

Isolierung von terpenoiden Sekundärstoffen aus *C. myrrha* und pharmakologische Testung in einem ICAM-1 *in vitro* Modell



Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg

vorgelegt von

Katrin Kuck

aus Hutthurm

2021

Diese Arbeit wurde im Zeitraum von März 2017 bis April 2021 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Jörg Heilmann am Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie der Universität Regensburg angefertigt.

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am: 08.07.2021

Datum der mündlichen Prüfung: 08.09.2021

Prüfungsausschuss:	Prof. Dr. Pierre Koch	(Vorsitzender)
	Prof. Dr. Jörg Heilmann	(Erstgutachter)
	Prof. Dr. Thomas J. Schmidt	(Zweitgutachter)
	PD Dr. Guido Jürgenliemk	(dritter Prüfer)

Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei Prof. Dr. Jörg Heilmann für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Möglichkeit diese Dissertation anzufertigen, bedanken. Lieber Jörg, vielen Dank für das Vertrauen, dass du in mich und meine Arbeit hast und dein offenes Ohr bei den vielen fachlichen und persönlichen Gesprächen. Dank deiner herzlichen Art habe ich mich an deinem Lehrstuhl immer gut aufgehoben gefühlt und mich in meiner Zeit hier nicht nur fachlich, sondern auch persönlich weiterentwickeln können.

PD Dr. Guido Jürgenliemk danke ich für seine Betreuung während meines praktischen Jahres, die botanisch/kulinarischen Exkursionen nach Südtirol und die gemeinsame „Hineinbetreuen von Erfolg“ im PB2-Praktikum. Lieber Guido, danke dass du mich damals zu dieser Promotion ermutigt hast, für deinen Rat bei vielen fachlichen Fragen sowie die vielen unterhaltsamen Stunden im Technikum.

Ganz besonders möchte ich mich bei der Repha GmbH für die finanzielle Unterstützung während der Promotion und bei zahlreichen Kongressen bedanken. Meinem Betreuer Dr. Bartosz Lipowicz gilt mein besonderer Dank. Lieber Bartosz, du hast mit zahlreichen Anregungen und Ideen maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Danke besonders für die Freiheit, die du mir bei der Bearbeitung des Themas gelassen hast, sowie deine Ermutigung wissenschaftliche Beiträge zu veröffentlichen.

Dr. Cica Vissiennon und Laura Weber von der Universität Leipzig möchte ich für die tolle Zusammenarbeit, den Aufenthalt in Leipzig und die Testungen meiner Myrrhe-Faktionen danken, die ein großartiges Paper ermöglicht haben.

Fritz Kastner sei ganz herzlich für die Aufnahme der NMR-Spektren gedankt, die für diese Arbeit unerlässlich waren und immer zuverlässig und schnell gemessen wurden.

Josef Kiermaier und Wolfgang Söllner danke ich für die Messung zahlreicher Massenspektren und den fachlichen Austausch bezüglich der Auswertung.

PD Dr. Dürkop möchte ich für eine Einführung in die CD-Spektroskopie und Hilfe bei den Messungen danken.

Meinen Wahlpflichtpraktikanten Ansgar Klinke, Florian Gamsreiter, Hannah Triebel, Ines Brehmer, Georg Schweiger und Leonhard Becker möchte ich für ihre tatkräftige Mithilfe im Labor und ihr Interesse an dieser Arbeit danken.

Anne Grashuber, der guten Seele unserer Praktika, ohne die ein reibungsloser Ablauf der Kurse nicht möglich gewesen wäre, bin ich zu großem Dank verpflichtet. Liebe Anne, vielen Dank für deine bereitwillige Hilfe und deine langjährige Erfahrung im Laboralltag, die wir schmerzlich vermissen werden.

Bei Gabriele Brunner möchte ich mich für die Einführung in die Geheimnisse der Zellkultur und ihre Geduld bei der Bearbeitung zahlreicher Bestellungen bedanken.

Hedwig Ohli gilt mein herzlicher Dank für ihre Hilfe bei bürokratischen Fragestellungen und die stets heiteren Gespräche im Sozialraum.

Martina Detektine Tremmel danke ich für die vielen gemeinsamen produktiven und unproduktiven Stunden im Schreibraum, den fachlichen Austausch, für „irgend“ und „wer“

und das Einfügen vieler Kommata während des Korrekturlesens. Liebe Tine, du hast mich meine ganze Doktorandinnenzeit über begleitet und bist nicht zuletzt durch zahlreiche gemeinsamen Abende bei Bier, Gin oder Limoncello zu mehr als einer Arbeitskollegin geworden.

Mirjam Abu Salah, deren Spitznamen diese Danksagung sprengen würden, danke ich für ihre Begabung Geschichten zu erzählen, das Korrekturlesen zahlreicher Berichte, ihre charmante Begleitung bei Fachapothekerseminaren und ausgiebige Diskussionen zum Thema Zucker-Konfigurationen. Liebe Miri, vielen Dank für den frisch gekochten Kaffee jeden Morgen und, dass du auch außerhalb der Arbeitszeit die besten Partys schmeißt.

Bernhard Börnster Kram möchte ich danken für sein außergewöhnliches handwerkliches Geschick bei Laborgeräten jeder Art, seine künstlerische Ader und, dass am Ende doch kein Hopfen in meiner Myrrhe war. Lieber Berni, deine Anwesenheit am Lehrstuhl steigert das Maß an technischen Innovationen, kindischen Witzen und Lachern am Gang immer enorm.

Peter Pöpll-Bürkel danke ich für seine ehrliche und unkomplizierte Art, amüsante Berichte über Großhasslacher Kulturveranstaltungen, seine angenehme Gesellschaft, seine brachiale Muskelkraft beim Lösen und Anziehen von Verschraubungen und seine Hilfe beim Entschärfen der „Bombe“.

Anna Unterholzner für ihren unerschütterlichen Optimismus und die vielen Diskurse zum Thema Myrrhe. Liebe Anna, ich freue mich, dass ich dieses spannende Projekt in vertrauenswürdige Hände abgeben kann.

Dr. Sebastian Schwidl für sein Interesse am Fortschritt dieser Arbeit („Hast es jetzt?“), sein offenes Ohr bei fachlichen Fragen und die gelegentliche willkommene Ablenkung im Schrebraum.

Carola Aumer für ihr fröhliches und herzliches Wesen, zwei unvergessliche PB2-Praktika, die durch sie sowohl fachlich als auch stylisch aufgewertet wurden.

Bei Sabrina Zölch bedanke ich mich für eine besondere Verbundenheit beim Zähneputzen.

Der Alten Riege des Lehrstuhls Dr. Ilya Volkov, Dr. Stefan Wiesneth, Dr. Christian Zeh, Dr. Katharina Schiller, Dr. Julianna Max, Dr. Filip Sibul und Dr. Eva Wolfgarten möchte ich für die freundliche Aufnahme in den Lehrstuhl, zahlreiche Geräteeinweisungen und mannigfaltige Hilfe bei Problemen aller Art danken. Mein spezieller Dank gilt dir, liebe Eva für die Betreuung meines Wahlpflichtpraktikums und, dass Kathi und du mich ins Katzen-Weihnachtslabor aufgenommen habt. Auch dir, liebe Juli, bin ich für viele Tipps und Tricks rund um den ICAM-Assays zu großem Dank verpflichtet.

Auch meinen aktuellen Kollegen Sina Malenke, Julia Brunner, Maria-Eleni Grafakou, Dr. habil. Christoph Dorn, PD Dr. Birgit Kraus sowie den Pharmaziepraktikanten Leonie Kayser, Alexander Ernst, Martin Hartmann und Lucia Kastner möchte ich für die gemeinsame Zeit am Lehrstuhl und die vielen gemeinsamen Erlebnisse danken.

Bei meinen Freunden außerhalb des Lehrstuhls möchte ich mich für ihre Unterstützung während dieser Zeit bedanken. Mit euch konnte ich die Arbeit auch mal beiseitelegen und neue Motivation schöpfen.

Auch bei meiner Familie, vor allem bei meinen Eltern möchte ich mich bedanken, dafür, dass sie mir mein Studium und diese Promotion erst ermöglicht haben und mich immer unterstützt haben.

Zum Schluss möchte ich noch dir, lieber Tom, meinen besonderen Dank aussprechen für dein Vertrauen, deine Loyalität und deine Liebe. Du warst in den schönen und auch den frustrierenden Momenten immer für mich da und deine wertvollen Ratschläge und Korrekturen haben viel zu dieser Arbeit beigetragen. Es bedeutet mir sehr viel, dich an meiner Seite zu wissen.

Publikationsliste

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Paper

Weber, L.; **Kuck, K.**; Jürgenliemk, G.; Heilmann, J.; Lipowicz, B.; Vissiennon, C. Anti-inflammatory and barrier-stabilising effects of myrrh, coffee charcoal and chamomile flower extract in a co-culture cell model of the intestinal mucosa. *Biomolecules* **2020**, *10*, doi:10.3390/biom10071033.

Kuck, K.; Jürgenliemk, G.; Lipowicz, B.; Heilmann, J. Sesquiterpenes from myrrh and their ICAM-1 inhibitory activity in vitro. *Molecules* **2020**, *26*, doi:10.3390/molecules26010042.

Konferenzbeiträge

Vorträge

5. Young Researcher Meeting, 22. - 23. März 2019, Münster, Deutschland

Kuck K., Lipowicz B., Jürgenliemk G., Heilmann J. *In vitro* Untersuchungen zur Hemmung der ICAM-1 Expression durch Myrrhe.

Posterbeiträge

Phytotherapie 2018, Tetranationaler Kongress, 31. Mai - 2. Juni 2018, Wien, Österreich

Kuck K., Lipowicz B., Jürgenliemk G., Heilmann J. Bioaktivitätsgeleitete Fraktionierung eines Myrrhe-Extraktes im ICAM-1 *in-vitro* Modell.

67th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA), 1. - 5. September 2019, Innsbruck, Österreich

Kuck K., Lipowicz B., Jürgenliemk G., Heilmann J. Isolation and Structure Elucidation of several Sesqui- and Triterpenes from *Commiphora myrrha* (NEES) ENGL.

INHALTSVERZEICHNIS

1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	1
2. EINLEITUNG.....	5
2.1. <i>Commiphora myrrha</i> (NEES) ENGL.....	5
2.2. Bekannte Inhaltstoffe der Myrrhe	7
2.2.1. Monoterpene.....	8
2.2.2. Sesquiterpene.....	8
2.2.3. Diterpene	12
2.2.4. Triterpene	13
2.2.5. Steroide	14
2.3. Traditionelle Verwendung von Myrrhe	14
2.4. Aktuelle Studienlage und moderne Anwendung.....	16
2.4.1. Anti-inflammatoryische Wirkung.....	16
2.4.2. Spasmolytische und barrierestabilisierende Effekte	17
2.5. Adhäsionsmoleküle in der Pathogenese der Colitis ulcerosa	18
2.6. Allgemeines zu ICAM-1.....	19
2.7. Zielsetzung	21
3. PRÄPARATIV-ANALYTISCHER TEIL	22
3.1. Material und Methoden	22
3.1.1. Geräte, Software, Gefäße und Materialien.....	22
3.1.2. Chemikalien	24
3.1.3. Pflanzenmaterial und Extraktion.....	25
3.1.4. Dünnschichtchromatographie.....	26
3.1.5. Fraktionierung und Isolierung	26
3.1.5.1. Flüssig-flüssig-Verteilung.....	26
3.1.5.2. Kieselgel Flash 1	26
3.1.5.3. Centrifugal Partition Chromatography	27
3.1.5.4. Kieselgel Flash 2	28
3.1.5.5. Methodenentwicklung für die préparative HPLC.....	28
3.1.5.6. Préparative HPLC	28
3.1.6. Strukturaufklärung und Substanzcharakterisierung	31
3.1.6.1. Reinheitsbestimmung.....	31
3.1.6.2. LC-HRESIMS	31
3.1.6.3. NMR-Spektroskopie	32
3.1.6.4. UV-Vis-Spektroskopie	32
3.1.6.5. Polarimetrie.....	33
3.1.6.6. Circular dichroismus	33
3.2. Isolierung.....	35
3.2.1. Isolierungsstrategie	35

