5.24		11 α , 11 β		11 α , 11 β	11 α , 11 β	
13	146.77			11 α , 11 β	19 α , 27			
14	44.07			27	7 β , 12, 26			
15	27.87	1.05	1.81	16 α	27	16 α , 16 β , 27		
16	28.64	2.07	0.85		18, 28	15 α , 15 β , 28	15 α , 15 β	28
17	34.24			16 α , 28				
18	49.22		2.01	19 β	12, 22 β	19 α , 19 β	19	19, 29
19	48.56	1.06	1.75	18	30	18	18	27
20	32.66			19, 29				
21	36.36	1.42	1.11	22 α , 22 β	29	22 α , 22 β	22 α , 22 β	
22	38.68	1.24	1.48		16 α , 28	21 α , 21 β	21 α , 21 β	
23	26.07	0.95		4	24	4		
24	20.24	0.85				4	4, 23	
25	20.83	0.96		1 α	5, 9			
26	18.39	1.05			7 α , 9	7 β		11 β
27	27.22	1.20				15 β		9, 16 α
28	29.83	0.87		16 α , 22 α , 22 β				
29	24.97	0.90			19 α , 19 β , 30			
30	34.63	0.89			19 α , 19 β , 29			

C Pharmakologische Ergebnisse

1 Aktivitätsmessungen an Cathepsin G

1.1 Messung der Rohsäurefraktionen von *Boswellia Spezies*

In Targetfishing-Experimenten wurde Cathepsin G als Target für Boswelliasäuren identifiziert.⁷⁹ Daher wurden hier ebenfalls Tests auf Hemmung dieses Enzyms durchgeführt. Bestimmt wurde die Restaktivität von Cathepsin G (siehe Diagramm 1) bei Zusatz einzelner Fraktionen verschiedener Rohsäuren (jeweils 10 µg/ml und 100 µg/ml)

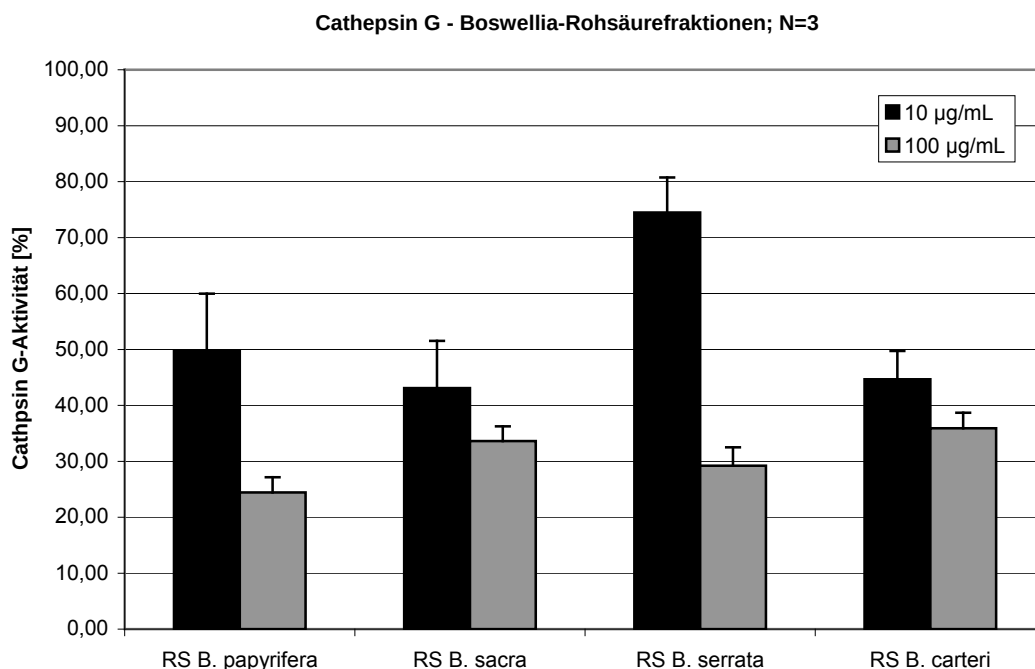


Diagramm 1: Messung der Restaktivität des Cathepsin G bei Zusatz verschiedener *Boswellia* – Rohsäurefraktionen

Die Messungen ergaben ein unterschiedliches Bild. Bei geringer Konzentration (10 µg/ml) zeigten die Rohsäurefraktionen von *Boswellia sacra* und *Boswellia carteri* die größte Hemmung, dicht gefolgt von *Boswellia papyrifera*. *Boswellia serrata*, welche gerade wegen ihrer entzündungshemmenden Eigenschaften in der indischen Volksmedizin „Ayurveda“ verwendet wird, hatte die geringste Hemmwirkung und damit die größte Restaktivität. Bei Verwendung von höheren Konzentrationen an Rohsäure (100 µg/ml) veränderte sich das Bild. So ist die Rohsäurefraktion von *Boswellia papyrifera* am effektivsten, gefolgt von *Boswellia serrata*, während *Boswellia sacra* und *Boswellia carteri* die Schlusslichter bilden. Aus diesen

Ergebnissen lässt sich erkennen, dass nicht eine Spezies generell bevorzugt werden kann, sondern dass die Auswahl auch unter Beachtung der Konzentrationsabhängigkeit erfolgen muss.

1.2 Messung einzelner Inhaltsstoffe aus *Boswellia* Spezies

Die Restaktivität von Cathepsin G bei Zusatz einzelner Substanzen wurde ebenfalls bestimmt (siehe Diagramm 2). Die Konzentration variierte dabei und ist auf die jeweilige Verbindung bezogen. Als Vergleich wurde die Restaktivität von β -ABA **2** herangezogen. Die Bestimmung der Restaktivität von allen Reinsubstanzen, die in dieser Arbeit isoliert wurden, steht bis dato noch aus.

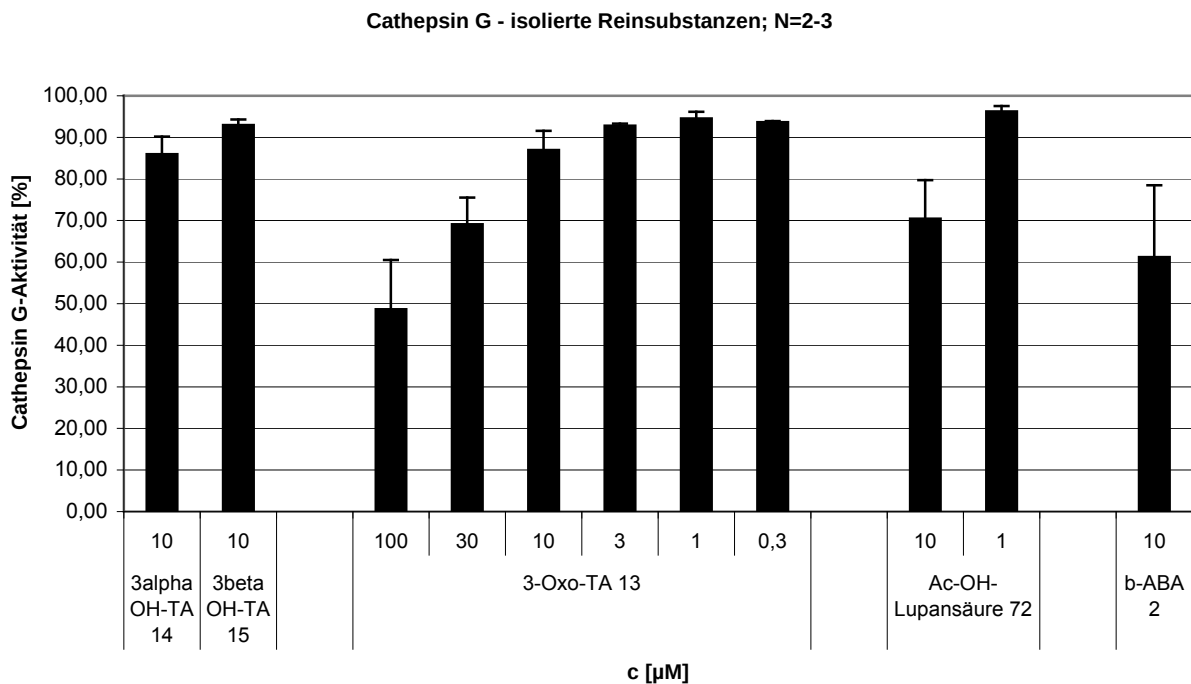


Diagramm 2: Messung der Restaktivität des Cathepsin G bei Zusatz verschiedener Reinsubstanzen

Aus den im Diagramm 2 dargestellten Werten ist zu erkennen, dass nur die 3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **72** das Cathepsin G in vergleichbarer Weise wie die β -ABA **2** hemmt. Wird allerdings die Konzentration der 3-Oxo-Tirucallensäure **13** erhöht, sinkt auch gleichzeitig die Restaktivität des Cathepsin G.

2 Aktivitätsmessungen an Cyclooxygenase 1

Die Aktivitätsmessungen an Cyclooxygenase 1 wurden an intakten Zellen und im zellfreien System vorgenommen. Gerade in zellfreien Systemen ist die Hemmwirkung oft schlechter als bei intakten Zellen, so dass bei der Bestimmung der Restaktivität zwei verschiedene Konzentrationen bezogen auf die jeweilige Reinsubstanz verwendet wurden (siehe Diagramm 3).

Als Gründe für die schlechtere Hemmwirkung von Substanzen in zellfreien Systemen werden im wesentlichen zwei mögliche Ursachen verantwortlich gemacht. Zum einen werden komplexere Wirkungsmechanismen angenommen und zum anderen könnte eine Anreicherung der Reinsubstanzen in den Membranen der intakten Zelle stattfinden, so dass letztlich höhere Konzentration an Inhibitor vorliegen und diese somit zu einer verbesserten Hemmung führen.

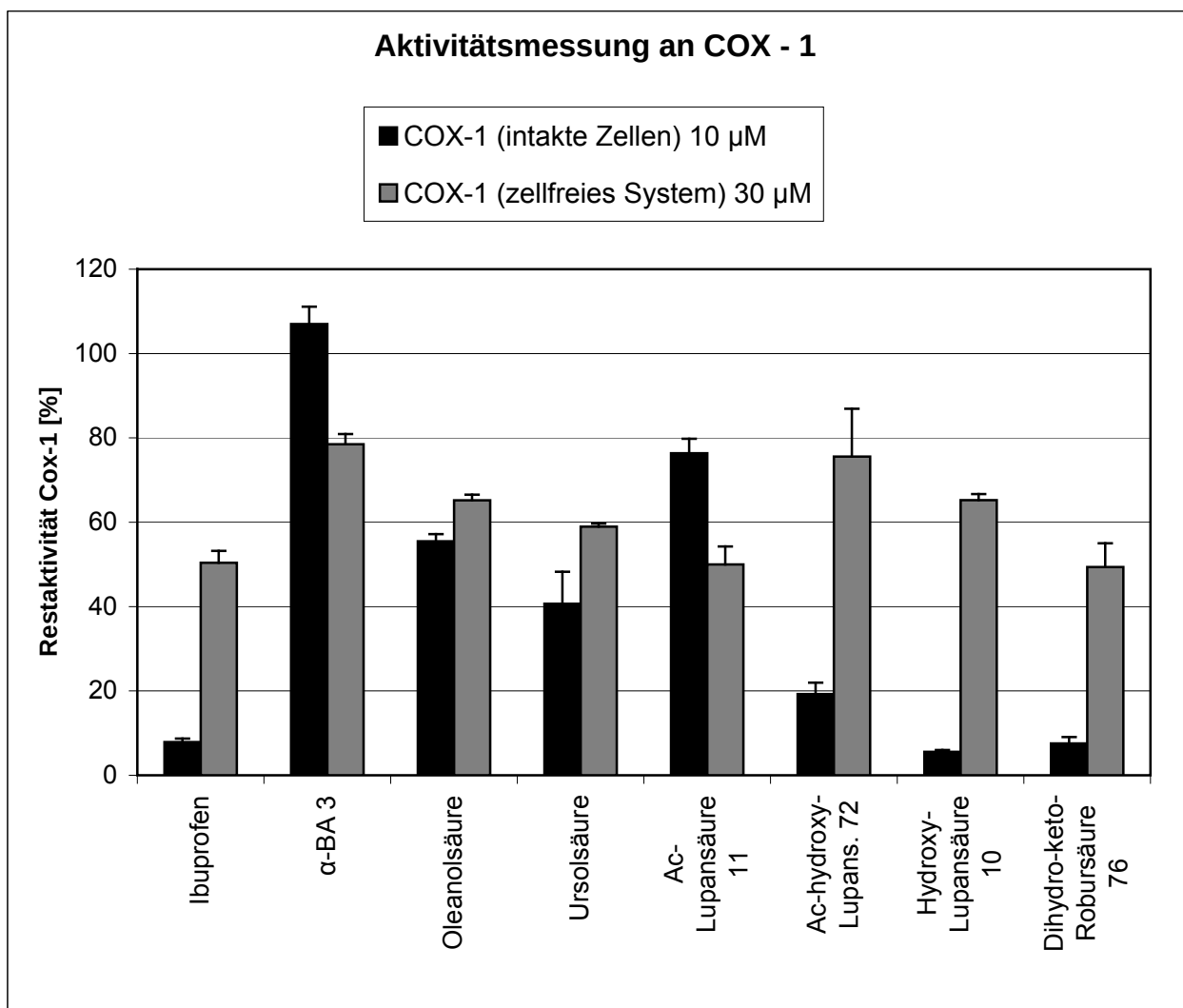


Diagramm 3: Messung der Restaktivität der Cyclooxygenase 1 bei Zusatz verschiedener Reinsubstanzen

Zum Vergleich der Restaktivitäten wurde in dieser Testreihe Ibuprofen, ein bekannter Inhibitor für Cyclooxygenase 1 (siehe Abschnitt Teil A 1.3), eingesetzt. Wie schon bei den Aktivitätsmessungen an Cathepsin G steht auch bei den Untersuchungen an Cyclooxygenase 1 die vollständige Testung aller Reinsubstanzen noch aus.

Wie aus den ermittelten Restaktivitäten, welche in Diagramm 3 dargestellt sind, ersichtlich ist, zeigt die 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure **76** eine vergleichbare Hemmung der Cyclooxygenase 1 wie Ibuprofen in entsprechender Vergleichskonzentration. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt die Untersuchung der Hydroxy-Lupansäure **10**. Die 3 α -O-Acetyl-Lupansäure **11** zeigt vergleichbare Hemmungen allerdings nur im zellfreien System.

Damit wurden aus dem Weihrauchharz drei Substanzen isoliert, die eine ähnlich effektive Wirkung auf die Cyclooxygenase 1 wie Ibuprofen zeigen. Ob noch andere Substanzen, die in dieser Arbeit isoliert wurden, effektive Inhibitoren sind, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

3 Aktivitätsmessungen an p12-Lipoxygenase

Die Aktivitätsmessungen an p12-Lipoxygenase wurden an intakten Zellen und im zellfreien System durchgeführt. Wieder wurden unterschiedliche Konzentrationen bezogen auf die verschiedenen Reinsubstanzen verwendet, um eine eindeutige Inhibierung im jeweiligen Testsystem zu erreichen. Zum Vergleich der Restaktivitäten wurde in dieser Testreihe CDC, ein bekannter p12-Lipoxygenase-Inhibitor,⁹⁹ eingesetzt. Auch hier steht bei den Untersuchungen an der p12-Lipoxygenase die vollständige Bestimmung der Restaktivität aller Reinsubstanzen noch aus.

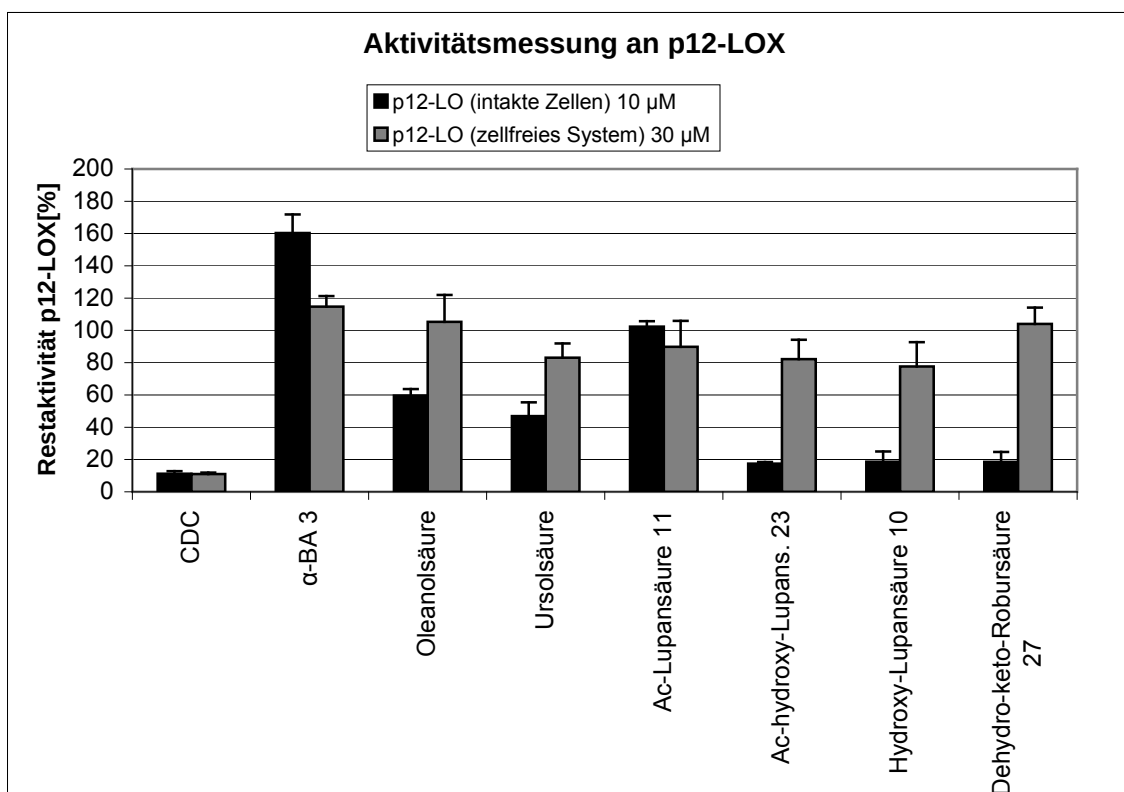


Diagramm 4: Messung der Restaktivität der p12-Lipoxygenase bei Zusatz verschiedener Reinsubstanzen

Aus den in Diagramm 4 dargestellten Werten lässt sich erkennen, dass die 3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **23**, die Lupansäure **10** und die 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure **27** die p-12-LOX in ähnlicher Weise zu hemmen vermögen wie CDC. Allerdings gilt das nur für die Untersuchungen bei intakten Zellen, denn im zellfreien System weichen die Werte stark ab und eine Hemmung ist nicht zu beobachten. Somit wurden auch für die Hemmung der p12-Lipoxygenase Substanzen im Weihrauchharz gefunden, die zum Teil ähnlich effektiv sind wie die Vergleichssubstanz CDC.

4 Aktivitätsmessungen an 5-Lipoxygenase

Die Aktivitätsmessungen an 5-Lipoxygenase wurden ebenfalls wie die vorherigen Messungen an intakten Zellen und im zellfreien System durchgeführt. Die Restaktivität des Enzyms wurde bei Konzentrationen von 1 μM und 10 μM bezogen auf die jeweilige Reinsubstanz bestimmt. Zum Vergleich der Restaktivitäten wurde in dieser Testreihe β -AKBA **6**, ein vermeintlich spezifischer 5-Lipoxygenase-Inhibitor, eingesetzt. Wie schon bei den Aktivitätsmessungen an Cathepsin G, Cyclooxygenase 1 und p12-Lipoxygenase steht bei den Untersuchungen an 5-Lipoxygenase die vollständige Bestimmung der Restaktivität aller Reinsubstanzen noch aus.

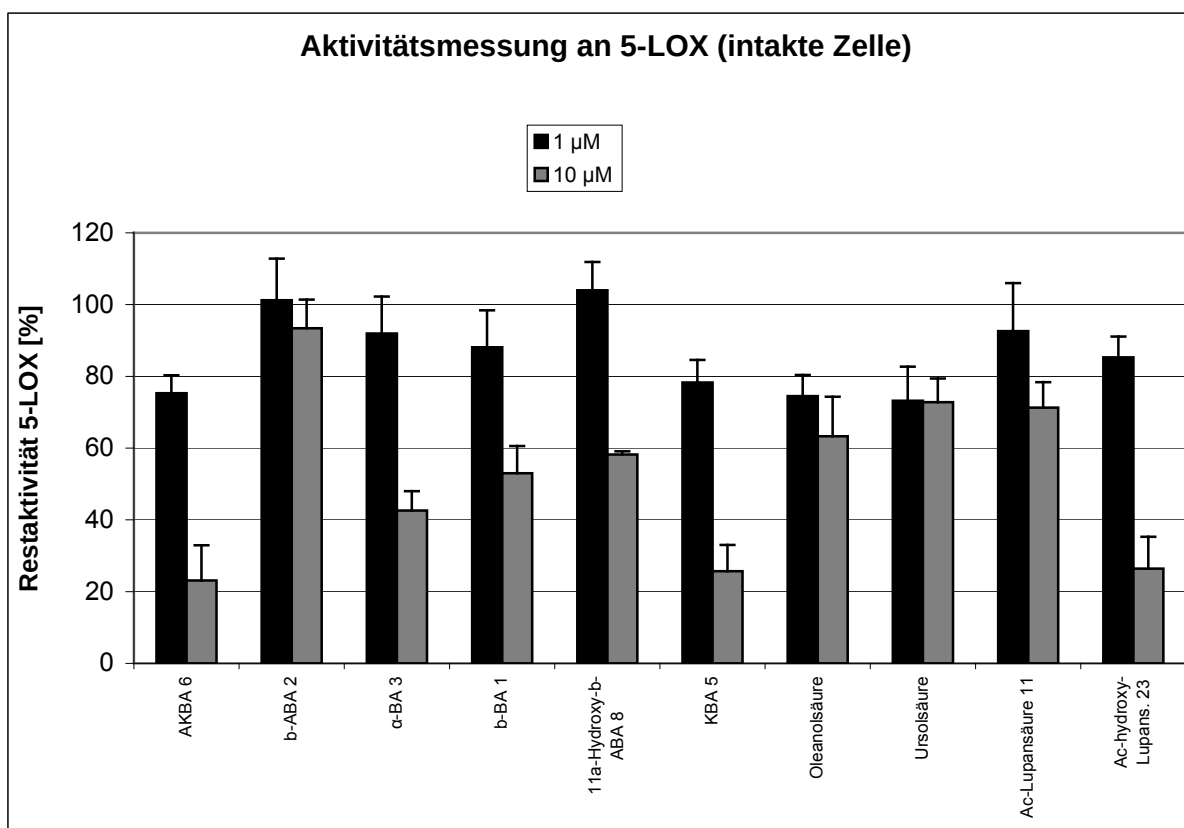


Diagramm 5: Messung der Restaktivität der 5-Lipoxygenase bei Zusatz verschiedener Reinsubstanzen

In Diagramm 5 sind die bestimmten Restaktivitäten bei intakten Zellen dargestellt. Bei einer Konzentration von 1 μM der jeweiligen Verbindung ist die Hemmung der β -AKBA **6** tatsächlich die effektivste. Allerdings lagen die Werte der β -KBA **5**, der Oleanolsäure und der Ursolsäure in einem ähnlichen Bereich. Wird die Konzentration auf 10 μM bezogen auf die entsprechenden Substanzen erhöht, zeigte sich ein

verändertes Bild. Bei Zusatz von β -KBA **5** und 3α -O-Acetyl- 28β -hydroxy-Lupansäure **23** zeigte das Enzym eine ähnliche Restaktivität wie bei Verwendung des spezifischen 5-Lipoxygenase-Inhibitors β -AKBA **6**.

