

Synthese von Triterpenderivaten und ihre biologische Evaluierung

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät II

Chemie, Physik und Mathematik

der Martin-Luther-Universität

Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Ratna Kancana Wolfram

geb. am 26.04.1983 in Sukabumi-Indonesien

Gutachter: Prof. Dr. R. Csuk (Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg)
Prof. Dr. P. Karlovsky (Georg-August Universität Göttingen)

Datum der Verteidigung: 14. 03. 2019

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Dezember 2014 bis Juli 2018 am Institut für Chemie im Bereich Organische und Bioorganische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Prof. Dr. René Csuk angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. René Csuk für die interessante Themenstellung, sein stetes Interesse am Fortgang dieser Arbeit sowie für die zahlreichen Diskussionen und Anregungen.

MEINER FAMILIE

Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorgelegte Promotionsarbeit am

Institut für Chemie Bereich Organische und Bioorganische Chemie der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

auf Anregung und unter Anleitung von

Herrn Prof. Dr. René Csuk

selbständig durchgeführt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel
und Quellen benutzt habe.

Halle, den 20.07.2018

.....
Ratna Kancana Wolfram

Referent:

Prof. Dr. René Csuk

INHALTSVERZEICHNIS

A.	Allgemeiner Teil	1
1.	Einleitung	1
1.1.	Vorkommen und Anwendung	1
1.2.	Isolierung und Zusammensetzung des Weihrauchs	2
1.3.	Pharmakologie von Boswelliasäure	3
2.	Naturstoffklasse: Triterpene, Pentazyklische Triterpene und Ihre Biosynthese	5
3.	Verwendete Methoden zur Bestimmung der biologischen Aktivität	8
3.1.	Zelltest.....	8
3.2.	Enzymtest.....	9
4.	Zielstellung.....	10
5.	Darstellung der Ergebnisse.....	11
5.1.	Publikation 1: Synthesis and Cytotoxic Screening of β -Boswellic Acid Derivatives	11
5.2.	Publikation 2: β -11-Keto-boswellic acid derived amides: synthesis and cytotoxicity.....	11
5.3.	Publikation 3: Targeting Mitochondria: Esters of Rhodamine B with Triterpenoids are mitocanic Triggers of Apoptosis	12
5.4.	Publikation 4: Homopiperazine-rhodamine B adducts of triterpenoic acids are strong mitocans	13
5.5.	Nicht publizierte Synthesen	15
6.	Zusammenfassung und Ausblick	18
B.	Experimenteller Teil.....	20
1.	Allgemeine Arbeitsvorschriften	20
1.1.	Verwendete Geräte.....	20
1.2.	Chromatographische Methoden	21
2.	Isolierung von AKBA aus Weihrauchharz.....	21

Allgemeiner Teil

2.1.	Extraktion des Weihrauchs	21
2.2.	Ethertrennungsgang	21
2.3.	Acetylierung der Harzsäurefraktion.....	22
2.4.	Oxidation der acetylierten Harzsäurefraktion	22
3.	Synthese der AKBA- und Glycyrrhetinsäurederivate	23
3.1.	11-Keto- β -boswelliasäuremethylester (11).....	23
3.2.	18- β -Glycyrrhetinsäuremethylester (12).....	23
3.3.	3-Desoxy-11-oxo- β -boswellia-2-en-säuremethylester (13).....	24
3.4.	3-Desoxy-glycyrrhetin-2-ensäuremethylester (14).....	25
3.5.	3-Desoxy-11-oxo-1 α , 9 α -peroxo- β -boswellia-2-ensäuremethylester (15)	27
3.6.	3-Desoxy-1 α , 9 α -peroxyglycyrrhetin-2-ensäuremethylester (16)	28
3.7.	3-Desoxy-11-oxo-1 α , 9 α -dihydroxy- β -boswellia-2-ensäuremethylester (17).....	29
3.8.	3-Desoxy-1 α , 9 α -dihydroxyglycyrrhetin-2-ensäuremethylester (18).....	31
C.	Anhang	33
	Abkürzungen und Akronyme	33
	Literaturverzeichnis.....	35
	Lebenslauf	39
	Publikationsliste	40
	Danksagung.....	41

A. ALLGEMEINER TEIL

1. EINLEITUNG

1.1. Vorkommen und Anwendung

Das Harz des Weihrauchbaumes wird auch als Olibanum, Salai guggal oder Frankincense bezeichnet. Der Baum gehört botanisch zur Familie der Balsambaumgewächse (*Burseraceae*). Der strauchartige Baum ist in den Trockengebieten um das Horn von Afrika (Somalia, Sudan und Äthiopien), in Arabien (Oman und Jemen) und in Indien verbreitet.^[1, 2] In der indischen und arabischen Volksmedizin wird Weihrauch seit Jahrhunderten zur Zubereitung von Heilmitteln erfolgreich eingesetzt. Weihrauchpräparate dienen zur Behandlung einer Vielzahl von Erkrankungen, wie z. B. Blutkrankheiten, Magen-Darm-Leiden, Erkrankungen der Atemwege sowie verschiedener rheumatischer Erkrankungen.^[3-9]

Die heilende Wirkung von Weihrauch ist in Europa seit dem 16. Jahrhundert bekannt -wohl aus der kirchlichen Tradition. Bei Hörproblemen, wie z. B. Schwerhörigkeit und Tinnitus, räucherte Hildegard von Bingen (1098-1179) –Äbtissin und Naturheilkundlerin– den Gehörgang mit weißen Weihrauchkörnern. Auch Sebastian Kneipp empfahl die tägliche Einnahme des Weihrauchs bei bestimmten Beschwerden.^[10] Die ersten Belege über *Oleum thuris* (Weihrauchöl) stammen von deutschen Offizinen. Boswellia –die aktive Komponente in Weihrauch– ist auch in der deutschen Pharmakopöe „Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis“ verzeichnet.^[11] In dieser wird die Wirkung und dessen Anwendungen beschrieben. Erstere war aber wissenschaftlich zu diesem Zeitpunkt nicht belegt. Bis Mitte der 1950er Jahre wurde Weihrauch bereits unter der Bezeichnung von Olibanum im Deutschen Arzneibuch (DAB) geführt. Danach verschwand er und wurde erst im Jahre 2008 nach neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen und aufgrund einer guten Verfügbarkeit des indischen Weihrauchs als Olibanum indicum in das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur.) aufgenommen. In Deutschland sind weihrauchhaltige Präparate zwar nicht als Arzneimittel zugelassen, sind aber als Nahrungsergänzungsmittel (H15 Ayurmedica[®]) erhältlich.^[1]

Basierend auf mehreren klinischen Studien, wurde Boswelliasäure als vielversprechende Alternative zur Behandlung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen „IBD“ (Morbus Crohn, ulcerosa colitis)^[12, 13], Osteoarthritis^[14-16], rheumatoide Arthritis^[17], Asthma^[18], Hautkrankheit durch Licht^[19] und peritumorales Hirnödem eingesetzt.^[20, 21] Die Galenik von Weihrauchzubereitungen ist genauso vielfältig wie ihre Anwendungen. Eine verbreitete Form

sind Kapseln, die z. B. gegen Magen-Darm-Leiden eingesetzt wird. Zur äußeren Behandlung wie Juckreiz, raue Haut, entzündliche und allergische Reaktionen sind Weihrauchcreme oder -gele in Verwendung.^[22]

1.2. Isolierung und Zusammensetzung des Weihrauchs

Das Harz des Weihrauchbaumes besteht zu 25-35% aus einem Gemisch von Triterpensäuren und unterscheidet sich in der Zusammensetzung je nach Gattung. Hauptbestandteile sind dabei die gattungsspezifischen Boswelliasäuren (ca. 10%) sowie anderen Triterpensäuren (15-25%).^[23] Erste grundlegende Untersuchungen zu den Inhaltsstoffen von Weihrauchharzen wurden von TSCHIRCH *et al.* durchgeführt. Im Jahr 1898 gelang erstmals die Isolierung von Boswelliasäure aus Weihrauch. Im Jahr 1932 konnten WINTERSTEIN und STEIN zeigen, dass es sich bei der 1898 von TSCHIRCH und HALBEY isolierten Boswellinsäure um ein Gemisch handelte.^[24-27] Dieses besteht aus β -Boswelliasäure (1), 3-O-Acetyl- β -boswelliasäure (2) sowie in geringen Mengen deren isomeren α -Formen α -Boswelliasäure (3) und 3-O-Acetyl- α -boswelliasäure (4).

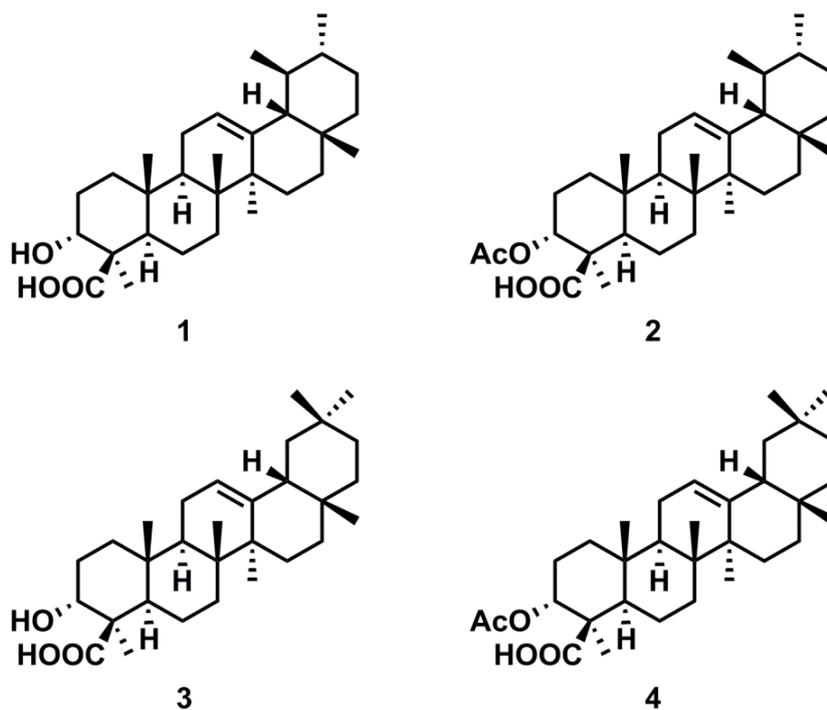


Abbildung 1 Gemisch der Boswelliasäuren im Weihrauchextrakt.

Boswelliasäuren gehören im chemischen Sinn zur Klasse der pentazyklischen Triterpensäuren und sie besitzen ein Ringgerüst mit mindestens 10 Stereozentren. Aufgrund dieser Komplexität ist die Totalsynthese von pentazyklischen Triterpenoiden eine gewaltige Herausforderung und

zog seit 1960er Jahren viel Aufmerksamkeit auf sich.^[28] Im Jahr 1970 berichteten IRELAND und JOHNSON eine klassische Totalsynthese über 31 Stufen von (\pm)-Germanicol –ein Oleanan-Typ der pentazyklischen Triterpene– mit einer Gesamtausbeute von 0.1%.^[29] Ein Jahr später publizierte STORK die Totalsynthese von (\pm)-Lupeol in über 37 Stufen.^[30] Die erste enantioselektive Totalsynthese u.a. von β -Amyrin in 27 Stufen mit einer Gesamtausbeute mit lediglich 0.015% wurde im Jahr 1993 von COREY durchgeführt.^[31, 32]

Anbetracht des zeitlichen sowie finanziellen Aufwands zur Herstellung diverser pentazyklischer Triterpene, ist ihre Extraktion aus Pflanzenteilen nach wie vor, wie im Fall der Boswelliasäure aus Weihrauchharz, sinnvoller. Auf diesem Weg konnten viele Vertreter der pentazyklischen Triterpene identifiziert und charakterisiert werden.

Die erste Isolierung von Boswelliasäure aus Weihrauch wurde von WINTERSTEIN entwickelt. Sie ergab jedoch nur geringe Ausbeuten.^[27] Entscheidende Verbesserungen des Isolierungsverfahrens wurden im Jahr 2003 von JAUCH mit der sogenannten „fokussierenden Synthese“ entwickelt, wodurch eine höhere Ausbeute erzielt werden konnte. Dabei wird das Gemisch durch chemische Umwandlungen auf ein einzelnes Derivat, z. B. 3-*O*-Acetyl-11-keto- β -boswelliasäure (AKBA, **5**) „fokussiert“. ^[33]

1.3. Pharmakologie von Boswelliasäure

Die ersten wissenschaftlichen pharmakologischen Studien von Weihrauchextrakten an Versuchstieren wurden 1986 durch SINGH *et al.* durchgeführt.^[34] Dabei wurden an Ödemen erkrankte Mäuse und Ratten mit Extrakten von Weihrauchharzen behandelt. Diese zeigten eine entzündungshemmende Wirkung.