INHALTSVERZEICHNIS

3.2.2. Extraktion	37
3.2.3. Flüssig-flüssig-Verteilung	37
3.2.4. Kieselgel Flash 1	38
3.2.5. Centrifugal Partition Chromatography (CPC).....	40
3.2.6. Kieselgel Flash 2	43
3.2.6.1. F6C7	43
3.2.6.2. F7C7	44
3.2.7. Präparative HPLC	46
3.2.7.1. F5C2	46
3.2.7.2. F5C5	47
3.2.7.3. F6C3	49
3.2.7.4. F6C4	50
3.2.7.5. F6C5	51
3.2.7.6. F6C7F1	52
3.2.7.7. F6C7F2	53
3.2.7.8. F6C7F3	54
3.2.7.9. F6C7F4	56
3.2.7.10. F7C2	58
3.2.7.11. F7C3	59
3.2.7.12. F7C6	60
3.2.7.13. F7C7F1	61
3.2.7.14. F7C7F2	62
3.2.7.15. F7C7F3	64
3.2.7.16. F7C7F4	65
3.2.7.17. F9C2	66
3.2.7.18. F9C3	67
3.2.7.19. F9C4	68
3.2.8. Instabilitäten und Artefaktbildung.....	69
3.3. Strukturaufklärung.....	71
3.3.1. Verunreinigungen	71
3.3.2. Allgemeine Strukturmerkmale.....	72
3.3.2.1. 2-Methyl-2-butenolid.....	72
3.3.2.2. 3-Methylfuran.....	73
3.3.3. Germacrane	74
3.3.3.1. Substanz 1: Glechomanolid	74
3.3.3.2. Substanz 2: 2 β -Acetoxyglechomanolid.....	76
3.3.3.3. Substanz 3: 8- <i>epi</i> -2 β -Acetoxyglechomanolid	78
3.3.3.4. Substanz 4: 2 β -Methoxyglechomanolid.....	80
3.3.3.5. Substanz 5: 8- <i>epi</i> -2 β -Methoxyglechomanolid	84
3.3.3.6. Substanz 6: 2 α -Methoxy-6-oxogermacra-1(10),7(11)-dien-8,12-olid	87
3.3.3.7. Substanz 7: Methoxy-5-acetoxyfuranogermacr-1(10)-en-6-on.....	89
3.3.3.8. Substanz 8: <i>rel</i> -2 <i>R</i> -Methyl-5 <i>S</i> -acetoxy-4 <i>R</i> -furanogermacr-1(10) <i>Z</i> -en-6-on	92
3.3.3.9. Substanz 9: (1 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-Germacron-1(10),4-diepoxid	95
3.3.4. Eudesmane	97
3.3.4.1. Substanz 10: 5- α H,8- β H-Eudesma-1,3,7(11)-trien-8,12-olid.....	97
3.3.4.2. Substanz 11: Lindestrenolid.....	99
3.3.4.3. Substanz 12: Isohydroxylindestrenolid.....	101

INHALTSVERZEICHNIS

3.3.4.4. Substanz 13: Hydroxylindestrenolid	103
3.3.4.5. Substanz 14: Atractylenolid III.....	105
3.3.4.6. Substanz 15: Commiphoran E3	107
3.3.4.6.1. Substanz 16: 4 β -Hydroxy-8,12-epoxyeudesma-7,11-dien-1,6-dion	109
3.3.5. Elemane	111
3.3.5.1. Substanz 17: Isogermafurenolid.....	111
3.3.5.2. Substanz 18: Methoxyisogermafurenolid	113
3.3.5.3. Substanz 19: 8- <i>epi</i> -2-Methoxyisogermafurenolid	116
3.3.5.4. Substanz 20: Hydroxyisogermafurenolid.....	119
3.3.6. Cadinane	121
3.3.6.1. Substanz 21: Commiterpen D	121
3.3.7. Guajane	124
3.3.7.1. Substanz 22: <i>rel</i> -(+)-(1S,4R,7S)-11-Acetyl-guai-10(14)-en-4,11-ol.....	124
3.3.7.2. Substanz 23: <i>rel</i> -(+)-(4R,5R,7S)-11-Acetyl-guai-1(10)-en-4,11-ol	127
3.3.8. Seco-Verbindungen.....	130
3.3.8.1. Substanz 24: Myrrhanoperoxid	130
3.3.8.2. Substanz 25: 9,10-Seco-isohydroxylindestrenolid	133
3.3.8.3. Substanz 26: 9-Nor-9,10-seco-isolindestrenolid	136
3.3.9. Verkürzte Triterpene	139
3.3.9.1. Substanz 27: Mansumbinol.....	139
3.3.9.2. Substanz 28: 3,4-Seco-mansumbionsäure	141
3.3.10. Triterpene	143
3.3.10.1. Substanz 29: Cycloartan-24-en-1 α ,3 β -diol.....	143
3.3.10.2. Substanz 30: Cycloartan-24-en-1 α ,2 α ,3 β -triol	145
3.3.10.3. Substanz 31: 1 α -Acetoxy-9,19-cyclolanost-24-en-3 β -ol.....	147
3.3.10.4. Substanz 32: 1 α -Acetoxycycloartan-24-en-2 α ,3 β -diol	149
3.3.10.5. Substanz 33: 3 β -Isovaleroyloxy-cycloartan-24-en-1 α ,2 α -diol	151
3.3.10.6. Substanz 34: 29-Nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α ,3 β -triol	154
3.3.10.7. Substanz 35: 3 β -Isovaleroyloxy-29-nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α -diol	156
3.3.10.8. Substanz 36: 29-Nor-1,2- <i>cis</i> -epoxy-lanost-8,24-dien-3 β -triol	160
3.3.10.9. Substanz 37: Hydroxydammarenon II	164
3.3.10.10. Substanz 38: Hydroxydammar-24-en-3,16-dion	167
3.4. Zusammenfassung und Diskussion	170
3.4.1. Zusammenfassung	170
3.4.2. Sesquiterpene	175
3.4.3. Germacrane	177
3.4.4. Eudesmane und Elemane	179
3.4.5. Cadinane	182
3.4.6. Guajane	183
3.4.7. Seco-Verbindungen.....	185
3.4.8. Triterpene	187
4. PHARMAKOLOGISCHER TEIL	192
4.1. Material und Methoden	192
4.1.1. Geräte und Software	192
4.1.2. Kulturmedien, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien.....	193

INHALTSVERZEICHNIS

4.1.3.	HMEC-1 Zellen.....	195
4.1.4.	Vorbereiten und Aliquotieren von Medium und Stammlösungen.....	195
4.1.4.1.	FKS (hitzeinaktiviert).....	195
4.1.4.2.	Kulturmedium.....	195
4.1.4.3.	Trypsin/EDTA	196
4.1.4.4.	Stammlösungen der Testfraktionen/-substanzen.....	196
4.1.4.5.	MTT Stammlösung	196
4.1.4.6.	SDS Lösung	196
4.1.4.7.	TNF- α Stammlösung	196
4.1.4.8.	Parthenolid Stammlösung	196
4.1.5.	Allgemeine Operationen/Zellkultivierung.....	197
4.1.5.1.	Auftauen, Einfrieren und Kryokonservierung von Zellen	197
4.1.5.2.	Passagieren und Kultivieren	197
4.1.5.3.	Bestimmung der Zellzahl.....	198
4.1.6.	MTT Assay	198
4.1.7.	ICAM-1 Assay.....	200
4.1.8.	Statistische Auswertung.....	203
4.2.	Ergebnisse und Auswertung	203
4.2.1.	Testung im Rahmen der bioaktivitätsgeleiteten Isolierung	204
4.2.1.1.	MTT Assay	204
4.2.1.2.	ICAM-1 Assay	206
4.2.2.	Testung der Reinsubstanzen.....	208
4.2.3.	MTT Assay	210
4.2.4.	ICAM-1 Assay.....	212
4.3.	Zusammenfassung und Diskussion	215
4.3.1.	Bioaktivitätsgeleitete Fraktionierung	215
4.3.2.	Reinsubstanzen.....	218
5.	ZUSAMMENFASSUNG.....	223
6.	SUMMARY.....	225
7.	LITERATUR.....	227
8.	ANHANG	241
9.	ERKLÄRUNG ZUR EIGENSTÄNDIGKEIT	253

1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
[α] _D ²⁵	spezifischer Drehwert
%	Prozent
1D	eindimensional
¹ H	Wasserstoff-Isotop mit einem Neutron
¹³ C	Kohlenstoff-Isotop mit 13 Neutronen
2D	zweidimensional
δ	chemische Verschiebung
ε	molarer Absorptionskoeffizient
λ_{\max}	Wellenlänge des Absorptionsmaximums
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μM	Mikromolar
ϕ	Torsionswinkel
Å	Ångström
AA	Anisaldehyd-Schwefelsäure Reagenz
ACN	Acetonitril
ANOVA	analysis of variance, Varianzanalyse
ASC	ascending Modus
br	breites Signal
BSA	Bovines Serum Albumin
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
C.	<i>Commiphora</i>
ca.	circa
CD	Circular dichroism, Zirkulardichroismus
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
COSY	Correlated spectroscopy
COX	Cyclooxygenase
CPC	Centrifugal Partition Chromatography
CU	Colitis ulcerosa
CXCL13	C-X-C motif Chemokin 13
d	Dublett
DAD	Diodenarray-Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie/Dünnschichtchromatogramm

DCM	Dichlormethan
DEV	Droge-Extrakt-Verhältnis
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dd	Dublett vom Dublett
d.h.	das heißt
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSC	descending Modus
ECGM	Endothelial Cell Growth Medium
EDTA	Ethyldiamintetraessigsäure
ENGL.	Heinrich Gustav Adolf Engler
ESI	Electrospray-Ionisation
etc.	et cetera
EtOAc	Ethylacetat
EU	Europäische Union
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting, Durchflusszytometer
FKS	Fetales Kälber Serum
FITC	Fluorescein Isothiocyanat
FM	Fließmittel
FSC	Forward-Scattered Light, Vorwärtsstreulicht
g	Gramm
h	Stunden
HEP	n-Heptan
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation spectroscopy
HMEC-1	Human Microvascular Endothelial Cells-1
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HR	High Resolution, hochauflösend
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation Spectroscopy
Hz	Hertz
IC₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
ICAM-1	Interzellulares Adhesionsmolekül-1, CD54
IFN-γ	Intreferon γ
IL	Interleukin
J	Kopplungskonstante
K	Kelvin
Konz.	Konzentration
l	Liter
LC	liquid Chromatography, Flüssigchromatographie
LFA-1	Leukozyten Funktions-Antigen 1
LIFDI	Liquid Injection Field Desorption Ionization
LM	Lösemittelkontrolle

log	dekatischer Logarithmus
LPS	Lipoplysaccharid
M	molar
m	Multiplett
m/V	Masse/Volumen
m/z	Masse-Ladungs-Verhältnis
mAU	Milli-Absorptionseinheit
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein 1
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MS	Massenspektrometrie
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-diphenyltetrazoliumbromid
MW	Mittelwert
NEES	Theodor Friedrich Ludwig Nees von Esenbeck
NF-κB	Nuclear Factor Kappa B
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance, Kernresonanzspektroskopie
NK	Negativkontrolle
NO	Stickstoffmonoxid
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Nr.	Nummer
OP	Oberphase
PBS	Phosphate Buffered Saline
PGE₂	Prostaglandin E ₂
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
PK	Positivkontrolle
Pos.	Position
ppm	parts per million
QSAR	Quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungs Studie
rel.	relativ
R_f	Retentionfaktor
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RP-18	reversed Phase 18
s	Singulett
s	Sekunde
SARS-CoV-2	schweres akutes Atemwegssyndrom-Coronavirus-Typ 2

SDS	Sodium Dodecyl Sulfat, Natriumdodecylsulfat
SSC	Side-Scattered Light, Seitenstreulicht
SD	Standardabweichung
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
t	Triplet
T	Temperatur
TEER	Transepithelialer elektrischer Widerstand
TIC	Total Ion Current
TNF-α	Tumor Nekrose Faktor α
UK	unbehandelte Kontrolle
UP	Unterphase
UpM	Umdrehungen pro Minute
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
UV/Vis	Ultravioletter/sichtbarer Bereich
v. Chr.	vor Christus
V	Volt
V/V	Volumen/Volumen

2. EINLEITUNG

2.1. *Commiphora myrrha* (NEES) ENGL.