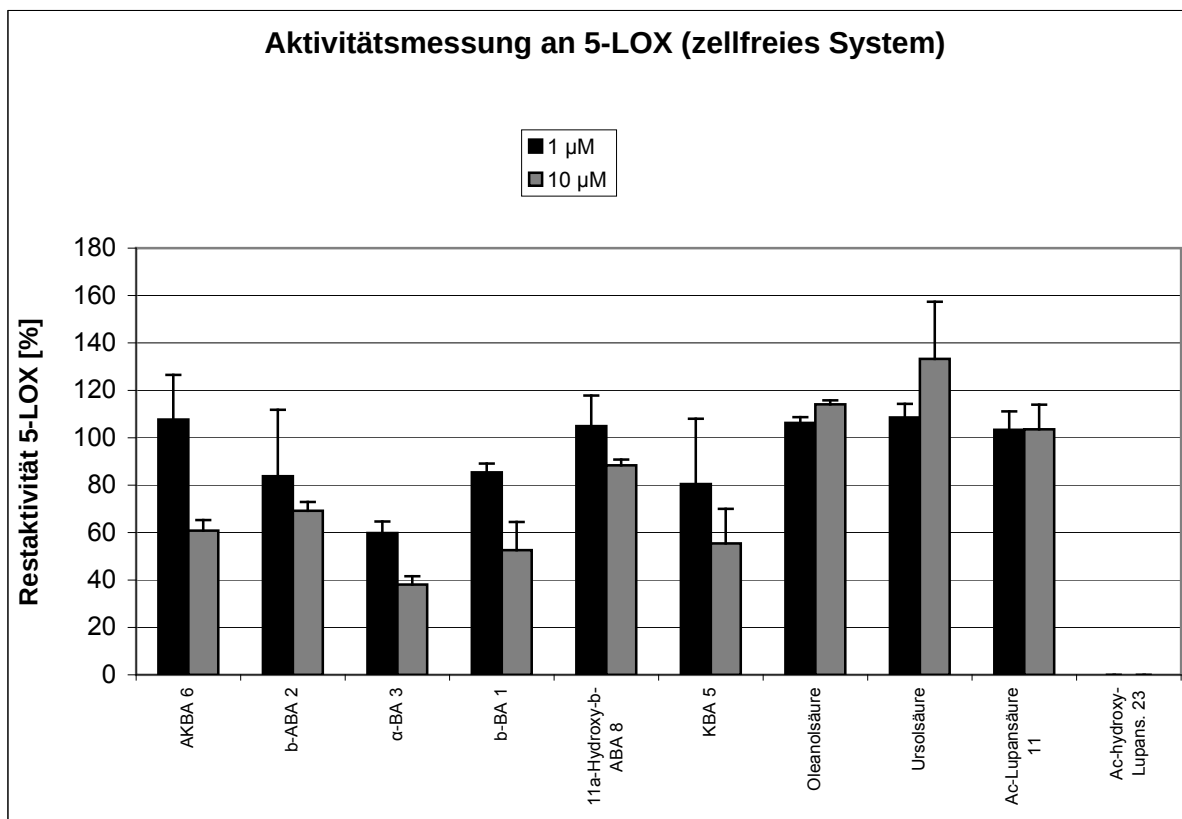


Diagramm 6: Messung der Restaktivität verschiedener Reinsubstanzen an 5-Lipoxygenase

Bei den Messungen im zellfreien System, welche in Diagramm 6 gezeigt sind, konnten ähnliche Ergebnisse ermittelt werden. Bei einer Konzentration von $1 \mu\text{M}$ hemmten die literaturbekannten Boswelliasäuren die 5-Lipoxygenase in folgender Reihenfolge am effektivsten: α -BA **3**, β -KBA **5**, β -ABA **2**, β -BA **1** und β -AKBA **6**. Eine ähnliche Reihenfolge konnte für die Hemmung bei höherer Konzentration ($10 \mu\text{M}$) festgestellt werden. Die stärkste Hemmung und damit geringste Restaktivität von 5-Lipoxygenase zeigte die α -BA **3**, gefolgt von β -BA **1** und β -KBA **5**. Lediglich die β -ABA **2** zeigte in diesem Fall eine schlechtere Hemmung als die β -AKBA **6** auf die 5-Lipoxygenase. Ob die 3α -O-Acetyl- 28β -hydroxy-Lupansäure **23** im zellfreien System genauso wirksam ist wie die β -AKBA **6** müssen weitere Untersuchungen zeigen. Ebenso steht die Testung aller weiteren in dieser Arbeit isolierten Reinsubstanzen bis dato noch aus.

D Zusammenfassung und Ausblick

Zielsetzungen dieser Arbeit waren die Isolierung und Identifizierung von noch unbekannten Substanzen aus der Säurefraktion unterschiedlicher botanischer *Boswellia*-Arten (*Boswellia Spezies*), die Gewinnung eines Überblicks, welche Säuren in diesen Spezies vorkommen und die Testung der identifizierten Verbindungen an bekannten sowie neuen Targets auf ihre entzündungshemmende Wirkung.

In Teil B dieser Arbeit wurde die Isolierung und Identifizierung von bereits bekannten und noch unbekannten Substanzen aus der Säurefraktion verschiedener Weihrauchharze der Gattung *Boswellia* beschrieben. Aus *Boswellia papyrifera* gelang erstmals die Isolierung des Allylalkohols 3α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure **8**. Die Methode wurde dahingehend optimiert, dass zum einen Essigsäure statt TFA und zum anderen ein Hochvauum statt eines Membranpumpenvakuums verwendet wurde. Eine umfassende Strukturaufklärung war dadurch mittels 1D-/2D-NMR-Methoden und Massenspektrometrie möglich, so dass vor allem die noch unbekannte Konfiguration der Hydroxylgruppe an C-11 in der natürlich vorkommenden Verbindung aufgeklärt werden konnte. Aus *Boswellia carteri* konnten die bisher unbekannten Verbindungen 3α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **72** und 3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure **73** isoliert und deren Struktur aufgeklärt werden. Damit wurde eine neue Lupansäure und eine neue Boswelliasäure im Weihrauchharz gefunden. Aus *Boswellia socotrana* wurden ebenfalls zwei bis dato noch unbekannte Verbindungen isoliert und identifiziert. Es handelte sich dabei um Keto-Robursäure **75** und 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure **76**. Weiterhin konnte Robursäure **74**, die aus *Gentiana macrophylla* bekannt ist, zum ersten Mal in einem Harz der Gattung *Boswellia* nachgewiesen werden. Da die Robursäure **74** aus Methanol Kristalle lieferte, die für die Röntgenstrukturanalyse geeignet waren, konnte die aus NMR-Daten abgeleitete Struktur durch Röntgenstrukturanalyse bestätigt werden. Ebenso gelang erstmalig die Isolierung und Strukturaufklärung der 4(23)-Dihydro-Nyctantinsäure **19**, welche aus den Blättern der „Porzellanblume“ *Hoya naumanii* bekannt ist, aus dem Weihrauchharz.

Um einen Überblick über die im Weihrauchharz enthaltenen Säuren zu gewinnen, wurde eine HPLC-Methode entwickelt, die sich durch eine hohe Selektivität und Auflösung auszeichnete und in angemessener Zeit zum Ergebnis führte. Diese

Methode bestand aus einem Lösungsmittel-Gradienten, so dass in 35 min ein Übersichtschromatogramm der entsprechenden Säurefraktion erhalten wurde (siehe Teil E).

Als erste Probe wurde das Weihrauchharz von *Boswellia papyrifera* ausgewählt, welches hauptsächlich im östlichen Teil Afrikas beheimatet ist und unter botanischen Gesichtspunkten mit der indischen Spezies *Boswellia serrata* verwandt sein soll. Das Übersichtschromatogramm von *Boswellia papyrifera* ist in Abbildung 43 dargestellt und zeigt im wesentlichen, dass die untersuchte Probe aus literaturbekannten Inhaltsstoffen besteht.

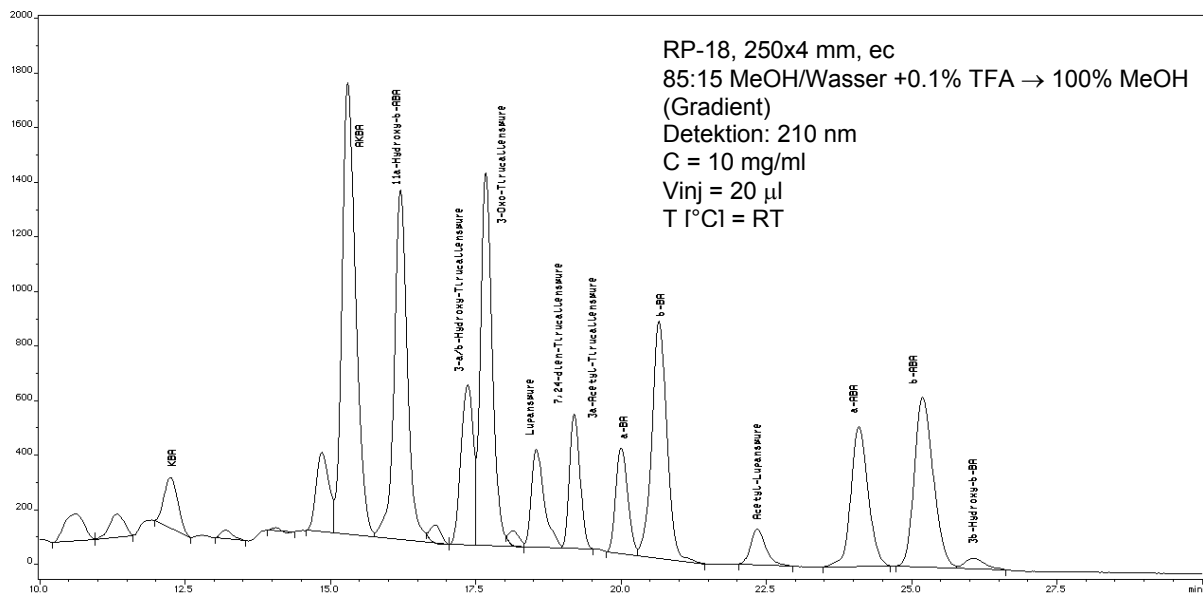


Abbildung 43: Übersichtschromatogramm von *Boswellia papyrifera*

Weiterhin wurde eine Harzprobe von *Boswellia carteri* untersucht, da diese Spezies zu den bevorzugt gehandelten Weihrauchsorten in Afrika gehört und zudem in der Literatur wenig über deren Inhaltsstoffe zu finden war. Durch Koinjektion der bis zum Untersuchungszeitpunkt isolierten und bekannten Substanzen aus *Boswellia papyrifera* konnten einige Übereinstimmungen von Inhaltsstoffen gefunden werden. Weiterhin gelang aus dieser Spezies, wie schon oben erwähnt, die Isolierung zweier bisher unbekannter Verbindungen (Abbildung 44).

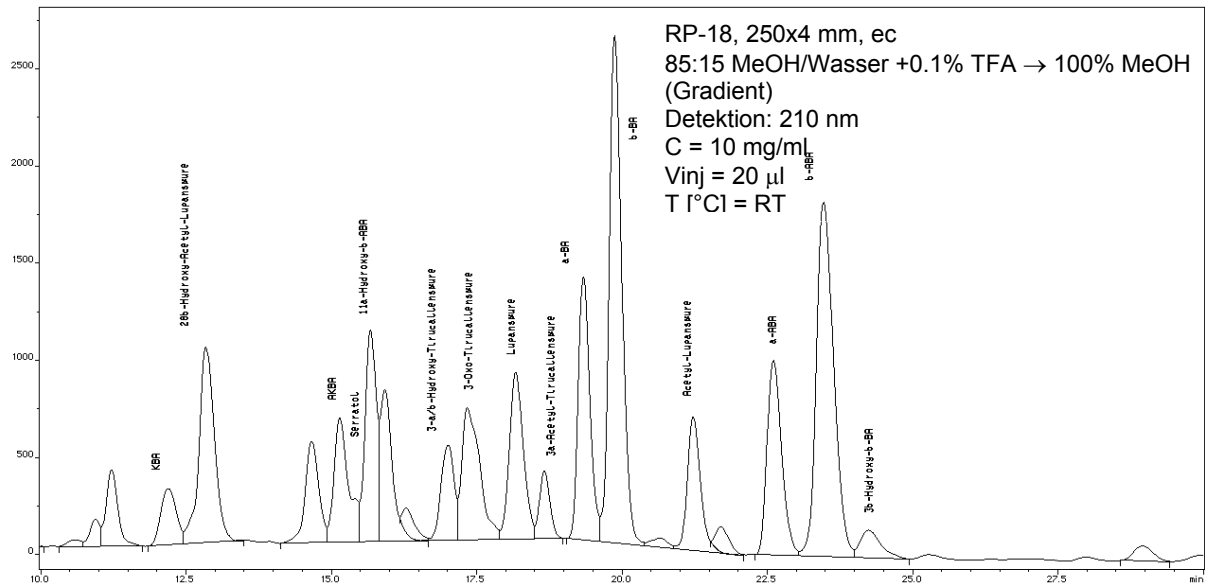


Abbildung 44: Übersichtschromatogramm von *Boswellia carteri*

Die Untersuchung des Harzes von *Boswellia socotrana* war hauptsächlich aus botanischen Gesichtspunkten von Interesse, da diese Spezies nur auf einer kleinen Inselgruppe im nordwestlichen Indischen Ozean zu finden ist. Die gattungsspezifischen Boswelliasäuren konnten in dieser Harzprobe nicht nachgewiesen werden, so dass fraglich ist, ob das Harz dieser Spezies der Gattung *Boswellia* zugeordnet werden kann. Diese Frage kann allerdings durch die Untersuchung einer einzelnen Harzprobe von *Boswellia socotrana* nicht abschließend beurteilt werden. Hierzu sind weitere Analysen von Proben des Harzes notwendig, was durch mangelnde Eindeutigkeit von botanischen Bezeichnungen und Verfügbarkeit dieser seltenen Spezies erschwert wird. Die Säurefraktion hatte einen Anteil von fast 17% bezogen auf den Rohextrakt des Harzes und setzte sich aus den 3,4-seco-Triterpensäuren **18-19** und **74-76** zusammen. Bis auf die literaturbekannte 4(23)-Dihydro-Robursäure **18** konnten ausschließlich bisher im Weihrauchharz unbekannte Substanzen isoliert werden (Abbildung 45).

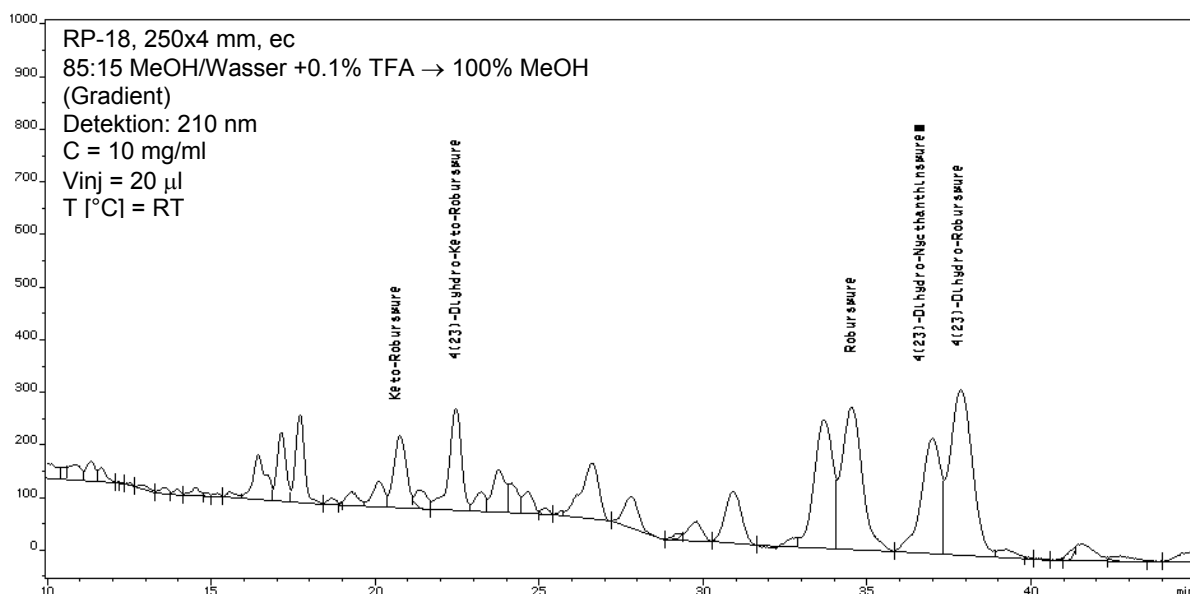


Abbildung 45: Übersichtschromatogramm von *Boswellia socotrana*

In Teil C dieser Arbeit wurden mit den in Teil B isolierten und identifizierten Substanzen Aktivitätsmessungen an Cathepsin G, Cyclooxygenase 1, p12-Lipoxygenase und 5-Lipoxygenase durchgeführt. Die Untersuchungen wurden am Pharmazeutischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen von Mitarbeitern der Arbeitsgruppe WERZ vorgenommen. Bei diesen Analysen stellte sich heraus, dass bisher unbekannte Verbindungen im Weihrauchharz ebenfalls eine Hemmung der Enzyme, welche für die Synthese der Leukotriene und Prostaglandine verantwortlich sind, bewirken. So ist die Restaktivität der 5-Lipoxygenase bei Verwendung der neu gefundenen Lupansäure 3α -O-Acetyl-28 β -Hydroxy-Lupansäure **72** mit derjenigen von β -AKBA **6** vergleichbar, welche bisher als potenteste Boswelliasäure angesehen wurde. An Cathepsin G wurde β -ABA **2** als Vergleichssubstanz gewählt. Die 3α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **72** zeigte auch hier eine vergleichbare Wirkung auf das Enzym. Bei den Analysen an der Cyclooxygenase 1 konnte mit der neu identifizierten 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure **76** eine Substanz gefunden werden, die das Enzym in ähnlicher Weise zu hemmen vermag wie Ibuprofen in entsprechender Vergleichskonzentration. Ein vergleichbares Ergebnis zeigte auch die literaturbekannte Hydroxy-Lupansäure **10**. Auch die p12-Lipoxygenase konnte durch isolierte Substanzen aus dem Weihrauchharz gehemmt werden. 3α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure **23**, Hydroxy-Lupansäure **10** und 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure **27** waren in der Lage die p12-Lipoxygenase in

ähnlicher Weise zu hemmen wie die Vergleichssubstanz CDC. Allerdings wurden ähnlich geringe Restaktivitäten des Enzyms nur in intakten Zellen gefunden. Bei Testungen im zellfreien System wichen die Werte stark ab.

Ein vollständiges Bild über die entzündungshemmenden Eigenschaften der in dieser Arbeit isolierten und identifizierten Säuren lässt sich noch nicht abschließend zeichnen, da einige Analysen an den Targets noch ausstehen. Doch auch die hier bereits berichteten Resultate lassen den Schluss zu, dass die Boswelliasäuren für die entzündungshemmende Wirkung des Weihrauchharzes nicht allein verantwortlich sein können. Denn die in dieser Arbeit isolierten und identifizierten Substanzen aus dem Weihrauchharz zeigen an den verschiedenen Targets eine vergleichbare Hemmung wie die Boswelliasäuren und spielen daher ebenso eine Rolle.

Die Testreihen an den verschiedenen Targets sollten daher durch Messung der noch nicht getesteten Substanzen vervollständigt werden. Ebenso sollten ausführliche Untersuchungen zu den synergistischen und antagonistischen Wechselwirkungen der Substanzen untereinander durchgeführt werden, um die entzündungshemmende Wirkung der Inhaltstoffe weiter zu entschlüsseln.

Weiterhin könnte eine Untersuchung der noch nicht identifizierten Peaks, welche in geringen Mengen in den untersuchten Harzen vorliegen, ebenfalls zur Entschlüsselung des Wirkmechanismus beitragen. Fraglich ist auch, ob die in dieser Arbeit isolierten und aufgeklärten Substanzen in anderen Weihrauchharzen enthalten sind, denn ein Vergleich der Retentionszeiten lässt auf diese Vermutung schließen.

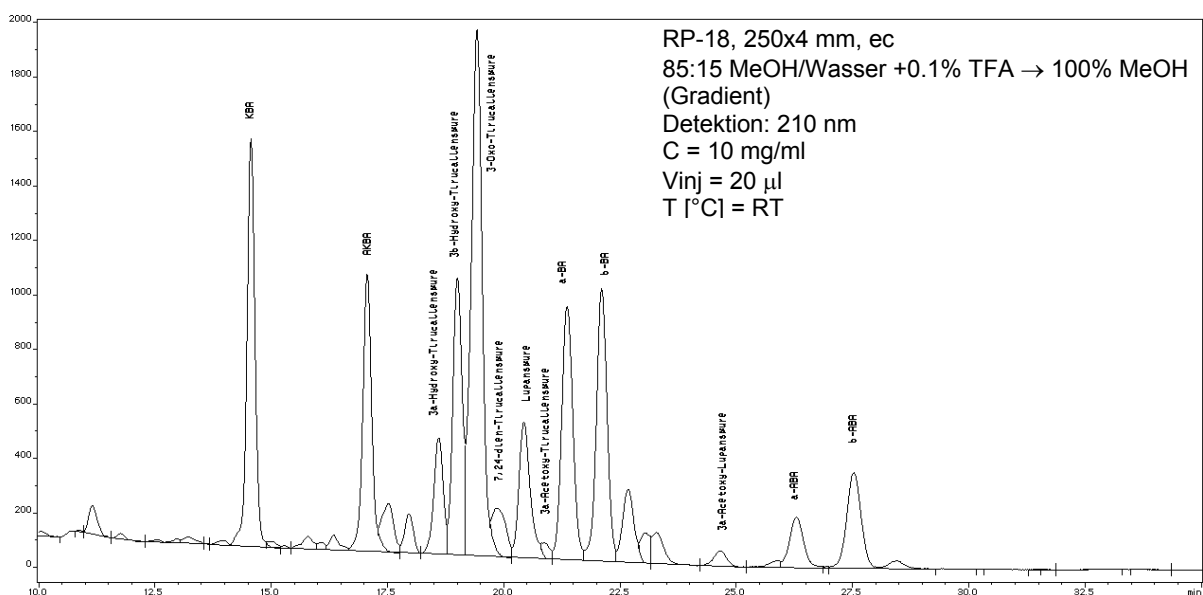


Abbildung 46: Übersichtschromatogramm von *Boswellia serrata*

In Abbildung 46 ist das Übersichtschromatogramm von *Boswellia serrata* mit markierten Peaks dargestellt. Wie aus der Abbildung hervorgeht, könnten sich einige Substanzen in diesem Weihrauchharz wiederfinden.

Ähnliche Beobachtungen können auch beim Weihrauchharz von *Boswellia sacra* festgestellt werden. Im Übersichtschromatogramm, welches in Abbildung 47 dargestellt ist, zeigen sich ebenfalls markante Peaks, die zu den gefundenen Substanzen in dieser Arbeit gehören könnten.

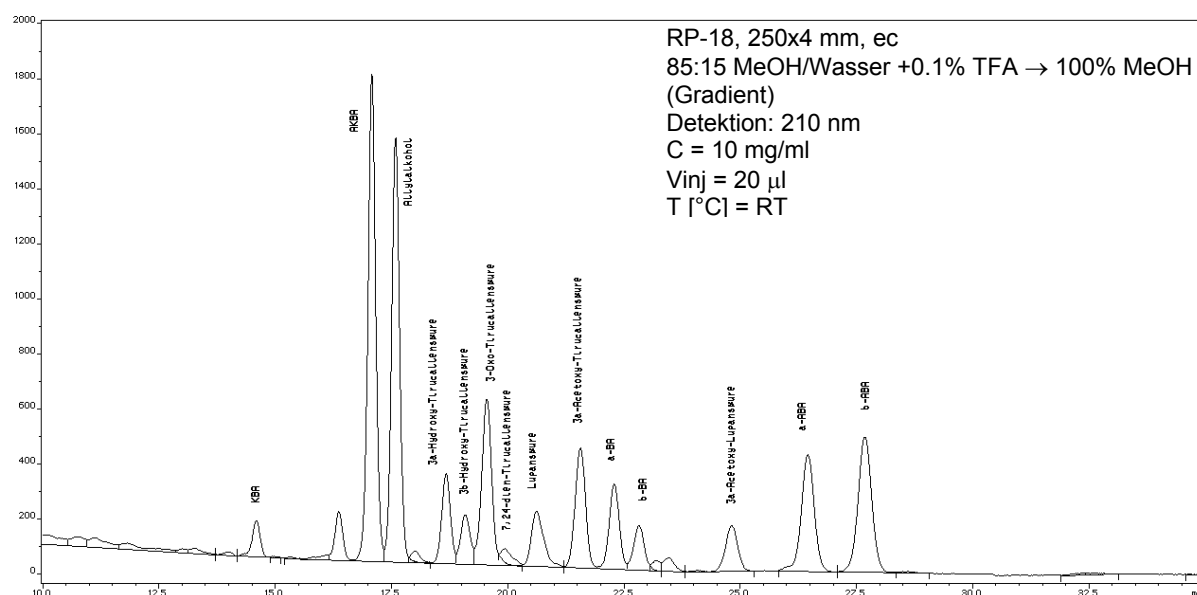


Abbildung 47: Übersichtschromatogramm von *Boswellia sacra*

Diese Beobachtungen beruhen allerdings nur auf einem Vergleich der Retentionszeiten. Ob die markierten Peaks allerdings tatsächlich mit den gefundenen Substanzen übereinstimmen, müssen genauere Analysen zeigen.