Seit 1991 beschäftigte sich die Arbeitsgruppe AMMON mit Studien zur entzündungshemmenden Wirkung von Weihrauchharzen. Dabei stellten sie erstmalig fest, dass die entzündungshemmende Wirkung der Boswelliasäuren darauf beruht, dass das Enzym 5-Lipoxygenase (5-LOX), welches für die Biosynthese diverser Leukotriene –hormonähnliche Substanzen im Zusammenhang mit allergischen bzw. entzündlichen Reaktionen des Körpers (z.B. Asthma bronchiale)– verantwortlich sind.^[35] In den Jahren von 1992 bis 1996 gelang es AMMON *et al.* den Wirkmechanismus der 5-LOX-Inhibierung und die strukturellen Voraussetzungen für eine bessere Effektivität der Inhibierung zu klären. Im Jahr 1998 konnte die Gruppe um AMMON ebenfalls zeigen, dass AKBA (**5**) in den menschlichen Blutzellkulturen HL-

60 und CCRF-CEM in der Lage ist Apoptose auszulösen. Dabei wurde bereits vermutet, dass **5** die Topoisomerase I hemmt.^[36-43]

SYROVETS *et al.* untersuchten im Jahr 2000 die Hemmung der Topoisomerase I und Topoisomerase II α durch verschiedene Triterpene genauer.^[44] Bei Topoisomerasen handelt es sich um Enzyme, die die räumliche Anordnung der DNA kontrollieren und modifizieren. Sie spielen beim Prozess der Transkription und Replikation von DNA eine große Rolle und bilden ebenfalls den Angriffspunkt einiger Cytostatika, z. B. Vepesid[®]. SYROVETS *et al.* konnten zeigen, dass 3-*O*-Acetyl- β -boswelliasäure (**2**) in der Lage ist, beiden Topoisomerasen-Typen zu hemmen. Desweiteren konnte gezeigt werden, dass die Acetyl-Gruppe an C-3 und eine unsubstituierte Carboxylgruppe an C-4 wichtige Struktureinheiten für diese Inhibierung darstellen. Eine Keto-Funktion an Position C-11 wie sie in AKBA (**5**) oder KBA (**6**) vorkommt, wirkt sich dagegen negativ auf die Hemmung der beiden Enzyme aus.

2. NATURSTOFFKLASSE: TRITERPENE, PENTAZYKLISCHE TRITERPENE UND IHRE BIOSYNTHESE

Triterpene folgen der Isoprenregel von WALLACH.^[45] Ihr Grundgerüst ist stets aus 30 Kohlenstoffatomen aufgebaut, was sechs miteinander verknüpften Isopreneinheiten entspricht. Eine Untergruppe der Triterpene bilden die pentazyklischen Triterpene. Ihre Struktur, die in Abb. 2 zu sehen ist, beinhaltet entweder fünf Sechsringe (Ursan-, Oleanan- und Friedelan-Typ) oder vier Sechsringe und einen Fünfring (Lupan-Typ).^[46, 47]

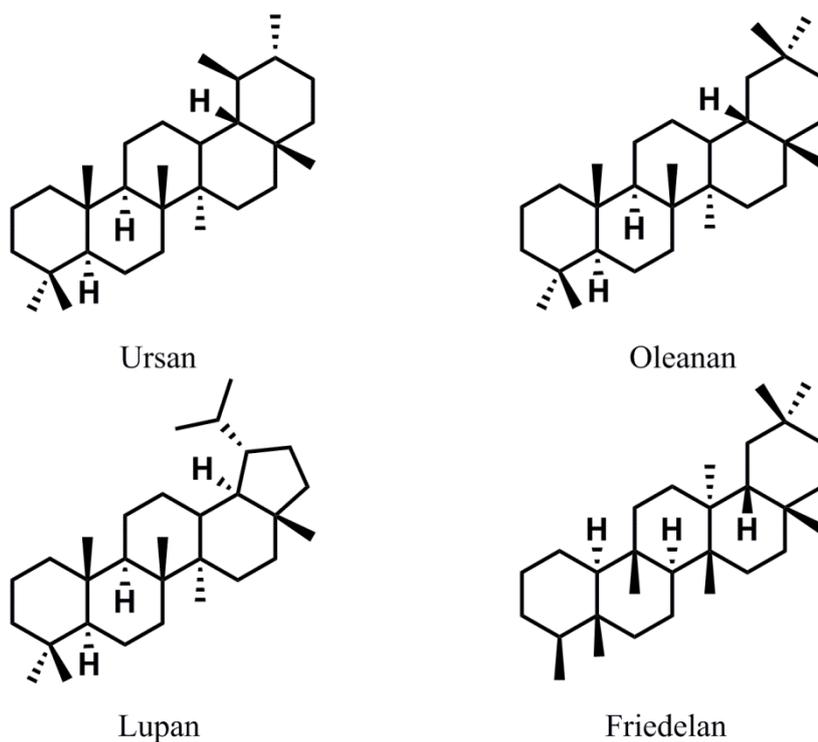


Abbildung 2 Grundgerüste pentazyklischer Triterpene

In Abb. 3 ist eine vereinfachte Darstellung der Biosynthese von pentazyklischen Triterpenen dargestellt. Ausgehend von dem Grundkörper 2,3-Oxidosqualen erfolgt eine direkte Zyklisierung, diverse Umlagerungen und Ringerweiterungen bis die charakteristischen fünf Ringe des α -Amyrins, β -Amyrins und des Lupeols aufgebaut sind. Alle diese Reaktionsschritte erfolgen in pflanzlichen Systemen durch Cytochrom P450-Enzyme und Cyclasen.^[32, 48, 49] Durch anschließende Oxidation werden aus α -Amyrin Ursolsäure (7) bzw. β -Boswelliasäure (1), aus β -Amyrin α -Boswelliasäure (3) sowie Oleanolsäure (8) und aus Lupeol Betulinsäure (9) erhalten.
[47]

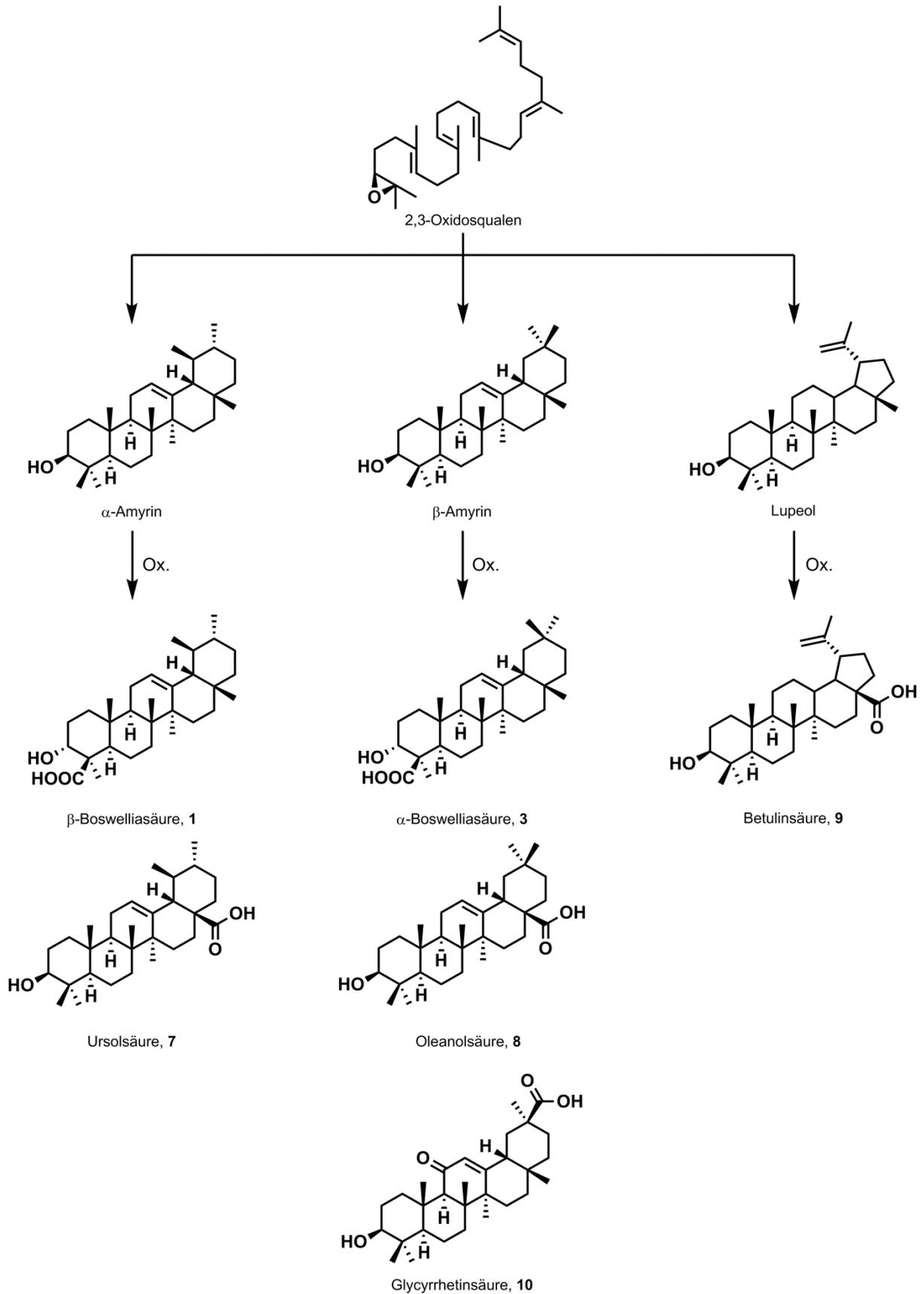


Abbildung 3 Vereinfachte Darstellung der Biosynthese von pentazyklischen Triterpenen

Ähnlich wie Boswelliasäure wurden andere Vertreter der pentazyklische Triterpene ebenfalls aus Pflanzenteilen isoliert. Ursol- (7) und Oleanolsäure (8) kommen u. a. in vielen Pflanzen gemeinsam vor, wie z. B. in Thymian, Salbei, Minze, Wein und Weißdorn.^[50-52] Typische Quellen der Oleanolsäure sind z. B. Olivenblätter, Nelken und Misteln, während Ursolsäure unter anderem im Schalenwachs von Äpfeln, Birnen und Kirschen sowie in den Blättern der Bärentraube zu finden ist.^[53, 54] Betulinsäure (9) kommt vor allem in Platanen (*Platanus acerifolia*), aber auch im Kork von Birken (*Betula alba*) und in Misteln (*Viscum album L.*) vor.^[55-58] Glycyrrhetinsäure (GA, 10) ist u. a. in Süßholzwurzel und der Frucht des Grapefruitbaums zu finden.^[59-62]

Die genannten Vertreter der pentazyklischen Triterpene zeigen verschiedene pharmakologische Wirkungen, wie z. B. wundheilende, entzündungshemmende, antibakterielle, antivirale, hepatoprotektive und antitumorale Eigenschaften bei zugleich geringer Toxizität.^[58, 63, 64] Daher sind diese Triterpene vielversprechende Leitverbindungen für die Entwicklung neuer Wirkstoffe besonders auf dem Gebiet der Krebstherapie.

Seit Anfang der 1960er Jahre wurde unter der Führung des NCI (National Cancer Institute, USA) annähernd 3000 Pflanzenextrakte auf ihre Antitumoraktivität hin untersucht. Dabei wurde u. a. Betulinsäure als eine potentielle Leitstruktur neuartiger Antikrebsmittel identifiziert. Seitdem ist das Interesse an pentazyklischen Triterpenen und ihrer biologischen Aktivität stetig gewachsen und bis heute ungebrochen.^[65]

Das Potential von Betulinsäure als menschliches melanom-spezifisches Antitumormittel wurde das erste Mal von PISCHA *et al.* im Jahr 1995 beschrieben. Die hemmende Wirkung von Betulinsäure auf das Zellwachstum von vier verschiedenen humanen Tumorzelllinien konnte *in vitro* (EC₅₀-Werte: 2-11 µM) als auch am Beispiel von einer *in vivo* an Mäusen gezeigt werden.^[66]

Im Jahr 1997 konnte SCHMIDT im Zuge der Untersuchung zur zytotoxischen Wirkung von Betulinsäure anhand neun humaner Neuroblastomzelllinien die Hypothese bestätigen, dass Betulinsäure in der Lage ist Apoptose zu induzieren.^[67] An der Universität Illinois in Chicago befindet sich Betullinsäure derzeit in einer klinischen Studie (Phase I/II) zur Behandlung von dysplastischen melanozytären Nävi (DMN), die als Vorläufer des Hautkrebs gilt.^[68]

Ähnlich wie Betulinsäure werden auch Ursolsäure und Oleanolsäure verschiedene zytotoxische Eigenschaften gegenüber Tumorzellen zugesprochen, wie z. B. Induzierung von Apoptose und Zelldifferenzierung^[69-75], sowie Hemmung der Invasion, Metastase und Angiogenese.^[76-81] Gegenwärtig befinden sich Ursolsäure Liposomen (UALs)^[82-84] in China sowie Bardoxolon und Bardoxolon-methylester (Oleanolsäurederivate) in den USA in einer klinischen Studie (Phase I bzw. Phase I/II).^[85, 86]

3. VERWENDETE METHODEN ZUR BESTIMMUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT

Das bioaktive Potential von chemischen Verbindungen, speziell Triterpensäurederivaten, wird mit in unserem Arbeitskreis etablierten Methoden auf ihre zytotoxische Aktivität (SRB-Assay, an bis zu 15 humanen Tumorzelllinien) sowie eine inhibitorische Wirkung auf Acetyl- und Butyrylcholinesterase (AChE und BChE) hin untersucht.