Die Familie der Burseraceen gehört zur Ordnung der Sapindales innerhalb der Angiospermen und umfasst 18 Gattungen mit insgesamt ca. 640 Arten, die sich in drei Unterfamilien (Bursereae, Cacarieae und Protieae) unterteilen lassen. Zusammen mit dem nah verwandten Weihrauch (*Boswellia*) gehört die Gattung *Commiphora* zu den Bursereae [1]. In dieser Gattung sind etwa 150-200 Arten kleinblättriger, gummiharz-führender Pflanzen mit sich abschälender Rinde, weichem Holz und dickem unverzweigtem Stamm (Pachycaulie) zusammengefasst. Ihr Verbreitungsgebiet erstreckt sich über den tropischen bis subtropischen Bereich von Subsahara-Afrika über Madagaskar, die arabische Halbinsel bis nach Indien und Pakistan [1-3]. Eine einzelne Art, *C. leptophloeos*, kommt auch in Brasilien vor [2]. Das getrocknete Gummiharz von verschiedenen *Commiphora*-Spezies wird als Myrrhe bezeichnet, wobei vor allem die echte Myrrhe, *Commiphora myrrha* (NEES) ENGL., zur Gewinnung der Droge verwendet wird [4]. Diese Pflanze wird synonym auch als *C. myrrha* var. *molmol* ENGL. oder *C. molmol* (ENGL.) sowie in älteren Quellen als *Balsamodendrum myrrha* NEES oder *Balsamea myrrha* (NEES) OKEN bezeichnet [3,5].

C. myrrha ist in weiten Teilen Nordafrikas und der arabischen Halbinsel verbreitet, wobei große Bestände vor allem in Somalia, Äthiopien und Saudi-Arabien beheimatet sind [6-9]. Die echte Myrrhe gedeiht in den Ökoregionen des Akazien-*Commiphora*-Buschlands, welches Bestandteil von Graslandschaften und Savannen ist und sich durch flache Böden mit Kalkgestein auszeichnet [10,11].

Der Name *Commiphora* leitet sich ab von den griechischen Wörtern *kómmi* für das Harz der Nil-Akazie und *-phoros* für tragend [12] und nimmt darauf Bezug, dass viele *Commiphora*-Spezies ein Gummiharz führen. Dieses befindet sich in schizogenen Harzkanälen, die die ganze Pflanze durchziehen. Werden sie verletzt, tritt das Gummiharz als milchige, stark duftende Flüssigkeit aus, die an der Luft zu einem gelblich-bräunlichen, durchsichtigen Feststoff aushärtet, der als Myrrhe bezeichnet wird [11,13] (**Abbildung 1**). Die Artbezeichnung *myrrha* leitet sich vom arabischen *murr* bzw. lateinischem *murra* für bitter ab und bezieht sich auf den anhaltend bitteren Geschmack der Droge [8,12].



Abbildung 1. Gummiharz von *Commiphora spec.*, Quelle: Thomas Gruber.

C. myrrha wächst als dorniger, stämmiger Strauch oder kleiner Baum, der max. 4 m Höhe erreicht und besitzt eine silberne bis weiß-gräulichen Borke, die sich in großen pergamentartigen Stücken teilweise ablöst und darunter eine grüne Schicht freigibt. Die Blattform kann sehr variabel sein und zeichnet sich durch eine dreizählig gefingerte Blattspreite mit einer großen Mittelfieder und zwei kleineren bis stark reduzierten Seitenfiedern aus. Die ledrigen Blätter können elliptisch bis spatelförmig oder lanzettlich sein, sind an der Spitze teilweise gesägt und 6-44 mm lang sowie 3-20 mm breit [8]. Die diözischen Pflanzen bilden kleine eingeschlechtige Blüten, die vierzählig angelegt und von gelblich-grünlicher Farbe sind. Männliche Blüten besitzen einen 4 mm langen, rötlichen und vierspitzigen Blütenboden, der kelch- oder becherförmig ist und 4,5 mm lange und 1,5 mm breite, spitz zulaufende Petalen trägt. Zwei bis vier männliche Blüten bilden dichasiale Trugdolden mit bräunlichen Brakteen und spärlich drüsig behaarten Blütenstandsachsen [8]. Die weiblichen Blüten und Blütenstände sind nur unzulänglich beschrieben. *C. myrrha* bildet runde bis elliptische 12-16 mm lange und 6-8 mm breite Steinfrüchte mit einer fleischigen äußeren Schicht und einem 6-9 mm langen und 4-6 mm breiten Samen [6] (**Abbildung 2**).



Abbildung 2. *Commiphora myrrha* aus „Köhler's Medizinal-Pflanzen“ (1887). Teil eines beblätterten Astes (A); Zweigende mit Früchten (B); Blatt, vergrößert (1); männliche Blüte von *Balsamodendron ehrenbergianum*, nach Berg (2); weibliche Blüte derselben Art, gleichfalls nach Berg (3); Frucht (4 und 5). Quelle: Wikimedia Commons [14].

2.2. Bekannte Inhaltstoffe der Myrrhe

Bei Myrrhe handelt es sich um ein komplexes Stoffgemisch dessen Zusammensetzung bereits intensiv untersucht wurde. Das getrocknete Gummiharz besteht zu etwa 30-60% aus wasserlöslichen Gummen, 25-40% aus alkohollöslichem Harz und 3-8% aus ätherischem Öl [15].

Der wasserlösliche Anteil setzt sich aus Proteoglykanen mit einem Proteinanteil von 10-49% und einem hohen Anteil an glucuronsäurehaltigen Polymeren zusammen. Die Glycoproteine besitzen einen Proteinkern, an dem über Hydroxyprolin, das bis zu 40% der Aminosäuren ausmacht, Zuckerketten verknüpft sind. Diese sind entweder aus Arabinose oder Galaktose verknüpft mit 4-O-Methylglucuronsäure aufgebaut [16]. Der wasserlösliche Anteil der Myrrhe zeigt damit Ähnlichkeiten zu den Gummen der *Acacia* [17].

Der Rest des Gummiharzes besteht hauptsächlich aus terpenoiden Verbindungen und enthält vorrangig Sesqui- und Triterpene, die sich je nach Volatilität dem Harz oder ätherischen Öl zuordnen lassen.

2.2.1. Monoterpene

Monoterpene bestehen aus zwei Isopreneinheiten und verfügen damit (zumindestens zu Beginn der Biosynthese) über zehn Kohlenstoffatome. Sie sind in der Regel flüchtig und Bestandteile des ätherischen Öls [18]. Auch im ätherischen Öl vieler *Commiphora*-Arten sind Monoterpene zu finden und bilden teilweise sogar die Hauptbestandteile. Sie sind beispielsweise bis zu 75-80% im Öl von *C. tenuis* und *C. cyclophylla* enthalten, wobei Limonen, α -Thujen, α -Pinen, β -Pinen und Sabinen vorherrschen [19,20]. Aber auch in anderen Arten wie *C. opobalsamum*, *C. sphaerocarpa* und *C. mukul* wurden Monoterpene in relevanten Mengen nachgewiesen [5,21]. Für das ätherische Öl von *C. myrrha* ist die Anwesenheit von Limonen und Pinen dokumentiert, entsprechende Quellen stammen aber von vor 1944 [5,15]. In moderneren GC-MS-Untersuchungen konnte dies nicht bestätigt werden [21–26], was den Verdacht nahelegt, dass das vor 1944 verwendete Drogenmaterial unter Umständen mit anderen Arten verunreinigt war. Möglicherweise spielt aber auch die Herkunft des Gummiharzes eine Rolle.

2.2.2. Sesquiterpene

Sesquiterpene sind die am besten untersuchte Inhaltstoffklasse in *C. myrrha*. Sie bestehen aus drei Isopreneinheiten und erreichen aufgrund ihres variablen Kohlenstoffskeletts und vielfältiger Oxidationsmuster eine gewaltige Strukturvielfalt [18]. Wie die Monoterpene sind sie ebenfalls meist flüchtig und damit GC-MS-Untersuchungen zugänglich, was die Identifizierung und Quantifizierung im ätherischen Öl und in Extrakten ermöglicht. Entsprechende Studien zu *C. myrrha* wurden bereits mehrfach mit variablen Ergebnissen durchgeführt [21–26]. Diese Daten sollen hier kurz verglichen werden, um einen Einblick in das Inhaltstoffspektrum von flüchtigen Sesquiterpenen zu erhalten. Alle hier zusammengefassten Untersuchungen haben Substanzen über MS-Spektren identifiziert und relative Gehalte mittels einer 100%-Methode berechnet. Durch Vergleich von sechs Studien konnte ein Ranking der am häufigsten detektierten Komponenten erstellt werden (**Tabelle 1**).

Tabelle 1. Zusammenfassungen von sechs Studien zu GC-MS-Untersuchungen von *C. myrrha*: [21] Dekebo et al. (2002), [22] Morteza-Semnani et al. (2003), [23] Madia et al. (2021), [24] Marongiu et al. (2005), [25] Nikolic et al. (2016), [26] Hanuš et al. (2008); Genannt ist jeweils das untersuchte Probenmaterial (äth. Öl ätherisches Öl, CO₂-E. CO₂-Extrakt, EtOAc-E. Ethylacetat-Extrakt) und dessen Herkunft soweit bekannt (ETH Äthiopien, IRN Iran, SOM Somalia, unbek. unbekannt, ^A kommerziell erworben (Sensient Essential Oils, Deutschland), ^B kommerziell erworben (Tamar Ltd., Israel), ^C kommerziell erworben (Pamir Ltd., Israel). Aufgeführt sind außerdem detektierte Verbindungen nach Häufigkeit und ihr durch GC-MS ermittelter Gehalt in Prozent nach der 100%-Methode (tr. in Spuren nachgewiesen).

Literaturquelle	[21]	[22]	[23]	[24]	[25]	[26]		
Untersuchungsmaterial	äth. Öl	äth. Öl	CO ₂ -E.	CO ₂ -E.	äth. Öl	äth. Öl	EtOAc-E.	
Drogenherkunft	ETH	IRN	SOM	ETH	ETH	unbek. ^A	unbek. ^B	unbek. ^C
GC-MS [%]								
Furanoeudesma-1,3-dien	34,0*	15,0	31,1 [#]	34,9	38,6	32,8	9,0	20,6
Curzeren	2,0	40,1	23,1	8,5	17,5	34,7	6,7	17,9
Lindestren	12,0*	-	11,9	12,9	14,4	10,2	2,7	6,2
β-Elemen	8,7	8,4	3,9	3,0	4,8	4,3	2,0	3,9
2-Acetoxyfuranodien	tr.	6,8	-	-	-	-	9,8	8,8
2-Methoxyfuranodien	2,1*	4,5	-	-	-	6,3	3,9	8,5
Furanodien	19,7*	1,1	-	-	-	-	-	-
γ-Elemen	1,1	2,6	2,3	0,3	1,1	3,6	0,9	2,0
Germacren B	4,3	-	-	2,3	1,9	0,9	0,4	0,4
Germacron	-	-	-	5,8	2,8	-	-	-
δ-Elemen	2,1	0,5	0,8	0,8	1,0	0,9	0,1	0,7
Germacren D	3,2	-	0,3	1,1	1,0	-	0,3	0,2
Atractylon	-	-	-	2,8	2,5	-	-	-
Epicurzerenon	-	-	-	-	-	0,7	3,6	-
β-Bourbonen	1,2	0,6	-	0,6	0,8	-	0,2	0,3
δ-Eudesmol	-	2,7	0,3	-	-	-	-	-
trans-Caryophyllen	1,3	0,7	-	0,6	0,5	-	-	-
γ-Cadinen	1,2	0,8	0,6	-	-	tr.	-	-
Curzerenon	-	-	-	1,4	0,9	-	-	-
β-Selinene	0,6	-	-	-	-	0,7	0,7	0,3
7-epi-α-Eudesmol	-	2,2	-	-	-	-	-	-
Alloaromadendren	0,2	1,7	-	-	-	-	-	-
Furanoeudesma-1,4-dien	1,2	-	-	-	-	-	0,7	-
Valencen	-	-	-	1,0	0,9	-	-	-
Elemolacetat	-	-	-	-	-	1,8	-	-
Furanodienon	-	-	1,7 [#]	-	-	-	-	-
2-Hydroxyfuranodien	-	0,2	-	-	-	-	1,5	-
T-Cadinol	1,6	-	-	-	-	-	-	-
δ-Cadinen	0,4	0,3	0,5	-	-	tr.	0,4	-
α-Humulen	0,6	0,3	0,2	0,2	-	-	0,1	0,1
α-Copaen	0,2	-	0,4	0,3	-	-	0,3	0,2
Elemol	0,2	0,2	0,4	-	-	-	0,6	-
Germacren A	-	-	-	0,8	0,4	-	-	-
δ-Guajen	-	-	1,0	-	-	-	-	-
10-epi-γ-Eudesmolacetat	-	0,3	-	0,7	-	-	-	-
γ-Muurolene	0,2	0,3	-	0,4	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 1

cis-β-Elemenon	-	0,8	-	-	-	-	-	-
cis-Caryophyllen	-	-	-	-	-	0,7	-	-
Caryophyllenoxyde	-	0,2	0,5	-	-	-	-	-
α-Selinen	0,5	-	-	-	-	-	-	-
Spatulenol	-	-	0,5	-	-	-	-	-
9-<i>epi</i>-Caryophyllen	-	0,4	-	-	-	-	-	-
Caryophyllenalkohol	-	0,4	-	-	-	-	-	-
β-Ylangen	0,3	-	-	-	-	-	-	-
γ-Eudesmol	-	-	0,3	-	-	-	-	-
Aromadendren	-	-	-	-	-	-	0,3	-
Bicyclogermacren	0,2	-	-	-	-	-	-	-
β-Sesquiphellandren	-	0,2	-	-	-	-	-	-
Selina-3,7(11)-dien	-	0,2	-	-	-	-	-	-
Dehydroaromadendran	-	0,1	-	-	-	-	-	-
α-Bergamoten	-	-	-	-	-	-	0,1	-