E Experimenteller Teil

1 Material und Methoden

1.1 Harzmaterial

Harz *Boswellia papyrifera* Eritrea Erbsen (Eggebrecht)

Bezeichnung: „Weihrauch Gummi olibanum Eritrea Erbsen“
Artikelnummer: 22-140
Kurzbezeichnung: *Bpap Er1*
Lieferant: Gerhard Eggebrecht Vegetabilien und Harze
Doppelreihe 1a
25361 Süderau
Art: *Boswellia papyrifera*
Herkunft: Eritrea

Harz *Boswellia carteri* Tränen No.1 (Eggebrecht)

Bezeichnung: „Weihrauch arabisch Gummi olibanum Somalia Tränen No. 1“
Artikelnummer: 22-120
Kurzbezeichnung: *Bcar T1*
Lieferant: Gerhard Eggebrecht Vegetabilien und Harze
Doppelreihe 1a
25361 Süderau
Art: *Boswellia carteri*
Herkunft: Somalia

Harz *Boswellia socotrana* (YP2583, BGBM)

Bezeichnung: Harz von *Boswellia socotrana* YP2583
Kurzbezeichnung: *Bsoc YP2583*
Lieferant: Harzprobe aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und
Botanischen Museums, Berlin-Dahlem (BGBM)
Art: *Boswellia socotrana*
Herkunft: Jemen, Insel Socotra

1.2 Verwendete Lösungsmittel

Die für die Extraktion und die chromatographischen Trennungen verwendeten Lösungsmittel (Dichlormethan, Diethylether, Pentan) wurden über einen Rotationsverdampfer destilliert. Als Ausgangsmaterial dienten Lösungsmittel mit der Qualitätsbezeichnung „chem. rein“.

Für die Kernresonanzspektroskopie wurden deuteriertes Aceton, deuteriertes Methanol und deuteriertes Dimethylsulfoxid (99.8 % Deuterierungsgrad, NMR-grade) verwendet.

Für die HPLC wurde Methanol und Wasser mit der Qualität „hplc-grade“ verwendet. Sämtliche Lösungsmittel wurden über das Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen.

1.3 Extraktion (allgemeines Verfahren)

Das jeweilige Harz wird über Nacht im Gefrierschrank aufbewahrt und davon ca. 180 g in einem elektrischen Küchenmixer gemahlen, anschließend in eine Extraktionshülse gefüllt und mit Watte bedeckt. Die Extraktion erfolgt mit 1,5 l Dichlormethan über Nacht in einer Soxhlet-Apparatur. Der Rohextrakt wird durch Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer bei 40 °C unter Vakuum erhalten. Anschließend wird der Rohextrakt (50,54 g) in 200 ml Diethylether aufgenommen und mit 20 ml 5% KOH-Lösung versetzt. Die diskontinuierliche flüssig-flüssig Extraktion wird im Scheidetrichter durchgeführt. Nach Trennung der Phasen wird die wässrige Phase (1) noch 3 mal mit je 50 ml Diethylether extrahiert, die organischen Phasen (2) werden vereinigt und mit gesättigter NaCl-Lösung ausgeschüttelt. Anschließend wird die organische Phase (2) mit MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die so erhaltene neutrale Phase (2) wird nur zur Bestimmung des Gewichtanteils verwendet und anschließend verworfen. Die alkalische Wasserphase (1) wird unter Kühlung mit konzentrierter Salzsäure bis zu einem pH-Wert von 2-3 versetzt und ebenfalls 3 mal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Nach Vereinigung der organischen Phasen (3) erfolgt das Waschen mit gesättigter NaCl-Lösung. Zur Trocknung wird MgSO_4 als Trockenmittel verwendet. Die wässrige Phase (4) wird verworfen. Die so gewonnene Rohsäurefraktion (3) wird durch Evaporation des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhalten.

1.4 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie (DC)^{100,101}

Stationäre Phase:	DC-Kieselgel-Glasplatten, Kieselgel 60, F ₂₅₄ (Merck AG, Darmstadt)
Mobile Phase:	<i>für Kieselgel</i> Pentan/Diethylether + 1% Essigsäure-Mischungen Petrolether/Diethylether + 1% Essigsäure-Mischungen <i>für RP-18-Phase</i> Methanol/Wasser-Mischungen
Sprühreagenzien:	Anisaldehyd/Schwefelsäure-Reagenz Zu 100 ml Essigsäure werden 2 ml Schwefelsäure und 1 ml Anisaldehyd hinzugefügt
Detektion:	Fluoreszenzlösung bei $\lambda = 254$ nm Besprühen mit Anisaldehyd/Schwefelsäure und nachfolgendem Erhitzen bis zur Farbreaktion

Flash-Chromatographie¹⁰²

Stationäre Phase:	NP-Kieselgel, Korngröße 40-63 μm (Fa. Merck AG, Darmstadt)
Mobile Phase	Pentan/Diethylether + 1% Essigsäure-Mischungen Stufengradient: je 500 ml Eluent, steigende Polarität

Zur Auftrennung der Rohsäurefraktion in Unterfraktionen wird die Flash-Chromatographie verwendet. Die Befüllung der Säule erfolgt mit stationärer Phase, die zuvor in der mobilen Phase suspendiert und mittels Vakuum entgast wird. Die oberste Schicht wird mit etwas Seesand bedeckt. Die Probe wird je nach Säulengröße in etwas Fließmittel aufgenommen und gleichmäßig auf dem chromatographischen Bett verteilt. Die Elution wird durch Anlegen eines mittleren Druckes (1-1.3 bar, Hausdruckluft-Anlage) durchgeführt und die Fraktionen mit einem Fraktionensammler nach vorgegebener Zeit aufgefangen.

Hochleistungsflüssig-Chromatographie (HPLC)

Pumpen:	analytische Anlage: Sykam HPLC Pumpe Modell S 1122 (Fa. Sykam, Fürstenfeldbruck)
---------	---

	präparative Anlage: Sykam HPLC Pumpe Modell S 1521 (Fa. Sykam, Fürstenfeldbruck)
Injektionssystem:	Rheodyne 7725i
Säulen:	(1) GROM Saphir, 110 C18 ec, 5 µm (Fa. Grom) Säule 20 x 4 mm (analytische Vorsäule) (2) GROM Saphir, 110 C18 ec, 5 µm (Fa. Grom) Säule 250 x 4 mm (analytische Säule) (3) Nucleodur 100-5 C18 ec, 5 µm (Fa. Machery & Nagel) Säule 250 x 4 mm (analytische Säule) (4) GROM Saphir, 110 C18 ec, 5 µm (Fa. Grom) Säule: 30 x 20 mm (präparative Vorsäule) (5) Nucleodur 100-5 C18 ec, 5 µm (Fa. Machery & Nagel) Säule 250 x 20 mm (präparative Säule)
Gradienten:	<i>Standard-Gradient (Übersichtschromatogramme)</i> 0 min 85:15 Methanol/Wasser + 0.1% TFA 2 min 85:15 Methanol/Wasser + 0.1% TFA 12 min 100% Methanol 35 min 100% Methanol Flussrate: 0.85 ml/min <i>isokratische Eluenten</i> Methanol/Wasser-Mischungen + 0.1% TFA Flussrate: 0.85 ml/min – 1.5 ml/min
Detektion:	DAD-Detektor Modell S 3210 (analytische Anlage) DAD-Detektor Modell S 3210 (präparative Anlage) (Fa. Sykam, Fürstenfeldbruck)
Software:	Chromstar, Version 6.0 (Fa. SCPA, Weyhe-Leeste)

1.5 Spektroskopie

Massenspektrometrie

Die Massenspektren werden mit den Geräten MAT 95S der Firma Bruker (Karlsruhe) (MS, HRMS) und ZQ4000-ESI-Massenspektrometer (Single-quadrupol) der Firma Waters (Eschborn) (ESI) aufgenommen.

Kernresonanzspektroskopie

Die NMR-Spektren (^1H , ^{13}C , DEPT 90, DEPT 135, H,H-COSY, HMQC, HMBC, HMQC-COSY und NOESY) werden an den Geräten AV II 400 und AV 500 der Firma Bruker (Karlsruhe) gemessen. Die Auswertung der Spektren erfolgt mit Hilfe der Software MestReC der Firma Mesrelab Research S. L.

Röntgenstrukturanalyse

Die Daten für die Strukturanalyse werden mit einem CCD-Detektor X8 Apex II der Firma BrukerAXS ermittelt. Die Berechnung der Struktur und ihre Vereinfachung werden mit einem Rechner der Firma DIGITAL EQUIPMENT CORPORATION, Typ Micro Vax II durchgeführt. Dabei werden folgende Programme verwendet:

Bestimmung der Raumgruppe: XPREP¹⁰³

Strukturlösung: SHELXS-97¹⁰⁴

Strukturverfeinerung: SHELXL-97¹⁰⁵

Die graphische Darstellung wird mit Hilfe der Programme MOLECULAR-Graphics und DIAMOND 2.1 c angefertigt¹⁰⁶

1.6 Aktivitätsmessungen an verschiedenen Targets

1.6.1 Aktivitätsmessungen an Cathepsin G¹⁰⁷

PGC-Puffer:	PBS-Puffer (pH 7,4) + Glucose (0,1%) + Calcium (1 mM)
Assay-buffer:	100 mM HEPES, 500 mM NaCl, pH 7,4
Cathepsin G-Substrat:	10 mM N-Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA in DMSO
Enzymlösung:	25 Mio PMNL in 1 ml PGC-Puffer bei 37°C 2 Minuten vorwärmen Prästimulation mit 1 µl Cytochalasin B (10 mM) 5 min (37°C) Stimulation mit 2,5 µl fMLP (1 mM) 5 min (37°C), 5 min auf Eis Zentrifugation bei 1200 g für 5 min (4°C) Überstand abnehmen → Enzymlösung
Messung:	Nullwert: 178 µl assay-Puffer + 20 µl Cathepsin Substrat + 2 µl DMSO 100%-Kontrolle: 168 µl assay-Puffer + 20 µl Cathepsin G-Substrat + 2 µl DMSO + 10 µl Enzymlösung Proben: 168 µl assay-Puffer + 20 µl Cathepsin G-Substrat + 2 µl Testsubstanz + 10 µl Enzymlösung

Enzymlösung wird zum Starten mit der Multipipette zugegeben und die Absorptionszunahme (405 nm) in 120 min gemessen

Ergebnisse werden prozentual als Absorptionszunahme minus Absorptionszunahme des Nullwerts bezogen auf die Absorptionszunahme (DMSO-Kontrolle) minus Absorptionszunahme des Nullwerts angegeben.

$$[\%] = \frac{\Delta A(x) - \Delta A(\text{Nullwert})}{\Delta A(\text{DMSO}) - \Delta A(\text{Nullwert})} * 100\%$$

1.6.2 Aktivitätsmessungen an Cox-1 und p12-Lox¹⁰⁸

1.6.2.1 Aufreinigung humaner Thrombozyten

Die Aufreinigung der Thrombozyten erfolgt aus Buffy coats (Leukozytenkonzentrate), die aus dem Blut gesunder Spendern (welche die letzten 7 Tage keine Medikamente eingenommen haben) gewonnen werden. Hierfür werden die Buffy coats vereinigt und auf das doppelte Volumen mit PBS pH 7,4 verdünnt. Für die anschließende Dextran sedimentation (Erythrozytenfällung) werden jeweils 40 ml der Verdünnung mit 10 ml 5%igem Dextran-PBS in Falcon-Tubes gemischt und 45 min bei RT stehen gelassen. Der Überstand (40 ml) wird nun vorsichtig auf 10 ml Nyco-Prep (Lymphozytenseparationsmedium) überschichtet und 10 min ohne Bremse zentrifugiert (800 g, RT). Nach der Dichtezentrifugation erfolgt die Abnahme des PRP (Thrombozyten reiches Plasma) und die Verdünnung desselben mit PBS pH 5,9 (1:1). Für den folgenden Waschschrift wird bei 800 g für 10 min zentrifugiert und darauffolgend das Pellet in PBS pH 5,9 + 0,9% NaCl (1:1) aufgenommen. Nach erneuter Zentrifugation (800 g, 10 min, RT) werden die Thrombozyten in PG-Puffer resuspendiert und gezählt.

1.6.2.2 Bestimmung der COX-1 bzw. p12-LO Produktbildung in intakten Thrombozyten

Die Thrombozyten (10^8 /ml PG) werden für 5 min bei RT mit den zu testenden Substanzen vorinkubiert und anschließend 60 s bei 37 °C vorgewärmt. Durch Zugabe des Stimulus wird nun für 5 min bei 37 °C die 12-HHT bzw. 12-HETE Bildung induziert und anschließend mit 1 ml eiskaltem Methanol sowie zusätzlicher Lagerung auf Eis abgestoppt. Abschließend wird zu jedem Reaktionsansatz 10 µl PGB₁ (Standard), 30 µl 1N HCl und 500 µl PBS-Puffer pH 7,4 zugegeben. Nach erfolgter Zentrifugation (800 g, 10 min, RT) werden die Proben auf RP-18-Extraktionssäulen, die zuvor mit 1 ml Methanol und 1 ml Wasser konditioniert wurden, gegeben. Die Säulen werden mit 1 ml Wasser und 1 ml Methanol (25%) gewaschen. Anschließend erfolgt die Elution der gebildeten Eicosanoide mittels 300 µl Methanol. Das Eluat wird mit 120 µl Wasser versetzt und bis zur Analyse via HPLC bei -20 °C gelagert. Die quantitative Bestimmung der Eicosanoide erfolgt mittels HPLC, wobei das zugegebene PGB₁ als interner Standard dient. Bei der stationären Phase handelt es

sich um eine Novapak C-18 Radial-Pak Säule. Das Fließmittel setzt sich aus Methanol/Wasser/Trifluoressigsäure (76 / 24 / 0,007 V/V) (HPLC grade) zusammen, die Flussrate beträgt 1,2 ml pro Minute. Die Detektion der Produkte erfolgt bei 235 nm.

1.6.2.3 Bestimmung der COX-1 Produktbildung an isolierter COX-1

Die isolierten COX-Enzyme (COX-1 50 Units) werden in 1 ml Reaktionspuffer (100 mM Tris-Puffer pH 8; 5 mM Glutathion (GSH); 5 μ M Hämoglobin; 100 μ M EDTA) gegeben. Nach Zugabe der Testsubstanzen wird für 5 min bei RT vorinkubiert, anschließend 60 s bei 37 °C vorgewärmt und die 12-HHT Bildung durch 5 μ M AA (Substrat) gestartet. Nach weiteren 5 min bei 37 °C wird die Reaktion durch Zugabe von 1 ml eiskaltem Methanol und Lagerung auf Eis gestoppt. Abschließend wird zu jedem Reaktionsansatz 10 μ l PGB₁ (Standard), 30 μ l 1N HCl und 500 μ l PBS-Puffer pH 7,4 zugefügt. Die gebildete 12-HHT wird wie unter 1.6.2.2 beschrieben extrahiert und mittels HPLC analysiert.

1.6.2.4 Bestimmung der p12-LO Produktbildung in S40 Überständen homogenisierter Thrombozyten

Die aus den Buffy coats isolierten Thrombozyten (siehe 1.6.2.1) werden in PBS plus EDTA (1 mM) resuspendiert. Anschließend werden die Zellen (50 Mio. pro Experiment) für 3 x 15 s auf Eis homogenisiert und danach mit eiskaltem PBS-EDTA auf eine Konzentration von 50 Mio./ml eingestellt. Nach anschließender Zentrifugation (40.000 g, 1 h, 4 °C) wird der Überstand abgenommen und in Reaktionsansätze zu jeweils 1 ml aliquotiert. Die S40-Überstände werden mit den Testsubstanzen für 10 min auf Eis vorinkubiert und danach 30 s bei 37 °C vorgewärmt. Daraufgehend wird CaCl₂ (2 mM) zugegeben, gevortext und die 12-HETE Bildung durch Zugabe von 2 μ M AA gestartet. Nach weiteren 10 min bei 37 °C wird die Reaktion durch 1 ml eiskaltem Methanol abgestoppt und die Proben auf Eis gestellt. Abschließend wird jeweils 10 μ l PGB₁ (Standard), 30 μ l 1N HCl und 500 μ l PBS-Puffer pH 7,4 zugefügt. Die gebildete 12-HETE wird wie in Abschnitt 1.6.2.2 beschrieben extrahiert und mittels HPLC analysiert.

1.6.3 Aktivitätsmessungen an 5-Lox¹⁰⁹

Die Pellets (Granulozyten und Erythrozyten) der Nycoprep-Zentrifugation aus 1.6.2.1 werden vereinigt, gewaschen (PBS pH = 7,4) und durch hypotone Lyse mit eiskaltem Wasser von den verbleibenden Erythrozyten isoliert und erneut mit PBS gewaschen (680 x g; 10 min.; RT). Anschließend werden die Granulozyten (PMNL; Reinheit > 96-97%) in PBS plus 1 mg/ml Glucose (PG Puffer) oder PBS plus 1 mg/ml Glucose und 1 mM CaCl₂ (PGC Puffer) resuspendiert. Zellzahl und Zellvitalität wurde durch das visuelle Trypanblau-Ausschlussverfahren bestimmt. Inkubationen mit 30 µM verschiedener BAs für 30 min bei 37 °C zeigen keine signifikanten Veränderungen der Zellzahl oder Zellvitalität.

Zur Bestimmung der zellulären 5-LO-Produkt-Bildung, werden 3×10^7 oder 5×10^6 frisch isolierte PMNL in 1 ml PGC-Puffer mit den getesteten Substanzen oder mit DMSO (Vehikel) für 10 min bei 37°C vorinkubiert und die 5-LO-Produkt-Bildung wird durch Zugabe von A23187 (2.5 µM) mit oder ohne 20 µM AA gestartet. Die Reaktion wird nach 10 min durch Zugabe von 1 ml Methanol gestoppt und 30 µl 1 N HCl, 200 ng Prostaglandin B1 (Standard) und 500 µl PBS zugegeben. Die gebildeten 5-LO Metabolite werden extrahiert und durch HPLC analysiert (siehe 1.6.2.2).

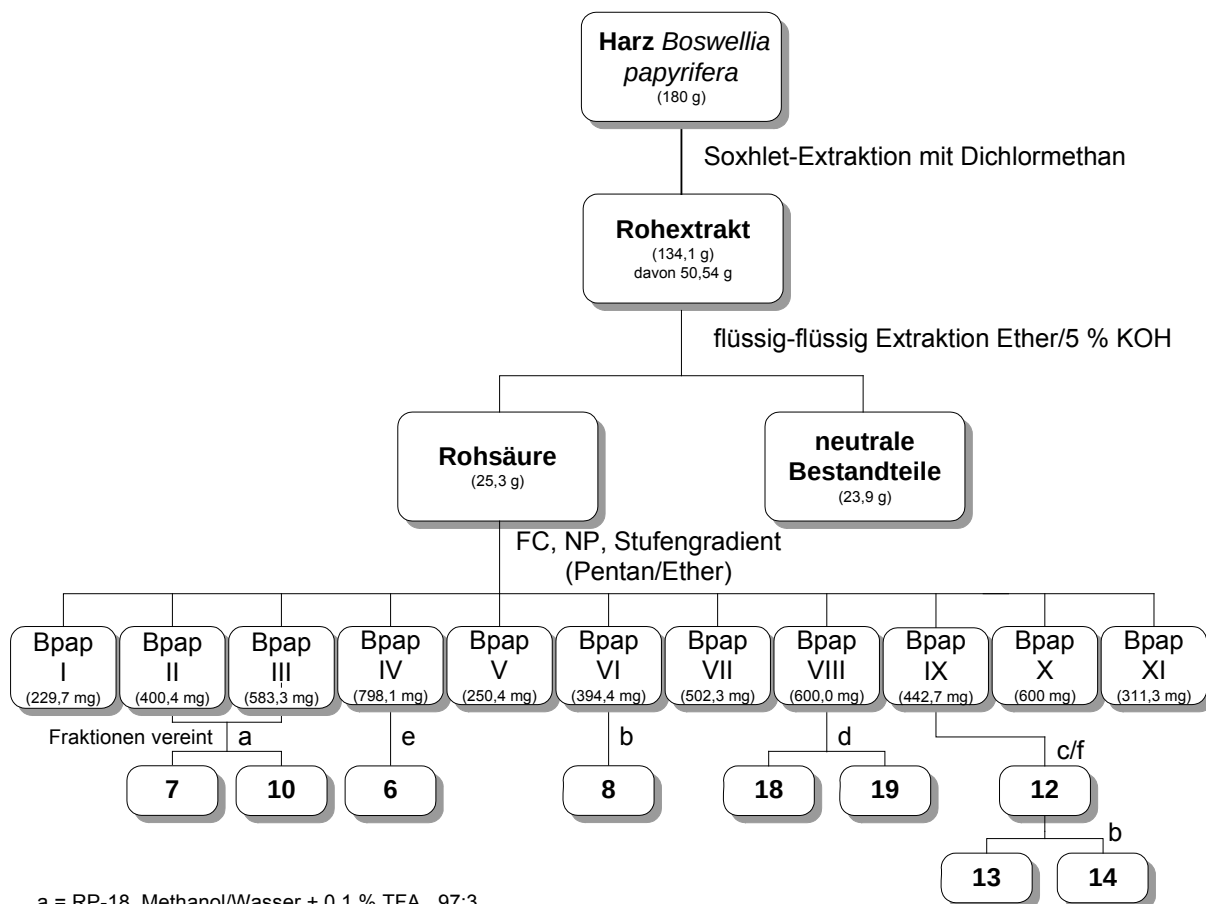
2 Physikalische Daten der Naturstoffe

2.1 Naturstoffe aus *Boswellia papyrifera*

2.1.1 Isolierung aus dem Harzmaterial von *Boswellia papyrifera*

Das Harz von *Boswellia papyrifera* wird von der Fa. Gerhard Eggebrecht, Süderau, bezogen. Um das Harz leichter zu zerkleinern, wird es vor der Verarbeitung über Nacht im Gefrierschrank aufbewahrt. Die Rohsäurefraktion wird nach dem allgemeinen Extraktionsverfahren gewonnen (siehe Abschnitt E, 1.3).

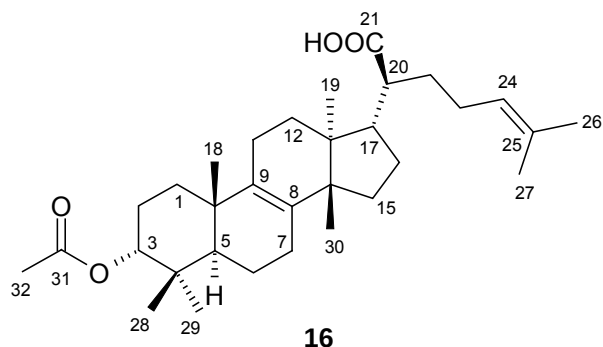
Die chromatographische Vortrennung wird über eine Kieselgelsäule mit Pentan/Ether-Mischungen + 1% Essigsäure durchgeführt. Nach je 500 ml erhöht sich die Polarität des Eluenten stufenweise (8:1–1:2). Es werden 11 einheitliche Fraktionen gebildet, aus denen anschließend mittels präparativer HPLC die Reinsubstanzen gewonnen werden. (siehe Schema 4).