3.1. Zelltest

Die Wirkung einer strukturellen Modifizierung des Grundgerüsts von pentazyklischen Triterpenen wurde für verschiedene Tumorzelllinien untersucht. Idealerweise werden bei den untersuchten Tumorzelllinien niedrige EC₅₀-Werte erreicht, aber zugleich keine oder nur eine geringere Aktivität gegenüber non-malignen Mausfibroblasten (NIH3T3) erhalten. In Tabelle 1 sind die verwendeten Zelllinien aufgelistet. Die im Rahmen dieser Arbeit genutzte Auswertungsmethode ist ein SRB-Assay. Im Jahre 1990 entwickelte SKEHAN *et al.* eine Methode mit Hilfe des SRB-Assays zur *in vitro* Bestimmung der Zytotoxizität.^[87] Diese Zelltestart zeichnet sich als eine schnelle, empfindliche und kostengünstige Methode aus. Das Verfahren beruht auf der Eigenschaft von Sulforhodamin B (SRB) unter mildsauren Bedingungen stöchiometrisch an Proteine zu binden und unter basischen Bedingungen wieder extrahiert werden zu können. Die Menge an gebundenem Farbstoff kann dadurch als Ersatz für die Zellmasse verwendet und extrapoliert werden, um so das Zellwachstum zu bestimmen. Durch Auftragung des Gehalts an Zellprotein gegen die Konzentration erhält man eine Dosis-Wirkung-Kurve und kann somit die entsprechenden EC₅₀-Werte ermitteln.

Tabelle 1 Verwendete Zelllinien für den SRB-Assay

Zelllinie	Krebsart
FaDu	Plattenepithelkarzinom von Kopf und Nacken
A2780	Eierstockkarzinom
HT-29	Dickdarmkrebs
MCF-7	Mammakarzinom
SW1736	Schilddrüsenkarzinom
518A2	Melanom (Hautkrebs)
A375	Epithelial melanom
NIH3T3	nicht-maligne Mausfibroblasten

3.2. Enzymtest

Acetylcholinesterase (AChE) ist ein Enzym aus der Gruppe der Cholinesterasen. Sie spielt eine wichtige Rolle bei der Signalübertragung am synaptischen Spalt zwischen den einzelnen Nervenzellen. Antagonisten der AChE, wie z. B. Donepezil[®], Rivastigmin[®] und Galantamin[®] werden als Medikamente gegen neurologische Störungen, z. B. bei der Alzheimer-Krankheit, eingesetzt. Das verwandte Enzym Butyrylcholinesterase (BChE) ist eine nicht spezifische Cholinesterase und ebenfalls bekannt als Pseudocholinesterase. Sie katalysiert die hydrolytische Spaltung von Cholinestern einschließlich Acetylcholin. Ihre katalytische Effizienz gegenüber Acetylcholin ist jedoch geringer als die der AChE. Sie ist im Nervensystem weit verbreitet, was auf eine mögliche Beteiligung u. a. an der neuralen Funktion des Nervensystems hinweist.

Ein photometrisches Verfahren zur Bestimmung der AChE-Aktivität wurde im Jahr 1961 von ELLMAN beschrieben.^[88] Als Substrat wurde Acetylthiocholin bzw. Butyrylthiocholin benutzt. Das Hydrolyseprodukt des Substrats, Thiocholin, reagiert mit Dithiobisnitrobenzoat unter Freisetzung des gelben 5-Mercapto-2-nitrobenzoat. Durch Verfolgung des Intensitätsanstiegs der gelben Farbe kann die Enzymaktivität bestimmt werden.

4. ZIELSTELLUNG

Es ist bekannt, dass Modifizierungen der pentazyklischen Triterpensäuren an Position C-3 sowie an der Carboxylgruppe deren zytotoxische Wirkung beeinflussen. Im Rahmen der vorliegenden Promotionsarbeit sollen zum einen AKBA (**5**), welches aus Weihrauch nach JAUCH's Methode^[33] isoliert werden soll, und dessen Deacetylierungsprodukt KBA (**6**), derivatisiert werden. Des Weiteren hat unserer Arbeitsgruppe kürzlich berichtet, dass die Verknüpfung von Triterpensäuren mit Rhodamin B, welches selbst einen vergleichsweise untoxischen Farbstoff darstellt, über einen Piperazin-Spacer Verbindungen ergeben, die Zytotoxizitäten in nanomolarem Bereich aufweisen.^[89] Basierend auf diesen Erkenntnissen sollen ebenfalls verschiedene Rhodamin B-Konjugate synthetisiert werden. Diese sollen zum einen mit Rhodamin B direkt an die C-3 Hydroxylgruppe und zum anderen mit an Position 3-acetylierten Triterpensäuren über die Carboxylgruppe mit Homopiperazin als Spacer verknüpft werden. Weiterhin konnte unsere Arbeitsgruppe vor wenigen Jahren zeigen, dass ein Boswelliasäure-abgeleitetes Endoperoxid äußerst cytotoxisch wirkt und in humanen Tumorzellen in der Lage ist Apoptose auszulösen.^[90] Für weitergehende Untersuchungen hinsichtlich des Wirkmechanismus des Endoperoxids sollen schließlich ausgehend von AKBA (**5**) und GA (**10**) die entsprechenden Diolverbindungen der Endoperoxidderivate synthetisiert werden.

Alle neu synthetisierten Triterpensäurederivate sollen auf ihre biologischen Aktivitäten mittels SRB-Assay (Zytotoxizität) und Enzymtest hin untersucht werden. Die so ermittelten Daten sollen hinsichtlich ihrer Güte mit bereits bekannten Analogas verglichen werden.

5. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

5.1. Publikation 1: Synthesis and Cytotoxic Screening of β -Boswellic Acid Derivatives

Ratna Kancana Wolfram, Anja Barthel-Niesen, Renate Schäfer, Lucie Heller, Ahmed Al-Harrasi and René Csuk, *Mediterranean Journal of Chemistry* **2017**, 6 (4), 142-164.

Abstract

β -Boswellic acids are triterpenoids being generic to the plants of genus boswellia. Although they were shown to exhibit different biological activities, the cytotoxic potential of β -boswellic acid derivatives remained by and large unexploited. To expand the potential of these compounds we developed simple procedures for the interconversion of the most important β -boswellic acids **1-4** and prepared several other derivatives **5-48**. These compounds were screened for their cytotoxic activity in sulforhodamine B assays employing several human tumor cell lines and nonmalignant mouse fibroblasts. One of these compounds, a difluoromethylester of 3-*O*-Acetyl-11-keto- β -boswellic acid **23**, was cytotoxic for human breast adenocarcinoma cells MCF-7 ($EC_{50} = 6.5 \mu\text{M}$) while being significantly less cytotoxic for the mouse fibroblasts.

5.2. Publikation 2: β -11-Keto-boswellic acid derived amides: synthesis and cytotoxicity.

Ratna Kancana Wolfram, Anja Barthel-Niesen, Renate Schäfer, Lucie Heller, Ahmed Al-Harrasi and René Csuk, *Mediterranean Journal of Chemistry* **2017**, 6 (5), 180-190.

Abstract

The aim of this study was to prepare 11-keto- β -boswellic acid derivatives modified at C-24 and to evaluate their in vitro cytotoxicity. Acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) was isolated from frankincense and transformed into 11-keto- β -boswellic acid (KBA). Both compounds served as starting materials for the synthesis of several amides or hydrazides. The derivatives were fully characterized, and their cytotoxicity was evaluated in vitro using sulforhodamine B (SRB) assays employing two human tumor cell lines (A2780 and MCF7) as well as nonmalignant mouse fibroblasts (NIH3T3). Nearly all of the compounds were more cytotoxic than their parent compounds. The highest cytotoxicity was observed for (3 α ,4 β) 3-Acetyloxy-*N*-(3-aminopropyl)-11-oxo-urs-12-en-24-amide (**15**) and (3 α , 4 β) 3-Acetyloxy-*N*-[4-(3-aminopropyl) piperazin-1-yl] propyl-11-oxo-urs-12-en-24-amide (**16**) and the ovarian carcinoma cell line A2780. These compounds showed $EC_{50} = 1.0$ - $1.7 \mu\text{M}$ while being significantly less toxic for the mouse fibroblasts NIH 3T3 ($EC_{50} = 9.3$ - $16.3 \mu\text{M}$). Thus, compounds **15** and **16** have good

antitumor effects and may serve as starting points for developing potential and selective antitumor agents.

5.3. Publikation 3: Targeting Mitochondria: Esters of Rhodamine B with Triterpenoids are mitocanic Triggers of Apoptosis

Ratna Kancana Wolfram, Lucie Heller and René Csuk, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *152*, 21-30.

Abstract

Triterpenoic acids, ursolic acid (**1**), oleanolic acid (**2**), glycyrrhetic acid (**3**) and betulinic acid (**4**) were converted into their corresponding methyl **5–8** and benzyl esters **9–12** or benzyl amides **21–24**. These derivatives served as starting materials for the synthesis of pink colored rhodamine B derivatives **25–36** which were screened for cytotoxicity in colorimetric SRB assays. All of the compounds were cytotoxic for a variety of human tumor cell lines. The activity of the benzyl ester derivatives **29–32** was lower than the cytotoxicity of the methyl esters **25–28**. The benzyl amides **33–36** were the most cytotoxic compounds of this series. The most potential compound was a glycyrrhetic acid rhodamine B benzyl amide **35**. This compound showed activity against the different cancer cell lines in a two-digit to low three-digit nanomolar range. Staining experiments combined with fluorescence microscopy showed that this compound triggered apoptosis in A2780 ovarian carcinoma cells and acted as a mitocan.

5.4. Publikation 4: Homopiperazine-rhodamine B adducts of triterpenoic acids are strong mitocans

R. K. Wolfram, L. Fischer, R. Kluge, D. Ströhl, A. Al-Harrasi and R. Csuk, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *155*, 869-879.

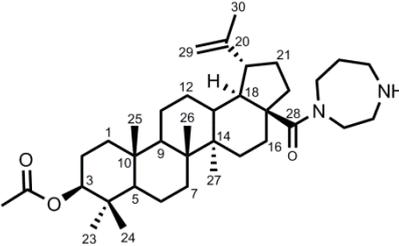
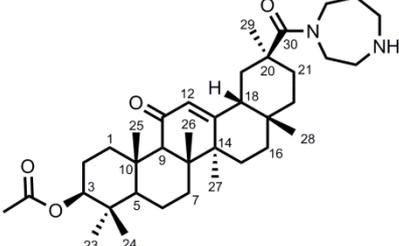
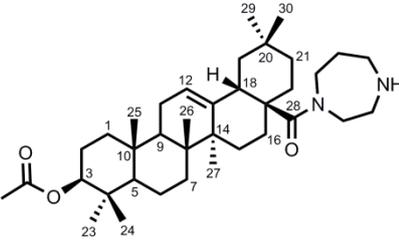
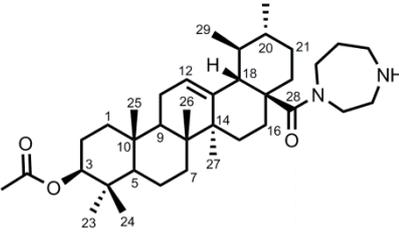
Abstract

Parent pentacyclic triterpenoic acids such as ursolic-, oleanolic, glycyrrhetic, betulinic and boswellic acid were converted into their acetylated piperazinyl amides that were coupled with rhodamine B. SRB assays to evaluate their cytotoxicity showed all of these triterpene-homopiperazinyl-rhodamine adducts **16–20** being highly cytotoxic for a panel of human tumor cell lines even in nanomolar concentrations while being significantly less cytotoxic for non-malignant cells. Interestingly enough, these compounds were even more cytotoxic than previously prepared piperazinyl analogs, thus making the homopiperazinyl spacer a very interesting scaffold for the development of biologically active compounds. Extra staining experiments showed that the cytostatic effect of compounds **18** and **20** onto A2780 cancer cells is due to their ability to act as a mitocan.

Die isolierten monomeren und dimeren Triterpen-Homopiperazin-Derivate wurden auch auf ihre AChE-Aktivität hin untersucht. Die Werte der monomeren Verbindungen sind in der Tabelle 2 dargestellt. Wegen schlechter Löslichkeit konnte die Zytotoxizität sowie Enzym-Aktivität der dimeren Verbindungen nicht mit den vorhandenen Methoden ermittelt werden. Aufgelistet sind die monomeren Verbindungen im Vergleich zur Standardsubstanz Galantamin Hydrobromid (GaL HBr). Die Inhibierungswerte der untersuchten Verbindungen liegen unterhalb der Referenzsubstanz und diese Verbindungen zeigen somit eine geringe Affinität gegenüber den Enzymen AChE sowie BChE.