* Identität durch NMR bestätigt, # Identität durch Co-Injektion mit Referenz bestätigt

Die flüchtigen Komponenten von *C. myrrha* setzen sich aus verschiedenen Strukturtypen von Sesquiterpenen zusammen. Unter ihnen wurden dreizehn Eudesmane, je neun Elemane und Germacrane, sechs Cadinane, je fünf Guajane und Caryophyllane sowie einige seltener Typen nachgewiesen. Auch Verbindungen, die ungewöhnliche, zusätzliche Ringschlüsse und damit trizyklische Strukturen aufweisen, sind enthalten. Hierzu gehören zum Beispiel Abkömmlinge des Aromadendrens (siehe Abbildung 125) und α-Copaen sowie β-Ylangen. Die Verbindungen sind charakterisiert durch einen niedrigen Oxidationsgrad. So besitzen 29 der detektierten Substanzen überhaupt kein, 16 nur ein und sechs Verbindungen zwei Sauerstoffatome. Es handelt sich also in den meisten Fällen um sehr unpolare Verbindungen, von denen keine eine Lacton-Struktur besitzt.

Grundsätzlich variieren die Probenmaterialien in ihrer Zusammensetzung stark, was zum einen durch unterschiedliche Extraktionsmethoden und Herkünfte, zum anderen durch die zur Analyse verwendeten Datenbanken zu erklären ist. Dennoch können einige Verbindungen trotz dieser Unterschiede in mehreren Studien als Hauptkomponenten identifiziert werden. Die mit 9,0-38,6% im Schnitt am meisten detektierte Verbindung war Furanoeudesma-1,3-dien, welches in vier der sechs Untersuchungen auch die Hauptkomponente darstellte. Darauf folgten Curzeren (2,0-40,1%), Lindestren (2,7-14,4%) und β-Elemen (2,0-8,7%). Andere Verbindungen konnten leider nicht in allen Studien erfasst werden, was einen quantitativen Vergleich erschwerte. Einige Hauptkomponenten sind in Abbildung 3 dargestellt.

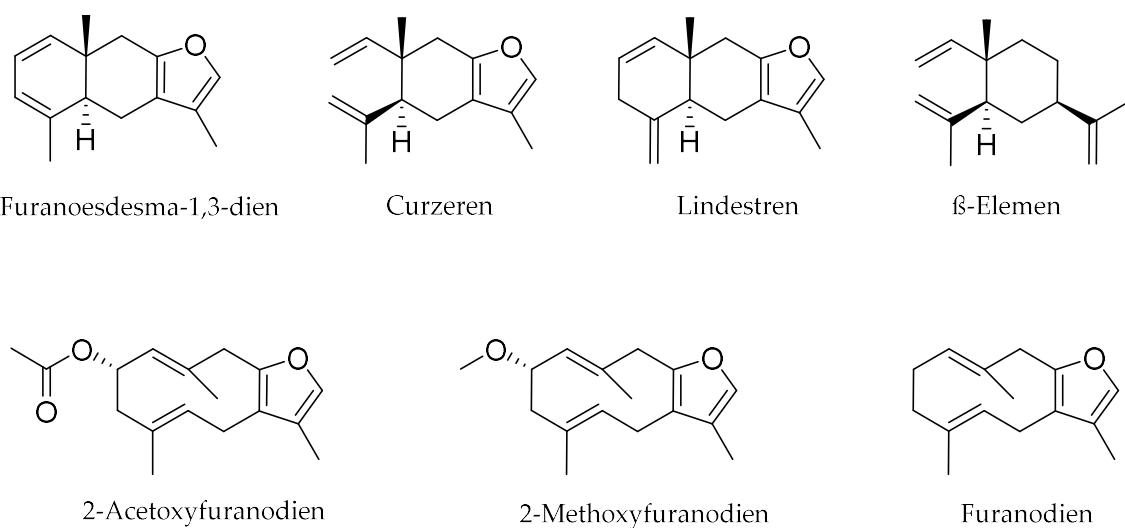


Abbildung 3. Strukturen der häufigsten flüchtigen Sesquiterpenen in *C. myrrha*.

Neben den bisher genannten flüchtigen Sesquiterpenen des ätherischen Öls wurden für *C. myrrha* weitere Verbindungen durch Isolierung nachgewiesen, die einen höheren Oxidationsgrad besitzen. Unter ihnen findet sich auch eine Reihe an Sesquiterpenlactonen. Diese Verbindungen wurden in GC-MS-Untersuchungen nicht detektiert, was zum einen darauf hindeutet, dass diese weniger flüchtig oder instabiler sind. Zum anderen sind diese Substanzen auch nicht so bekannt und damit weniger in den verwendeten Datenbanken vertreten. Entsprechende Strukturen wurden beispielsweise von Ayyad et al., Shen et al., Xu et al. und Greve et al. beschrieben [27–31]. Sie ähneln den Sesquiterpenen des ätherischen Öls, besitzen aber oft ein 2-Methyl-2-butenolid-Strukturelement anstelle eines Furanrings. Einige Beispielsubstanzen sind in **Abbildung 4** dargestellt.

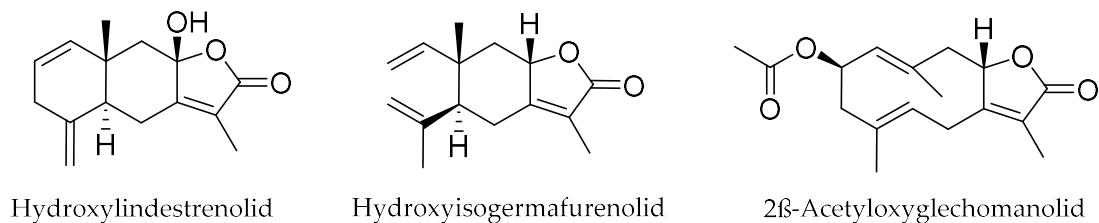


Abbildung 4. Strukturen von Sesquiterpenlactonen aus *C. myrrha*.

2.2.3. Diterpene

Diterpene sind aufgrund ihrer 20 Kohlenstoffatome und der höheren Molmasse in der Regel nicht mehr flüchtig und damit Bestandteile des Harzes [18]. Sie kommen vor allem in anderen *Commiphora*-Arten wie *C. mukul* vor, in der Cembren und dessen Derivate nachgewiesen wurden [5,32,33]. Für *C. myrrha* ist nur das Vorkommen von Abietanderivaten, wie Sandaracopimarsäure und Abietansäure, dokumentiert [34] (**Abbildung 5**).

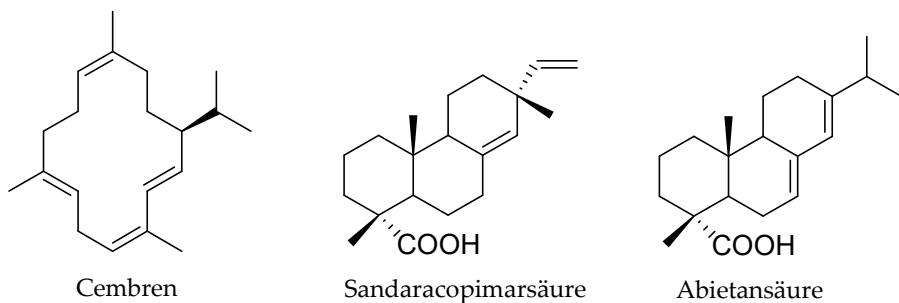


Abbildung 5. Strukturen von Cembren, Sandaracopimarsäure und Abietansäure.

2.2.4. Triterpene

Der Harzanteil der Myrrhe ist bedeutend schlechter untersucht als ihr ätherisches Öl. Es besteht zu einem Großteil aus Triterpenen verschiedener Strukturtypen, darunter Dammarane, Cycloartane, Oleanane, Lupane, Ursane und Lanostane [33]. Zu Triterpenen aus *C. myrrha* gibt es nur wenige Untersuchungen, es wurden aber im Gegensatz zu andern *Commiphora*-Arten bisher nur tri- oder tetrazyklisch Verbindungen nachgewiesen, die wenig funktionalisiert sind. Gut dokumentiert ist das Vorkommen von Terpenen vom Dammaran- und Cycloartan-Typ, welche von Shen et al., Su et al. und Greve et al. beschrieben wurden [29,30,34]. In **Abbildung 6** sind einige dieser Substanzen beispielhaft aufgeführt. Zur biosynthetischen Herkunft dieser Verbindungsklassen siehe auch Kapitel 3.4.8 und **Abbildung 129**.

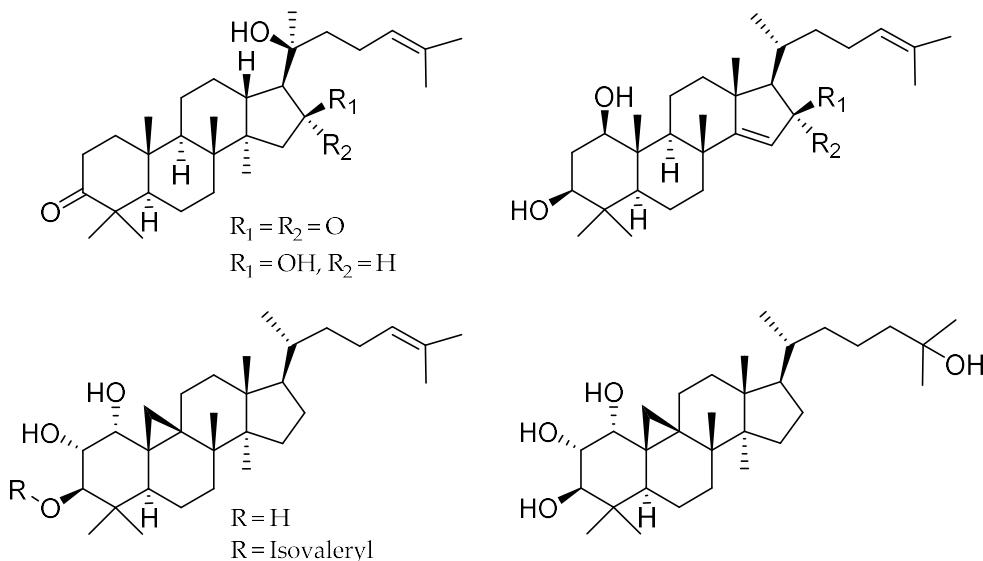


Abbildung 6. Strukturen von Triterpenen aus *C. myrrha*.