- a = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 97:3
 b = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 95:5
 c = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 90:10
 d = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 93:7
 e = NP, Pentan/Ether + 1 % HOAc 2:1
 f = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % HOAc 90:10

Schema 4: Trennschema der Isolierung von *Boswellia papyrifera* (Bpap)

2.1.2 3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure 16



Summenformel: $C_{32}H_{50}O_4$

Molmasse: 498.75 g/mol

R_f -Wert: 0.26 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 19.33 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

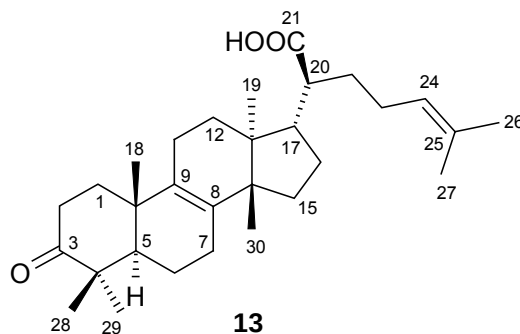
1H -NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.31 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H-24), 4.61 (t, J = 2.7 Hz, 1H, H-3), 2.27 (dt, J = 4.4 Hz, 10.6 Hz, 1H, H-20), 2.17-2.09 (m, 2H, H-7 α , H-17), 2.00 (s, 3H, H-32), 1.98–1.89 (m, 5H, H-2 β , H-7 β , H-11 β , H-16 β , H-23 α), 1.66 (s, 3H, H-26), 1.65-1.59 (m, 5H, H-2 α , H-5, H-6 α , H-12 α , H-15 α), 1.58 (s, 3H, H-27), 1.56-1.37 (m, 5H, H-1 α , H-1 β , H-6 β , H-12 β , H-16 α , H-22 α), 1.29-1.27 (m, 1H, H-15 β), 1.01 (s, 3H, H-18), 0.93 (s, 3H, H-29), 0.91 (s, 3H, H-30), 0.88 (s, 3H, H-19), 0.87 (s, 3H, H-28)

^{13}C -NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 178.3 (C-21, COOH), 171.5 (C-31, >C=O), 136.3 (C-9, >C=C<), 134.9 (C-8, >C=C<), 133.2 (C-25, $H>C=C<$), 125.8 (C-24, $H>C=C<$), 79.1 (C-3, $HO>CH-$), 51.4 (C-14, >C<), 49.4 (C-20, $HOOC>CH-$), 48.6 (C-17, >CH-), 47.8 (C-5, >CH-), 45.7 (C-13, >C<), 38.9 (C-10, >C<), 38.5 (C-4, >C<), 34.4 (C-22, -CH₂-), 32.2 (C-1, -CH₂-), 29.1 (C-28, -CH₃), 28.8 (C-7, -CH₂-), 28.5 (C-16, -CH₂-), 27.7 (C-23, -CH₂-), 26.8 (C-26, -CH₃), 25.8 (C-30, -CH₃), 25.0 (C-2, -CH₂-), 23.2 (C-29, -CH₃), 23.0 (C-11, -CH₂-), 22.1 (C-32, -CH₃), 21.3 (C-18, -CH₃), 20.3 (C-6, -CH₂-), 18.7 (C-27, -CH₃), 17.2 (C-19, -CH₃)

MS (CI, 150 eV): m/z (%) = 498 (70) [M]⁺, 483 (12), 439 (84), 423 (100), 343 (24), 281 (20), 189 (16), 95 (12)

HRMS (CI, 150 eV): berechnet: 498.7466 für C₃₂H₅₀O₄, gefunden 498.3702

2.1.3 3-Oxo-Tirucallensäure 13



Summenformel: $C_{30}H_{46}O_3$

Molmasse: 454.70 g/mol

R_f -Wert: 0.24 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 17.66 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

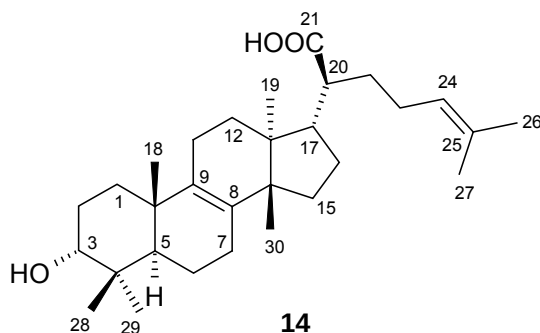
¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.13 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H-24), 2.56-2.40 (m, 2H, H-2 α , H-2 β), 2.27 (dt, J = 4.7 Hz, 10.5 Hz, 1H, H-20), 2.20-2.09 (m, 3H, H-7 β , H-11 β , H-17), 2.03-1.90 (5H, H-1 β , H-7 α , H-11 α , H-16 β , H-23 α), 1.76-1.67 (m, 3H, H-5, H-6 β , H-12 β), 1.66 (s, 3H, H-26), 1.64-1.60 (m, 2H, H-1 α , H-15 α), 1.58 (s, 3H, H-27), 1.57-1.38 (m, 4H, H-6 β , H-12 β , H-16 α , H-22 α), 1.32-1.27 (m, 1H, H-15 β), 1.06 (s, 6H, H-18, H-29), 1.02 (s, 3H, H-28), 0.93 (s, 3H, H-30), 0.86 (s, 3H, H-19)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 217.8 (C-3, >C=O), 178.3 (C-21, COOH), 136.2 (C-8, >C=C<), 134.8 (C-9, >C=C<), 133.2 (C-25, H >C=C<), 125.8 (C-24, H >C=C<), 53.3 (C-5, >CH-), 51.5 (C-14, >C<), 49.4 (C-20, $HOOC$ >CH-), 48.7 (C-17, >CH-), 48.6 (C-10 >C<), 45.7 (C-13, >C<), 38.9 (C-4, >C<), 37.1 (C-1, -CH₂-), 35.9 (C-2, -CH₂-), 34.4 (C-22, -CH₂-), 29.2 (C-7, -CH₂-), 28.5 (C-16, -CH₂-), 28.0 (C-29, -CH₃), 27.7 (C-23, -CH₂-), 26.8 (C-26, -CH₃), 25.6 (C-30, -CH₃), 22.9 (C-11, -CH₂-), 22.4 (C-18, -CH₃), 21.9 (C-6, -CH₂-), 21.1 (C-18, -CH₃), 18.7 (C-27, -CH₃), 17.2 (C-19, -CH₃)

MS (CI, 150 eV): m/z (%) = 455 (8) [M]⁺, 439 (8), 297 (4), 204 (76), 174 (100), 138 (12)

HRMS (CI, 150 eV): berechnet: 454.6934 für C₃₀H₄₆O₃, gefunden 454.3450

2.1.4 3 α -Hydroxy-Tirucallensäure 14



Summenformel: $C_{30}H_{48}O_3$

Molmasse: 456.72 g/mol

R_f -Wert: 0.14 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 17.45 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

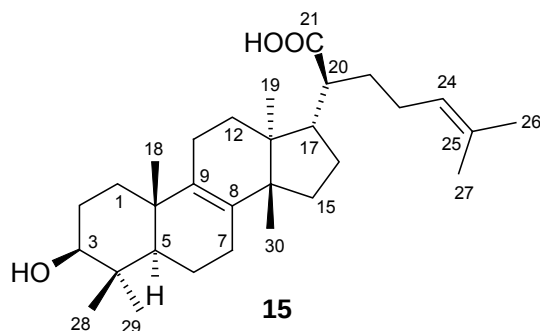
¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.12 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H-24), 3.36 (t, J = 2.7 Hz, 1H, H-3), 2.26 (dt, J = 4.8 Hz, 10.4 Hz, 1H, H-20), 2.14-2.07 (m, 3H, H-7 α , H-17, H-11 α), 2.03–1.88 (m, 6H, H-2 β , H-7 β , H-11 β , H-16 β , H-22 β , H-23 β), 1.73-1.70 (m, 1H, H-5), 1.65 (s, 3H, H-26), 1.65-1.59 (m, 5H, H-1 β , H-2 α , H-6 α , H-12 β , H-15 α), 1.58 (s, 3H, H-27), 1.56-1.40 (m, 5H, H-1 α , H-6 β , H-12 α , H-16 α , H-22 α), 1.29-1.20 (m, 1H, H-15 β), 1.06-1.02 (m, 1H, H-23 α), 0.97 (s, 3H, H-18), 0.95 (s, 3H, H-29), 0.90 (s, 3H, H-30), 0.87 (s, 3H, H-19), 0.84 (s, 3H, H-28)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 178.5 (C-21, COOH), 136.6 (C-9, >C=C<), 134.7 (C-8, >C=C<), 133.2 (C-25, H>C=C<), 125.8 (C-24, H>C=C<), 76.4 (C-3, HO>CH-), 49.4 (C-20, HOOC>CH-), 48.6 (C-17, >CH-), 46.4 (C-5, >CH-), 45.7 (C-13, >C<), 39.3 (C-4, >C<), 38.9 (C-10, >C<), 34.4 (C-22, -CH₂-), 31.5 (C-1, -CH₂-), 29.8 (C-29, -CH₃), 29.1 (C-7, -CH₂-), 28.5 (C-16, -CH₂-), 27.9 (C-2, -CH₂-), 27.7 (C-23, -CH₂-), 26.8 (C-26, -CH₃), 25.7 (C-30, -CH₃), 23.7 (C-28, -CH₃), 23.0 (C-11, -CH₂-), 21.4 (C-18, -CH₃), 20.5 (C-6, -CH₂-), 18.7 (C-27, -CH₃), 17.1 (C-19, -CH₃)

MS (CI, 150 eV): m/z (%) = 456 (40) [M]⁺, 423 (100), 281 (8), 187 (8)

HRMS (CI, 150 eV): berechnet: 456.7093 für C₃₀H₄₈O₃, gefunden 456.3599

2.1.5 3 β -Hydroxy-Tirucallensäure 15



Summenformel: $C_{30}H_{48}O_3$

Molmasse: 456.72 g/mol

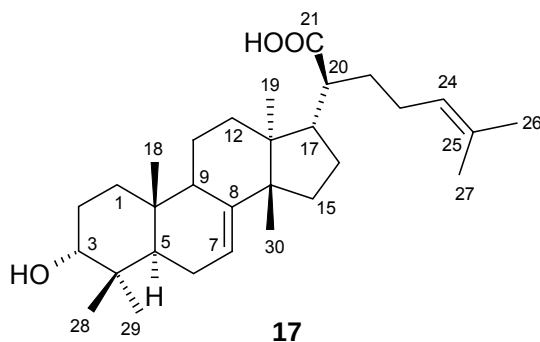
R_f -Wert: 0.15 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 17.64 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

¹H-NMR ((CD₃)₂SO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.07 (t, J = 6.5 Hz, 1H, H-24), 3.0 (dd, J = 5.2 Hz, 10.8 Hz, 1H, H-3), 2.15-2.04 (m, 2H, H-7 α , H-20), 1.92–1.81 (m, 6H, H-7 β , H-11 α , H-11 β , H-17, H-22 α , H-23 α), 1.67-1.63 (m, 2H, H-1 β , H-6 β), 1.63 (s, 3H, H-26), 1.53 (s, 3H, H-27), 1.51-1.01 (m, 13H, H-1 α , H-2 α , H-2 β , H-5, H-12 α , H-12 β , H-15 α , H-15 β , H-16 α , H-22 β), 0.90 (s, 3H, H-29), 0.89 (s, 3H, H-18), 0.82 (s, 3H, H-30), 0.74 (s, 3H, H-19), 0.69 (s, 3H, H-28)

¹³C-NMR ((CD₃)₂SO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 176.8 (C-21, COOH), 133.8 (C-9, >C=C<), 132.4 (C-8, >C=C<), 131.0 (C-25, $H>\underline{C}=\underline{C}<$), 123.7 (C-24, $H>\underline{C}=\underline{C}<$), 76.6 (C-3, $HO>CH-$), 50.5 (C-5, >CH-), 48.9 (C-14, >C<), 47.2 (C-20, $HOOC>CH-$), 46.2 (C-17, >CH-), 43.3 (C-13, >C<), 38.5 (C-4, >C<), 36.7 (C-10, >C<), 34.7 (C-1, -CH₂-), 32.1 (C-16, -CH₂-), 28.8 (C-15, -CH₂-), 28.2 (C-12, -CH₂-), 28.1 (C-29, -CH₃), 27.5 (C-2, -CH₂-), 27.1 (C-7, -CH₂-), 26.2 (C-22, -CH₂-), 25.4 (C-23, -CH₃), 25.4 (C-26, -CH₃), 24.1 (C-30, -CH₃), 20.7 (C-11, -CH₂-), 19.9 (C-18, -CH₃), 18.4 (C-6, -CH₂-), 17.4 (C-27, -CH₃), 15.9 (C-28, -CH₃), 15.4 (C-19, -CH₃)

2.1.6 3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure 17



Summenformel: $C_{30}H_{48}O_3$

Molmasse: 456.72 g/mol

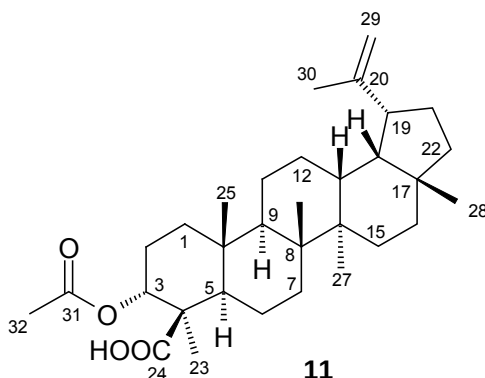
R_f -Wert: 0.12 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 19.13 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.28 (dd, J = 2.9Hz, 6.4Hz, 1H, H-7), 5.12 (t, J = 7.2 Hz, 1H, H-24), 3.4 (t, J = 2.4 Hz, 1H, H-3), 2.35-2.26 (m, 2H, H-9, H-20), 2.02–1.70 (m, 8H, H-2 β , H-5, H-6 α , H-6 β , H-11 α , H-16 β , H-17, H-23 α , H-12 β), 1.64-1.60 (m, 1H, H-1 α), 1.66 (s, 3H, H-26), 1.56 (s, 3H, H-27), 1.56-1.49 (m, 6H, H-2 α , H-11 β , H-12 α , H-15 α , H-15 β , H-22 α), 1.31-1.26 (m, 2H, H-1 β , H-16 α), 1.01 (s, 3H, H-30), 0.93 (s, 3H, H-19), 0.91 (s, 3H, H-29), 0.90 (s, 3H, H-28), 0.80 (s, 3H, H-18)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 178.2 (C-21, COOH), 147.7 (C-8, $H>C=\underline{C}<$), 133.2 (C-25, $H>C=\underline{C}<$), 125.8 (C-24, $H>\underline{C}=C<$), 120.2 (C-7, $H>\underline{C}=C<$), 76.7 (C-3, $HO>CH-$), 52.8 (C-14, $>C<$), 51.5 (C-17, $>CH-$), 50.4 (C-9, $>CH-$), 49.2 (C-20, $HOOC>CH-$), 46.2 (C-5, $>CH-$), 45.1 (C-13, $>C<$), 39.1 (C-4, $>C<$), 36.5 (C-10, $>C<$), 35.3 (C-15, $-CH_2-$), 34.3 (C-22, $-CH_2-$), 33.1 (C-1, $-CH_2-$), 32.3 (C-12, $-CH_2-$), 29.5 (C-29, $-CH_3$), 28.8 (C-16, $-CH_2-$), 27.8 (C-23, $-CH_2-$), 27.5 (C-2, $-CH_2-$), 26.8 (C-26, $-CH_3$), 25.7 (C-6, $-CH_2-$), 23.2 (C-28 $-CH_3$), 23.1 (C-19, $-CH_3$), 19.1 (C-11, $-CH_2-$), 18.7 (C-17, $-CH_3$), 14.5 (C-18, $-CH_3$)

2.1.7 3 α -O-Acetyl-Lupansäure 11



Summenformel: $C_{32}H_{50}O_4$

Molmasse: 498.75 g/mol

R_f -Wert: 0.26 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_f -Wert: 22.34 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

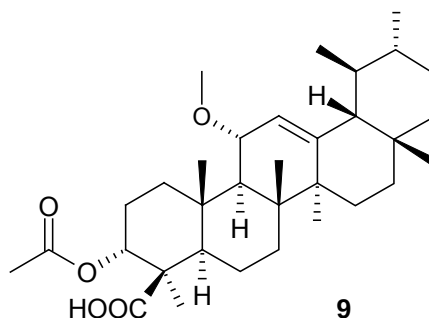
¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.25 (t, J = 2.6 Hz, 1H, H-3), 4.72 (dd, J = 2.6 Hz, 1H, H-29), 4.58 (dd, J = 2.5 Hz, 1H, H-29), 2.45 (dt, J = 5.7 Hz, 11.0 Hz, 1H, H-19), 2.22-2.13 (m, 1H, H-2 β), 2.05 (s, 3H, H-32), 2.02-1.91 (m, 2H, H-6 β , H-21 β), 1.77-1.72 (m, 4H, H-6 α , H-12 α , H-13, H-15 β), 1.71 (s, 3H, H-30), 1.60-1.21 (m, 15H, H-1 α , H-1 β , H-2 α , H-5, H-7 α , H-7 β , H-9, H-11 α , H-11 β , H-16 α , H-16 β , H-18, H-21 α , H-22 α , H-22 β), 1.19 (s, 3H, H-23), 1.17-1.12 (m, 1H, H-12 β), 1.11 (s, 3H, H-26), 1.09-1.05 (m, 1H, H-15 α), 1.03 (s, 3H, H-27), 0.85 (s, 3H, H-25), 0.84 (s, 3H, H-28)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 178.9 (C-24, COOH), 171.4 (C-31, >C=O), 152.5 (C-20, >C=C<H₂), 110.9 (C-29, >C=C<H₂), 75.1 (C-3, _{AcO}>CH-), 52.1 (C-5, >CH-), 51.6 (C-9, >CH-), 50.0 (C-18, >CH-), 49.8 (C-19, >CH-), 48.3 (C-4, >C<), 44.8 (C-14, >C<), 44.7 (C-17, >C<), 42.6 (C-8, >C<), 41.6 (C-16, -CH₂-), 40.0 (C-13, >CH-), 39.4 (C-10, >C<), 37.3 (C-22, -CH₂-), 36.32 (C-1, -CH₂-), 35.9 (C-7, -CH₂-), 31.6 (C-21, -CH₂-), 29.2 (C-15, -CH₂-), 27.1 (C-12, -CH₂-), 25.5 (C-2, -CH₂-), 25.0 (C-23, -CH₃), 22.8 (C-11, -CH₂-), 22.1 (C-32, -CH₃), 21.5 (C-6, -CH₂-), 20.5 (C-30, -CH₃), 19.3 (C-28, -CH₃), 17.4 (C-26, -CH₃), 16.0 (C-27, -CH₃), 15.0 (C-25, -CH₃)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 498 (100) [M]⁺, 483 (32), 387 (32), 327 (40), 279 (32), 246 (44), 220 (100), 189 (72), 175 (64), 121 (56), 107 (40)

HRMS (EI, 70 eV): berechnet: 498.7466 für C₃₂H₅₀O₄, gefunden 498.3731

2.1.8 3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure 9



Summenformel: C₃₃H₅₂O₅

Molmasse: 528.78 g/mol

R_f -Wert: 20.1 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

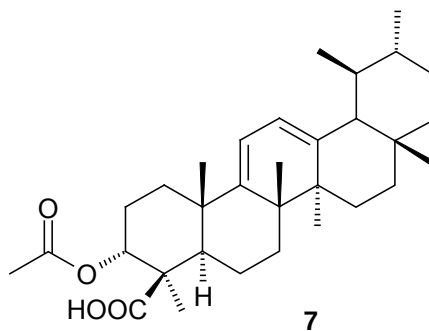
¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.42 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H-12), 5.25 (t, J = 2.7 Hz, 1H, H-3), 3.82 (dd, J = 9.1, 3.0, 1H, H-11), 3.25 (s, 3H, H-33), 2.21-2.09 (m, 2H, H-2 β , H-16 α), 2.08 (s, 3H, H-32), 1.96-1.73 (m, 5H, H-1 β , H-6 α , H-6 β , H-9, H-15 β), 1.53-1.33 (m, 11H, H-1 α , H-2 α , H-5, H-7 α , H-7 β , H-18, H-19, H-21 α , H-21 β , H-22 α , H-22 β), 1.21 (s, 3H, H-23), 1.20 (s, 3H, H-27), 1.12 (s, 3H, H-26), 1.08 (s, 3H, H-25), 1.05-1.04 (m, 1H, H-15 α), 0.94 (bs, 4H, H-20, H-30), 0.92 (bs, 1H, H-16 β), 0.91 (bs, 3H, H-29), 0.84 (s, 3H, H-28)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 179.0 (C-24, COOH), 171.4 (C-31, >C=O (Acetoxy)), 144.6 (C-13, $_H$ >C=C<), 126.7 (C-12, $_H$ >C=C<), 78.5 (C-11, $_{HO}$ >CH-), 75.0 (C-3, $_{HO}$ >CH-), 60.5 (C-18, >CH-), 55.6 (C-33, -O-CH₃), 53.2 (C-9, >CH-), 52.3 (C-5, >CH-), 48.3 (C-4, >C<), 44.7 (C-8, >C<), 44.0 (C-14, >C<), 43.2 (C-22, -CH₂-), 41.4 (C-20, >CH-), 41.3 (C-19, >CH-), 40.4 (C-10, >C<), 37.7 (C-1, -CH₂-), 35.4 (C-7, -CH₂-), 35.4 (C-17, >C<), 32.9 (C-21, -CH₂-), 30.2 (C-28, -CH₃), 29.7 (C-16, -CH₂-), 28.4 (C-15, -CH₂-), 25.6 (C-2, -CH₂-), 25.4 (C-23, -CH₃), 23.9 (C-27, -CH₃), 22.6 (C-30, -CH₃), 22.1 (C-32, -CH₃), 21.5 (C-6, -CH₂-), 19.8 (C-26, -CH₃), 18.8 (C-29, -CH₃), 16.05 (C-25, -CH₃)

MS (CI, 150 eV): m/z (%) = 528 (20), 496 (100), 469 (16), 437 (60), 421 (16), 248 (8)

HRMS (CI, 150 eV): berechnet: 528.7729 für C₃₃H₅₂O₅, gefunden 528.3860

2.1.9 3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure 7



Summenformel: $C_{32}H_{48}O_4$

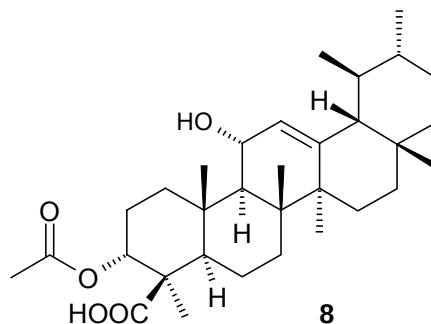
Molmasse: 596.74 g/mol

R_f -Wert: 24.9 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

1H -NMR ($(CD_3)_2CO$, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.70 (d, J = 5.8 Hz, 1H, H-11), 3.49 (d, J = 5.8 Hz, 1H, H-12), 5.25 (t, J = 2.8 Hz, 1H, H-3), 2.19-2.05 (m, 2H, H-2 β , H-16 α), 1.99 (s, 3H, H-32), 1.96-1.26 (m, 15H, H-1 α , H-1 β , H-2 α , H-5, H-6 α , H-6 β , H-7 α , H-7 β , H-15 β , H-18, H-19, H-21 α , H-21 β , H-22 α , H-22 β), 1.21 (s, 3H, H-23), 1.20 (s, 3H, H-26), 1.14 (s, 3H, H-25), 1.10-1.06 (m, 1H, H-15 α), 0.96 (bs, 3H, H-20, H-27), 0.92 (bs, 5H, H-16 β , H-20, H-30), 0.86 (s, 3H, H-28), 0.82 (d, J = 6.5 Hz, 3H, H-29)