Allgemeiner Teil

Tabelle 2 Ergebnisse der Enzymtests der Triterpen-Homopiperazin-Derivate

Substanz	AChE Inhibierung in % (verwendete Konzentration)	BChE Inhibierung in % (verwendete Konzentration)
GaL HBr	95.32 ± 0.50 (30 μ M)	79.64 ± 0.19 (30 μ M)
GaL HBr	94.19 ± 0.01 (20 μ M)	71.37 ± 0.54 (20 μ M)
	29.79 ± 1.73 (20 μ M)	42.79 ± 0.19 (20 μ M)
	51.59 ± 0.36 (30 μ M)	49.22 ± 2.52 (30 μ M)
	28.84 ± 0.68 (30 μ M)	41.39 ± 0.97 (30 μ M)
	28.38 ± 0.23 (30 μ M)	40.73 ± 0.16 (30 μ M)

5.5. Nicht publizierte Synthesen

Zur Isolierung von AKBA (**5**) aus Weihrauchharz wurde *tert*-Butylmethylether als Extraktionsmittel bevorzugt. Dieses zeigt zum einen eine bessere Löslichkeit und zum anderen eine sichere Handhabung im Vergleich zum üblicherweise verwendeten Diethylether. Die Extraktionsdauer betrug 48 h bei Raumtemperatur oder 16 h am Rückfluss, wobei die erhaltenen Mengen an Rohextrakte sich nur wenig unterschieden. Danach erfolgte eine Auftrennung in saure und nichtsaure Komponenten mittels eines Ethertrennungsgangs mit verdünnter Kalilauge. Nach Ansäuern der vereinigten wässrigen Phasen, Extraktion mit Diethylether und Reinigung mittels Säulenchromatographie erhielt man die gelbe, pulvrige Harzsäurefraktion. Bei Verwendung von *tert*-Butylmethylether wird anstatt eines pulvrigen Feststoffs lediglich ein viskoses Öl erhalten. Anschließend erfolgte nun die „fokussierende Synthese“, beginnend mit der Acetylierung der Harzsäuren mit NEt₃, DMAP und Acetylchlorid in Diethylether bei Raumtemperatur. Die Oxidation wurde nach der Methode von WOERPEL *et al.* durchgeführt.^[91] Dazu wurde das Gemisch der acetylierten Harzsäuren mit Natriumchlorit in Gegenwart von *N*-Hydroxyphthalimid (NHPI) im Lösungsmittelgemisch MeCN-H₂O bei 50 °C zu AKBA (**5**) umgesetzt.

Abbildung 4 zeigt die Synthese der Diole **17** und **18** ausgehend von AKBA (**5**) und Glycyrrhetinsäure (**10**). Während **10** kommerziell erhältlich ist, wurde **5** nach der oben beschriebenen Isolierungsmethode aus Weihrauchharz extrahiert. Zunächst erfolgte die Deacetylierung von **5** mit Kaliumhydroxid in Methanol zu KBA (**6**) in praktisch quantitativer Ausbeute. Die Umsetzung von **6** und **10** mit Methyljodid in DMF in Gegenwart von Pottasche führte in sehr guten Ausbeuten zu den Methylestern **11** bzw. **12**. Die anschließende Eliminierung der 3-Hydroxylgruppe erfolgte unter Mitsunobu-ähnlichen Bedingungen. Dazu wurden **11** und **12** mit Triphenylphosphan, Diethylazodicarboxylat (DEAD) und dem sterisch anspruchsvollen 3,3-Dimethylglutarimid in THF in die *En*-Verbindungen **13** bzw. **14** in guten Ausbeuten umgesetzt. Anschließend erfolgte die Oxidation der *En*-Verbindungen mit Natriumdichromat in Gegenwart von *N*-Hydroxysuccinimid in Aceton bei 40 °C zu den Endoperoxiden **15** bzw. **16**. Dabei wurde in einem Schritt die allylische Position an C-1 und die α -Position zur Carbonylgruppe an C-9 unter Ausbildung einer Peroxidbindung radikalisch oxidiert. Die Syntheseroute für **15** und **16** samt Toxizitätsdaten der Endoperoxide wurde von unserer Arbeitsgruppe im Jahr 2010 publiziert.^[90]

Die Arbeitsgruppe von WOERPEL *et al.* berichtete im Jahr 2015 eine Weiterentwicklung der Endoperoxidbildung ausgehend vom Glycyrrhetinsäurederivat **14** mit Natriumchlorit als Oxidationsmittel unter einer Sauerstoffatmosphäre in einer Ausbeute von 76%.^[91] Die Umsetzung der En-Verbindungen **13** und **14** lieferte sowohl mit Natriumdichromat in Aceton als auch mit Natriumchlorit in MeCN-H₂O unter einer Sauerstoffatmosphäre die Endoperoxide **15** bzw. **16** in geringen bis mäßigen Ausbeuten von 24 bzw. 43%. Somit konnten die verbesserten Ausbeuten von WOERPEL *et al.* nicht reproduziert werden. Die entsprechenden Diole **17** und **18** wurden durch Spaltung der Peroxidbindung mittels Thioharnstoff in Methanol bei 40 °C in moderaten Ausbeuten von 70 bzw. 65% erhalten.

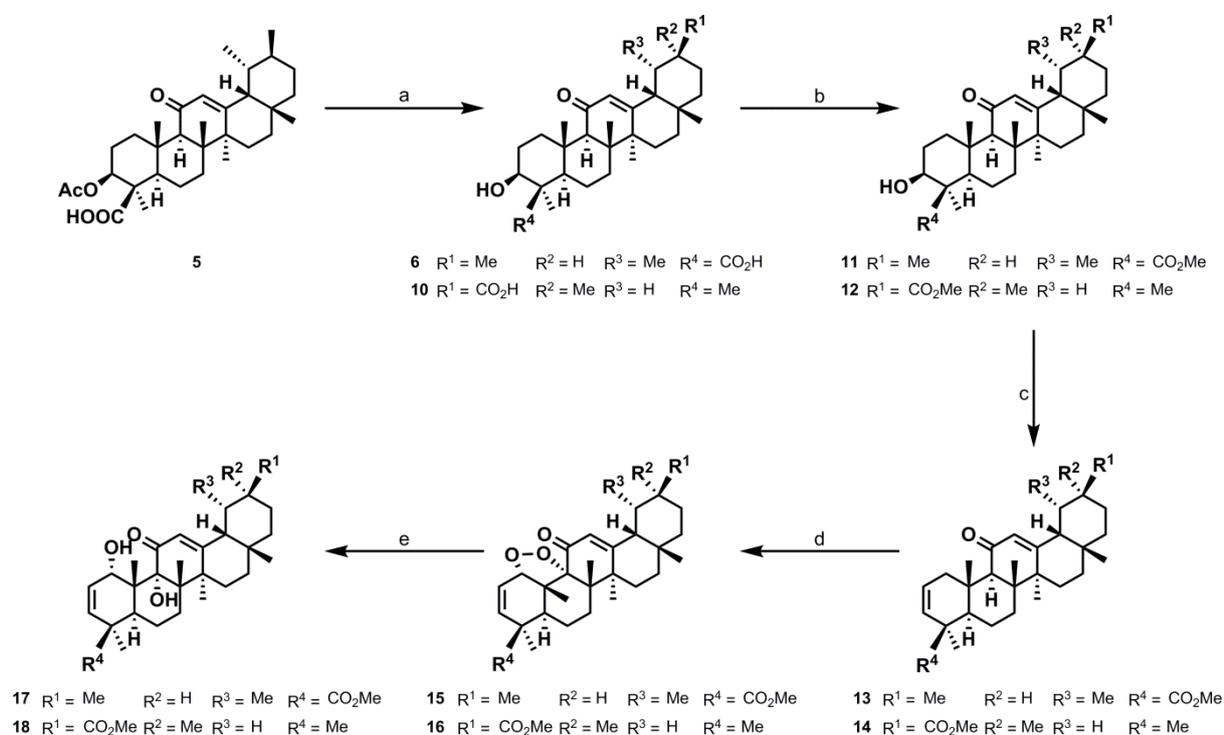


Abbildung 4 Synthese der Diole **17-18** ausgehend von AKBA (**5**) und GA (**10**): a) KOH, MeOH, RT, 3 d; b) K₂CO₃, MeI, DMF, RT, 24 h, **11** 92%, **12** 95%; c) PPh₃, DEAD, 3,3-Dimethylglutarimid, THF, RT, 20 h, **13** 82%, **14** 85%; d) NHPI, Na₂Cr₂O₇·H₂O, Aceton, RT, 20 h, O₂-Atm, **15** 24%, **16** 43%; e) Thioharnstoff, MeOH, 40 °C, 24 h, **17** 70%, **18** 65%.

Die Ergebnisse der SRB-Assay der Diole **17** und **18** sind in Tabelle 3 dargestellt. Zum Vergleich dazu sind ebenfalls die Aktivitäten der Ausgangsverbindungen AKBA (**5**), KBA (**6**), GA (**10**) sowie deren Endoperoxide **15** und **16** aufgelistet. Das Boswelliasäurederivat **17** zeigte zytotoxische Wirkung gegenüber Tumorzellen in vergleichbarer Größenordnung wie AKBA (**5**), während das Glycyrrhetinsäurederivat **18** im Vergleich zur Ausgangsverbindung GA (**10**) eine

Allgemeiner Teil

um den Faktor 3-6 höhere Zytotoxizität hatten. Im Gegensatz zu den Endoperoxiden **15** und **16**, die eine Zytotoxizität im niedrigen einstelligen mikromolaren Bereich besaßen, wiesen die Diole eine etwa 10-20 fache geringere Zytotoxizität auf.

Tabelle 3 Ergebnisse der Zelltest der Diole **17** und **18** (EC₅₀-Werte in µM).

Verbindung	A375	A2780	HT29	MCF7	NiH3T3	518A2
5 ^[92]	n.m	14.4±2.00	19.4±1.10	17.4±1.70	n.m	20.5±1.10
6 ^[92]	n.m	37.9±3.60	71.3±2.80	35.8±3.20	n.m	48.5±1.30
10 ^[61, 89]	n.m	74.6±3.73	80.1±4.00	84.7±4.24	18.5±0.93	n.m
15 ^[90]	n.m	0.70	n.m	1.80	n.m	0.80
16 ^[61]	n.m	1.05	n.m	2.90	n.m	1.20
17	25.9±2.45	17.1±0.77	26.7±1.87	12.5±0.74	26.3±4.65	29.9±2.39
18	27.0±2.2	23.8±0.72	26.5±1.26	14.3±0.6	25.6±3.7	30.9±1.31

In Tabelle 4 sind die Cholinesterase-Aktivitäten von **17** und **18** sowie die der Standardsubstanz Galantamin Hydrobromid dargestellt. Für die Endoperoxide **15** und **16** liegen keine Vergleichswerte vor. Die Testresultate zeigten keine erkennbare Inhibierung der Butyrylcholinesterase. Allerdings zeigte die beiden Verbindungen Aktivität gegenüber der Acetylcholinesterase. Das Glycyrrhetinsäurederivat **18** zeigte dabei eine stärkere Hemmung im Vergleich zum Boswelliasäurederivat **17**. Beiden Verbindungen hemmen sowohl kompetitiv als auch unkompetitiv das Enzym AChE.

Tabelle 4 Ergebnisse der Enzymtests der Diole **17** und **18**.

Substanz	AChE		BChE	
	%-Inhibierung	K _i [µM] / K _i ' [µM]	%-Inhibierung	K _i [µM] / K _i ' [µM]
Gal HBr (30µM)	96.8		76.5	
17	49.0	5.44 ± 1.12/ 17.32 ± 1.28	12.3	K _i >100
Gal HBr (50µM)	96.3	0.41 ± 0.10	86.0	3.06 ± 0.11
18	66.5	12.30 ± 0.16/ 50.65 ± 3.83	21.7	K _i >100

6. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Bisherige Erkenntnisse führten zu einer effizienten Isolierung von AKBA (**5**). Diese erfolgte durch Extraktion mittels *tert*-Butylmethylether, Ethertrennungsgang und säulen-chromatographischer Reinigung. Die dabei gewonnene Harzsäurefraktion konnte durch Acetylierung und anschließende Oxidation mit *N*-Hydroxyphthalimid und NaClO₂ in einem Lösungsmittelgemisch von MeCN-H₂O weiter zu AKBA (**5**) mit einer Ausbeute von 25 w% umgesetzt werden.

Vorrangig bei dieser Arbeit war die Suche nach weiteren antitumoraktiven Verbindungen besonders an AKBA- und KBA-Derivaten. Eine Reihe struktureller Modifikationen an der Carboxylgruppe sowie an Position C-3 wurde durchgeführt. Die in Publikation 1 beschriebenen Ester zeigten zytotoxische Wirkung gegenüber Tumorzellen in vergleichbarer Größenordnung wie AKBA (**5**).

Weiterhin konnte durch die Einführung einer Amid- bzw. einer Hydrazid-Funktion an der Carboxylgruppe von AKBA bzw. KBA eine Steigerung der zytotoxischen Eigenschaften erreicht werden (s. Publikation 2). Die Verknüpfung von AKBA mit den Diaminen, 1,3-Diaminopropan und 1,4-Bis(3-aminopropyl)piperazin, ergab Derivate mit hoher Zytotoxizität gegenüber Eierstockkarzinomzellen A2780 (EC₅₀-Werte: **15** 1.7 µM und **16** 1.0 µM) bei gleichzeitiger geringer Aktivität gegenüber den nicht-malignen Mausfibroblasten.

Die Untersuchung der biologischen Aktivität verschiedener Rhodamin B-Konjugate, bei denen Rhodamin B direkt an die C-3 Hydroxylgruppe verschiedener Triterpensäurenester bzw. -benzylamide verknüpft wurde, ergab zytotoxische Eigenschaften im Bereich von 0.04±0.01 bis 15.79±1.15 µM. Das Benzylamid **35**, ein Glycyrrhetinsäurederivat, aus Publikation 3 zeigte dabei den niedrigsten EC₅₀-Wert im nanomolaren Bereich.

Die Untersuchung an weiteres Rhodamin B-Konjugate mit Homopiperazin als Spacer wurde in Publikation 4 beschrieben. Die acetylierten Triterpen-homopiperazinylamide **11-15** zeigten Zytotoxizitäten in mikromolaren Bereich, während die acetylierten Triterpen-homopiperazinyl-Rhodamin B-Konjugate **16-20** eine höhere Zytotoxizität gegenüber humanen Tumorzelllinien in nanomolaren Bereich aufwiesen.