Neben den klassischen Triterpenen finden sich in *C. myrrha* und anderen *Commiphora*-Arten auch Derivate mit einer abgespaltenen Seitenkette [29,34–36]. Diese Substanzen besitzen ein Kohlenstoffskelett aus 22 C-Atomen und werden als Mansumbinane bezeichnet [36]. Biosynthetisch stammen sie von den Dammaranen ab (siehe hierzu auch 3.4.8 und **Abbildung 132**). In **Abbildung 7** sind einige Beispielverbindungen zusammengefasst.

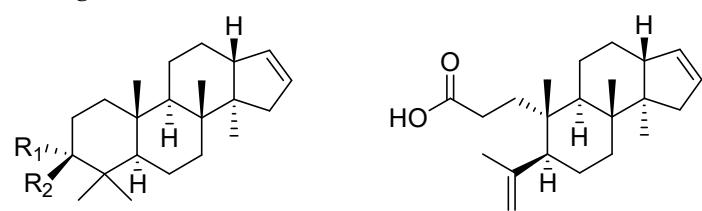
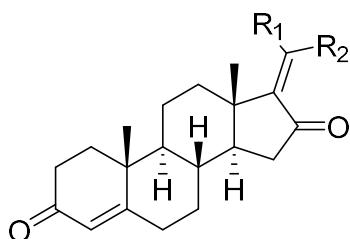


Abbildung 7. Strukturen von verkürzten Triterpenen aus *C. myrrha*.

2.2.5. Steroide

In *C. myrrha* wurden bisher noch keine Steroide nachgewiesen, in anderen Arten, wie der indischen Myrrhe (*C. mukul*), gehören sie aber zu den prominentesten Inhaltstoffen. Sie können dort als C₂₇-Steroide vorkommen, es sind aber auch Verbindungen mit einer verkürzten Seitenkette und 23 C-Atomen enthalten. Zwei dieser Verbindungen, *E*- und *Z*-Guggulsteron (**Abbildung 8**), haben aufgrund ihrer potenten anti-tumor- und anti-inflammatoryischen Wirkung großes Interesse geweckt [5,32,33].



$R_1 = H, R_2 = CH_3$ *Z*-Guggulsteron
 $R_1 = CH_3, R_2 = H$ *E*-Guggulsteron

Abbildung 8. Struktur von *E*- und *Z*-Guggulsteron.

2.3. Traditionelle Verwendung von Myrrhe

Die Verwendung von Myrrhe zu religiösen, kultischen, kosmetischen, aber auch medizinischen Zwecken ist seit langer Zeit belegt. Bereits in einer der ältesten Erzählungen überhaupt, dem Gilgamesch-Epos, wird das Gummiharz erwähnt. In der auf das 12-20 Jahrhundert v. Chr. datierten Legende aus dem babylonischen Raum dankt ein Urahn der Menschen, Utmapischi, den Göttern für die Rettung aus einer Sintflut mit einem Räucherwerk bestehend aus Zedernholz und Myrrhe [37,38]. Myrrhe ist außerdem ein wertvolles und sehr beliebtes Gut in der biblischen Darstellung (Offenbarung des Johannes 18,3; Johannes 19,39) und ist eines der drei Geschenke, die die Weisen aus dem Morgenland dem neugeborenen Jesus überreichen (Matthäus 2,11). Verwendet wurde es unter anderem als Salböl (Exodus 30,22-30), als Parfüm (Hohelied Salomos 3,6; 4,14; 5,5) und als Zusatz zu Wein, der beispielsweise Jesus vor seiner Hinrichtung zur Linderung seiner Leiden gereicht wurde (Markus 15,23) [38,39].

Historisch belegt ist die Verwendung von Weihrauch und Myrrhe als Räucherwerk in Babylon, Südarabien, dem heutigen Somalia, bei den Phönikern und im alten Ägypten. Auch im römischen Reich und in Griechenland wurden sie bei Begräbnissen und Opferungen verwendet, um die Gunst der Götter zu gewinnen. Oft mussten die Gummiharze aufwendig importiert werden, was ihren Wert steigerte und sie zu begehrten Handelsgütern machte. Besonders im alten Ägypten war der Bedarf riesig, da Myrrhe nicht nur für die tägliche Räucherung der Tempel, sondern auch zum Einbalsamieren der Toten verwendet wurde. Aufgrund dessen versuchte die Königin Hatschepsut (um 1500 v. Chr.) sogar Weihrauch

und Myrrhe im eigenen Reich zu kultivieren, indem sie Pflanzen aus Punt (vermutlich Küstenregionen im heutigen Somalia oder Arabien) einführen ließ (**Abbildung 9**). Der Versuch misslang allerdings [38,40].

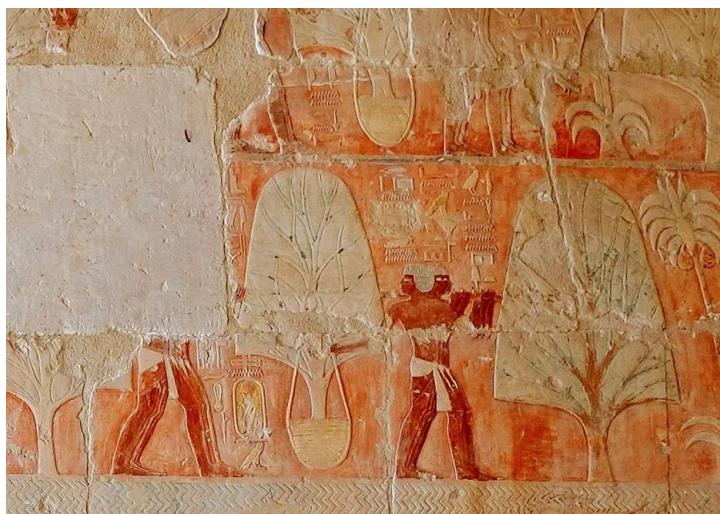


Abbildung 9. Relief im Tempel der Hatschepsut in Deir el-Bahari: Transport von Bäumen von Punt nach Ägypten. Quelle: Wikimedia Commons [41].

Aufgrund seines hohen Werts war Myrrhe aber auch ein beliebtes Geschenk und Statussymbol. Von wohlhabenden Personen wurde es meist in Form von Mundpastillen oder als Parfüm verwendet und wer es sich leisten konnte, verbrannte sogar riesige Mengen an Weihrauch oder Myrrhe zu besonderen Anlässen, um seinen Reichtum zur Schau zu stellen [38,40].

Aber auch für medizinische Zwecke wurde Myrrhe genutzt. Zum einen war die Anwendung von Myrrhe als Analgetikum in Betäubungstränken, die beim Strafvollzug gereicht wurden, bekannt. Dies belegen sowohl historische als auch biblische Quellen (Markus 15,23) [38,39]. Zum anderen wurde Myrrhe wegen ihrer antimikrobiellen, anthelminthischen und anti-inflammatorischen Eigenschaften geschätzt und bei verschiedenen Indikationen verwendet [33]. In der *Materia medica* von Dioskurides (60 n. Chr.), dem größten Werk über Arzneimittel in der Antike, wird die Anwendung von Myrrhe bei chronischem Husten, Seiten- und Brustschmerzen, starken Durchfall, Heiserkeit und Mundgeruch sowie bei Darm-Würmern beschrieben [42,43]. In der im 12. Jahrhundert erschienenen *Circa instans* wird die Myrrhe inspiriert von der arabischen Medizin vor allem bei Magen-Darm-Beschwerden empfohlen. So soll sie die Verdauung stärken und wirkt gegen Mundgeruch der vom Magen aufsteigt und gegen Eiter in Magen und Darm [42,44]. Mögliche Applikationsformen reichen dabei von Pillen, über Auszüge mit Wein bis zu Mundpastillen, Zäpfchen und dem Einatmen des Rauches [42]. Hildegard von Bingen beschrieb wenig später die Wirkung von Myrrhe vor allem gegen Zauberei, aber auch gegen Gelbsucht, Lähmungen und Magenschmerzen [42,45]. Auch in der Neuzeit wird sie in verschiedenen bedeutenden Kräuterbüchern wie „Garten der Gesundheit“ (1485), dem Kräuterbuchs von Mattioli (1563), „Köhler's Medizinal-Pflanzen“ (1887) und dem „Lehrbuch“

der biologischen Heilmittel“ (Madaus, 1938) genannt und unter anderem bei Husten, Asthma, Durchfall, Erkrankungen der Mundhöhle, zur Verbesserung der Empfängnis der Frau oder als Stomachikum empfohlen [42].

2.4. Aktuelle Studienlage und moderne Anwendung

Heute wird Myrrhe oft in Mundwässern und Gurgellösungen oder bei der Behandlung von kleineren Wunden angewendet und für diese Indikationen auch in der HMPC- und der ESCOP-Monographie empfohlen [46,47]. Hier macht man sich vor allem die anti-inflammatorische (siehe 2.4.1) und antimikrobielle [35,48–50] Wirkung der Myrrhe zunutze, die jeweils in vielen Studien belegt wurden. Daneben sind auch analgetische [51–53], anti-oxidative [54,55], antiparasitäre [29,56–58], hepatoprotektive [59,60], anti-ulcerative [61,62] und antiproliferative Effekte gegen Tumorzellen [54,63,64] bzw. Effekte gegen solide Tumoren *in vivo* [65] dokumentiert. Auch die anthelmintischen Eigenschaften der Myrrhe wurden ausführlich untersucht [66–70] und mit Mirazid® steht seit 2002 in Ägypten ein Fertigpräparat mit einem ethanolischen Myrrheextrakt gegen Schistosomiasis und Fasziolose zur Verfügung [68]. In Deutschland ist außerdem ein traditionelles pflanzliches Arzneimittel bestehend aus Myrrheharz, Kamillenextrakt und Kaffeekohle auf dem Markt, das zur Behandlung von Magen-Darm-Störungen mit unspezifischem Durchfall, begleitet von leichten Krämpfen und Blähungen eingesetzt wird [71]. Für dieses Arzneimittel liegt in der aktuellen Leitlinie außerdem eine Empfehlung zur Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa vor [72]. Da bei dieser Erkrankung entzündliche Prozesse eine große Rolle spielen, soll sie aktuelle Studienlage zur anti-inflammatorische Wirkung von *C. myrrha* hier kurz zusammengefasst und auch auf spasmolytische und barrierestabilisierende Effekte eingegangen werden.

2.4.1. Anti-inflammatory Wirkung

Anti-inflammatory Effekte der echten Myrrhe sind sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* und in klinischen Studien belegt worden. *In vitro* konnte gezeigt werden, dass Extrakte aus *C. myrrha* die Wirkung einiger pro-inflammatoryer Chemokine, Zytokine und Prostaglandine hemmen. Beispielsweise senkt das ätherische Öl die IL-1 β -vermittelte Produktion von IL-6 und IL-8 in humanen Gingivafibroblasten [64]. Ein ethanolischer Extrakt war außerdem in der Lage die CXCL13, IL-10 und TNF- α Produktion in aktivierten humanen Makrophagen konzentrationsabhängig zu senken [73]. Weiterhin wurde der in dieser Arbeit entstandene ethanolische Extrakt von Weber et al. in einem Co-Kultur-Zellmodell der intestinalen Mucosa bestehend aus Caco-2- (Enterozyten), HT29-MTX-E12- (Becherzellen) und THP-1-Zellen (Makrophagen) getestet und war in der Lage die Ausschüttung von IL-6, IL-8, PGE₂, MCP-1 und TNF- α zu hemmen [74]. Auch für wässrige Extrakte konnten Effekte auf PGE₂ und TNF- α aber auch auf die LPS-induzierte Produktion von NO in Peritonealmakrophagen nachgewiesen werden [60].