^{13}C -NMR ($(CD_3)_2CO$, 125.76 MHz): δ [ppm] = 179.0 (C-24, COOH), 171.3 (C-31, $>C=O$ (Acetoxy)), 155.0 (C-9, $>C<$), 143.2 (C-13, $>C<$), 125.1 (C-12, $H>\underline{C}=C<$), 118.3 (C-11, $H>\underline{C}=C<$), 74.5 (C-3, $HO>CH-$), 59.2 (C-18, $>CH-$), 49.00 (C-5, $>CH-$), 48.4 (C-4, $>C<$), 45.2 (C-14, $>C<$), 43.1 (C-22, $-CH_2-$), 42.4 (C-8, $>C<$), 41.2 (C-20, $>CH-$), 40.9 (C-19, $>CH-$), 40.4 (C-10, $>C<$), 35.4 (C-17, $>C<$), 35.1 (C-1, $-CH_2-$), 33.6 (C-7, $-CH_2-$), 32.9 (C-15, $-CH_2-$), 30.2 (C-28, $-CH_3$), 30.0 (C-16, $-CH_2-$), 27.9 (C-21, $-CH_2-$), 26.1 (C-2, $-CH_2-$), 25.0 (C-23, $-CH_3$), 24.8 (C-26, $-CH_3$), 23.4 (C-25, $-CH_3$), 22.8 (C-30, $-CH_3$), 22.0 (C-32, $-CH_3$), 21.5 (C-6, $-CH_2-$), 18.8 (C-27, $-CH_3$), 18.8 (C-29, $-CH_3$)

2.1.10 3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure 8



Summenformel: $C_{32}H_{50}O_5$

Molmasse: 514.75 g/mol

R_f -Wert: 0.14 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 16.3 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.27 (t, J = 2.4 Hz, 1H, H-3), 5.23 (d, J = 2.90 Hz, 1H, H-12), 4.24 (dd, J = 9.36, 2.94, 1H, H-11), 2.33-2.30 (m, 1H, H-1 β), 2.19-2.09 (m, 2H, H-2 β , H-16 α), 2.04 (s, 3H, H-32), 1.96-1.73 (m, 4H, H-6 α , H-6 β , H-9, H-15 β), 1.56-1.29 (m, 11H, H-1 α , H-2 α , H-5, H-7 α , H-7 β , H-18, H-19, H-21 α , H-21 β , H-22 α , H-22 β), 1.23 (s, 3H, H-27), 1.21 (s, 3H, H-23), 1.15 (s, 3H, H-26), 1.11 (s, 3H, H-25), 1.07-1.04 (m, 1H, H-15 α), 0.93 (bs, 4H, H-20, H-30), 0.91 (bs, 1H, H-16 β), 0.90 (bs, 3H, H-29), 0.83 (s, 3H, H-28)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 179.2 (C-24, COOH), 171.4 (C-31, >C=O (Acetoxy)), 142.2 (C-13, $H=C=C$), 132.6 (C-12, $H>C=C$), 75.1 (C-3, $HO>CH$), 69.4 (C-11, $HO>CH$), 60.18 (C-18, >CH-), 55.2 (C-9, >CH-), 52.4 (C-5, >CH-), 48.3 (C-4, >C), 44.9 (C-14, >C), 44.0 (C-8, >C), 43.2 (C-22, -CH₂-), 41.4 (C-20, >CH-), 41.3 (C-19, >CH-), 40.3 (C-10, >C), 38.3 (C-1, -CH₂-), 35.8 (C-7, -CH₂-), 35.4 (C-17, >C), 32.8 (C-21, -CH₂-), 30.2 (C-28, -CH₃), 29.8 (C-16, -CH₂-), 28.3 (C-15, -CH₂-), 25.5 (C-2, -CH₂-), 25.4 (C-23, -CH₃), 24.3 (C-27, -CH₃), 22.6 (C-30, -CH₃), 22.2 (C-32, -CH₃), 21.5 (C-6, -CH₂-), 19.7 (C-26, -CH₃), 18.9 (C-29, -CH₃), 15.7 (C-25, -CH₃)

MS (CI, 150 eV): m/z (%) = 514 (2), 496 (100) [M-H₂O], 421 (10), 255 (20), 159 (10), 95 (10)

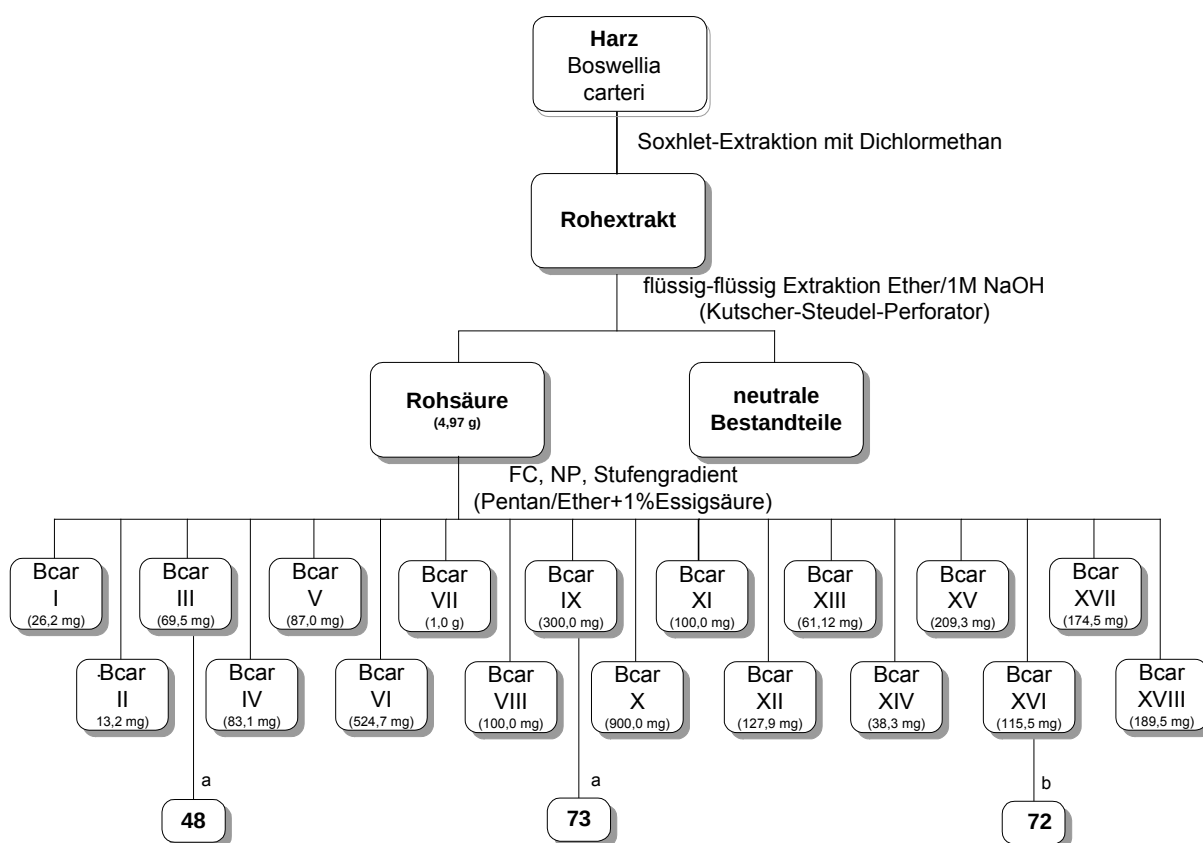
HRMS (CI, 150 eV): berechnet: 496.7211 für C₃₂H₄₈O₄ (C₃₂H₅₀O₅-H₂O); gefunden: 496.3509

2.2 Naturstoffe aus *Boswellia carteri*

2.2.1 Isolierung aus dem Harzmaterial von *Boswellia carteri*

Das Harz von *Boswellia carteri* wird von der Fa. Gerhard Eggebrecht, Süderau, bezogen. Um das Harz leichter zu zerkleinern, wird es vor der Verarbeitung über Nacht im Gefrierschrank aufbewahrt. Die Rohsäurefraktion wird nach dem allgemeinen Extraktionsverfahren gewonnen (siehe Abschnitt E, 1.3).

Die chromatographische Vortrennung wird über eine Kieselgelsäule mit Pentan/Ether-Mischungen und 1% Essigsäure durchgeführt. Nach je 500 ml erhöht sich die Polarität des Eluenten stufenweise (10:1–1:5). Es werden 18 einheitliche Fraktionen gebildet, aus denen anschließend mittels präparativer HPLC die Reinsubstanzen gewonnen werden. (siehe Schema 5).

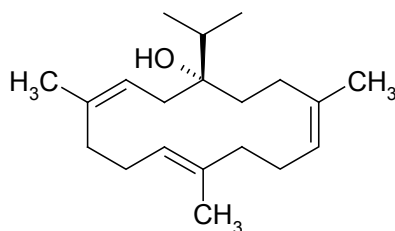


a = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 95:5

b = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 85:15

Schema 5: Trennschema der Isolierung von *Boswellia carteri* (Bcar)

2.2.2 Serratol 48



22

Summenformel: $C_{20}H_{34}O$

Molmasse: 290.49 g/mol

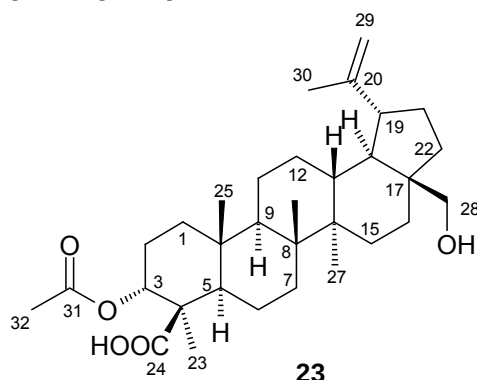
R_f -Wert: 0.44 (SiO_2 , Pentan/Diethylether 1:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 15.86 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

1H -NMR ($(CD_3)_2CO$, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.31 (m, 1H, H-12), 4.96 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-4), 4.85 (m, 1H, H-8), 2.39-2.32 (m, 1H, H-9), 2.26-2.07 (m, 8H, H-5, H-6, H-9, H-10, H-13), 1.93–1.84 (m, 3H, H-2, H-5, H-6), 1.72-1.58 (m, 6H, H-1, H-2, H-15), 1.57-1.56 (br. s, 6H, H-18, H-19), 1.54 (s, 3H, H-20), 0.93 (d, J = 1.8 Hz, 3H, H-16), 0.92 (d, J = 1.8 Hz, 3H, H-17)

^{13}C -NMR ($(CD_3)_2CO$, 125.76 MHz): δ [ppm] = 137.0 (C-3, $H_3C > \underline{C} = C <_H$), 136.1 (C-11, $H_3C > \underline{C} = C <_H$), 134.4 (C-7, $H_3C > \underline{C} = C <_H$), 128.0 (C-8, $H_3C > C = \underline{C} <_H$), 124.9 (C-4, $H_3C > C = \underline{C} <_H$), 124.1 (C-12, $H_3C > \underline{C} = C <_H$), 77.3 (C-14, $>C <$), 41.9 (C-6, $-CH_2-$), 41.1 (C-10, $-CH_2-$), 37.6 (C-1, $-CH_2-$), 36.7 (C-13, $-CH_2-$), 36.0 (C-15, $-CH_3$), 35.7 (C-2, $-CH_2-$), 26.5 (C-9, $-CH_2-$), 25.3 (C-5, $-CH_2-$), 18.1 (C-16, $-CH_3$), 18.0 (C-17, $-CH_3$), 17.2 (C-18, $-CH_3$), 16.3 (C-19, $-CH_3$), 16.0 (C-20, $-CH_3$)

2.2.3 3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure 72



Summenformel: $C_{32}H_{50}O_5$

Molmasse: 514.75 g/mol

R_f -Wert: 0.20 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 12.84 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

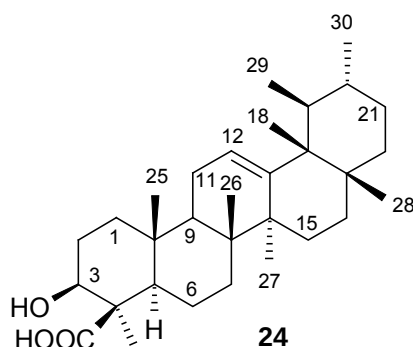
¹H-NMR ((CD₃)OD, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.24 (t, J = 2.7 Hz, 1H, H-3), 4.69 (dd, J = 2.2 Hz, 1H, H-29), 4.58 (dd, J = 2.2 Hz, 1.4 Hz, 1H, H-29), 3.77-3.74 (dd, J = 1.3 Hz, 11.1 Hz, 1H, H-28), 3.29 (s, 1H, H-28), 2.43 (dt, J = 5.9 Hz, 11.1 Hz, 1H, H-19), 2.21-2.13 (m, 1H, H-2 β), 2.08 (s, 3H, H-32), 1.99-1.90 (m, xH, H-6 β , H-16 β , H-21 β , H-22 β), 1.83-1.70 (m, 4H, H-6 α , H-12 β , H-13, H-15 β), 1.70 (s, 3H, H-30), 1.66-1.37 (m, 9H, H-1 β , H-2 α , H-5, H-7 α , H-7 β , H-9, H-11 β , H-18, H-21 α), 1.26-1.20 (m, 2H, H-11 α , H-16 α), 1.17 (s, 3H, H-23), 1.16-1.13 (m, 1H, H-1 α), 1.11 (s, 3H, H-26), 1.10-1.06 (m, 2H, H-12 α , H-15 α), 1.05 (s, 3H, H-27), 1.03-1.00 (m, 1H, H-22 α), 0.84 (s, 3H, H-25)

¹³C-NMR ((CD₃)OD, 125.76 MHz): δ [ppm] = 179.8 (C-24, COOH), 172.4 (C-31, >C=O), 151.9 (C-20, >C=C<H₂), 110.3 (C-29, >C=C<H₂), 75.3 (C-3, AcO>CH-), 60.4 (C-28, -CH₂-OH), 51.8 (C-5, >CH-), 51.1 (C-9, >CH-), 50.0 (C-18, >CH-), 47.8 (C-4, >C<), 43.9 (C-14, >C<), 42.2 (C-8, >C<), 38.9 (C-10, >C<), 38.8 (C-13, >CH-), 35.8 (C-1, -CH₂-), 35.4 (C-7, -CH₂-), 35.1 (C-22, -CH₂-), 30.9 (C-21, -CH₂-), 30.7 (C-17, >C<), 30.4 (C-16, -CH₂-), 28.2 (C-15, -CH₂-), 26.7 (C-12, -CH₂-), 24.8 (C-2, -CH₂-), 24.3 (C-23, -CH₃), 22.2 (C-11, -CH₂-), 21.1 (C-32, -CH₃), 20.8 (C-6, -CH₂-), 19.3 (C-30, -CH₃), 16.5 (C-26, -CH₃), 15.2 (C-27, -CH₃), 14.1 (C-25, -CH₃)

MS (CI, 150 eV): m/z (%) = 483 (100), 434 (40), 380 (80), 334 (28), 203 (16), 175 (16)

HPLC-MS: 514 (35) [M]⁺, 513 (100)

2.2.4 3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure 73



Summenformel: $C_{30}H_{48}O_3$

Molmasse: 456.72 g/mol

R_f -Wert: 0.31 (SiO_2 , Pentan/Diethylether 1:1 + 1% Essigsäure)

R_f -Wert: 25.30 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

1H -NMR ($(CD_3)_2CO$, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.19 (t, J = 3.6 Hz, 1H, H-12), 3.15 (dd, J = 4.5 Hz, 12.1 Hz, 1H, H-3), 2.08-2.06 (m, 1H, H-16 α), 2.00-1.54 (m, 10H, H-1 β , H-2 α , H-2 β , H-6 α , H-6 β , H-7 β , H-9, H-11 α , H-11 β , H-15 β), 1.46-1.43 (m, 2H, H-7 α , H-22 α), 1.41 (s, 3H, H-23), 1.40-1.29 (m, 5H, H-21 α , H-21 β , H-18, H-19, H-22 β), 1.12 (br. s, 4H, H-27, H-1 α), 1.08 (s, 3H, H-26), 1.06-1.00 (m, 2H, H-5, H-15 α), 0.96 (br. s, 3H, H-25), 0.93 (br. s, 4H, H-20, H-30), 0.92-0.88 (m, 1H, H-16 β), 0.83 (s, 3H, H-28), 0.82 (s, 3H, H-29)

^{13}C -NMR ($(CD_3)_2CO$, 125.76 MHz): δ [ppm] = 180.2 (C-24, COOH), 141.4 (C-13, $>\underline{C}=C<_H$), 126.6 (C-12, $>C=\underline{C}<_H$), 79.2 (C-3, $HO>CH-$), 61.1 (C-18, $>CH-$), 57.9 (C-5, $>CH-$), 50.3 (C-4, $>C<$), 48.8 (C-9, $>CH-$), 43.9 (C-14, $>C<$), 43.3 (C-22, $-CH_2-$), 41.7 (C-10, $>C<$), 41.5 (C-19, $>CH-$), 41.4 (C-20, $>CH-$), 41.1 (C-1, $-CH_2-$), 39.1 (C-8, $>CH<$), 35.5 (C-17, $>C<$), 35.0 (C-7, $-CH_2-$), 32.9 (C-21, $-CH_2-$), 30.25 (C-28, $>C<$), 30.1 (C-2, $-CH_2-$), 29.8 (C-16, $-CH_2-$), 28.3 (C-15, $-CH_2-$), 25.4 (C-23, $-CH_3$), 25.3 (C-11, $-CH_2-$), 24.6 (C-27, $-CH_3$), 22.65 (C-30, $-CH_3$), 21.9 (C-6, $-CH_2-$), 18.9 (C-29, $-CH_3$), 18.4 (C-26, $-CH_3$), 15.6 (C-25, $-CH_3$)

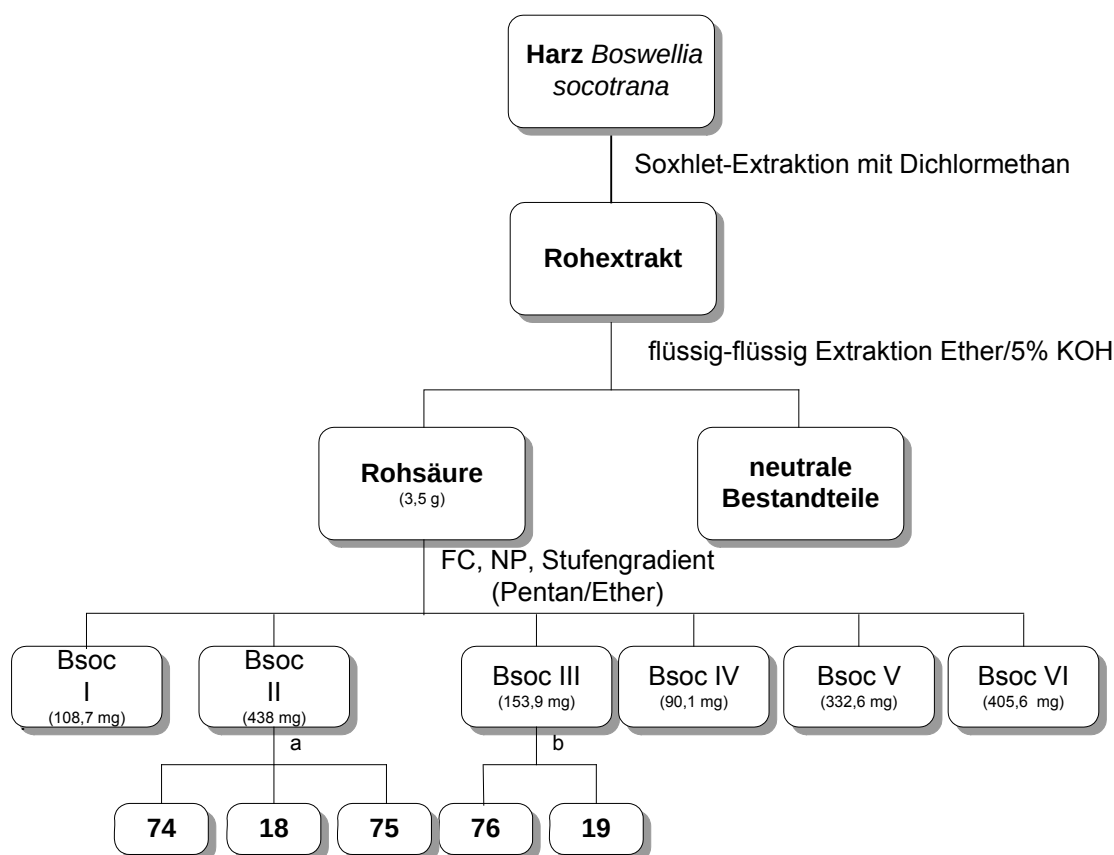
HPLC-MS: 456 (30) $[M]^+$, 455 (100)

2.3 Naturstoffe aus *Boswellia socotrana*

2.3.1 Isolierung aus dem Harzmaterial von *Boswellia socotrana*

Das Harz von *Boswellia socotrana* (Bsoc) stammt aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Museums Berlin-Dahlem. Um das Harz leichter zu zerkleinern, wird es vor der Verarbeitung über Nacht im Gefrierschrank aufbewahrt. Die Rohsäurefraktion wird nach dem allgemeinen Extraktionsverfahren gewonnen (siehe Abschnitt E, 1.3).

Die chromatographische Vortrennung wird über eine Kieselgelsäule mit Pentan/Ether-Mischungen + 1% Essigsäure durchgeführt. Nach je 500 ml erhöht sich die Polarität des Eluenten stufenweise (5:1–1:1). Es werden 6 einheitliche Fraktionen gebildet, aus denen anschließend mittels präparativer HPLC die Reinsubstanzen gewonnen werden (siehe Schema 6).