Hinsichtlich des Wirkmechanismus der Endoperoxide wurden ausgehend von AKBA (**5**) und GA (**10**) die entsprechenden Diolverbindungen der Endoperoxide synthetisiert. Die Diole **17** und **18** wiesen dabei eine geringere Zytotoxizität als die entsprechenden Endoperoxide auf. Aufgrund

dessen lässt sich vermuten, dass der Wirkmechanismus der Endoperoxide nicht auf deren reduzierter Form beruht. Weiterhin zeigten die beiden Verbindungen im Enzymtest keine nennenswerte Inhibierung der BChE, wohl aber der AChE. Die Diole **17** und **18** hemmen sowohl kompetitiv als auch unkompetitiv das Enzym AChE.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

1. ALLGEMEINE ARBEITSVORSCHRIFTEN

Die Umsetzungen wurden, soweit erforderlich, in ausgeheizten Glasapparaturen unter einem leichten Argon-Überdruck durchgeführt. Die kommerziell erhältlichen Lösungsmittel, die zur Aufarbeitung von Reaktionen oder als Laufmittel für die Säulenchromatographie verwendet wurden, wurden in p. A. Qualität direkt eingesetzt, ansonsten wurden diese durch Destillation am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck gereinigt. Die Lösungsmittel DCM, THF, und Et₂O wurden entsprechend den üblichen Labormethoden getrocknet.^[93]

1.1. Verwendete Geräte

Drehwerte: Drehwerte wurden bei 20 °C mit einem Polarimeter Modell 341 der Firma Perkin-Elmer gemessen.

Infrarotspektren: Infrarotspektren wurden mit dem Modell Spectrum 1000 der Firma Perkin-Elmer aufgenommen, wobei Feststoffe als KBr-Presslinge und Flüssigkeiten als Film zwischen KBr-Platten gemessen wurden. Die Absorptionen werden in Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] angegeben.

UV-Vis-Spektren: Die Aufnahme der UV-Vis-Spektren erfolgte mit dem Modell Lambda 14 der Firma Perkin-Elmer. Ausgewiesen wird jeweils die Wellenlänge λ_{\max} [nm] und der Absorptionskoeffizient ϵ [L mol⁻¹ cm⁻¹] am Absorptionsmaximum als einheitenloser dekadischer Logarithmus lg ϵ .

NMR-Spektren: Die ¹H-NMR-Spektren wurden mit den Modellen Unity Inova 500 und Gemini 400 in deuterierten Solventien aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen für Signale der ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren sind als δ -Werte in ppm bezogen auf den Standard, Tetramethylsilan, angegeben. Folgende Abkürzungen werden zur Kennzeichnung der Multiplizitäten der Signale verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), dd (Dublett von Dublett), dt (Dublett von Triplett) usw. Signale die durch Überlagerung oder Anteile höherer Ordnung nicht eindeutig interpretierbar waren, wurden entweder mit m_c (zentrales Multiplett bei symmetrischen Signalen) oder mit m (Multiplett über einen Bereich) bezeichnet. Verbreiterte Signale werden durch den Zusatz br indiziert.

Massenspektren: Zur Aufnahme der ESI-Spektren diente ein Ion-Trap-Massenspektrometer LCQ der Firma Finnigan. Angegeben sind jeweils die Quotienten aus Masse zu Ladung sowie deren relativen Intensität (%).

Schmelzpunkte: Die Schmelzpunkte wurden mit dem Heitzischmikroskop Galen III der Firma Leica sowie mit einem Schmelzpunktbestimmungsapparat der Firma Büchi M-565 gemessen. Die angegebenen Temperaturen sind nicht korrigiert.

1.2. Chromatographische Methoden

Dünnschichtchromatographie (DC): Es wurden Aluminium-Fertigfolien Kieselgel 60 F₂₅₄ der Firma Macherey-Nagel verwendet. Angegeben sind R_f-Werte (Laufhöhe relativ zur Laufmittelfront). Neben der UV-Detektion diente eine Cer-Molybdän-Lösung (400 mg Cer(IV)sulfat, 20 g Ammoniummolybdat, 400 mL 10%ige H₂SO₄) als Anfärbereagenz.

Säulenchromatographie: Alle säulenchromatographischen Trennungen wurden an Kieselgel 60 (Korngröße: 0.040–0.063 mm) der Firma Merck durchgeführt.

2. ISOLIERUNG VON AKBA AUS WEIHRAUCHHARZ

2.1. Extraktion des Weihrauchs

In einem konventionellen Mixer wurde kommerziell erhältlicher Weihrauch (50.0 g) zunächst zerkleinert. Der zerkleinerte Weihrauch wurde in MTBE (400 mL) suspendiert und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und anschließend das Filtrat unter reduziertem Druck bis zur Trockene eingengt. Der Filterrückstand wurde erneut in MTBE (400 mL) suspendiert und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach erneuter Filtration und Einengen der vereinigten Filtrate unter reduziertem Druck wurde der Weihrauchextrakt mit einer Gesamtausbeute von 38.7 g (77 w%) als gelb-oranges, zähflüssiges Öl erhalten, welches ohne zusätzliche Aufreinigung weiter verwendet wurde.

2.2. Ethertrennungsgang

38.7 g Weihrauchextrakt wurden in Et₂O (125 mL) aufgenommen, mit 1 M KOH (60 mL) bis pH>10 versetzt, die Phasen getrennt, und die wässrige Phase wurde mehrfach mit Et₂O (5×100 mL) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden nochmals mit 1 M KOH (3×50 mL) extrahiert. Die vereinigten, wässrigen Phasen wurden auf 0–5 °C abgekühlt, mit konz. HCl (30 mL) bis pH<2 angesäuert und mit Et₂O (5×150 mL) extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden mit Wasser (250 mL) neutral gewaschen, sukzessiv mit ges. NaCl-Lösung (80 mL) und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter reduziertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 2:1) wurde die Harzsäurefraktion (18.5 g, 37 w%) als gelbes Pulver erhalten.

2.3. Acetylierung der Harzsäurefraktion

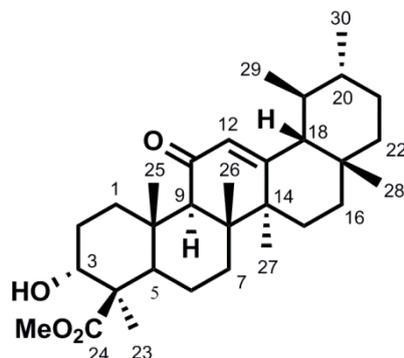
Zu einer Lösung der Harzsäurefraktion (18.5 g), NEt_3 (4.6 mL, 33.3 mmol) und DMAP (41 mg, 34 mmol) in Et_2O (100 mL) wurde bei Raumtemperatur Acetylchlorid (1.9 mL, 27 mmol) über ca. 15 min zugetropft und die resultierende Suspension über Nacht nachgerührt. Die Suspension wurde über eine Glasfritte (G4, \varnothing 65 mm) filtriert, der Rückstand mit Et_2O (17 mL) nochmals auf der Fritte verrührt und nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit Eiswasser (67 mL) versetzt, die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase wurde erneut mit Et_2O (33 mL) extrahiert und die vereinigten, organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter reduziertem Druck wurde die acetylierte Harzsäurefraktion (18.5 g, 37 w%) als gelber, pulveriger Feststoff erhalten. Mittels säulenchromatographischer Aufreinigung (Hex/EE 8:2) wurden AKBA (**5**) (6.48 g, 13 w%) und 3-*O*-Acetyl- β -BA-Fractionen (10.7 g) erhalten.

2.4. Oxidation der acetylierten Harzsäurefraktion

Eine Lösung der 3-*O*-Acetyl- β -BA -Fraktionen (10.7 g), NHPI (326 mg, 2 mmol, 10 mol%) und NaClO_2 (3.4 g, 38 mmol, 1.9 Äq) in MeCN/ H_2O 2:1 (240 mL) wurde bei 50 °C für 4 h gerührt. Die Lösung wurde zu einer 10%igen Na_2SO_3 -Lösung (200 mL) gegeben, und das Gemisch wurde mit CHCl_3 (3×100 mL) extrahiert, der Extrakt mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter reduziertem Druck wurde die gelbe, pulverige Rohmasse mittels säulenchromatographischer (Hex/EE 8:2) aufgereinigt und AKBA (**5**) (4.13 g, 8.3 w% → insgesamt 21 w% bezogen auf 50 g Weihrauch) als weißer Feststoff isoliert.

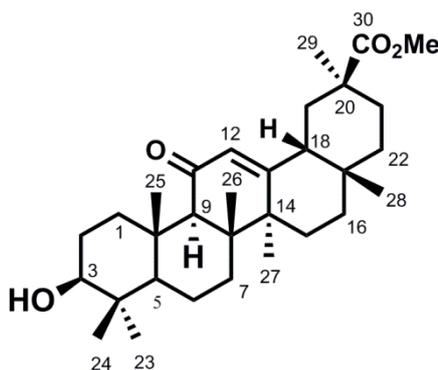
3. SYNTHESE DER AKBA- UND GLYCYRRHETINSÄUREDERIVATE

3.1. 11-Keto- β -boswelliasäuremethylester (11)



Zu einer Lösung von KBA **6** (10 g, 22 mmol, 1.0 Äq.) in DMF (100 mL) wurde gemahlene K_2CO_3 (3.3 g, 24 mmol, 1.1 Äq.) gegeben und bei Raumtemperatur für 30 min gerührt. Zu dem Gemisch wurde MeI (3.7 g, 1.6 mL, 26 mmol, 1.2 Äq.) über ca. 10 min zugetropft. Die Suspension wurde für weitere 24 h bei RT nachgerührt. Zum Reaktionsgemisch wurde 1 M HCl (300 mL) gegeben, das Rohprodukt abfiltriert und mit Wasser (2×100 mL) gewaschen. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 7:3) wurde **11** mit einer Ausbeute von 9.5 g (95%) als weißer Feststoff erhalten. Smp. 223-225 °C, $[\alpha]_D = +111.2^\circ$ (c 4.34, $CHCl_3$) (Lit.^[90]: Smp. 220-225 °C, $[\alpha]_D = +111.2^\circ$ (c 4.34, $CHCl_3$)).

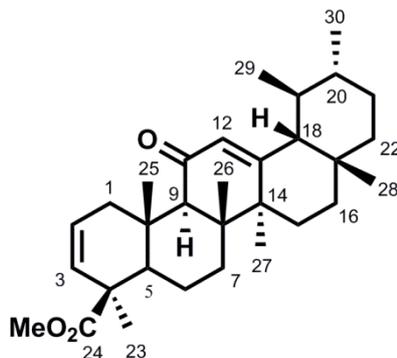
3.2. 18- β -Glycyrrhetinsäuremethylester (12)



Zu einer Lösung von **10** (10 g, 22 mmol, 1.0 Äq.) in DMF (100 mL) wurde gemahlene K_2CO_3 (3.3 g, 24 mmol, 1.1 Äq.) gegeben und bei Raumtemperatur für 30 min gerührt. Zu dem Gemisch wurde MeI (3.7 g, 1.6 mL, 26 mmol, 1.2 Äq.) über ca. 10 min zugetropft. Die Suspension wurde für weitere 24 h bei RT nachgerührt. Zum Reaktionsgemisch wurde 1 M HCl (300 mL) gegeben, das Rohprodukt abfiltriert und mit Wasser (2×100 mL) gewaschen. Nach

Umkristallisation aus Ethanol wurde **11** mit einer Ausbeute von 9.2 g (92%) als weißer Feststoff erhalten. Smp. 251–255 °C, $[\alpha]_D = +163.3^\circ$ (c 0.33, CHCl_3), (Lit.^[61]: Smp. 254–258 °C, $[\alpha]_D = +141.2^\circ$ (c 0.48)).