Darüber hinaus konnte *in vivo* ebenfalls eine anti-inflammatoryische Wirkung von Myrrhe nachgewiesen werden. Als Entzündungs-Modelle wurden hauptsächlich chemisch induzierte Schwellungen (Rattenpfotenödemtest) und der „Cotton Pellet Granuloma“-Test verwendet, bei dem Watte-Kügelchen in die Leiste von Ratten eingebracht werden, um Ansammlungen von Makrophagen zu erzeugen, die ein Anzeichen für eine Entzündung sind [75]. Im Rattenpfotenödemtest konnten sowohl ethanolische als auch Petrolether-Extrakte von *C. myrrha* das Volumen der Schwellung in vier unabhängig durchgeführten Studien reduzieren und in einem Fall auch die PGE₂ Konzentration senken [53,75–77]. Auch im „Cotton Pellet Granuloma“-Test an Ratten waren sowohl Ethanol- als auch Petrolether-Extrakte aktiv und konnten das Gewicht des Granuloms im Vergleich zu einer Kontrollgruppe reduzieren [75,76]. Anzeichen für eine anti-inflammatoryische Wirkung bei spezifischeren, induzierten Entzündungen konnten zum Beispiel von Kim et al. nachgewiesen werden, die durch Punktions des Caecums von Mäusen eine Sepsis auslösten und mit einem wässrigen Myrrheextrakt behandelten. Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe konnte sowohl die Überlebensrate der Tiere deutlich gesteigert, als auch die Anzahl von Makrophagen und Neutrophilen reduziert werden [60]. Auch bei einer adjuvant induzierten Arthritis bei Mäusen konnte durch einen ethanolischen Myrrheextrakt die Schwellung reduziert und Werte von Entzündungsmediatoren wie TNF- α , IL-2, NO und PGE₂ im Serum gesenkt werden [78]. Elbakry et al. infizierten Mäuse mit *Schistosoma mansoni* und konnten nachweisen, dass durch Gabe von Myrrhe die Spiegel von TH1 und TH2 abhängigen Zytokinen im Blut gesenkt werden konnten [70]. In Bezug auf Colitis ulcerosa (CU) ist besonders eine Studie von Fatani et al. von Bedeutung, die in Ratten durch Essigsäure eine CU induzierten. In diesem Modell konnte durch Myrrhe eine konzentrationsabhängige Senkung von NO und PGE₂ hervorgerufen werden, die mit der Wirkung von Mesalazin vergleichbar war [79]. Diese Ergebnisse konnten 2013 von Langhorst et al. in einer doppelblind, randomisierten, klinischen Studie zur Remissionserhaltung bei CU bestätigt und ausgebaut werden [80]. An der Studie nahmen 96 Patienten mit inaktiver CU teil, die nach dem „Double-Dummy“-Prinzip über zwölf Monate entweder mit dem Goldstandard Mesalazin oder Myrrhinil Intest[®] behandelt wurden, einem Arzneimittel bestehend aus Myrrheharz, Kamillenextrakt und Kaffeekohle. Das Phytopharmakon war gut verträglich und konnte eine Nichtunterlegenheit gegenüber Mesalazin in der Behandlung der CU nach dem „Clinical Colitis Activity Index“ zeigen.

2.4.2. Spasmolytische und barrierestabilisierende Effekte

Neben den anti-inflammatoryischen Eigenschaften der Myrrhe könnten in Bezug auf die Wirkung bei CU auch noch spasmolytische und barrierestabilisierende Effekte eine Rolle spielen. So konnte von Weber et al. gezeigt werden, dass der in dieser Arbeit verwendete ethanolische Extrakt in einem Co-Kultur-Zellmodell der intestinalen Mucosa einen konzentrationsabhängigen Einfluss auf den TEER-Wert nach LPS-Gabe hatte [74]. Dies ist ein

Indiz dafür, dass Myrrhe die Barrierefunktion der Zellmembran verbessert, was auch *in vivo* relevant sein könnte, da CU oft mit einer Barrieredestabilisierung einhergeht (siehe auch 2.5). Außerdem wurde in einer anderen Studie eine hemmende Wirkung eines Myrrheextraktes auf durch Acetylcholin induzierte Krämpfe eines isolierten Ratten-Ileums festgestellt [81]. Der spasmolytische Effekt konnte auf eine Ca-antagonistische Wirkung des Extraktes zurückgeführt werden, von dem CU-Patienten ebenfalls profitieren könnten.

2.5. Adhäsionsmoleküle in der Pathogenese der Colitis ulcerosa

Bei der Colitis Ulcerosa (CU) handelt es sich um eine chronisch entzündliche Darmerkrankung (CED), die in Schüben verläuft und mit einer Entzündung des Colons einhergeht, die vom Rektum ausgeht und sich proximal ausbreiten kann. Während eines Schubes kommt es zu einer Entzündung der Mukosa und der darunterliegenden Bindegewebsschicht (Submukosa), die von anhaltenden blutigen Durchfällen und Koliken begleitet ist [82]. Die jährliche Inzidenz der Erkrankung liegt in Europa bei 24,3/100.000 und etwa 250.000 Menschen in Deutschland sind betroffen [83]. Obwohl die Krankheitsursachen von CU noch nicht vollständig geklärt sind, konnten einige Pathomechanismen, die zur Chronifizierung der Entzündungsreaktion führen, identifiziert werden. Zur Pathogenese von CU wurden mehrere Reviews verfasst [82,84–87], die zeigen, dass sowohl Umwelteinflüsse und genetische Ursachen als auch das Mikrobiom bei der Entstehung der Erkrankung eine Rolle spielen. In jedem Fall kommt es durch die genannten Faktoren zu einer Störung der Barrierefunktion der Darmschleimhaut. Dies führt dazu, dass bakterielle Antigene den Mukus und das Darmepithel überwinden können und in die Submukosa eindringen, wo sie auf Darm-assoziiertes lymphatisches Gewebe und Immunzellen treffen [85]. So kommt es zu einer anhaltenden Aktivierung des Immunsystems und zur Ausschüttung von pro-inflammatorischen Zytokinen, was zu einer überschießenden Immunantwort führt [88]. Forbes et al. haben gezeigt, dass es durch Exprimierung des interzellularen Adhesionsmoleküls-1 (ICAM-1) auf nahegelegenen vaskulären Endothelzellen zu einer Akkumulation von eosinophilen Granulozyten in der Lamina propria kommt [89]. Dies führt zu einer weiteren Zytokinausschüttungen und in der Folge zu einer Schädigung des Gewebes, was die Barrierestabilität weiter verschlechtert [85]. Durch die umfassende Aktivierung der Eosinophilen werden auch andere Leukozyten wie Neutrophile angezogen und es kann zu einer Chronifizierung der Entzündungsreaktion kommen [85,89,90].

ICAM-1 spielt also eine zentrale Rolle bei der Rekrutierung von Leukozyten bei der Colitis ulcerosa, weshalb ICAM-1 Hemmer auch bei der Behandlung der Erkrankung in Betracht gezogen werden. So war das Antisens-Oligonukleotid Alicaforsen in präklinischen und klinischen Studien in der Lage die ICAM-1 Expression herunterzuregeln und positive Effekte bei CU-Patienten zu zeigen [91]. In der EU, USA und Kanada ist mit Vedolizumab bereits ein monoklonaler Antikörper gegen das $\alpha 4\beta 7$ -Integrin, welches die Leukozytenrekrutierung über MAdCAM-1 ermöglicht, für die Behandlung von CU und Morbus Crohn zugelassen [92–94].

2.6. Allgemeines zu ICAM-1

Bei dem interzellulären Adhäsionsmolekül 1 (ICAM-1, oft auch CD54) handelt es sich um ein Glycoprotein, welches zur Immunglobulin-Superfamilie gehört [95]. Es ist ein Transmembranprotein, das auf der Oberfläche von Endothel-, Epithelzellen, Leukozyten und Fibroblasten vorkommt, teilweise aber auch als „lösliches“ ICAM-1 (soluble ICAM-1, sICAM-1) frei im Serum zu finden ist [84,95,96]. Zusammen mit anderen Adhäsionsmolekülen (VCAM-1, MAdCAM-1) spielt es eine zentrale Rolle bei der endothelialen Migration von Leukozyten in entzündetes Gewebe (Leukozytenrekrutierung) [89].

Die ICAM-1 Expression wird in erster Line von den Zytokinen Interleukin 1 β (IL-1 β), Tumornekrosefaktor α (TNF- α), und Interferon γ (IFN- γ) vermittelt. Werden diese während einer Entzündungsreaktion im umliegenden Gewebe ausgeschüttet, binden sie an spezifische Rezeptoren auf Endothelzellen. Nach Aktivierung des TNF- α oder IL-1 Rezeptors kommt es zu einer Reihe von Reaktionen, die es letztendlich NF- κ B ermöglichen in den Zellkern zu translozieren und dort an den ICAM-1 Promotor zu binden. Auch über den IFN Rezeptor kommt es, vermittelt durch den Transkriptionsfaktor STAT, zu einer vermehrten Ablesung des ICAM-1 Gens [97]. Neben den drei genannten Zytokinen spielen auch noch eine Reihe anderer Faktoren, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll, eine Rolle bei der Expression von ICAM-1 und können diese induzieren oder hemmen [97].

Kommt es zu einer vermehrten Expression des Adhäsionsmoleküls an der apikalen Seite von Endothelzellen wird ein komplexer Vorgang eingeleitet, der zu einer Leukozytenmigration in subendothiales Gewebe führt [85,96,98] (**Abbildung 10**). In kleinen Blutgefäßen bewegen sich Leukozyten nicht frei, sondern rollen Selektin-vermittelt an den Endothelzellen entlang. Kommt es nun im umliegenden Gewebe zu einer Entzündungsreaktion, werden Chemokine ausgeschüttet, die über eine gesteigerte Expression verschiedener Integrine (z.B. E-Selektin, VCAM-1, MAdCAM-1, teilweise auch ICAM-1) das Rollen verlangsamen können. Vor allem durch ICAM-1, welches vom Leukozyten Funktions-Antigen 1 (LFA-1) gebunden wird, kommt es zur Adhäsion und schließlich zur Migration der Zellen durch die Endothelschicht [85,96,98] (**Abbildung 10**).

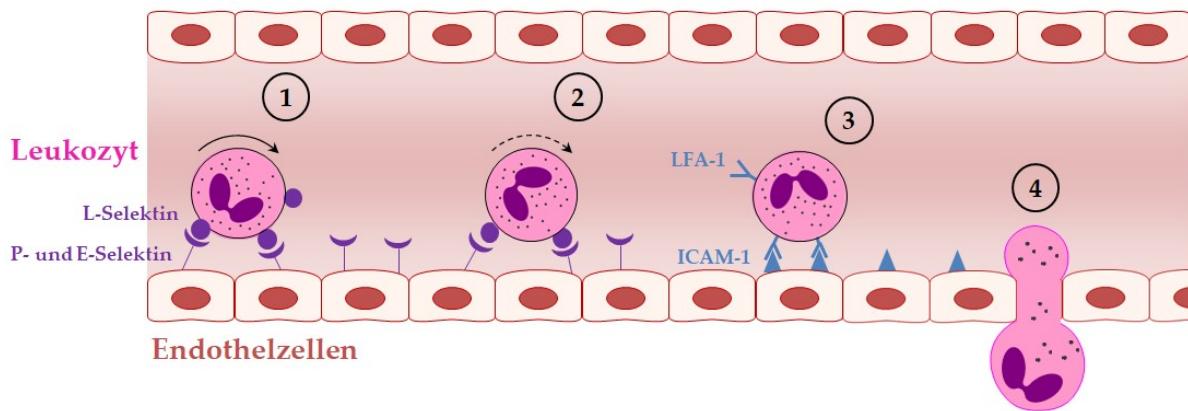


Abbildung 10. Verkürzte schematische Darstellung der Leukozytenmigration in subendotheliales Gewebe. **Schritt 1:** der Lymphozyt rollt vermittelt durch L-Selektin an seiner Oberfläche und P- und E-Selektin an den Endothelzellen an der Gefäßwand entlang. **Schritt 2:** durch Chemokine kommt es zu einer vermehrten Expression verschiedener Integrine (z.B. E-Selektin, VCAM-1, MAdCAM-1 und teilweise auch ICAM-1), die das Rollen des Leukozyten verlangsamen. **Schritt 3:** Durch Bindung des Leukozyten Funktions-Antigen 1 (LFA-1) an das auf Endothelzellen exprimierte ICAM-1 kommt es zur Adhäsion. **Schritt 4:** Vermittelt durch ICAM-1 und andere Vertreter der Immunglobulin-Superfamilie (z.B. PECAM-1) wird die Migration des Leukozyten durch die Endothelzellmembran angeregt. Frei nach Ley et al. [98].

Dieser Vorgang ermöglicht es Immunzellen an den Ort der Entzündungsreaktion zu gelangen und deren Auslöser zu bekämpfen [99]. Bei chronischen Entzündungen kann es durch eine überschießende Expression von ICAM-1 aber auch zu unerwünschten Effekten kommen. So kann bei CU-Patienten eine Akkumulation von Eosinophilen im Gastrointestinaltrakt auftreten, welche zu einer Schädigung von Gewebe führt [85,89,90].