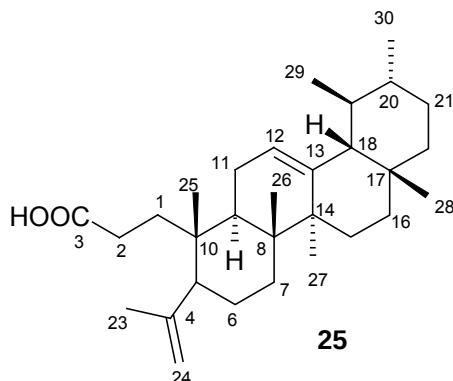


a = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 90:10

b = RP-18, Methanol/Wasser + 0,1 % TFA 95:5

Schema 6: Trennschema der Isolierung von *Boswellia socotrana* (Bsoc)

2.3.2 Robursäure 74



Summenformel: $C_{30}H_{48}O_2$

Molmasse: 440.72 g/mol

R_f -Wert: 0.61 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 34.5 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.21 (dd, J = 3.0 Hz, 4.2 Hz, 1H, H-12), 4.88 (br. s, 1H, H-24), 4.73 (br. s, 1H, H-24), 2.43-2.36 (ddd, J = 4.7 Hz, 11.4 Hz, 15.9 Hz, 1H, H-2 α), 2.24-2.17 (ddd, J = 6.3 Hz, 11.5 Hz, 15.4 Hz, 1H, H-2 β), 2.11-2.06 (m, 3H, H-5, H-11 β , H-16 α), 2.02-1.81 (m, 4H, H-6 β , H-9, H-11 α , H-15 β), 1.78 (s, 3H, H-23), 1.68-1.55 (m, 2H, H-1 α , H-7 α), 1.46-1.29 (m, 8H, H-6 α , H-7 β , H-18, H-19, H-21 α , H-21 β , H-22 α , H-22 β), 1.17 (s, 3H, H-27), 1.11 (s, 3H, H-26), 1.09-1.04 (m, 1H, H-15 α), 0.99 (s, 3H, H-25), 0.94-0.88 (m, 5H, H-16 β , H-20, H-30), 0.84 (m, 6H, H-28, H-29)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 175.9 (C-3, COOH), 149.5 (C-4, $>\underline{C}=\underline{CH}_2$), 141.4 (C-13, $>\underline{C}=\underline{C}<_H$), 126.5 (C-12, $>\underline{C}=\underline{C}<_H$), 114.9 (C-24, $>\underline{C}=\underline{CH}_2$), 61.1 (C-18, $>\underline{CH}-$), 51.9 (C-5, $>\underline{CH}-$), 44.5 (C-8, C-14, $>\underline{C}<$), 43.3 (C-22, $-\underline{CH}_2-$), 41.6 (C-19, $>\underline{CH}-$), 41.4 (C-20, $>\underline{CH}-$), 40.8 (C-10, $>\underline{C}<$), 39.6 (C-9, $>\underline{CH}-$), 36.1 (C-1, $-\underline{CH}_2-$), 35.5 (C-17, $>\underline{C}<$), 33.4 (C-7, $-\underline{CH}_2-$), 32.9 (C-21, $-\underline{CH}_2-$), 30.26 (C-28, CH₃), 29.8 (C-2, $-\underline{CH}_2-$), 29.7 (C-16, $-\underline{CH}_2-$), 28.3 (C-15, $-\underline{CH}_2-$), 26.4 (C-6, $-\underline{CH}_2-$), 25.3 (C-11, $-\underline{CH}_2-$), 25.0 (C-23, $-\underline{CH}_3$), 24.7 (C-27, $-\underline{CH}_3$), 22.7 (C-30, $-\underline{CH}_3$), 21.2 (C-25, $-\underline{CH}_3$), 19.0 (C-29, $-\underline{CH}_3$), 18.5 (C-26, $-\underline{CH}_3$)

Röntgenstrukturanalyse

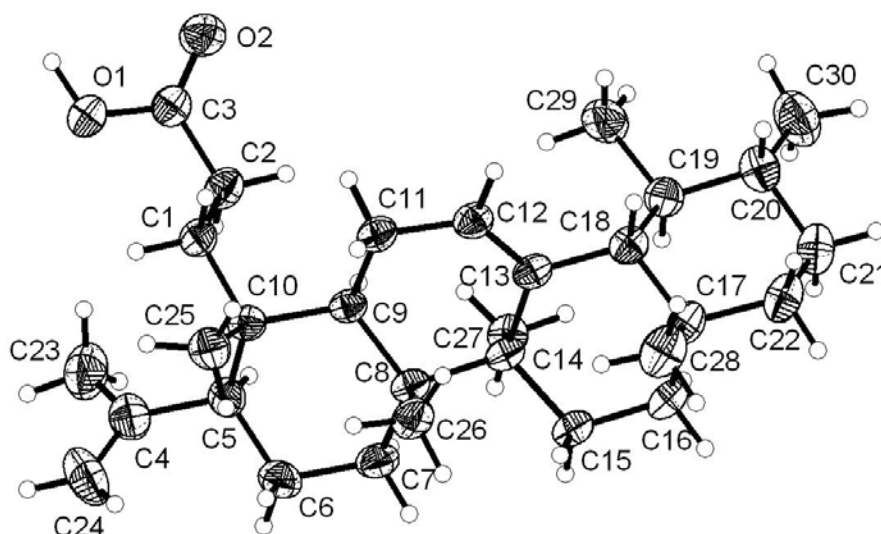


Abbildung 48: ORTEP-Darstellung der Röntgenstruktur von Verbindung 74

Tabelle 24: Röntgenstrukturdaten von Robursäure 74

Identification code	sh2673
Empirical formula	C ₃₀ H ₄₈ O ₂ · C ₄ H ₄ O
Formula weight	472.73
Temperature	213(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2(1)
Unit cell dimensions	$a = 12.068(2) \text{ Å}$ $\alpha = 90^\circ$ $b = 8.1597(16) \text{ Å}$ $\beta = 108.09(3)^\circ$ $c = 15.171(3) \text{ Å}$ $\gamma = 90^\circ$
Volume	1420.1(5) Å ³
Z	2
Density (calculated)	1.106 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.069 mm ⁻¹
F(000)	524
Crystal size	0.33 x 0.27 x 0.11 mm ³
Theta range for data collection	2.59 to 28.30°
Index ranges	-15 ≤ h ≤ 15, -10 ≤ k ≤ 10, -19 ≤ l ≤ 19
Reflections collected	10717
Independent reflections	6429 [R(int) = 0.0554]

Completeness to theta = 28.30°	96.0 %
Absorption correction	None
Max. and min. transmission	0.9925 and 0.9777
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	6429 / 1 / 323
Goodness-of-fit on F ²	0.790
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0390, wR2 = 0.0681
R indices (all data)	R1 = 0.1045, wR2 = 0.0836
Absolute structure parameter	2.7(13)
Largest diff. peak and hole	0.198 and -0.170 e.Å ⁻³

Tabelle 25: Atomkoordinaten (x 10⁴) und äquivalente isotrope Auslenkungsparameter (Å² x 10³) für **74**. U(eq) ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalen U^{ij} Tensors

Atom	x	y	z	U(eq)
O(1)	3483(2)	8975(2)	892(1)	55(1)
O(2)	4768(2)	8378(2)	147(1)	52(1)
C(23)	1850(2)	5325(4)	1773(2)	68(1)
C(24)	2256(3)	4942(4)	3468(2)	70(1)
C(10)	4847(2)	5270(3)	2973(1)	32(1)
C(9)	5935(2)	4295(3)	2876(1)	31(1)
C(5)	3793(2)	4040(3)	2746(2)	36(1)
C(18)	9276(2)	2017(3)	2863(1)	35(1)
C(16)	8673(2)	-673(3)	3376(2)	39(1)
C(17)	9683(2)	565(3)	3551(2)	38(1)
C(13)	8159(2)	2781(3)	2961(1)	31(1)
C(8)	6234(2)	2612(3)	3386(1)	31(1)
C(11)	7034(2)	5356(3)	3068(2)	36(1)
C(19)	9248(2)	1576(3)	1849(1)	39(1)
C(14)	7122(2)	1667(3)	2955(1)	30(1)
C(1)	4597(2)	6745(3)	2288(1)	35(1)
C(15)	7579(2)	66(3)	3526(2)	38(1)
C(12)	8080(2)	4403(3)	3018(1)	35(1)
C(3)	4263(2)	8000(3)	709(2)	38(1)
C(6)	4095(2)	2548(3)	3396(2)	44(1)
C(22)	10791(2)	-236(3)	3436(2)	49(1)
C(7)	5114(2)	1597(3)	3251(2)	42(1)
C(20)	10432(2)	905(3)	1818(2)	46(1)

C(25)	5023(2)	6083(3)	3939(1)	42(1)
C(26)	6809(2)	2912(3)	4444(1)	43(1)
C(4)	2614(2)	4812(3)	2705(2)	49(1)
C(2)	4477(2)	6429(3)	1259(1)	41(1)
C(27)	6513(2)	1116(3)	1944(1)	37(1)
C(21)	10756(2)	-611(3)	2439(2)	50(1)
C(29)	8830(2)	3030(4)	1193(2)	55(1)
C(28)	10007(2)	1201(3)	4560(1)	53(1)
C(30)	10469(3)	502(4)	834(2)	70(1)
O(5)	3382(2)	1908(3)	10185(1)	68(1)
C(31)	2439(3)	2431(4)	9455(2)	76(1)

Tabelle 26: Bindungslängen [Å] und Bindungswinkel [°] für **74** (zum generieren der äquivalenten Atome wurden Symmetrieoperationen benutzt)

Atome	Bindungslänge [Å]	Atome	Bindungswinkel [°]
O(1)-C(3)	1.327(3)	C(1)-C(10)-C(25)	103.87(18)
O(2)-C(3)	1.230(2)	C(1)-C(10)-C(5)	111.78(19)
C(23)-C(4)	1.489(4)	C(25)-C(10)-C(5)	109.98(17)
C(24)-C(4)	1.361(3)	C(1)-C(10)-C(9)	108.75(16)
C(10)-C(1)	1.557(3)	C(25)-C(10)-C(9)	115.24(19)
C(10)-C(25)	1.562(3)	C(5)-C(10)-C(9)	107.28(18)
C(10)-C(5)	1.572(3)	C(11)-C(9)-C(8)	110.39(18)
C(10)-C(9)	1.580(3)	C(11)-C(9)-C(10)	113.11(19)
C(9)-C(11)	1.535(3)	C(8)-C(9)-C(10)	117.89(17)
C(9)-C(8)	1.562(3)	C(6)-C(5)-C(4)	112.50(19)
C(5)-C(6)	1.538(3)	C(6)-C(5)-C(10)	110.48(19)
C(5)-C(4)	1.539(3)	C(4)-C(5)-C(10)	115.0(2)
C(18)-C(13)	1.533(3)	C(13)-C(18)-C(17)	110.46(17)
C(18)-C(17)	1.554(3)	C(13)-C(18)-C(19)	115.83(18)
C(18)-C(19)	1.570(3)	C(17)-C(18)-C(19)	112.89(19)
C(16)-C(15)	1.531(3)	C(15)-C(16)-C(17)	112.9(2)
C(16)-C(17)	1.542(3)	C(16)-C(17)-C(22)	111.67(19)
C(17)-C(22)	1.546(3)	C(16)-C(17)-C(28)	109.43(19)
C(17)-C(28)	1.547(3)	C(22)-C(17)-C(28)	107.0(2)
C(13)-C(12)	1.332(3)	C(16)-C(17)-C(18)	108.41(18)
C(13)-C(14)	1.544(3)	C(22)-C(17)-C(18)	110.56(19)
C(8)-C(7)	1.544(3)	C(28)-C(17)-C(18)	109.8(2)
C(8)-C(26)	1.558(3)	C(12)-C(13)-C(18)	119.6(2)

Physikalische Daten der Naturstoffe – *Boswellia socotrana*

C(8)-C(14)	1.614(3)	C(12)-C(13)-C(14)	120.7(2)
C(11)-C(12)	1.504(3)	C(18)-C(13)-C(14)	119.7(2)
C(19)-C(29)	1.530(3)	C(7)-C(8)-C(26)	108.20(17)
C(19)-C(20)	1.544(3)	C(7)-C(8)-C(9)	110.36(18)
C(14)-C(27)	1.547(3)	C(26)-C(8)-C(9)	109.44(17)
C(14)-C(15)	1.570(3)	C(7)-C(8)-C(14)	110.73(17)
C(1)-C(2)	1.544(3)	C(26)-C(8)-C(14)	110.66(17)
C(3)-C(2)	1.508(3)	C(9)-C(8)-C(14)	107.47(15)
C(6)-C(7)	1.526(3)	C(12)-C(11)-C(9)	112.86(19)
C(22)-C(21)	1.530(3)	C(29)-C(19)-C(20)	112.12(18)
C(20)-C(21)	1.531(4)	C(29)-C(19)-C(18)	111.2(2)
C(20)-C(30)	1.543(3)	C(20)-C(19)-C(18)	111.90(18)
O(5)-C(31)	1.386(3)	C(13)-C(14)-C(27)	108.16(16)
		C(13)-C(14)-C(15)	109.95(18)
		C(27)-C(14)-C(15)	106.40(18)
		C(13)-C(14)-C(8)	110.81(17)
		C(27)-C(14)-C(8)	111.70(17)
		C(15)-C(14)-C(8)	109.71(15)
		C(2)-C(1)-C(10)	118.90(18)
		C(16)-C(15)-C(14)	114.63(17)
		C(13)-C(12)-C(11)	126.5(2)
		O(2)-C(3)-O(1)	122.1(2)
		O(2)-C(3)-C(2)	124.1(2)
		O(1)-C(3)-C(2)	113.8(2)
		C(7)-C(6)-C(5)	110.60(18)
		C(21)-C(22)-C(17)	115.9(2)
		C(6)-C(7)-C(8)	114.8(2)
		C(21)-C(20)-C(30)	110.2(2)
		C(21)-C(20)-C(19)	109.2(2)
		C(30)-C(20)-C(19)	114.3(2)
		C(24)-C(4)-C(23)	121.3(3)
		C(24)-C(4)-C(5)	122.1(3)
		C(23)-C(4)-C(5)	116.5(2)
		C(3)-C(2)-C(1)	111.35(18)
		C(22)-C(21)-C(20)	111.8(2)

Tabelle 27: Anisotrope Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) für 74. Der anisotrope Auslenkungsfaktor lautet: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
O(1)	53(1)	51(1)	67(1)	23(1)	26(1)	18(1)
O(2)	66(1)	47(1)	49(1)	5(1)	26(1)	4(1)
C(23)	46(2)	53(2)	98(2)	-3(2)	14(2)	4(2)
C(24)	55(2)	68(2)	101(2)	-31(2)	45(2)	-8(2)
C(10)	39(1)	27(1)	32(1)	-4(1)	13(1)	-4(1)
C(9)	36(1)	27(1)	29(1)	-1(1)	10(1)	-2(1)
C(5)	39(1)	31(1)	40(1)	-7(1)	16(1)	-2(1)
C(18)	34(1)	30(1)	36(1)	-2(1)	6(1)	-4(1)
C(16)	52(2)	25(1)	35(1)	4(1)	7(1)	5(1)
C(17)	40(1)	34(1)	33(1)	1(1)	0(1)	5(1)
C(13)	35(1)	29(1)	26(1)	2(1)	4(1)	-2(1)
C(8)	39(1)	26(1)	29(1)	1(1)	10(1)	-3(1)
C(11)	41(1)	25(1)	42(1)	-1(1)	13(1)	-4(1)
C(19)	36(1)	41(2)	38(1)	3(1)	10(1)	1(1)
C(14)	37(1)	25(1)	26(1)	1(1)	6(1)	-3(1)
C(1)	37(1)	28(1)	38(1)	-4(1)	12(1)	-1(1)
C(15)	48(2)	28(1)	39(1)	6(1)	13(1)	0(1)
C(12)	36(1)	29(1)	39(1)	0(1)	9(1)	-5(1)
C(3)	37(1)	39(2)	35(1)	0(1)	7(1)	0(1)
C(6)	46(2)	39(2)	56(2)	-4(1)	27(1)	-8(1)
C(22)	45(2)	40(2)	54(2)	1(1)	4(1)	10(1)
C(7)	53(2)	29(1)	50(1)	3(1)	23(1)	-5(1)
C(20)	39(1)	51(2)	49(1)	-4(1)	14(1)	1(1)
C(25)	50(2)	42(2)	37(1)	-6(1)	18(1)	0(1)
C(26)	59(2)	42(2)	31(1)	6(1)	16(1)	9(1)
C(4)	40(2)	37(2)	72(2)	-12(1)	20(1)	-8(1)
C(2)	49(2)	33(2)	39(1)	0(1)	13(1)	5(1)
C(27)	40(1)	35(1)	37(1)	-5(1)	10(1)	-4(1)
C(21)	43(2)	46(2)	59(2)	-6(1)	13(1)	10(1)
C(29)	51(2)	71(2)	47(1)	16(1)	20(1)	8(2)
C(28)	58(2)	53(2)	37(1)	-2(1)	-1(1)	6(1)
C(30)	66(2)	83(2)	70(2)	-4(2)	37(2)	12(2)
O(5)	62(1)	61(1)	83(2)	32(1)	26(1)	12(1)
C(31)	66(2)	79(2)	81(2)	36(2)	20(2)	8(2)

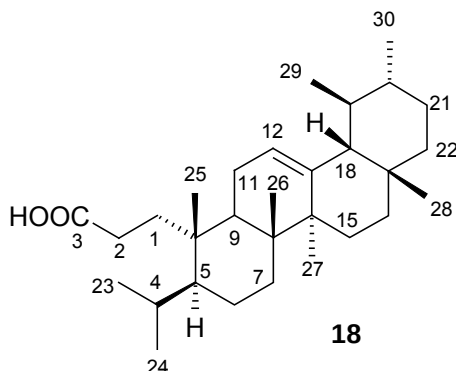
Tabelle 28: Wasserstoffkoordinaten ($\times 10^4$) und isotrope Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \times 10^{-3}$) für **74**

Atom	x	y	z	U(eq)
H(1)	3370(30)	10050(60)	570(30)	134(15)
H(23A)	1099	5670	1816	102
H(23B)	1741	4411	1346	102
H(23C)	2210	6229	1549	102
H(24A)	1512	5363	3413	83
H(24B)	2752	4612	4051	83
H(9)	5725	4020	2209	37
H(5)	3699	3617	2116	43
H(18)	9885	2869	3076	41
H(16A)	8477	-1079	2738	47
H(16B)	8929	-1611	3793	47
H(11A)	6884	6250	2615	43
H(11B)	7207	5844	3686	43
H(19)	8669	688	1631	46
H(1A)	3875	7266	2310	41
H(1B)	5225	7545	2526	41
H(15A)	7747	313	4187	46
H(15B)	6957	-757	3361	46
H(12)	8744	5014	3028	42
H(6A)	4302	2916	4042	53
H(6B)	3414	1829	3274	53
H(22A)	11454	492	3713	59
H(22B)	10937	-1262	3789	59
H(7A)	4868	1145	2621	51
H(7B)	5297	672	3685	51
H(20)	11028	1755	2081	55
H(25A)	5768	6644	4137	63
H(25B)	5008	5244	4389	63
H(25C)	4402	6865	3892	63
H(26A)	6334	3668	4665	65
H(26B)	7581	3373	4553	65
H(26C)	6871	1880	4773	65
H(2A)	5192	5912	1216	49
H(2B)	3829	5671	995	49
H(27A)	6186	2064	1567	56

Physikalische Daten der Naturstoffe – *Boswellia socotrana*

H(27B)	5895	347	1931	56
H(27C)	7078	590	1700	56
H(21A)	10184	-1479	2188	60
H(21B)	11521	-1012	2439	60
H(29A)	9372	3934	1392	83
H(29B)	8064	3368	1204	83
H(29C)	8789	2709	568	83
H(28A)	9347	1780	4647	79
H(28B)	10667	1938	4680	79
H(28C)	10209	281	4985	79
H(30A)	11208	-11	874	104
H(30B)	10385	1504	475	104
H(30C)	9837	-241	533	104
H(2)	4090(30)	2320(50)	10030(30)	137(15)
H(31A)	2314	3593	9521	114
H(31B)	1748	1829	9459	114
H(31C)	2595	2238	8874	114

2.3.3 4(23)-Dihydro-Robursäure 18



Summenformel: $C_{30}H_{48}O_2$

Molmasse: 442.73 g/mol

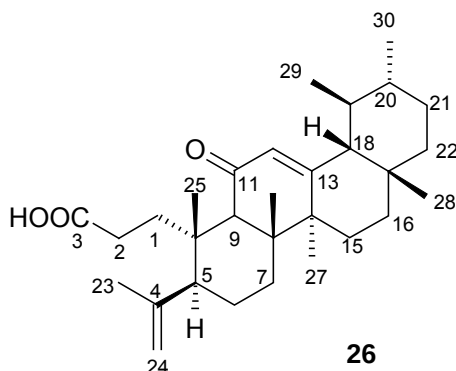
R_f -Wert: 0.61 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_T -Wert: 37.8 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.21 (t, J = 3.6 Hz, 1H, H-12), 2.19 (t, J = 8.4 Hz, 2H, H-1 β , H-2 α), 2.09-2.06 (m, 1H, H-6 α), 2.00-1.82 (m, 5H, H-4, H-9, H-11 α , H-11 β , H-15 β), 1.73-1.67 (m, 2H, H-1 α , H-2 β), 1.59-1.52 (m, 2H, H-6 β , H-7 α), 1.46-1.29 (m, 8H, H-6 α , H-7 β , H-18, H-19, H-21 α , H-21 β , H-22 α , H-22 β), 1.15 (br. s, 4H, H-5, H-27), 1.08 (s, 3H, H-26), 1.06-1.04 (m, 1H, H-15 α), 0.97 (s, 3H, H-25), 0.95 (br. s, 3H, H-23), 0.94-0.92 (d, J = 8.3 Hz, 4H, H-30, H-20), 0.86 (d, J = 6.8 Hz, 3H, H-24), 0.83 (d, J = 5.7 Hz, 6H, H-28, H-29)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 175.9 (C-3, COOH, aus HMBC), 141.4 (C-13, $>\underline{C}=C<_H$), 126.7 (C-12, $>C=\underline{C}<_H$), 61.1 (C-18, $>CH-$), 49.4 (C-5, $>CH-$), 44.5 (C-8, C-14, $>C<$), 43.3 (C-22, $-CH_2-$), 41.7 (C-10, $>C<$), 41.6 (C-19, $>CH-$), 41.4 (C-20, $>CH-$), 39.6 (C-9, $>CH-$), 35.5 (C-17, $>C<$), 35.1 (C-1, $-CH_2-$), 33.8 (C-7, $-CH_2-$), 32.9 (C-21, $-CH_2-$), 30.26 (C-28, CH₃), 29.8 (C-2, $-CH_2-$), 29.7 (C-16, $-CH_2-$), 28.3 (C-15, $-CH_2-$), 26.8 (C-4, $>C<$), 26.1 (C-23, $-CH_3$), 25.4 (C-11, $-CH_2-$), 24.5 (C-27, $-CH_3$), 22.6 (C-30, $-CH_3$), 21.0 (C-25, $-CH_3$), 20.3 (C-24, $-CH_3$), 19.9 (C-6, $-CH_2-$), 19.0 (C-29, $-CH_3$), 18.6 (C-26, $-CH_3$)

2.3.4 Keto-Robursäure 75



Summenformel: $C_{30}H_{46}O_3$

Molmasse: 454.70 g/mol

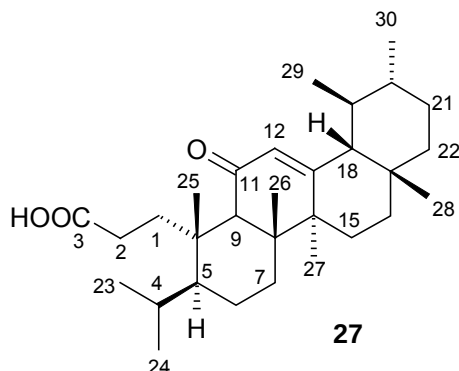
R_f -Wert: 0.44 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_T -Wert: 20.7 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.51 (s, 1H, H-12), 4.90 (s, 1H, H-24), 4.75 (s, 1H, H-24), 2.72 (s, 1H, H-9), 2.66-2.57 (m, 1H, H-1 β), 2.40-2.34 (m, 1H, H-2 β), 2.23-2.09 (m, 3H, H-2 α , H-5, H-16 α), 1.94-1.80 (m, 3H, H-7 α , H-15 β , H-21 β), 1.78 (s, 3H, H-23), 1.71-1.45 (m, 5H, H-1 α , H-6 α , H-18, H-19, H-21 α , H-22 α), 1.42 (s, 3H, H-27), 1.39-1.26 (m, 4H, H-6 β , H-7 β , H-15 α , H-22 β), 1.24 (s, 3H, H-26), 1.20 (s, 3H, H-25), 1.17-1.00 (m, 1H, H-16 β), 0.97 (br. s, 4H, H-20, H-30), 0.88 (s, 3H, H-28), 0.84 (dd, J = 6.5 Hz, 3H, H-29)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 199.9 (C-11, >C=O), 176.0 (C-3, COOH), 165.9 (C-13, >C=C<_H), 148.9 (C-4, >C=CH₂), 132.1 (126.5 (C-12, >C=C<_H), 115.4 (C-24, >C=CH₂), 60.7 (C-18, >CH-), 53.9 (C-9, >CH-), 52.0 (C-5, >CH-), 46.5 (C-10, >C<), 45.9 (C-8), 42.7 (C-22, -CH₂-), 41.1 (C-20, >CH-), 40.9 (C-19, >CH-), 40.4 (C-14, >C<), 36.5 (C-1, -CH₂-), 35.6 (C-17, >C<), 33.1 (C-7, -CH₂-), 32.6 (C-6, -CH₂-), 30.4 (C-2, -CH₂-), 30.25 (C-28, CH₃), 29.2 (C-16, -CH₂), 29.0 (C-15, -CH₂), 25.8 (C-21, -CH₂-), 25.0 (C-23, -CH₃), 22.4 (C-30, -CH₃), 21.9 (C-27, -CH₃), 21.1 (C-25, -CH₃), 19.9 (C-26, -CH₃), 18.8 (C-29, -CH₃)

2.3.5 4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure 76



Summenformel: $C_{30}H_{48}O_3$

Molmasse: 456.72 g/mol

R_f -Wert: 0.44 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 22.4 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