3.3. 3-Desoxy-11-oxo- β -boswellia-2-en-säuremethylester (**13**)



Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung von **11** (3.52 g, 7.26 mmol, 1 Äq.) in THF (80 mL), PPh_3 (9.54 g, 36.3 mmol, 5 Äq.) 3,3-Dimethylglutarimid (5.13 g, 36.4 mmol, 5 Äq.) zugegeben und bei RT für ca. 10 min. gerührt. Zu dem Gemisch wurde eine 40%ige Lösung von DEAD in Toluol (14.2 mL, 36.3 mmol, 5 Äq.) über ca. 5 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf 40 °C erwärmt und für 24 h bei dieser Temperatur nachgerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter reduziertem Druck und säulenchromatographischer Reinigung (Hex/EE 15:1) wurde **13** mit Ausbeute von 2.9 g (85%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 187–200 °C (Lit.: 185–188 °C).^[90]

R_f-Wert: 0.38 (Hex/EE 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.64\text{--}5.59$ (m, 2 H, 2-H, 3-H), 5.57 (s, 1 H, 12-H), 3.63 (s, 3 H, OMe), 3.08 (dd, $J = 18.2, 4.0$ Hz, 1 H, 1-H_a), 2.40 (s, 1 H, 9-H), 2.09 (ddd, $J = 13.6, 13.6, 4.8$ Hz, 1 H, 16-H_a), 1.96–1.85 (m, 2 H, 15-H_a, 6-H_a), 1.75–1.61 (m, 3 H, 1-H_b, 6-H_b, 7-H_a), 1.55 (dd, $J = 11.2, 1.4$ Hz, 1 H, 18-H), 1.51–1.30 (m, 5 H, 22-H₂, 19-H, 21-H_a, 7-H_b), 1.29 (s, 3 H, 23-H₃), 1.28 (s, 3 H, 27-H₃), 1.31–1.19 (m, 3 H, 5-H, 21-H_b, 15-H_b), 1.16 (s, 3 H, 26-H₃), 1.08 (s, 3 H, 25-H₃), 1.01 (ddd, $J = 13.6, 13.6, 4.9$ Hz, 1 H, 16-H_b), 0.98–0.95 (m, 1 H, 20-H), 0.94 (s, 3 H, 30-H₃), 0.82 (s, 3 H, 28-H₃), 0.79 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H, 29-H₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 199.1$ (C-11), 176.2 (C-24), 165.2 (C-13), 130.5 (C-12), 130.2 (C-3), 124.7 (C-2), 59.9 (C-9), 59.1 (C-18), 53.2 (C-5), 51.6 (OMe), 44.8 (C-4), 44.5 (C-8), 43.7 (C-14), 42.3 (C-1), 40.9 (C-22), 39.4 (C-19), 39.3 (C-20), 35.7 (C-10), 34.0 (C-17),

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 5.69 (s, 1 H, 12-H), 5.43 (ddd, J = 10.1, 6.0, 1.7 Hz, 1 H, 2-H), 5.36 (dd, J = 10.1, 2.5 Hz, 1 H, 3-H), 3.69 (s, 3 H, OMe), 3.04 (dd, J = 17.5, 6.1 Hz, 1 H, 1-H_a), 2.41 (s, 1 H, 9-H), 2.09 (dd, J = 13.6, 3.7 Hz, 1 H, 18-H), 2.02 (ddd, J = 13.5, 13.5, 4.5 Hz, 1 H, 16-H_a), 1.98 (m_c, 1 H, 21-H_a), 1.92 (m_c, 1 H, 19-H_a), 1.83 (ddd, J = 13.6, 13.6, 4.5 Hz, 1 H, 15-H_a), 1.70 (ddd, J = 12.6, 12.6, 4.0 Hz, 1 H, 7-H_a), 1.66–1.59 (m, 2 H, 1-H_b, 19-H_b), 1.57 (m_c, 1 H, 6-H_a), 1.48 (m_c, 1 H, 6-H_b), 1.45–1.26 (m, 4 H, 7-H_b, 22-H₂, 21-H_b), 1.36 (s, 3 H, 27-H₃), 1.21 (ddd, J = 13.8, 4.6, 2.5 Hz, 1 H, 15-H_b), 1.16 (s, 3 H, 25-H₃), 1.15 (s, 3 H, 26-H₃), 1.14 (s, 3 H, 29-H₃), 1.12 (dd, J = 12.4, 2.8 Hz, 1 H, 5-H), 1.01 (m_c, 1 H, 16-H_b), 0.96 (s, 3 H, 23-H₃), 0.91 (s, 3 H, 24-H₃), 0.82 (s, 3 H, 28-H₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 200.0 (C-11), 176.9 (C-30), 169.3 (C-13), 137.0 (C-3), 128.6 (C-12), 122.9 (C-2), 60.5 (C-9), 51.8 (C-5), 51.7 (OMe), 48.4 (C-18), 45.3 (C-8), 44.0 (C-20), 43.2 (C-14), 41.5 (C-1), 41.2 (C-19), 37.8 (C-22), 36.2 (C-10), 34.4 (C-4), 31.9 (C-7, C-23), 31.8 (C-17), 31.1 (C-21), 28.6 (C-28), 28.3 (C-29), 26.5 (C-16, C-15), 23.3 (C-27), 23.0 (C-24), 18.7 (C-6), 18.3 (C-26), 16.1 (C-25).

IR (KBr, cm⁻¹): $\tilde{\nu}$ = 3437 br , 3014 m , 2958 m , 2866 m , 1728 s , 1654 s , 1616 m , 1465 m , 1385 m , 1217 m , 1156 m , 1090 m , 977 m , 727 m .

Drehwert: $[\alpha]_D = +211.4^\circ$ (c 0.30, CHCl₃) (Lit.^[61]: $[\alpha]_D = +204.6^\circ$ (c 3.42, CHCl₃)).

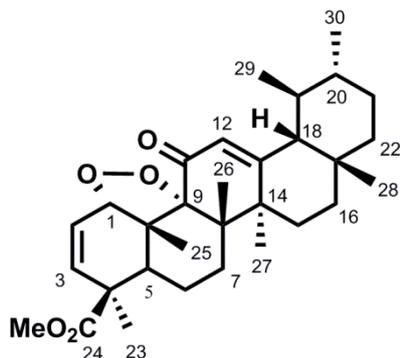
UV-Vis (MeCN): λ_{\max} (lg ϵ) = 246 nm (4.07).

MS (ESI, MeOH): m/z (%) 955.4 (30) [2M+Na]⁺, 933.3 (100) [2M+H]⁺, 467.3 (79) [M+H]⁺.

C₃₁H₄₆O₃ (466.71)

Elementaranalyse (%): ber.. C (79.83), H (9.87);
gef.: C (79.76), H (9.32).

3.5. 3-Desoxy-11-oxo-1 α , 9 α -peroxy- β -boswellia-2-ensäuremethylester (15)



Unter Sauerstoffatmosphäre wurde zu einer Lösung von **13** (0.98 g, 2.1 mmol, 1 Äq.) in Aceton (50 mL) NHPI (1.71 g, 10.5 mmol, 5 Äq.) und Na₂Cr₂O₇·2H₂O (130 mg, 0.42 mmol, 20 mol%) zugegeben. Die Suspension wurde über Nacht bei 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Kieselgel filtriert, mit CHCl₃ (450 mL) nachgewaschen und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/ EE 10: 1) und Umkristallisation aus Hexan wurde das Produkt **15** mit einer Ausbeute von 0.42 g (43%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 148–151 °C

R_f-Wert: 0.27 (Hex/EE 10:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 5.98 (d, J = 10.0 Hz, 1 H, 3-H), 5.69 (s, 1 H, 12-H), 5.67 (dd, J = 10.2, 4.8 Hz, 1 H, 2-H), 4.83 (d, J = 4.8 Hz, 1 H, 1-H), 3.65 (s, 3 H, OMe), 2.12 (ddd, J = 13.5, 13.5, 4.7 Hz, 1 H, 16-H_a), 2.07 (dd, J = 12.5, 2.1 Hz, 1 H, 5-H), 2.04–1.95 (m, 2 H, 6-H_a, 7-H_a) 1.94–1.80 (m, 2 H, 6-H_b, 15-H_a), 1.58 (dd, J = 11.0, 1.4 Hz, 1 H, 18-H), 1.52–1.39 (m, 4 H, 22-H_a, 19-H, 21-H_a, 7-H_b), 1.38 (s, 3 H, 23-H₃), 1.34 (s, 3 H, 27-H₃), 1.33–1.20 (m, 3 H, 22-H_b, 21-H_b, 15-H_b), 1.28 (s, 6 H, 25-H₃, 26-H₃), 0.98 (m_c, 1 H, 16-H_b), 0.93 (m_c, 1 H, 20-H), 0.93 (s, 3 H, 30-H₃), 0.85 (d, J = 6.3 Hz, 3 H, 29-H₃), 0.82 (s, 3 H, 28-H₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 193.5 (C-11), 175.6 (C-24), 166.3 (C-13), 137.0 (C-3), 127.8 (C-12), 120.4 (C-2), 90.2 (C-9), 80.1 (C-1), 60.6 (C-18), 54.3 (C-10), 51.9 (OMe), 46.1 (C-8), 45.3 (C-5), 44.9 (C-14), 44.2 (C-4), 40.8 (C-22), 39.7 (C-19), 39.3 (C-20), 34.8 (C-17), 31.0 (C-21), 29.9 (C-7), 29.1 (C-28), 28.5 (C-15), 27.2 (C-16), 26.7 (C-23), 23.8 (C-27), 20.9 (C-30), 20.0 (C-26), 19.0 (C-6), 17.4 (C-29), 13.2 (C-25).

IR (KBr, cm⁻¹): $\tilde{\nu}$ = 3445br, 2926m, 1732s, 1671s, 1611m, 1456m, 1385m, 1229m, 1128m.

Drehwert: $[\alpha]_D = +58.3^\circ$ (c 0.12, CHCl_3) (Lit.^[90]: $[\alpha]_D = +65.6^\circ$ (c 4.98, CHCl_3)).

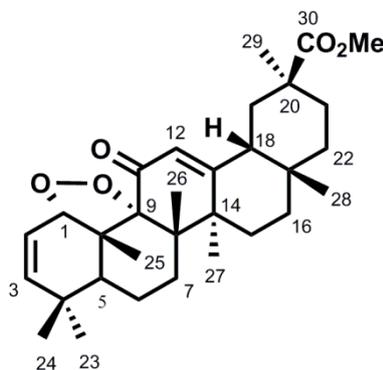
UV-Vis (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 242 nm (4.16).

MS (ESI, MeOH): m/z (%) 1015.1 (100) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 764.3 (25) $[3\text{M}+\text{Ca}]^{2+}$, 519.3 (54) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 497.2 (14) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

C₃₁H₄₄O₅ (496.70)

Elementaranalyse (%): ber.: C (74.96), H (8.93);
gef.: C (74.96), H (7.95).

3.6. 3-Desoxy-1 α , 9 α -peroxoglycyrrhetin-2-ensäuremethylester (16)



Unter Sauerstoffatmosphäre wurde zu einer Lösung von **14** (1.0 g, 2.2 mmol, 1 Äq.) in Aceton (60 mL) NHPI (1.86 g, 10.8 mmol, 5 Äq.) und $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (148 mg, 0.43 mmol, 20 mol%) zugegeben. Die Suspension wurde über Nacht bei 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Kieselgel filtriert, mit CHCl_3 (450 mL) nachgewaschen und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/ EE 10: 1) und Umkristallisation aus Hexan wurde das Produkt **16** mit einer Ausbeute von 0.24 g (24%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 152–155 °C (Lit.: 151–155 °C).^[61]

R_f-Wert: 0.27 (Hex/EE 9:1).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 5.82 (d, J = 9.9 Hz, 1 H, 3-H), 5.80 (s, 1 H, 12-H), 5.51 (dd, J = 9.9, 5.3 Hz, 1 H, 2-H), 4.92 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 1-H), 3.69 (s, 3 H, OMe), 2.10 (m_c , 1 H, 18-H), 2.09–1.92 (m, 5 H, 16-H_a, 7-H_a, 21-H_a, 19-H_a, 5-H), 1.79 (ddd, J = 13.2, 13.2 4.8 Hz, 1 H, 15-H_a), 1.71–1.63 (m, 2 H, 6-H_a, 19-H_b), 1.50 (m_c , 1 H, 6-H_b), 1.43–1.23 (m, 5 H, 7-H_b, 21-H_b, 22-H₂, 15-H_b), 1.39 (s, 3 H, 27-H₃), 1.36 (s, 3 H, 25-H₃), 1.26 (s, 3 H, 26-H₃), 1.15 (s, 3 H, 29-H₃), 1.06 (s, 3 H, 23-H₃), 1.01–0.97 (m, 1 H, 16-H_b), 0.96 (s, 3 H, 24-H₃), 0.80 (s, 3 H, 28-H₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 193.8$ (C-11), 177.0 (C-30), 169.2 (C-13), 144.6 (C-3), 126.3 (C-12), 117.6 (C-2), 90.6 (C-9), 80.3 (C-1), 55.2 (C-10), 51.7 (OMe), 49.7 (C-18), 46.6 (C-8), 44.3 (C-14), 44.0 (C-20), 42.9 (C-5), 40.6 (C-19), 37.7 (C-22), 35.3 (C-4), 32.6 (C-17), 31.2 (C-23, C-21), 29.8 (C-7), 28.6 (C-28), 28.3 (C-29), 27.9 (C-15), 26.4 (C-27), 26.1 (C-16), 21.7 (C-24), 20.2 (C-26), 17.6 (C-6), 15.6 (C-25).

IR (KBr, cm^{-1}): $\tilde{\nu} = 3432br$, 2959s, 2872m, 1731s, 1663s, 1611m, 1461m, 1388m, 1256m, 1218m, 1158m, 1088m, 977m, 877m.

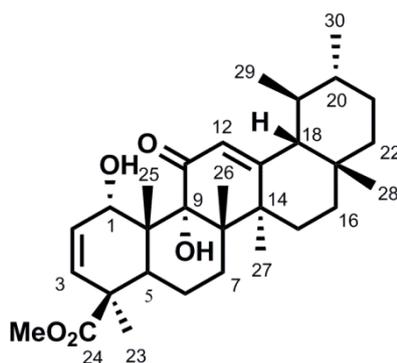
Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}} = +56.9^\circ$ (c 0.31, CHCl_3) (Lit.^[61]: $[\alpha]_{\text{D}} = +48.1^\circ$ (c 3.08, CHCl_3)).

UV-Vis (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 249 nm (3.99).

MS (ESI, MeOH): m/z (%) 529.0 (24) $[\text{M}+\text{H}+\text{MeOH}]^+$, 497.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{O}_5$ (496.69)

3.7. 3-Desoxy-11-oxo-1 α , 9 α -dihydroxy- β -boswellia-2-ensäuremethylester (17)



Zu einer Lösung von **15** (337 mg, 0.68 mmol, 1 Äq.) in MeOH (25 mL) wurde Thioharnstoff (103 mg, 1.36 mmol, 2 Äq.) gegeben. Die Suspension wurde auf 40 °C erwärmt und bei dieser Temperatur für weitere 24 h nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/ CHCl_3 /EE/HOAc 8:5:2:0.2%) wurde **17** mit einer Ausbeute von 229 mg (68%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 225–231°C.