2.7. Zielsetzung

Bei *C. myrrha* handelt es sich um eine Arzneipflanze, die über einem langen Zeitraum hinweg traditionell bei den verschiedensten Indikationen verwendet wurde. Oft wurde sie dann bei Erkrankungen eingesetzt, bei denen Entzündungen eine Rolle spielen, ohne dass die Anwender die genauen Wirkmechanismen kannten. Heute kann man durch moderne Studien die Wirkung von Myrrhe im Detail untersuchen, wodurch festgestellt wurde, dass sie viele pro-inflammatorische Mediatoren beeinflusst. Besonders bei der Indikation CU liegen umfassende Daten vor, die die Wirkung von Myrrhe belegen.

Trotz dieser vielen positiven pharmakologischen Studien, ist das Inhaltstoffspektrum der echten Myrrhe nur fragmentarisch untersucht worden. Auch die Frage, welche Verbindungen für die Wirkung verantwortlich sein könnten, bleibt weitgehend unbeantwortet.

Im Rahmen dieser Arbeit soll eine bioaktivitätsgeleitete Fraktionierung eines Myrrheextraktes durchgeführt werden, um potentiell wirksamkeitsbestimmende Inhaltstoffe für CU zu identifizieren. Als Testmodell wurde das Adhäsionsmolekül ICAM-1 gewählt, welches einen wesentlichen Pathomechanismus bei der CU darstellt und in Bezug auf Myrrhe noch nie untersucht wurde. Die Hemmung der ICAM-1 Expression soll dabei durch einen *in vitro* Zellassay auf Ebene der Fraktionen und Isolate ermittelt werden. Durch diesen Prozess sollen Reinsubstanzen isoliert werden, die einen Beitrag zum Verständnis der Pharmakologie der Myrrhe liefern und das bekannte Inhaltstoffspektrum dieser bedeutenden Arzneipflanze erweitern sollen.

3. PRÄPARATIV-ANALYTISCHER TEIL

3.1. Material und Methoden

Für die in dieser Arbeit beschriebene Extraktion, Fraktionierung, Strukturaufklärung und Charakterisierung wurden eine Reihe an Geräten, Software, Gefäßen und Materialien verwendet. Ebenso kamen bei den verschiedenen Arbeitsschritten diverse Chemikalien zum Einsatz. Eine Übersicht über alle Materialien findet sich in **Tabelle 2** und **Tabelle 3**.

3.1.1. Geräte, Software, Gefäße und Materialien

Tabelle 2. Verwendete Geräte, Software, Gefäße und Materialien.

Bezeichnung	Spezifikation / Model	Hersteller
Analysenwaage	R 160 P	Sartorius, Göttingen, Deutschland
CPC	SPOT centrifugal partition chromatography (250 ml Rotor)	Armen Instrument, Paris, Frankreich
CPC - Fraktionskollektor	2111 Multirac	LKB Bromma, Stockholm, Schweden
CPC - Pumpe	515 HPLC-Pump	Waters, Eschborn, Deutschland
DC-Auftragung	Linomat 5 WinCats 1.4.2 (Software)	Camag, Muttenz, Schweiz
DC-Kammer	Flachbodenkammer (20 cm x 20 cm)	Desaga Sarstedt-Gruppe, Nümbrecht, Deutschland
DC-Platten	TLC Silica gel 60 F254, Aluminiumfolie, 20 cm x 20 cm	Merck Chemicals, Darmstadt, Deutschland
Einmalspritzen	Norm-Ject, Tuberculin, 1 ml	Henke Sass Wolf, Tuttlingen, Deutschland
Flash-Chromatographie Anlage	Spot Flash System Armen Glider Flash V2.3 (Software)	Armen Instrument, Paris, Frankreich
Flash-Kartuschen	SVP D40 (13x4 cm, SI60 15-40 µm, 90 g) SVF D26 (9x2,8 cm, SI60 15-40 µm, 30 g)	Götec Labortechnik, Bickenbach, Deutschland
Gefriertrocknung	P10-85	Dieter Piatkowski-Forschungsgeräte, München, Deutschland
Glasgeräte, diverse	Mess- und Vollpipetten (vers. Volumina)	
	Messkolben (5, 10 und 25 ml)	Brand, Wertheim, Deutschland
	Messzylinder (10 bis 1000 ml)	oder
	Rundkolben (25 bis 1000 ml)	Schott, Mainz, Deutschland
	Spitzkolben (10 bis 50 ml)	

Fortsetzung Tabelle 2

Bezeichnung	Spezifikation / Model	Hersteller
Glassäulen	verschiedene Größen	Glasbläser der Uni Regensburg
Heizplatte	Thermoplate S	Desaga Sarstedt-Gruppe, Nümbrecht, Deutschland
HPLC - analytisch	LaChrom Elite L-2200 (Autosampler) LaChrom Elite L-2130 (Pumpe) LaChrom Elite L-2455 (DAD) LaChrom Elite L-2350 (Säulenofen) EZChrom Elite 3.1.7 (Software)	Hitachi, Tokio, Japan Vertrieb: VWR, Darmstadt, Deutschland
HPLC - präparativ	1260 Infinity (binäre Pumpe) 1260 Infinity (manueller Injektor) 1260 Infinity (DAD) 1260 Infinity (Fraktionskollektor) OpenLab CDS (Software)	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
HPLC-Säulen	Kinetex® Biphenyl, 100 Å, 5 µm, 4,6 x 250 mm (analytisch) Kinetex® Biphenyl, 100 Å, 5 µm, 21,2 x 250 mm (präparativ)	Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland
HPLC-Vial	11 mm CrimpSnap-Vial, braun, 2 ml	Wicom, Heppenheim, Deutschland
HPLC-Vial Insert	Micro Insert, 300 µl, l = 30 mm, Ø = 6 mm	Wicom, Heppenheim, Deutschland
LC-MS	1290 Infinity UHPLC G4220A (Binäre Pumpe) G4226A (Ausosampler) G1316C (Säulenofen) G4212A (DAD) Q-TOF 6540 UHD Ionenquelle Dual-ESI	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
Mikropipetten	Blaubrand® intraMARK, 10 µl	Brand, Wertheim, Deutschland
NMR-Röhrchen	507-HP-8	Norell, Lansville, USA
NMR-Software	Topspin 3.5.b.91 pl 7	Bruker Corporation, Billerica, USA
Oberschalenwaage	MC 1, Laboratory LC 6200 S	Sartorius, Göttingen, Deutschland
Pasteurpipetten	230 mm	VWR, Darmstadt, Deutschland
Pipetten	100 Research (10-100 µl) 1000 Research (100-1000 µl)	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen	200 µl 100 - 1250 µl	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland VWR, Darmstadt, , Deutschland

Fortsetzung Tabelle 2

Bezeichnung	Spezifikation / Model	Hersteller
Polarimeter	UniPol L 1000 Polarimeter	Schmidt + Haensch, Berlin, Deutschland
Probendosierspritze (manuelle Injektion, preparative HPLC)	5 ml	Hamilton Bonaduz, Bonaduz, Schweiz
Probendosierspritze (DC-Auftragung)	100 µl	Hamilton Bonaduz, Bonaduz, Schweiz
Quarzküvette	QS: 10,00 mm	Hellma, Müllheim, Deutschland
Reinstwasseranlage	Astacus LS	MembraPure, Berlin, Deutschland
Rotationsverdampfer	Laborota 4003 control	Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland
Scheidetrichter	50 ml 2000 ml	VWR, Darmstadt, Deutschland
Schnappdeckelgläser	5 und 20 ml	VWR, Darmstadt, Deutschland
Spektropolarimeter	J-715	JASCO Deutschland, Gross-Umstadt, Deutschland
Spektrophotometer	Cary 50 Scan Cary WinUV 3.00(182) (Software)	Varian Deutschland, Darmstadt, Deutschland
Spritzenvorsatzfilter	Perfect-Flow RC membrane (0,2 µm)	Wicom, Heppenheim, Deutschland
Ultraschallbad	Ultrasonic cleaner	VWR, Darmstadt, Deutschland
Zeichenprogramm	ChemBioDraw Ultra 18.0.0.231	PerkinElmer Inc., Waltham, USA

3.1.2. Chemikalien

Tabelle 3. Verwendete Chemikalien.

Bezeichnung	Spezifikation	Hersteller
Acetonitril (ACN)	HPLC-grade, LiChrosolv®	Merck Chemicals, Darmstadt, Deutschland
Ameisensäure	p.a.	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Anisaldehyd	4-Methoxybenzaldehyd zur Synthese	Merck Chemicals, Darmstadt, Deutschland
Anisaldehyd- Schwefelsäure	Essigsäure Methanol Schwefelsäure Anisaldehyd	10 ml 85 ml 5 ml 0,5 ml
Reagenz (AA)	Essigsäure und Methanol werden unter Rühren und Kühlung (Eisbad) nacheinander mit Schwefelsäure und Anisaldehyd versetzt.	

Fortsetzung Tabelle 3

Bezeichnung	Spezifikation	Hersteller
Chloroform-d (CDCl ₃)	99,8%	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Dichlormethan	p.a.	Fisher Scientific, Hampton, USA
Diethylether	p.a.	Fisher Scientific, Hampton, USA
Essigsäure	100 %, anhydrous technisch, HSL	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Ethanol	(wurde vor Gebrauch am Rotationsverdampfer aufgereinigt (120 mbar))	CSC Jäcklechemie, Nürnberg, Deutschland
Ethylacetat	p.a.	Fisher Scientific, Hampton, USA
n-Heptan (HEP)	p.a.	Fisher Scientific, Hampton, USA
n-Hexan	p.a.	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Methanol (für CPC, Flash, AA)	p.a., EMSURE®	Fisher Scientific, Hampton, USA
Methanol (für optische und spektroskopische Methoden)	HPLC-grade, LiChrosolv®	Merck Chemicals, Darmstadt, Deutschland
Methanol-d ₄	Methylalcohol-d ₄	Deutero, Kastellaun, Deutschland
Myrrhepulver	Charge: NM0160 Prüfnr. PN22200	Rudolf Lohmann GmbH KG, Emmerthal, Deutschland
Schwefelsäure	95-97%, p.a.	Merck Chemicals, Darmstadt, Deutschland
Seesand	p.a.	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Toluol	p.a.	Fisher Scientific, Hampton, USA

3.1.3. Pflanzenmaterial und Extraktion

Zur Herstellung eines Extraktes wurde gepulvertes Myrrheharz verwendet, welches hauptsächlich von *C. myrrha* stammt. Das Drogenmaterial wurde von Lomapharm® zur Verfügung gestellt (Charge: NM0160,) und entspricht der Identitätsprüfung nach Ph. Eur. 2016. Es wurden 3,0 kg Drogenmaterial mit 4,5 kg Seesand vermengt und in mehrere Glassäulen gefüllt. Diese wurden anschließend über einen Zeitraum von sieben Tagen mit 26 l Ethanol 96% (V/V) abwechselnd mazeriert und perkoliert. Die gesammelten Perkolate wurde am Rotationsverdampfer bei 38 °C eingeengt und anschließend lyophilisiert, wodurch 761,65 g Trockenextrakt gewonnen werden konnten (DEV: 3,9:1). Dieser wurde bis zur weiteren Verwendung lichtgeschützt bei -20 °C gelagert.

3.1.4. Dünnschichtchromatographie

Im Laufe der Isolierung wurden zahlreiche DCs angefertigt. Diese entstanden entweder im Rahmen der Fraktionskontrolle bei Flash und CPC oder in Form diverser Übersichts-DCs. Im Falle der Fraktionskontrolle wurden von jedem zweiten Gläschen 15 µl mit einer Mikropipette (10 µl) manuell aufgetüpfelt, während für Übersichts-DCs eine maschinelle Auftragung von 5-10 µl mit einem Linomat 5 (Camag, Muttenz, Schweiz) erfolgte. In beiden Fällen wurden TLC Silica gel 60 Platten (Merck Chemicals, Darmstadt, Deutschland) mit einer Laufhöhe von 9 cm verwendet. Die Platten wurden mit unterschiedlichen Fließmittelgemischen (**Tabelle 4**) in einer gesättigten Kammer entwickelt und an der Luft getrocknet. Anschließend folgte eine Derivatisierung durch Besprühen mit Anisaldehyd-Schwefelsäure Reagenz (AA) und Erhitzen auf einer Heizplatte (100 °C) bis zur optimalen Farbentwicklung (ca. 2-5 min). Dokumentiert wurden die Arbeiten mit einem TLC Visualizer (Camag, Muttenz, Schweiz) im underivatisierten Zustand bei 254 und 366 nm sowie nach Derivatisierung bei 366 nm und im Tageslicht.