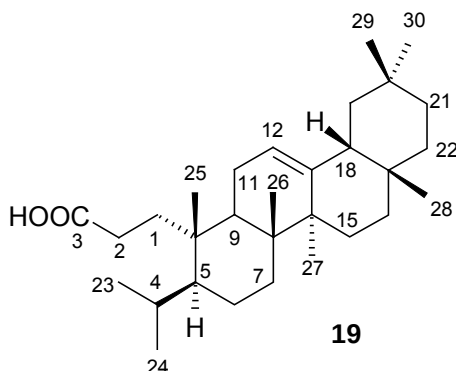
¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.50 (s, 1H, H-12), 2.76-2.72 (m, H-1 β , H-9), 2.24-2.09 (m, 3H, H-2 α , H-2 β , H-16 α), 2.00-1.47 (m, 10H, H-1 α , H-4, H-6 α , H-7 β , H-15 β , H-18, H-19, H-21 α , H-21 β , H-22 α), 1.40 (s, 3H, H-27), 1.39-1.37 (m, 1H, H-7 α), 1.29-1.26 (m, 1H, H-15 α), 1.21-1.20 (d, 6H, H-25, H-26), 1.14-1.11 (m, 2H, H-5, H-6 β), 1.05 (s, 1H, H-16 β), 0.98-0.91 (m, 7H, H-20, H-23, H-30), 0.86-0.85 (m, 6H, H-24, H-28), 0.83 (d, J = 6.4 Hz, 3H, H-29)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 200.0 (C-11, >C=O), 176.2 (C-3, COOH), 165.6 (C-13, >C=C<_H), 132.3 (C-12, >C=C<_H), 60.7 (C-18, >CH-), 53.8 (C-9, >CH-), 49.2 (C-5, >CH-), 46.6 (C-10, C-14, >C<), 45.9 (C-8, >C<), 42.7 (C-22, -CH₂-), 41.1 (C-20, >CH-), 40.9 (C-19, >CH-), 35.7 (C-17, >C<), 35.4 (C-1, -CH₂-), 32.6 (aus DEPT 135, C-7, -CH₂-), 30.37 (aus DEPT 135, C-2, -CH₂-), 30.2 (C-28, -CH₃), 29.2 (C-16, -CH₂-), 28.9 (C-15, -CH₂-), 26.1 (C-4, >C<), 26.0 (C-23, -CH₃), 22.4 (C-30, -CH₃), 21.8 (C-27, -CH₃), 20.7 (C-25, -CH₃), 20.3 (C-24, -CH₃), 19.9 (C-26, -CH₃), 19.2 (C-6, -CH₂-), 18.8 (C-29, -CH₃)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 456 (4), 273 (28), 193 (20), 155 (28), 137 (30), 91 (100)

HRMS (EI, 70 eV): berechnet: 456.7093 für C₃₀H₄₈O₃; gefunden: 456.3600

2.3.6 4(23)-Dihydro-Nycthantinsäure 19



Summenformel: $C_{30}H_{50}O_2$

Molmasse: 442.73 g/mol

R_f -Wert: 0.61 (SiO₂, Pentan/Diethylether 2:1 + 1% Essigsäure)

R_t -Wert: 36.9 min (Standard-Gradient, Säule (2) und (3))

¹H-NMR ((CD₃)₂CO, 500.13 MHz): δ [ppm] = 5.24 (t, J = 3.4 Hz, 1H, H-12), 2.18 (m, 2H, H-1 β , H-2 α), 2.10-2.06 (m, 1H, H-6 α), 2.00-1.66 (m, 8H, H-1 α , H-2 β , H-4, H-9, H-11 α , H-11 β , H-15 β , H-18, H-19 β), 1.56-1.22 (m, 6H, H-6 α , H-7 α , H-7 β , H-21 α , H-22 α , H-22 β), 1.20 (s, 3H, H-27), 1.13-1.11 (m, 2H, H-5, H-6 β , H-21 β), 1.05 (m, 5H, H-15 α , H-19 α , H-26), 0.96 (s, 3H, H-25), 0.94 (s, 3H, H-23), 0.89 (d, 6H, H-29, H-30), 0.87 (s, 3H, H-28), 0.86-0.84 (d, 4H, H-16 β , H-24)

¹³C-NMR ((CD₃)₂CO, 125.76 MHz): δ [ppm] = 176.1 (C-3, COOH), 146.8 (C-13, $>\underline{C}=\underline{C}<_H$), 123.9 (C-12, $>\underline{C}=\underline{C}<_H$), 49.4 (C-5, $>\underline{CH}-$), 49.2 (C-18, $>\underline{CH}-$), 48.6 (C-19, $>\underline{CH}-$), 44.1 (C-14, $>\underline{C}<$), 41.5 (C-8, C-10 $>\underline{C}<$), 39.6 (C-9, $>\underline{CH}-$), 38.7 (C-22, $-\underline{CH}_2-$), 36.4 (C-21, $-\underline{CH}_2-$), 34.9 (C-1, $-\underline{CH}_2-$), 34.6 (C-30, $-\underline{CH}_3$), 34.3 (C-17, $>\underline{C}<$), 33.4 (C-7, $-\underline{CH}_2-$), 32.7 (C-20, $>\underline{C}<$), 29.8 (C-28, $\underline{CH}_3$), 29.7 (C-2, $-\underline{CH}_2-$), 28.6 (C-16, $-\underline{CH}_2$), 27.9 (C-15, $-\underline{CH}_2-$), 27.2 (C-27, $-\underline{CH}_3$), 26.8 (C-4, $>\underline{C}<$), 26.2 (C-23, $-\underline{CH}_3$), 25.5 (C-11, $-\underline{CH}_2-$), 24.9 (C-29, $-\underline{CH}_3$), 20.8 (C-25, $-\underline{CH}_3$), 20.3 (C-24, $-\underline{CH}_3$), 19.9 (C-6, $-\underline{CH}_2-$), 18.40 (C-26, $-\underline{CH}_3$)

MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 442 (24) [M]⁺, 427 (16), 218 (100), 203 (40), 91 (44)

HRMS (EI, 70 eV): berechnet: 442.7258 für $C_{30}H_{50}O_2$; gefunden: 442.3780

2.4 NMR-Tabellen

2.4.1 Übersicht Lupansäuren

Atom-Nr.	Lupansäure			3 α -O-Acetyl-Lupansäure			3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure		
	¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]	
		α	β		α	β		α	β
1	35.81	1.36	1.34	36.32	1.21	1.53	35.82	1.16	1.54
2	28.30	1.51	2.16	25.48	1.58	2.16	24.89	1.58	2.17
3	71.67	3.97		75.04		5.25	75.35		5.24
4				48.26			47.82		
5	50.34	1.56		52.13	1.49		51.80	1.44	
6	21.62	1.66	1.95	21.51	1.71	1.95	20.88	1.70	1.95
7	36.04	1.41	1.44	35.96	1.44	1.47	35.35	1.43	1.46
8				42.65			42.18		
9	51.51	1.43		51.56	1.44		51.13	1.40	
10				39.43			38.85		
11	22.79	1.23	1.48	22.82	1.25	1.48	22.17	1.22	1.47
12	27.14	1.11	1.71	27.09	1.72	1.13	26.72	1.09	1.69
13	39.91	1.71		40.01	1.74		38.74		1.71
14				44.76			43.94		
15	29.13	1.06	1.71	29.21	1.07	1.75	28.17	1.08	1.79
16	41.67	1.24	1.38	41.62	1.26	1.40	30.40	1.20	1.98
17				44.66			30.71		
18	49.99	1.45		50.01	1.47		50.03	1.63	
19	49.76	2.44		49.81	2.46		49.42	2.43	
20				152.51			151.89		
21	31.47	1.95	2.06	31.57	1.33	1.96	30.91	1.38	1.98
22	37.33	1.41	1.50	37.27	1.43	1.52	35.14	1.00	1.93
23	25.61	1.24		25.03	1.19		24.31	1.17	
24				178.95			179.82		
25	15.18	0.83		15.02	0.86		14.14	0.84	
26	17.52	1.10		17.40	1.11		16.48	1.11	
27	15.88	1.01		16.01	1.03		15.24	1.06	
28	19.28	0.83		19.34	0.84		60.42	3.29	3.76
29	111.06	4.57	4.70	110.98	4.58	4.72	110.28	4.58	4.69
30	20.45	1.69		20.51	1.71		19.42	1.70	
31				171.40			172.35		
32				22.12	2.05		21.20	2.08	

2.4.2 Übersicht Tirucallensäuren

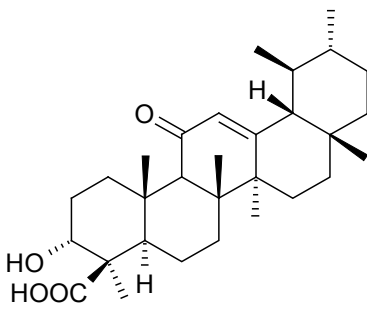
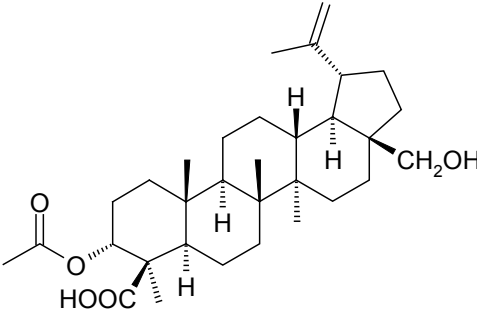
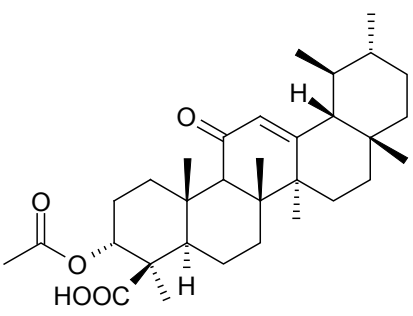
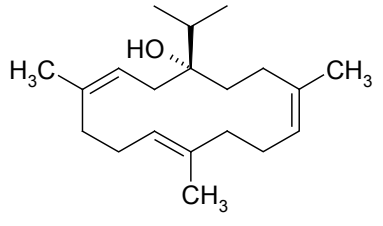
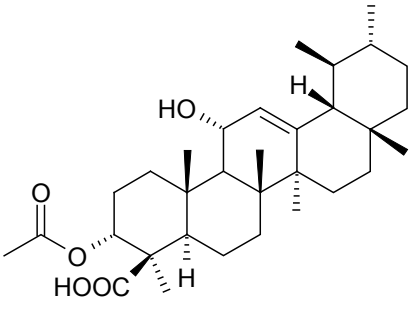
Atom-Nr.	3 β -Hydroxy-Tirucallensäure			3 α -Hydroxy-Tirucallensäure			3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure			3-Oxo-Tirucallensäure			3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure		
	¹³ C	¹ H		¹³ C	¹ H		¹³ C	¹ H		¹³ C	¹ H		¹³ C	¹ H	
	δ [ppm]	δ [ppm]		δ [ppm]	δ [ppm]		δ [ppm]	δ [ppm]		δ [ppm]	δ [ppm]		δ [ppm]	δ [ppm]	
		α	β		α	β		α	β		α	β		α	β
1	34.72	1.08	1.66	31.53	1.41	1.67	32.15	1.54	1.46	37.13	1.64	2.00	33.05	1.61	1.30
2	27.51	1.50	1.47	27.88	1.57	1.93	25.01	1.62	1.93	35.88	2.41	2.53	27.49	1.56	1.91
3	76.56	3.00		76.40		3.35	79.07		4.61	217.30			76.74	3.38	
4	38.45			39.33			38.46			38.94			39.08		
5	50.53	1.01		46.37	1.71		47.79	1.65		53.25	1.76		46.24	1.86	
6	18.44	1.33	1.63	20.47	1.62	1.42	20.43	1.67	1.47	21.93	1.52	1.67	25.65	2.05	1.91
7	27.08	2.05	1.85	29.05	2.11	1.95	28.84	2.14	1.96	29.19	2.02	2.18	120.19	5.28	
8	132.44			134.69			134.92			136.22			147.66		
9	133.84			136.63			136.27			134.83			50.42	2.37	
10	36.73			38.99			38.93			48.64			36.51		
11	20.72	1.83	1.91	23.02	2.09	1.94	23.01	?	1.98	22.91	2.04	2.18	19.10	1.96	1.51
12	28.22	1.37	1.50	30.61	1.50	1.65	30.58	1.66	1.52	30.54	1.53	1.68	32.25	1.52	1.77
13	43.30			45.68			45.67			45.71			45.13		
14	48.97			45.68			51.42			51.48			52.80		
15	28.87	1.47	1.23	31.09	1.59	1.25	31.08	1.63	1.27	31.07	1.61	1.29	35.29	1.57	1.49
16	32.11	1.39	?	28.50	1.40	1.97	28.51	1.42	1.99	28.52	1.42	2.00	28.79	1.32	1.99
17	46.20		1.92	48.63		2.06	48.63		2.07	48.70		2.09	51.50		2.05
18	19.88		0.88	21.43		0.97	21.30		1.00	21.05		1.07	14.46		0.79
19	15.37	0.73		17.14	0.87		17.20	0.89		17.17	0.86		23.09	0.93	
20	47.23	2.09		49.38	2.27		49.35	2.29		49.40	2.28		49.19	2.27	
21	176.83			178.48			178.29			178.31			178.15		
22	26.21	1.91	1.42	34.35	1.53	1.96	34.35	1.53	?	34.34	1.55	?	34.26	1.53	?
23	25.43	1.83	?	27.66	1.06	2.02	27.68	1.96	?	27.69	1.99	?	27.74	1.99	?
24	123.71	5.07		125.81	5.12		125.81	5.13		125.82	5.13		125.82	5.12	
25	131.03			133.19			133.22			133.23			133.23		
26	25.35	1.63		26.81	1.65		26.82	1.66		26.82	1.66		26.82	1.66	
27	17.34	1.52		18.68	1.58		18.69	1.58		18.69	1.58		18.69	1.56	
28	15.85	0.68		29.83	0.95		29.06	0.88		28.01	1.07		23.24	0.91	
29	28.08	0.90		23.70	0.84		23.22	0.93		22.39	1.03		29.53	0.92	
30	24.06	0.81		25.76	0.90		25.77	0.92		25.56	0.94		28.65	1.00	
31							171.47								
32							22.10	2.00							

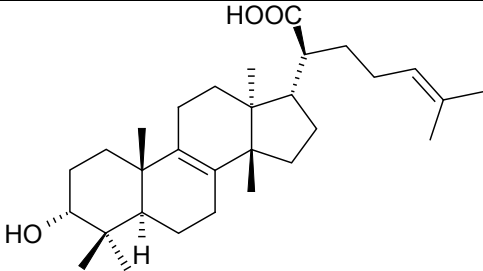
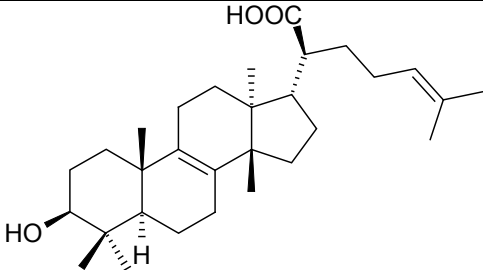
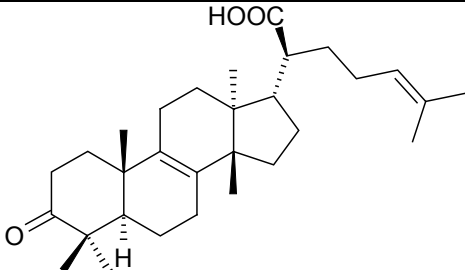
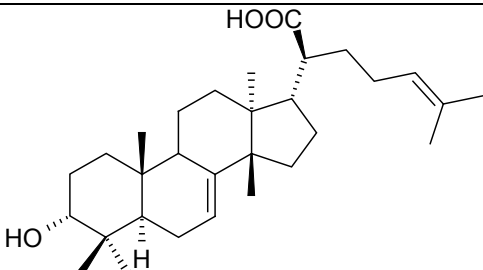
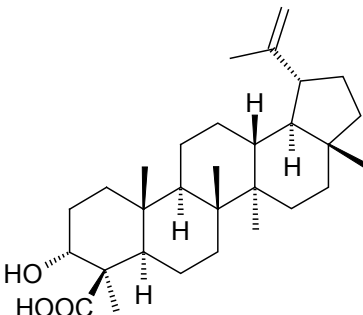
2.4.3 Übersicht Boswelliasäuren / Artefakte

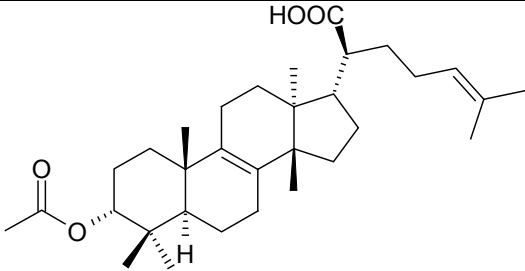
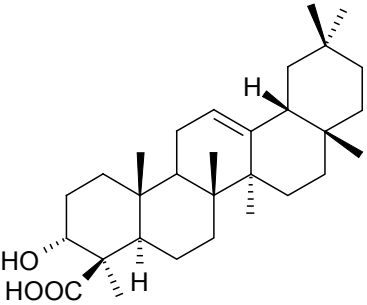
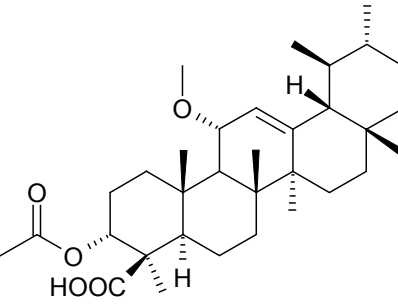
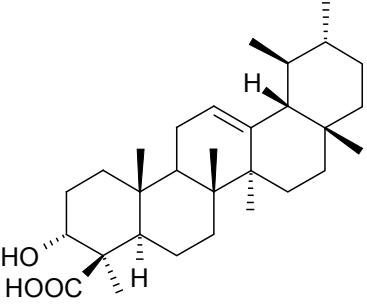
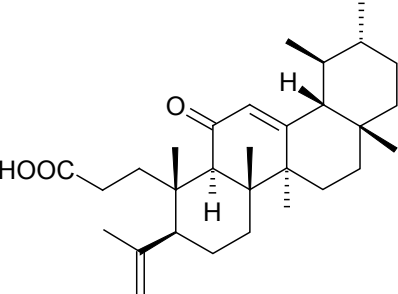
Atom-Nr.	3 α -O-Acetyl-11 α -MeO- β -Boswelliasäure			3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure			3 α -O-Acetyl-11 α -Hydroxy- β -Boswelliasäure			3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure			3 α -Hydroxy- β -Boswelliasäure		
	¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]	
		α	β		α	β		α	β		α	β		α	β
1	37.70	1.46	1.88	35.10	1.56	1.79	38.28	1.46	2.32	41.14	1.12	1.76	35.90	1.39	1.48
2	25.56	1.54	2.15	26.09	1.66	2.14	25.48	1.52	2.16	30.09	1.68	1.98	28.22	1.53	2.18
3	74.95		5.25	74.52		5.25	75.04		5.27	79.16	3.14		71.61		3.99
4	48.31			48.41			48.30			50.28			48.96		
5	52.27	1.54		49.00	1.61		52.41	1.55		57.94	1.01		50.41	1.59	
6	21.47	1.75	1.91	21.48	1.84	1.96	21.49	1.75	1.92	21.90	1.93	1.84	21.65	1.88	1.70
7	35.43	1.54	1.37	33.64	1.73	1.40	35.83	1.56	1.39	35.00	1.42	1.57	34.98	1.41	1.59
8	44.68			42.41			43.97			39.08			39.20		
9	53.21	1.79		155.00			55.19	1.74		48.83	1.60		48.60	1.67	
10	40.37			40.81			40.34			41.74			41.87		
11	78.46		3.82	118.29	5.70		69.40		4.24	25.27	1.96	1.98	25.13	1.93	2.00
12	126.72	5.42		125.09	5.49		132.55	5.23		126.57	5.19		126.70	5.19	
13	144.59			143.24			142.19			141.40			141.32		
14	43.99			45.18			44.87			43.98			44.02		
15	28.42	1.05	1.79	32.87	1.06	1.90	28.25	1.06	1.82	28.31	1.04	1.88	28.16	1.03	1.88
16	29.72	2.11	0.92	29.95	2.05	0.93	29.74	2.10	0.91	29.83	2.07	0.89	29.81	2.07	0.89
17	35.39			35.41			35.41			35.52			35.49		
18	60.45		1.41	59.23		1.51	60.18		1.36	61.08		1.35	61.06		1.35
19	41.24	1.41		40.85	1.33		41.30	1.39		41.51	1.37		41.47	1.38	
20	41.38		0.94	41.24		0.91	41.38		0.94	41.43		0.92	41.41		0.92
21	32.85	1.34	1.45	27.91	1.32	1.41	32.80	1.33	1.43	32.93	1.40	1.30	32.91	1.40	1.31
22	43.15	1.42	1.33	43.07	1.47	1.51	43.14	1.46	1.33	43.27	1.45	1.31	43.25	1.45	1.31
23	25.40	1.20		25.03	1.21		25.44	1.22		25.37	1.41		25.71	1.28	
24	179.00			179.04			179.22			180.21			180.24		
25	16.05	1.07		23.41	1.14		15.64	1.12		15.61	0.95		14.97	0.94	
26	19.75	1.12		24.83	1.20		19.65	1.16		18.38	1.07		18.41	1.07	
27	23.86	1.19		18.84	0.96		24.26	1.23		24.62	1.12		24.69	1.14	
28	30.21	0.83		30.17	0.86		30.19	0.84		30.25	0.83		30.25	0.84	
29	18.80	0.91		18.84	0.82		18.88	0.91		18.91	0.83		18.91	0.84	
30	22.61	0.94		22.78	0.92		22.60	0.93		22.65	0.92		22.66	0.93	
31	171.41			171.33			171.38								
32	22.14	2.08		22.03	1.99		22.16	2.05							
33	55.61	3.25													

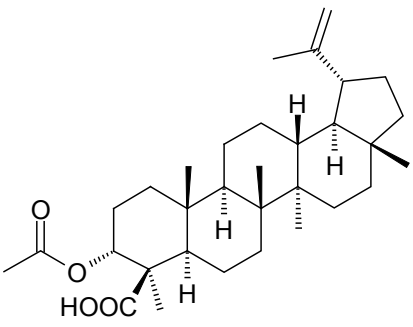
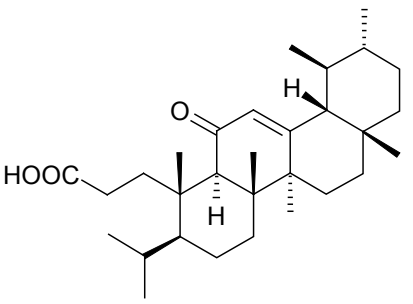
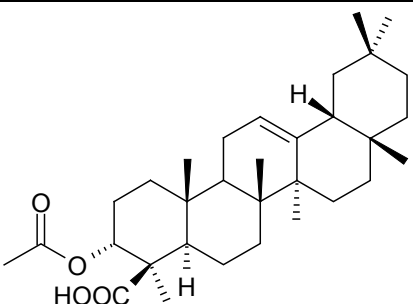
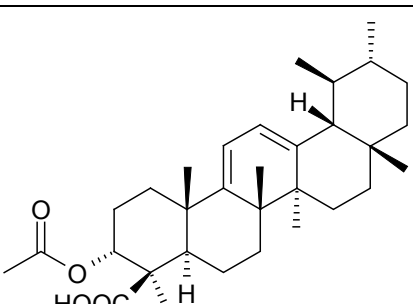
2.4.4 Übersicht Robursäuren