R_f -Wert: 0.27 (CHCl_3 /Hex/EE 10:9:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.74$ – 5.72 (m, 2 H, 3-H, 2-H), 5.64 (s, 1 H, 12-H), 4.96 (mc, 1 H, 1-H), 3.63 (s, 3 H, OMe), 2.30 (dd, $J = 12.6, 3.1$ Hz, 1 H, 5-H), 2.22 (ddd, $J = 13.3, 13.3,$

3.8 Hz, 1 H, 7-H_a), 2.16 (ddd, $J = 13.5, 13.5, 4.8$ Hz, 1 H, 16-H_a) 2.01–1.89 (m, 2 H, 6-H_a, 15-H_a), 1.68 (ddd, $J = 13.5, 13.5, 3.6$ Hz, 1 H, 6-H_b), 1.56 (dd, $J = 11.5, 1.3$ Hz, 1 H, 18-H), 1.52–1.41 (m, 3 H, 22-H_a, 19-H, 21-H_a), 1.47 (s, 3 H, 27-H₃), 1.37 (s, 3 H, 23-H₃), 1.36–1.19 (m, 4 H, 22-H_b, 21-H_b, 15-H_b, 7-H_b), 1.18 (s, 3 H, 26-H₃), 1.04 (s, 3 H, 25-H₃), 0.97 (m_c, 1 H, 16-H_b), 0.94–0.90 (m, 1 H, 20-H), 0.93 (s, 3 H, 30-H₃), 0.84 (s, 3 H, 28-H₃), 0.82 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, 29-H₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 201.0$ (C-11), 175.6 (C-24), 168.1 (C-13), 133.5 (C-3), 128.0 (C-12), 126.1 (C-2), 83.5 (C-9), 74.0 (C-1), 60.4 (C-18), 51.7 (OMe), 47.6 (C-4), 46.0 (C-14), 44.9 (C-8), 43.8 (C-10), 42.1 (C-5), 41.0 (C-22), 39.5 (C-19), 39.3 (C-20), 34.6 (C-17), 31.0 (C-21), 29.4 (C-15), 29.3 (C-28), 27.7 (C-23), 27.5 (C-16), 27.3 (C-7), 25.3 (C-27), 21.0 (C-30), 20.6 (C-6), 20.5 (C-25), 19.1 (C-26), 17.5 (C-29).

IR (KBr, cm⁻¹): $\tilde{\nu} = 3447br, 2924m, 1730m, 1669m, 1458m, 1383m, 1260m, 1229m, 1111m, 1060m, 614m$.

Drehwert: $[\alpha]_D = +158.5^\circ$ (c 0.32, CHCl₃).

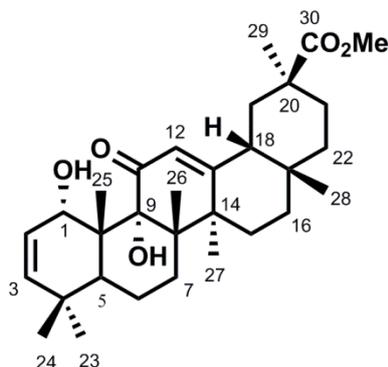
UV-Vis (MeCN): λ_{max} (lg ϵ) = 250 nm (3.99).

MS (ESI, MeOH): m/z (%) 1019.3 (100) [2M+Na]⁺, 521.4 (16) [M+Na]⁺, 481.2 (8) [M+H-H₂O]⁺.

C₃₁H₄₆O₅ (498.70)

Elementaranalyse (%): ber.. C (74.66), H (9.30);
gef.: C (74.32), H (9.17).

3.8. 3-Desoxy-1 α , 9 α -dihydroxyglycyrrhetin-2-ensäuremethylester (**18**)



Zu einer Lösung von **16** (418 mg, 0.81 mmol, 1 Äq.) in MeOH (25 mL) wurde Thioharnstoff (130 mg, 1.62 mmol, 2 Äq.) gegeben. Die Suspension wurde auf 40 °C erwärmt und bei dieser Temperatur für weitere 24 h nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Hex/CHCl₃/EE/HOAc 8:5:2:0.2%) wurde **18** mit einer Ausbeute von 293 mg (70%) als farbloser Feststoff erhalten.

Smp.: 208–213 °C

R_f-Wert: 0.10 (CHCl₃/MeOH 9:1).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 5.76 (s, 1 H, 12-H), 5.60 (dd, J = 10.0 Hz, 5.0 Hz, 1 H, 2-H), 5.55 (d, J = 10.0 Hz, 1 H, 3-H), 5.02 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 1-H), 3.68 (s, 3 H, OMe), 2.26–2.17 (m, 2 H, 5-H, 7-H_a), 2.11 (m_c, 1 H, 16-H_a), 2.09 (dd, J = 13.2, 4.4 Hz, 1 H, 18-H), 2.03–1.95 (m, 2 H, 19-H_a, 21-H_a), 1.88 (ddd, J = 13.3, 13.3, 4.7 Hz, 1 H, 15-H_a), 1.74–1.54 (m, 3 H, 19-H_b, 6-H₂), 1.53 (s, 3 H, 27-H₃), 1.41–1.29 (m, 3 H, 22-H₂, 21-H_b), 1.26–1.20 (m, 2 H, 15-H_b, 7-H_b), 1.19 (s, 3 H, 26-H₃), 1.14 (s, 3 H, 29-H₃), 1.10 (s, 3 H, 25-H₃), 1.04 (s, 3 H, 23-H₃), 0.97 (m_c, 1 H, 16-H_b), 0.91 (s, 3 H, 24-H₃), 0.83 (s, 3 H, 28-H₃).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 200.9 (C-11), 177.1 (C-30), 171.2 (C-13), 140.8 (C-3), 126.5 (C-12), 123.3 (C-2), 83.9 (C-9), 73.9 (C-1), 51.7 (OMe), 49.6 (C-18), 47.9 (C-8), 45.5 (C-14), 44.0 (C-20), 43.9 (C-10), 41.0 (C-19), 39.2 (C-5), 37.9 (C-22), 34.6 (C-4), 32.4 (C-17), 31.7 (C-23), 31.3 (C-21), 28.9 (C-28), 28.8 (C-15), 28.4 (C-27), 28.3 (C-29), 26.9 (C-7), 26.5 (C-16), 23.0 (C-24), 21.4 (C-25), 19.8 (C-6), 19.7 (C-26).

IR (KBr, cm⁻¹): $\tilde{\nu}$ = 3265br, 2949m, 2361m, 1729s, 1651s, 1452m, 1387m, 1280m, 1216m, 1192m, 1161m, 1088m, 875m.

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}} = +185.4^{\circ}$ (c 0.34, CHCl_3).

UV-Vis (MeCN): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 250 nm (4.15).

MS (ESI, MeOH): m/z (%) 1019.5 (13) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 997.1 (100) $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 499.1 (30) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

C₃₁H₄₆O₅ (498.70)

Elementaranalyse (%): ber.. C (74.66), H (9.30);
gef.: C (76.41), H (8.97).

C. ANHANG

ABKÜRZUNGEN UND AKRONYME

Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
AChE	Acetylcholinesterase
AKBA	3- <i>O</i> -Acetyl-11-keto- β -boswelliasäure
Äq.	Äquivalente
aq.	Wäßrig
Atm	Atmosphäre
BA	Boswelliasäure
BChE	Butyrylcholinesterase
ber.	berechnet
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigester
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
Fa.	Firma
GA	Glycyrrhetinsäure
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Hex	Hexan
<i>i</i> -Pr	<i>iso</i> -Propyl
IR	Infrarot-Spektroskopie
kat.	katalytische Mengen
KBA	11-Keto- β -boswelliasäure
konz.	konzentriert
Lit.	Literatur
LOX	Lipoxygenase
Me	Methyl

MS	Massenspektrometrie
MTBE	<i>tert</i> -Butylmethylether
NHPI	<i>N</i> -Hydroxyphthalimid
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
OA	Oleanolsäure
Ph	Phenyl
ppm	<i>parts per million</i>
RT	Raumtemperatur
Smp	Schmelzpunkt
SRB	Sulforhodamin
THF	Tetrahydrofuran
UA	Ursolsäure
UV	Ultraviolett-Spektroskopie
ZNS	Zentrales Nerven System

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. P. T. Ammon, *Weihrauch-Anwendung in der westlich Medizin*, 1. Auflage **2018**, Springer Verlag GmbH Berlin Heidelberg.
- [2] H. Kluge, R. C. Fernando, M. Winning, *Weihrauch und seine heilende Wirkung*, **1998**, Karl F. Haug Verlag, Hühig GmbH Heidelberg.
- [3] M. Z. Siddiqui, *Indian J. Pharm. Sci.* **2011**, 73 (3), 255–261.
- [4] H. Hussain, A. Al-Harrasi, R. Csuk, U. Shamraiz, I. R. Green, I. Ahmed, I. A. Khan, Z. Ali, *Expert Opin Ther Pat.* **2017**, 27(1), 81–90. Epub 2016 Sep 20.
- [5] M. Padhi, S. Mahapatra, *Phytochemistry and Pharmacology IREBI*, **2013**, 4(2), 74–83.
- [6] Deutsches Ärzteblatt 95, Heft 1–2, 5. Januar **1998**.
- [7] F. Iram, S. A. Khan, A. Husain, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2017**, 7(6), 513–523.
- [8] D. Martinetz, *Z. Phytoth.* **1992**, 13, 121–125.
- [9] H. P. T. Ammon, *Pharm. Ztg.* **2000**, 145(51–52), 10–16.
- [10] <http://www.remedia-homoepathie.de/boswellia-serrata-arzneimittelbild-rolf-julian-e-fazekas/e790>. Stand am 04.04.2018.
- [11] W. Blaschek, R. Hänsel, K. Keller, J. Reichling, H. Rimpler, G. Schneider, *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Folgeband 2: Drogen A-K* **1998**, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 90–93.
- [12] H. Gerhardt, F. Seifert, P. Buvvari, H. Vogelsang, R. Repges, *Z. Gastroentrol.* **2001**, 39, 11–17.
- [13] A. Madisch, S. Miehlke, O. Eichele, J. Mrwa, B. Bethke, E. Kuhlisch, E. Bastlein, G. Wilhelms, A. Morgner, B. Wigginghaus, M. Stolte, *Int. J. Colorectal Dis.* **2007**, 22, 1445–1451.
- [14] K. Sengupta, K. V. Alluri, A. R. Satish, S. Mishra, T. Golakoti, K. V. Sarma, D. Dey, S. P. Raychaudhuri, *Res. Ther.* **2008**, 10, 85.
- [15] K. Sengupta, A. V. Krishnaraju, A. A. Vishal, A. Mishra, G. Trimurtulu, K. V. Sarma, S. K. Raychaudhuri, S. P. Raychaudhuri, *Int. J. Med. Sci.* **2010**, 7, 366–377.
- [16] A. Notarnicola, S. Tafuri, L. Fusaro, L. Moretti, V. Pesce, B. Moretti, *Adv. Ther.* **2011**, 28, 894–906.
- [17] O. Sander, G. Herborn, R. Rau, *Z. Rheumatol.* **1998**, 57, 11–16.
- [18] I. Gupta, V. Gupta, A. Parihar, S. Gupta, R. Ludtke, H. Safayhi, H. P. Ammon, *Eur. J. Med. Res.* **1998**, 3, 511–514.
- [19] A. Pedretti, R. Capezzer, C. Zane, E. Facchinetti, P. Calzavara-Pinton, *Planta Med.* **2010**, 76, 555–560.
- [20] S. Kirste, M. Treier, S. J. Wehrle, G. Becker, M. Abdel-Tawab, K. Gerbeth, M. J. Hug, B. Lubrich, A. L. Grosu, F. Momm, *Cancer.* **2011**, 117, 3788–3795.
- [21] G. Jansen, U. Bode, H. Brey, B. Dohrn, V. Engelbrecht, U. Gobel, *Klein. Padiatr.* **2000**, 212, 189–195.
- [22] <https://www.juvalis.de/heilpflanzenlexikon/heilpflanze/weihrauch>. Stand am 04.04.2018
- [23] R. Hamidpour, S. Hamidpour, M. Hamidpour, M. Shahlari, *J. Trad. Compl. Med.* **2013**, 3 (4), 221–226.
- [24] J. Rethage, B. Meier, *Phytotherapie* **2001**, 1, 1–6.
- [25] A. Tschirch, O. Halbey, *Arch Pharm* **1898**, 236, 487–503.
- [26] O. Halbey, Über das Olibanum, Dissertation, Universität Bern, Bern **1898**.
- [27] A. Winterstein, G. Stein, *Z. physiol. Chem.* **1932**, 208, 9–25.
- [28] H. Sheng, H. Sun, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 543–553.
- [29] R. E. Ireland, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5743.