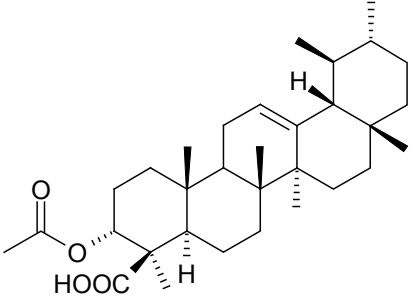
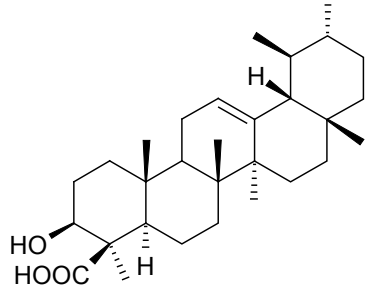
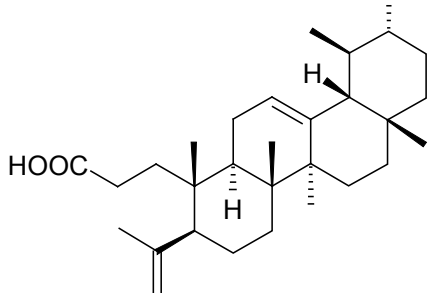
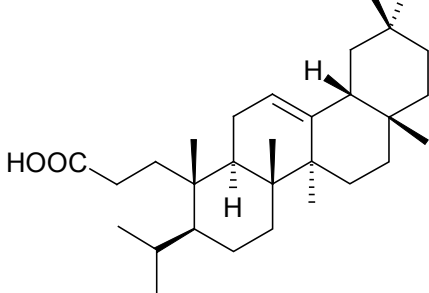
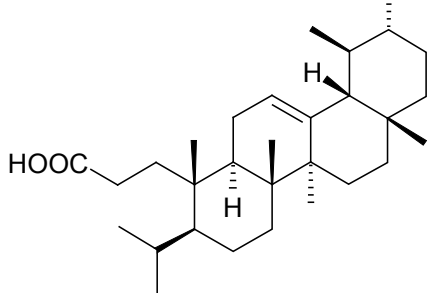
Atom-Nr.	Robursäure			4(23)-Dihydro-Robursäure			Keto-Robursäure			4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure			4(23)-Dihydro-Nyctthantinsäure		
	¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]		¹³ C δ [ppm]	¹ H δ [ppm]	
		α	β		α	β		α	β		α	β		α	β
1	36.10	1.61	?	35.04	1.71	2.20	36.51	1.69	2.63	35.34	1.77	2.75	34.96	1.69	2.19
2	29.82	2.40	2.20	29.82	2.20	1.71	30.38	2.08	2.36	30.37	2.11	2.22	29.68	2.19	1.69
3	175.94			175.93			175.99			176.14			176.06		
4	149.48			26.85	1.94		148.85			26.08	1.99		26.82	1.94	
5	51.93	2.08		49.35	1.14		52.01	2.12		49.16	1.14		49.34	1.12	
6	26.37	1.40	1.85	19.85	1.44	1.54	32.58	1.47	1.37	19.19	1.47	1.12	19.88	1.44	1.12
7	33.40	1.64	1.34	33.75	1.54	1.38	33.13	1.84	1.41	32.59	1.37	1.47	33.43	1.37	1.52
8	44.46			44.47			45.92			45.94			41.46		
9	39.60	1.86		39.60	1.85		53.97	2.71		53.81	2.73		39.64	1.86	
10	40.80			41.64			46.49			46.56			41.46		
11	25.33	1.93	2.04	25.44	1.85	1.98	199.84			199.99			25.52	1.88	2.00
12	126.47	5.21		126.69	5.21		132.04	5.51		132.27	5.50		132.90	5.24	
13	141.41			141.35			165.97			165.54			146.77		
14	44.46			44.47			40.43			46.56			44.07		
15	28.34	1.06	1.88	28.31	1.06	1.87	29.01	1.28	1.93	28.99	1.28	1.93	27.87	1.05	1.81
16	29.76	2.07	0.90	29.76	2.06	0.89	29.19	2.18	1.04	29.21	2.19	1.05	28.64	2.07	0.85
17	35.52			35.52			35.62			35.65			34.24		
18	61.11		1.37	61.11	1.36		60.71	1.61		60.73	1.60		49.22		2.01
19	41.55	1.38		41.54		1.38	40.89		1.49	40.89		1.48	48.56	1.06	1.75
20	41.43		0.92	41.42	0.93		41.08	0.96		41.08	0.96		32.66		
21	32.94	1.41	1.31	32.92	1.40	1.28	25.79	1.43	1.90	33.48	1.75	1.45	36.36	1.42	1.11
22	43.26	1.44	1.32	43.26	1.45	1.32	42.67	1.52	1.38	42.68	1.53	1.39	38.68	1.24	1.48
23	24.99	1.77		26.07	0.95		25.03	1.79		26.00	0.95		26.07	0.95	
24	114.95	4.88/4.72		20.28	0.85		115.37	4.75	4.90	20.25	0.86		20.24	0.85	
25	21.23	0.99		21.01	0.97		21.08	1.20		20.74	1.22		20.83	0.96	
26	18.52	1.11		18.56	1.09		19.96	1.24		19.92	1.21		18.39	1.05	
27	24.65	1.17		24.54	1.15		21.96	1.42		21.83	1.40		27.22	1.20	
28	30.26	0.84		30.25	0.84		30.25	0.87		30.24	0.86		29.83	0.87	
29	19.00	0.84		19.00	0.84		18.80	0.84		18.79	0.83		24.97	0.90	
30	22.65	0.92		22.64	0.93		22.37	0.97		22.36	0.99		34.63	0.89	

Substanz	Strukturformel	Retentionszeit [min]
3 α -Hydroxy-11-keto- β -Boswelliasäure (β -KBA) 5		12.2
3 α -O-Acetyl-28 β -hydroxy-Lupansäure 72		12.8
3 α -O-Acetyl-11-keto- β -Boswelliasäure (β -AKBA) 6		15.3
Serratol 48		15.9
3 α -O-Acetyl-11 α -hydroxy- β -Boswelliasäure 8		16.3

Substanz	Strukturformel	Retentionszeit [min]
3 α -Hydroxy-Tirucallensäure 14		17.5
3 β -Hydroxy-Tirucallensäure 15		17.6
3-Oxo-Tirucallensäure 13		17.7
3 α -Hydroxy-7,24-dien-Tirucallensäure 17		19.2
Lupansäure 10		19.2

Substanz	Strukturformel	Retentionszeit [min]
3 α -O-Acetyl-Tirucallensäure 16		19.3
3 α -Hydroxy- α -Boswelliasäure (α -BA) 3		20.00
3 α -O-Acetyl-11 α -methoxy- β -Boswelliasäure 9		20.1
3 α -Hydroxy- β -Boswelliasäure (β -BA) 1		20.6
Keto-Robursäure 75		20.7

Substanz	Strukturformel	Retentionszeit [min]
3 α -O-Acetyl-Lupansäure 11		22.3
4(23)-Dihydro-Keto-Robursäure 76		22.4
3 α -O-Acetyl- α -Boswelliasäure (α -ABA) 4		24.1
3 α -O-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure 7		24.9

Substanz	Strukturformel	Retentionszeit [min]
3 α -O-Acetyl- β -Boswelliasäure (β -ABA) 2		25.2
3 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure 73		25.3
Robursäure 74		34.5
4(23)-Dihydro-Nyctantinsäure 19		36.9
4(23)-Dihydro-Robursäure 18		37.8

Literaturverzeichnis

- ¹ R. P. Evershed, P. F. van Bergen, T. M. Peakman, E. C. Leigh-Firbank, *Nature*, **1997**, 390, 667-668
- ² D. Martinez, K. Lohs, J. Janzen, *Weihrauch und Myrrhe*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart **1989**
- ³ D. Martinez, *Zeitschrift für Phytotherapie*, **1992**, 13, 121-125
- ⁴ A. O. Tücker, *Economic Botany*, **1986**, 40, 425-433
- ⁵ H. P. T. Ammon, *Planta Med.*, **2006**, 72, 1100-1116
- ⁶ Zahl der Patente unter „boswellic“ am 01.10.2008 in der Datenbank des europäischen Patentamtes: 74; Zahl der Publikationen am 01.10.2008 unter „boswellic“ in der Datenbank scifinder®: 435
- ⁷ K. Vollesen, *Kew. Bull.*, **1985**, 40, 39-76
- ⁸ M. Thulin, A. M. Warfa, *Kew. Bull.*, **1987**, 42, 487-500
- ⁹ M. Thulin, *Kew. Bull.*, **2001**, 56, 983-988
- ¹⁰ A. Tschirch, O. Halbey, *Arch. Pharm.*, **1898**, 236, 478-485
- ¹¹ A. Winterstein, G. Stein, *Z. Physiol. Chem.*, **1932**, 208, 9-25
- ¹² L. Ruzicka, W. Wirz, *Helv. Chimica Acta*, **1939**, 22, 948-951
- ¹³ L. Ruzicka, W. Wirz, *Helv. Chimica Acta*, **1940**, 23, 132-135
- ¹⁴ G. G. Allan, *Phytochem.*, **1968**, 7, 963-973
- ¹⁵ G. G. Allan, *Phytochem.*, **1969**, 8, 2083-2085
- ¹⁶ J. L. Beton, T. G. Halsall, E. R. H. Jones, *J. Chem. Soc.*, **1956**, 2904-2909
- ¹⁷ J. C. E. Simpson, *Nature*, **1937**, 140, 467
- ¹⁸ H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 3688- 3699
- ¹⁹ E. M. Hairfield, H. H. Hairfield, L. H. Pentz, *Perfumer Flavorist*, **1984**, 9, 33-36
- ²⁰ R. S. Pardhy, S. C. Bhattacharyya, *Indian J. Chem.*, **1978**, 16B, 176-178
- ²¹ S. Corsano, C. Iavarone, *Gazz. Chim. Ital.*, **1964**, 94, 328-329
- ²² R. Savoir, R. Ottinger, B. Tursch, G. Chiurdoglu, *Bull. Soc. Chim. Belges*, **1967**, 76, 335-367
- ²³ R. Savoir, R. Ottinger, B. Tursch, G. Chiurdoglu, *Bull. Soc. Chim. Belges*, **1967**, 76, 371-373
- ²⁴ R. Savoir, B. Tursch, S. Huneck, *Bull. Soc. Chim. Belges*, **1967**, 76, 368-370
- ²⁵ V. K. Gupta, V. D. Rangari, *Crystal Research and Technology*, **2001**, 36, 93-100
- ²⁶ S. Schweizer, H. P. T. Ammon, H. Safayhi, *Planta Med.*, **2000**, 66, 781-782
- ²⁷ G. Culioli, C. Mathe, P. Archier, C. Vieillescazes, *Phytochem.* **2003**, 62, 537-541
- ²⁸ K. Belsner, B. Büchele, U. Werz, T. Syrovets, T. Simmet, *Magn. Reson. Chem.*, **2003**, 41, 115-122
- ²⁹ D. Ennet, F. Poetsch, D. Schopka, *Deutsche Apotheker Zeitung*, **2000**, 140, 1-9

- 30 Y. Shao, C. To, C. Chin, V. Badmaev, W. Ma, M. Huang, *Planta Med.*, **1998**, 64, 328-331
- 31 M. Majeed, L. Prakash, V. Badmaev, Y. Nujoma, S. Natarajan, T. Norton, M. Sysler, S. Gopinathan, K. Alagesan, *Sabinsa Corporation*
- 32 S. Schweizer, A. F. W. von Brocke, S. E. Boden, E. Bayer, H. P. T. Ammon, H. Safayhi, *J. Nat. Prod.*, **2000**, 63, 1058-1061
- 33 K. Belsner, B. Büchele, U. Werz, T. Simmet, *Magn. Reson. Chem.*, **2003**, 41, 629-632
- 34 M. I. Choudhary, *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 189-193
- 35 R. S. Pardhy, S. C. Bhattacharyya, *Indian J. Chem.*, **1978**, 16B, 174-175
- 36 G. P. Cotterrell, T. G. Halsall, *J. Chem. Soc. C*, **1970**, 5, 739-743
- 37 N. Banno, T. Akihisa, K. Yasukawa, H. Tokuda, K. Tabata, Y. Nakamura, R. Nishimura, Y. Kimura, T. Suzuki, *J. Ethnopharmacology*, **2006**, 107, 249-253
- 38 E. Fattorusso, C. Santacroce, C. F. Xaasan, *Phytochem.*, **1983**, 22, 2868-2869
- 39 B. Corbet, P. Albrecht, G. Ourisson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 117-1173
- 40 G. Quinkert, *Angew. Chem.*, **1965**, 77, 229-276
- 41 W. J. Baas, I. E. M. van Berkel, *Phytochem.*, **1991**, 5, 1625-1628
- 42 W. M. Bandaranayake, *Phytochem.*, **1980**, 19, 255-257
- 43 W. J. Baas, *Phytochem.*, **1985**, 24, 1875-1889
- 44 A. Dekabo, E. Dagne, O. R. Gautun, A. J. Aasen, *Bull. Chem. Soc. Ethiopia*, **2002**, 16, 87-90
- 45 P. Maupetit, *Perfumer Flavorist*, **1984**, 9, 19-37
- 46 S. M. Abdel Wahab, E. A. Aboutabl, S. M. El-Zalabani, H. A. Fouad, H. L. De Poorter, B. El-Fallaha, *Planta Med.*, **1987**, 382-384
- 47 S. Hamm, J. Bleton, J. Connan, A. Tchaplal, *Phytochem.*, **2005**, 66, 1499-1514
- 48 T. Singh, R. S. Bhakuni, *J. Ind. Chem. Soc.*, **2006**, 83, 588-590
- 49 E. Fattorusso, C. Santacroce, C. F. Xaasan, *Phytochem.*, **1985**, 5, 1035-1036
- 50 G. Proietti, G. Strappaghetti, S. Corsano, *Planta Med.*, **1981**, 41, 417-418
- 51 H. P. T. Ammon, T. Mack, G. B. Singh, H. Safayhi, *Planta Med.*, **1991**, 57, 203-207
- 52 H. Safayhi, T. Mack, H. P. T. Ammon, *Biochem. Pharmacol.*, **1991**, 41, 1536-1537
- 53 J. I. Gallin, I. M. Goldstein, R. Snyderman (Eds.), *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, Raven Press, New York, **1999** (3. Auflage)
- 54 C. Bartels, H. Göllner, J. Koolmann, E. Maser, K.-H. Röhm (Hrsg.), *Tabletten, Tropfen und Tinkturen*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**
- 55 B. Hinz, K. Brune, *Pharmazie in unserer Zeit*, **1999**, 28, 21-29
- 56 F. Marks, G. Fürstenberger, *Prostaglandins, Leukotriens and Other Eicosanoids*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**
- 57 B. Samuelsson, *Science*, **1983**, 220, 568-575

- 58 H. P. T. Ammon, *Wien. Med. Wschr.*, **2002**, 152, 373-378
- 59 D. G. Batt, *Progr. Med. Chem.*, **1992**, 29, 1-63
- 60 D. Steinhilber, *Curr. Med. Chem.*, **1999**, 6, 71-85
- 61 V. N. Gupta, C. K. Atal, P. D'Souza, B.G. Nagavi, *Indian Drugs*, **1985**, 22, 222-224
- 62 C. Kreck, R. Saller, *Int. Praxis*, **1998**, 4, 857-873
- 63 G. B. Singh, C. K. Atal, *Agents Actions*, **1986**, 18, 407-412
- 64 D. Poeckel, O. Werz, *Curr. Med. Chem.*, **2006**, 13, 3359-3369
- 65 A. Sharma, A. S. Mann, V. Gajbhiye, M. D. Kharya, *Phcog. Rev.*, **2007**, 1, 137-142
- 66 H. Gerhardt, F. Seifert, P. Buvary, H. Vogelsang, R. Repges, *Z. Gastroenterol.*, **2001**, 39, 11-17
- 67 R. Etzel, *Phytomedicine*, **1996**, 3, 91-94
- 68 I. Gupta, A. Parihar, P. Malhotra, G. B. Singh, R. Lüdtke, H. Safayhi, H. P. T. Ammon, *Eur. J. Med. Res.*, **1997**, 37-43
- 69 I. Gupta, V. Gupta, A. Parihar, S. Gupta, R. Lüdtke, H. Safayhi, H. P. T. Ammon, *Eur. J. Med. Res.*, **1998**, 511-514
- 70 H. Safayhi, T. Mack, J. Sabieraj, M. I. Anazodo, L. R. Subramanian, H. P. T. Ammon, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **1992**, 261, 1143-1146
- 71 H. Safayhi, E. R. Sailer, H. P. T. Ammon, *Mol. Pharm.*, **1995**, 47, 1212-1216
- 72 E. R. Sailer, R. F. Hoernlein, H. P. T. Ammon, H. Safayhi, *Phytomedicine*, **1996**, 3, 73-74
- 73 E. R. Sailer, S. Schweizer, S. E. Boden, H. P. T. Ammon, H. Safayhi, *Eur. J. Biochem.*, **1998**, 256, 364-368
- 74 O. Werz, D. Szellas, M. Henseler, D. Steinhilber, *Mol. Pharmacol.*, **1998**, 54, 445-451
- 75 A. Altmann, D. Poeckel, L. Fischer, M. Schubert-Zsilavecz, D. Steinhilber, O. Werz, *Br. J. Pharmacol.*, **2004**, 141, 223-232
- 76 H. Safayhi, S. E. Boden, S. Schweizer, H. P. T. Ammon, *Planta Med.*, **2000**, 66, 110-113
- 77 B. Büchele, T. Simmet, *J. Chromatogr. B*, **2003**, 795, 355-362
- 78 V. Ster, B. Büchele, T. Simmet, *Planta Med.*, **2004**, 70, 1155-1160
- 79 N. Kather, *Synthese und Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Boswelliasäuren und Derivaten*, Dissertation, Universität Saarbrücken, Saarbrücken **2007**
- 80 D. Poeckel, L. Tausch, N. Kather, J. Jauch, O. Werz, *Mol. Pharmacol.*, **2006**, 70, 1071-1078
- 81 U. Simoneit, B. Hoffmann, N. Kather, T. Lamkemeyer, J. Madlung, L. Franke, G. Scheider, J. Jauch, D. Poeckel, O. Werz, *Biochem. Pharmacol.*, **2008**, 75, 503-513
- 82 H. P. T. Ammon, H. Safayhi, T. Mack, J. Sabieraj, *J. Ethnopharmacol.*, **1993**, 38, 113-119

- 83 A. S. Kalgutkar, B. C. Crews, L. J. Marnett, *Biochemistry*, **1996**, 35, 9076-9082
- 84 A. Kaunzinger, A. Baumeister, K. Cuda, N. Häring, B. Schug, H. H. Blume, K. Raddatz, G. Fischer, M. Schubert-Zsilaveccz, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2002**, 28, 729-739
- 85 M. A. Tawab, A. Kaunzinger, U. Bahr, M. Karas, M. Wurglics, M. Schubert-Zsilaveccz, *J. Chromatogr. B*, **2001**, 761, 221-227
- 86 L. Tausch, D. Poeckel, N. Kather, L. Franke, G. Schneider, T. Beckhaus, M. Karas, J. Chen, J. Jauch, O. Werz, bisher unveröffentlichte Ergebnisse
- 87 C. T. N. Pham, *Nature Reviews Immunology*, **2006**, 6, 541-550
- 88 O. Wiedow, U. Meyer-Hoffert, *J. Int. Med*, **2005**, 257, 319-328
- 89 S. Kromidas, *HPLC richtig optimiert*, Wiley-VCH, Weinheim **2006**
- 90 J. Bergmann, *Untersuchungen zum Harz des Weihrauchbaumes unter besonderer Berücksichtigung der Säurefraktion*, Dissertation, TU München, München **2004**
- 91 A. J. Mora, G. Delagdo, G. D. de Delagdo, A. Usubillaga, N. Khouri, A. Bahsas, *Acta Crystallographica*, **2001**, C57, 638-640
- 92 N. Banno, T. Akihisa, K. Yasukawa, H. Tokuda, K. Tabata, Y. Nakamura, R. Nishimura, Y. Kimura, T. Suzuki, *J. Ethnopharmacology*, **2006**, 107, 249-253
- 93 R. S. Pardhy, S. C. Bhattacharyya, *Ind. J. Chem.*, **1978**, 16B, 171-173
- 94 G. Kotowycz, R. U. Lemieux, *Chem. Rev.*, **1973**, 73, 669-698
- 95 D. Pavia, G. Lampman, G. Kriz, *Introduction to Spectroscopy*, Brooks/Cole, **2001**
- 96 D. Hänssgen, T. Eicher, *Chemie für Pharmazeuten und Naturwissenschaftler*, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, **1997**
- 97 A. Otter, D. R. Bundle, *J. Magn. Reson.*, **1995**, 109, 194-201
- 98 T. Jong, C. Chen, *Acta Cryst.*, **1994**, C50, 1326-1228
- 99 H. Cho, M. Ueda, M. Tamaoka, M. Hamaguchi, K. Aisaka, Y. Kiso, *J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 1503-1505
- 100 E. H. Stahl, *Dünnschichtchromatographie – ein Laboratoriumshandbuch*, Springer, Berlin, **1967**
- 101 E. Hahn-Deinstrop, *Dünnschicht-Chromatographie – Praktische Durchführung und Fehlervermeidung*, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**
- 102 W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 2923-2925
- 103 Program XPREP in SHELX-TL PLUS, Siemens Analytical X-Ray Instruments Inc. **1989**
- 104 G. Sheldrick, *Program for Crystal Structure Solution*, Version SHELXS86, Göttingen **1997**
- 105 G. Sheldrick, *Program for Crystal Structure Determination*, Version SHELXL93, Göttingen **1997**

- ¹⁰⁶ D. D. Grove, J. R. Corte, R. P. Spencer, M. E. Pauly, N. P. Rath, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 49
- ¹⁰⁷ persönliche Mitteilung Apotheker Moritz Verhoff, Pharmazeutische Analytik, Universität Tübingen
- ¹⁰⁸ persönliche Mitteilung Apotheker Ulf Simoneit, Pharmazeutische Analytik, Universität Tübingen
- ¹⁰⁹ persönliche Mitteilung Apotheker Ulf Simoneit, Pharmazeutische Analytik, Universität Tübingen

Danksagung

Herrn Prof. Dr. J. Jauch danke ich für seine Unterstützung und praktischen Ratschläge sowie für seine ständige Diskussionsbereitschaft während dieser Arbeit.

Herrn Priv.-Doz. Dr. A. Speicher danke ich für die Übernahme des Koreferates und seine Funktion als wissenschaftlicher Begleiter dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Apotheker U. Simoneit, Herrn Apotheker M. Verhoff, Herrn Apotheker L. Tausch und Herrn Prof. Dr. O. Werz (Universität Tübingen) für die Durchführung der Aktivitätsmessungen, sowie für ihre stetige Bereitschaft meine zahlreichen Fragen zu beantworten und die interessanten Diskussionen über die pharmazeutischen Aspekte des Weihrauches.

Herrn Dr. J. Zapp danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren und vor allem für die schnellen Messungen übers Wochenende.

Für die Aufnahme der Massenspektren möchte ich mich bei Herrn Dr. M. Großer und Herrn R. Thomes bedanken.

Herrn Dr. V. Huch danke ich für die Aufnahme und Auswertung der Röntgenstrukturanalyse.

Für die angenehme Arbeitsatmosphäre im Labor und die schöne Zeit möchte ich mich bei Herrn Dr. J. Bergmann, Herrn Dipl.-Chem. F. Bliefert, Frau S. Caspar-Klär, Herrn D. Hartmann, Frau I. Hoffmann, Frau Dr. Nicole Kolz, Herrn Dipl.-Chem. H. Müller und Herrn Dipl.-Chem. D. Rawer bedanken.

Herrn Dr. F. Kleinbeck, Frau Dr. N. Kolz und Herrn Dipl.-Chem. F. Bliefert danke ich für die sorgfältige und gewissenhafte Durchsicht des Manuskripts.

Bei Frau Dipl.-Chem. J. Holz, Herrn Dr. T. Jung, Frau Dr. M. Schnabel und Frau Dipl.-Chem. C. Thiele möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit bei der Betreuung des OC-Grundpraktikums bedanken.

Danksagung

Bei den Mitgliedern der Arbeitsgruppe Speicher bedanke ich mich für die gute Nachbarschaft im 4. Stock und die stetige Hilfsbereitschaft wenn Not am Mann war.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. F. Kleinbeck für die langjährige Freundschaft seit Beginn des Studiums, die moralische Unterstützung und den Austausch interessanter Literaturbeiträge.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Mann J. Seitz für seinen Beistand in guten und in schlechten Zeiten, die Unterstützung bei Computer-Problemen und das Verständnis für arbeitsintensive Zeiten im Labor.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern für die finanzielle sowie moralische Unterstützung und den Glauben an mich während meines gesamten Studiums danken.