- [30] G. Stork, S. Uyeo, T. Wakamatsu, P. Grim, J. Labvitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 4945–4947.
- [31] W. S. Johnson, M. S. Plummer, S. P. Reddy, W. R. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 515–521.
- [32] K. Surendra, E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13928–13929.
- [33] J. Jauch, J. Bergmann, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4752–4756.
- [34] G. B. Singh, C. K. Atal, *Agents and Actions* **1986**, *18*, 407–412.
- [35] H. P. T. Ammon, T. Mack, G. B. Singh, H. Safayhi, *Planta medica* **1991**, *57*, 203–207.
- [36] H. Safayhi, T. Mack, J. Sabieraj, M. I. Anazodo, L. R. Subramanian, H. P. Ammon, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, *261*, 1143–1146.
- [37] H. Safayhi, E.-R. Sailer, H. P. T. Ammon, *Molecular Pharmacology* **1995**, *47*, 1212–1216.
- [38] E. R. Sailer, L. R. Subramanian, B. Rall, R. F. Hoernlein, H. P. Ammon, H. Safayhi, *Br. J. Pharmacol.* **1996**, *117*, 615–618.
- [39] E. R. Sailer, R. F. Hoernlein, H. P. T. Ammon, H. Safayhi, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **1996**, *353*, R43.
- [40] H. Safayhi, E. R. Sailer, H. P. T. Ammon, *Phytomedicine* **1996**, *3*, 71–72.
- [41] H. P. Ammon, H. Safayhi, T. Mack, J. Sabieraj, *J. Ethno. Pharmacol.* **1993**, *38*, 113–119.
- [42] E.-R. Sailer, R. F. Hoernlein, L. R. Subramanian, H. P. T. Ammon, H. Safayhi, *Arch. Pharm.* **1996**, *329*, 54–56.
- [43] H. Safayhi, S. E. Boden, S. Schweizer, H. P. Ammon, *Planta Med* **2000**, *66*, 110–113.
- [44] T. Syrovets, B. Buchele, E. Gedig, J. R. Slupsky, T. Simmet, *Mol. Pharmacol.* **2000**, *58*, 71–81.
- [45] O. Wallach, *Liebigs Ann. Chem.* **1887**, *239* (1), 1–54.
- [46] S. Saeidnia, *New Approaches to Natural Anticancer Drugs*, Springer-Verlag, **2015**.
- [47] E. Breitmaier, *Terpene Aromen Düfte, Pharmaka, Pheromone*, B.G. Teubner-Verlag Stuttgart-Leipzig **1999**.
- [48] R. Xu, G. C. Fazio, S. P. T. Matsuda, *Phytochem* **2004**, *65*, 261–291.
- [49] I. Abe, *Nat Prod Rep* **2007**, *24*, 1311–1331.
- [50] E. J. Rowe, J. E. Orr, A. H. Uhl, L. M Parks, *J. Amer. Pharmac. Assoc.* **1949**, *38*, 122–124.
- [51] C. H. Brieskorn, K. H. Eberhardt, *Arch. Pharm.* **1953**, *286*, 124–129.
- [52] T. Bersin, A. Müller, *Helv. Chim. Acta* **1951**, *34*, 1868–1872.
- [53] J. Hübner, M. Barmberg, *Komplementäre Onkologie, 1. Aufl.* **2008**, Schattauer Verlag-Stuttgart, 216.
- [54] C. H. Brieskorn, *Arch. Pharm* **1974**, *307*, 949–960.
- [55] I. Valterova, J. Klinot, A. Vystřcil, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1983**, *48*, 649–661.
- [56] M. d. C. Recio, R. M. Giner, S. Manez, J. Gueho, H. R. Julien, K. Hostettmann, J. L. Rios, *Planta Med.* **1995**, *61*, 9–12
- [57] G. Bringmann, W. Saeb, L. A. Assi, G. Francois, A. S. S. Narayanan, K. Peters, E. M. Peters, *Planta Med.* **1997**, *63*, 255–257.
- [58] S. J. Kim, H. Y. Quan, K. J. Jeong, D. Y. Kim, G. w. Kim, H. K. Jo, S. H. Chung, *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 434–442.
- [59] M. Putscher, *Das Süßholz und seine Geschichte*, Dissertation, Universität zu Köln, **1968**.
- [60] B. Sontia, J. Mooney, L. Gaudet, R. M. Touyz, *J. Clin. Hypertens.* **2008**, *10*(2), 153–157.
- [61] A. Niesen, A. Barthel, R. Kluge, A. Köwitsch, D. Ströhl, S. Schwarz, R. Csuk, *Arch. Pharm. Life Sci.* **2009**, *342*, 569–576.
- [62] L. Huang, X. Hao, Q. Li, D. Wang, J. Zhang, H. Luo, X. Yang, *J. Nat. Prod.* **2016**, *79* (4), 721–731.
- [63] S. Jäger, H. Trojan, T. Kopp, M. N. Laszczyk, A. Scheffler, *Molecules* **2009**, *14*(6), 2016–2031.

- [64] R. Csuk, B. Siewert, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6616–6618.
- [65] J. Patočka, *J. Appl. Biomed.* **2003**, *1*, 7–12.
- [66] E. Pisha, H. Chai, I. S. Lee, T. E. Chagwedera, N. R. Farnsworth, G. A. Cordell, C. W. Beecher, H. H. Fong, A. D. Kinghorn, D. M. Brown, *Nat. med.* **1995**, *1*, 1046–1051.
- [67] M.L. Schmidt, K.L. Kuzmanoff, L. Ling-Indeck, J.M. Pezzuto, *Eur. J. Cancer* **1997**, *33*, 2007–2010.
- [68] <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00346502>.
- [69] Y. L.Hsu, P. L. Kuo, C. C. Lin, *Life Sciences* **2004**, *75* (19), 2303–2316.
- [70] S. Prasad, V. R. Yadav, R. Kannappan, B. B. Aggarwal, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286* (7), 5546–5557.
- [71] Y Y. H. Choi, J. H. Baek, M. A. Yoo, H. Y. Chung, N. D. Kim, K.W. Kim, *Int. J. Oncol.* **2000**, *17* (3), 565–571.
- [72] H. Y. Lee, H. Y. Chung, K. H. Kim, J. J. Lee, K. W. Kim, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1994**, *120* (9), 513–518.
- [73] T. Zhang, Y. M. He, J. S. Wang, J. Shen, Y. Y. Xing, T. Xi, *Anti. Cancer Drugs* **2011**, *22* (2), 158–165.
- [74] H. Y. Lee, H. Y. Chung, K. H. Kim, J. J. Lee, K. W. Kim, *J. Cancer Res. Clin* **1994**, *120* (9), 513–518.
- [75] K. Umehara, R. Takagi, M. Kuroyanagi, A. Ueno, T. Taki, Y. J. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40* (2), 401–405.
- [76] H. J. Cha, S. K. Bae, H. Y. Lee, *Cancer Res.* **1996**, *56* (10), 2281–2284.
- [77] K.-H. Sohn, H.-Y. Lee, H.-Y. Chung, H.-S. Young, S.-Y. Yi, K.-W. Kim, *Cancer Lett.* **1995**, *94* (2), 213–218.
- [78] M. S. Kiran, R. I.Viji, V. B. Sameer Kumar, P. R. Sudhakaran, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2008**, *371* (3), 556–560.
- [79] C. Cárdenas, A. R. Quesada, M. Á. Medina, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2004**, *320* (2), 402–408.
- [80] Z. Ovesna, A. Vachalkova, K. Horvathova, D. Tothova, *Neoplasma* **2004**, *51* (5), 327–333.
- [81] K. H. Shon, H. Y. Lee, H. Y. Chung, H. S. Young, S. Y. Yi, K. W. Kim, *Cancer Lett* **1995**, *94* (2), 213–218.
- [82] Z. Zhu, Z. Qian, Z. Yan, C. Zhao, H. Wang, G. Ying, *Int. J. Nanomed.* **2013**, *8*, 129–136.
- [83] X. H. Wang, S. Y. Zhou, Z. Z. Qian, H. L. Zhang, L. H. Qiu, Z. Song, J. Zhao, P. Wang, X. S. Hao, H. Q. Wang, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2013**, *9*, 117–125.
- [84] Z. Qian, X. Wang, Z. Song, H. Zhang, S. Zhou, J. Zhao, H. Wang, *Biomed. Res. Int.* **2015**, *2015*.
- [85] <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03264079?term=bardoxolone&rank=1>
- [86] <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=bardoxolone>
- [87] P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, M. R. Boyd, *J. Nat. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 1107–1112.
- [88] G. L. Ellman, K. Courtney, V. Andreas, R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88–95.
- [89] S. Sommerwerk, L. Heller, C. Kerzig, A. Kramell, R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 1–9.
- [90] R. Csuk, A. Niesen-Barthel, A. Barthel, R. Kluge, D. Ströhl, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3840–3843.
- [91] A. Chung, M. R. Miner, K. J. Richert, C. J. Rieder and K. A. Woerpel, *JOC* **2015**, *80*, 266–273.
- [92] R. Csuk, A. Barthel-Niesen, A. Barthel, R. Schäfer, A. Al-Harrasi, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *100*, 98–105.

- [93] D. D. Perrin, W. L. F. Amarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd Ed., Pergamon Press, Oxford, **1988**.
- [94] S. Schwarz, R. Csuk, *Bioorg. Med. Chem* **2010**, *18*, 7458–7474.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name	Ratna Kancana Wolfram
Geburtsdatum	26.04.1983
Geburtsort	Sukabumi, Indonesien
Staatsangehörigkeit	Indonesisch

Schul- und Hochschulausbildung

Nov 2014 – März 2019	Promotion am Institut für Chemie im Bereich Organische und Bioorganische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Prof. Dr. René Csuk über das Thema: „Synthese und biologische Evaluierung von Triterpenen“
Aug 2012 – Okt 2012	Praktikum am Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie Göttingen unter der Leitung von Dr. Henrik Bringmann über die „Neurobiologie des Schlafes am Modellorganismus <i>C. elegans</i> “
Jun 2011 – Dez 2011	Diplomarbeit am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen unter der Leitung von Prof. Dr. Lutz Ackermann über das Thema: „Rutheniumkatalysierte oxidative C–H-Bindungsalkenylierung von <i>N</i> -Methylbenzamiden“
Apr 2004 – Mär 2011	Studium der Chemie an der Georg-August-Universität Göttingen mit Schwerpunkt organischer Chemie
Aug 2002 – Nov 2003	Studienkolleg Hamburg mit Schwerpunkt Naturwissenschaften zur Anerkennung der Hochschulreife
Jul 1997 – Jun 2000	Sekundarstufe II (SMUN 7) in Bogor, Indonesien

PUBLIKATIONSLISTE

➤ **Synthesis and Cytotoxic Screening of β -Boswellic acid Derivatives**

Ratna Kancana Wolfram, Anja Barthel-Niesen, Renate Schäfer, Lucie Heller, Ahmed Al-Harrasi and René Csuk, *Mediterranean Journal of Chemistry* **2017**, 6 (4), 142–164.

DOI: <http://dx.doi.org/10.13171/mjc64/01707151548-csuk>

➤ **β -11-Keto-boswellic acid derived Amides: Synthesis and Cytotoxicity**

Ratna Kancana Wolfram, Anja Barthel-Niesen, Renate Schäfer, Lucie Heller, Ahmed Al-Harrasi and René Csuk, *Mediterranean Journal of Chemistry* **2017**, 6 (5), 180–190.

DOI: <http://dx.doi.org/10.13171/mjc65/01710032249-csuk>

➤ **Targeting Mitochondria: Esters of Rhodamine B with Triterpenoids are mitocanic Triggers of Apoptosis**

Ratna Kancana Wolfram, Lucie Heller and René Csuk, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, 152, 21–30.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.031>

➤ **Homopiperazine-rhodamine B adducts of triterpenoic acids are strong mitocans**

Ratna Kancana Wolfram, Lucie Heller, Ralph Kluge, Dieter Ströhl, Ahmed Al-Harrasi and René Csuk, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, 155, 869–879.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.051>

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben.

Ich danke allen Mitarbeitern der analytischen Abteilungen des Bereichs Organische und Bioorganische Chemie. Für die Aufnahme der Massenspektren danke ich Herrn Dr. Kluge. Für die Aufnahme der NMR-Spektren möchte ich mich bei der NMR-Abteilung unseres Instituts Herrn Ströhl, Frau Yvone Schiller und Frau Senta Ludwig bedanken. Für die Aufnahme der IR-, UV-Vis-Spektren sowie der Drehwerte danke ich Frau Vivien Simon. Für die Elementaranalysen bedanke ich mich bei Frau Schwarzer. Für die Zell- und Enzymtests danke ich Frau Dr. Lucie Fischer sowie Frau Anne Loesche.

Vielen Dank an alle Arbeitskreismitglieder für die gute Zusammenarbeit, für die eine oder andere helfende Hand während meiner Promotionsarbeit. Besonders danke ich dabei meinen Laborkollegen Ann Flach, Thu Lin Thi Long, Benjamin Brandes, Sophie Hoenke und Sander Friedrich sowie meinem Kollegen Björn Weber. Danke für die schöne Zeit, gegenseitige Unterstützung und das angenehme Arbeitsklima im Labor, so dass man gerne darin arbeitete und verweilte. Einen Dank auch an „unsere“ Sekretärin Frau Anne Hauptmann für die Hilfe bei organisatorischen Sachen und dass sie zu meiner guten Freundin geworden ist.

Der größte Dank gebührt jedoch meinem lieben Mann, der in den stressigen Zeiten immer zu mir gehalten hat, für die fachlichen Tipps und sehr wertvollen Anregungen. Für meine liebe Tochter, für ihre Liebe und dass sie immer mal wieder für Ablenkungen sorgt. Des Weiteren möchte ich mich bei meinen lieben Eltern, meinen Verwandten und meinen Freunden bedanken, die mir stets den nötigen Rückhalt gegeben haben. Danke für Eure Unterstützung und Liebe, fürs Zuhören, Ablenken und Trösten.