Tabelle 4. In dieser Arbeit verwendete Fließmittelgemische (FM).

Nr.	Fließmittel	Verhältnis (V/V)
FM 1	Toluol / EtOAc	95/5
FM 2	Toluol / EtOAc	80/20
FM 3	Toluol / EtOAc	70/30
FM 4	Toluol / EtOAc	50/50
FM 5	DCM / EtOAc	15/1
FM 6	EtOAc / n-Hexan	95/5
FM 7	EtOAc / n-Hexan	50/50

3.1.5. Fraktionierung und Isolierung

3.1.5.1. Flüssig-flüssig-Verteilung

Vier Aliquote von 100,0 g Extrakt wurde jeweils in 1 l Methanol gelöst und achtmal mit 0,5 l n-Heptan in einem Scheidetrichter (2 l) gegeneinander ausgeschüttelt. Anschließend wurden die gewonnenen Methanol (MeOH) und n-Heptan (HEP) Phasen vereinigt und analog zum Extrakt lyophilisiert und gelagert.

3.1.5.2. Kieselgel Flash 1

Es wurde eine Flash-Chromatographie Anlage (Armen Instrument, Paris, Frankreich) mit einer SVP D40 Kieselgel Kartusche (90 g, Götec Labortechnik, Bickenbach, Deutschland) verwendet. 2 g HEP Fraktion wurden in 4 ml eines Gemisches aus n-Hexan (A) und Ethylacetat (B) gelöst (95/5, V/V) und filtriert (Porengröße 0,2 µm). Die Lösung wurde flüssig auf die äquilibrierte Säule injiziert und anschließend mit dem in **Tabelle 5** beschriebenen Gradienten chromatographiert. Mithilfe einer DC geleiteten Fraktionskontrolle (siehe 3.1.4.,

FM 1) wurde der Lauf in zehn Fraktionen geteilt, diese anschließend an einem Rotationverdampfer getrocknet und bei -20 °C lichtgeschützt gelagert. Dieser Prozess wurde insgesamt zehnmal wiederholt, äquivalente Fraktionen vereinigt und gewogen.

Tabelle 5. Versuchsbedingungen der Kieselgel Flash 1.

mobile Phase	Gradient		Fluss	Sammelvolumen
	t [min]	B [%]		
A: n-Hexan B: EtOAc	0	5	30 ml/min	25 ml/Vial
	30	5		
	90	10		
	110	100		
	140	100		

3.1.5.3. Centrifugal Partition Chromatography

Für die Centrifugal Partition Chromatography (CPC) wurde eine Spot CPC mit einem 250 ml Rotor (Armen Instrument, Paris, Frankreich), eine 510 HPLC Pumpe (Waters, Eschborn, Deutschland) und ein 2111 Multirac Fraktionskollektor (LKB-Produkter AB, Bromma, Schweden) verwendet. Vor der Chromatographie wurde das Fließmittelgemisch bestehend aus n-Hexan, ACN und MeOH (40/25/10, V/V/V) [100] in einem Scheidetrichter 2 min gegeneinander gesättigt, die beiden Phasen getrennt und im Ultraschallbad 10 min entgast. Anschließend wurde der Rotor mit der Unterphase (UP) befüllt und dann mit der Oberphase (OP) im „ascending“ Modus (ASC) bis zur Äquilibrierung beladen. Injiziert wurden pro Durchgang 1,0-1,5 g Probe, welche zuvor in einer Mischung aus OP und UP (50/50, V/V) gelöst und anschließend filtriert wurden (0,2 µm). Nach 800 ml wurde in den „descending“ Modus (DSC) gewechselt und weitere 190 ml eluiert (**Tabelle 6**). Durch eine DC geleitete Fraktionskontrolle (Fließmittel siehe **Tabelle 7**) wurden die Läufe in Fraktionen unterteilt, welche am Rotationverdampfer getrocknet und bei -20 °C lichtgeschützt gelagert wurden. Der Prozess wurde für F5 und -9 ein weiteres Mal wiederholt.

Tabelle 6. Versuchsbedingungen der CPC.

mobile Phase	Modus	Rotation	Fluss	Sammelvolumen
n-Hexan/ ACN /MeOH (40/25/10, V/V/V)	800 ml ASC (UP stationäre Phase, OP mobile Phase)	1000 UpM	5 ml/min	5 ml/Vial
	190 ml DSC (OP stationäre Phase, UP mobile Phase)			

Tabelle 7. Verwendete Fließmittelgemische zur DC geleiteten Fraktionskontrolle bei der CPC.

Fraktion	DC-Fließmittel
F5	FM 4
F6	FM 3
F7	FM 2
F9	FM 6

3.1.5.4. Kieselgel Flash 2

Fraktion F6C7 und F7C7 wurden einer weiteren Flash-Chromatographie an Kieselgel analog zu 3.1.5.2 unterzogen, wobei eine kleinere Kartusche verwendet wurde (30 g, Götec Labortechnik, Bickenbach, Deutschland). Die injizierte Probe bestand dabei aus 250-350 mg, gelöst in 0,5 ml DCM und die Chromatographiebedingungen wurden, wie in **Tabelle 8** beschrieben, angepasst. Mithilfe einer DC geleiteten Fraktionskontrolle (FM 5) wurde der Lauf in fünf Fraktionen geschnitten und im Falle von F7C7 einmal wiederholt.

Tabelle 8. Versuchsbedingungen der Kieselgel Flash 2.

mobile Phase	Gradient		Fluss	Sammelvolumen
	t [min]	B [%]		
A: DCM B: EtOAc	0	1	15 ml/min	15 ml/Vial
	60	6		
	90	15		
	92	100		
	110	100		

3.1.5.5. Methodenentwicklung für die préparative HPLC

Die Methodenentwicklung für die préparative Auftrennung der Fraktionen erfolgte an der analytischen HPLC. Dazu wurde die jeweilige Probe in einer Konzentration von ca. 1 mg/ml in ACN gelöst und durch einen Spritzenvorsatzfilter in HPLC-Vials filtriert (0,2 µm). So konnte im analytischen Maßstab Gradienten für die jeweiligen Fraktionen optimiert und die Methode anschließend auf die préparative HPLC übertragen werden. Dabei wurde der Fluss proportional zum Säulenquerschnitt erhöht.

3.1.5.6. Préparative HPLC

Für die Analysen wurde eine Agilent 1260 Infinity HPLC (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) verwendet, ausgestattet mit einer binären Pumpe, einem manuellen Injektor, einem DAD, einem Fraktionssammler und einer Kinetex® Biphenyl Säule (21,2 x 250 mm, Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland). Die Probe wurde in ACN oder bei schlechter Löslichkeit in ACN/EtOAc gelöst, filtriert (0,2 µm) und auf die auf Startbedingungen äquilibrierte Säule in Aliquoten von 0,2-23,0 mg injiziert. Zur Auftrennung kamen diverse Gradienten bestehend aus Wasser (A) und ACN (B) bei einem Fluss von 21 ml/min zum Einsatz (**Tabelle 9**). Es wurden Peaks bei 200 oder 250 nm detektiert und manuell gesammelt. Die Läufe wurden in der Regel mehrmals wiederholt und äquivalente

Fraktionen vereinigt. Anschließend wurde zuerst das enthaltene ACN bei bis zu 120 mbar am Rotationsverdampfer bei 38 °C entfernt. Die übrige wässrige Phase wurde quantitativ in einen Scheidetrichter überführt, viermal mit Diethylether ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen im Stickstoffstrom getrocknet.

Tabelle 9. Übersicht über die verwendeten HPLC Gradienten bestehend aus Wasser (A) und ACN (B).

Nr.	Fraktion	Gradient	
		t [min]	B [%]
HPLC 1	F5C2	0	65
		6	79
		10	88
		11	100
		16	100
HPLC 2	F5C5	0	45
		16	53
		17	100
		22	100
HPLC 3	F6C3	0	70
		15	100
		20	100
HPLC 4	F6C4	0	60
		20	80
		21	100
		26	100
HPLC 5	F6C5	0	60
		13	68
		14	100
		19	100
HPLC 6	F6C7F1	0	35
		19	53
		25	100
		30	100
HPLC 7	F6C7F2	0	30
		23	54
		24	100
		30	100
HPLC 8	F6C7F3	0	30
		19	50
		23	80
		30	100
		35	100

Fortsetzung Tabelle 9

HPLC 9	F6C7F4	0	38
		12	62
		20	100
		21	100
HPLC 10	F7C2	0	60
		26	70
		36	100
		41	100
HPLC 11	F7C3	0	60
		10	80
		11	100
		17	100
HPLC 12	F7C6	0	30
		26	45
		27	100
		32	100
HPLC 13	F7C7F1	0	40
		13	54
		14	100
		19	100
HPLC 14	F7C7F2	0	30
		19	50
		20	100
		25	100
HPLC 15	F7C7F3	0	25
		19	45
		20	100
		25	100
HPLC 16	F7C7F4	0	30
		17	48
		18	100
		23	100
HPLC 17	F9C2, F9C3	0	60
		15	80
		16	100
		21	100
HPLC 18	F9C4	0	60
		12	76
		13	100
		16	100

3.1.6. Strukturaufklärung und Substanzcharakterisierung

3.1.6.1. Reinheitsbestimmung

Die Reinheit der Isolate wurde per HPLC-DAD bestimmt, wobei ein System bestehend aus einem Autosampler L-2200, einer Pumpe L-2130, einem Säulenofen L-2350, einem DAD L-2455 (Hitachi, Tokio, Japan) und einer Kinetex® Biphenyl Säule (4,6 x 250 mm, Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland) verwendet wurde. Es wurden jeweils die in **Tabelle 9** beschriebenen Gradienten mit einem Fluss von 1 ml/min und einer Ofentemperatur von 20 °C verwendet, um die gewonnenen Isolate (5 µl, 1 mg/ml, in ACN oder EtOAc) zu chromatographieren. Der analysierte Wellenlängenbereich betrug dabei 190-400 nm und es wurde zusätzlich zu jedem Gradienten ein Blank mit 5 µl ACN bzw. EtOAc aufgezeichnet. Die erhaltenen Chromatogramme wurden als Maxplot (190-400 nm) mit EZChrom Elite 3.1.7 (Hitachi) ausgewertet. Dabei wurde zuerst der Blank subtrahiert und eine Normalisierung vorgenommen, bei der die Reinheit als Anteil der Fläche des Hauptpeaks an der Fläche aller Peaks berechnet wurde.

3.1.6.2. LC-HRESIMS

Die Summenformel von Isolaten wurde mithilfe einer LC-HRESIMS der Zentralen Analytik der Universität Regensburg ermittelt (Fakultät für Chemie und Pharmazie, Universität Regensburg). Dafür kam eine Kombination aus einer 1290 Infinity UHPLC und einem Q-TOF 6540 UHD Massenpektrometer (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) mit einer ZORBAX Eclipse XDB-C18 Säule (Agilent) zum Einsatz. Die Chromatographiebedingungen sind in **Tabelle 10** zusammengefasst. Im positiven und negativen Modus wurde ein ESI-HRMS-Spektrum des im TIC (m/z 80-1400) detektierten Hauptpeaks aufgezeichnet und daraus die exakte Masse von Molekülionen ermittelt. Dadurch konnte mithilfe der Software Masshunter Qualitative Analysis (Agilent) die Summenformel der Verbindung berechnet werden.

Tabelle 10. Versuchsbedingungen der LC.

mobile Phase	Gradient		Fluss	Säulenofen-temperatur	Injektions-volumen
	t [min]	B [%]			
A: Wasser + 0,1% Ameisensäure B: ACN + 0,1% Ameisensäure	0	20	0,5 ml/min	50 °C	1 µl
	10,0	98			
	12,0	98			
	12,1	20			
	13,5	20			

3.1.6.3. NMR-Spektroskopie

Die Messung der NMR-Spektren erfolgte durch die Zentralen Analytik der Universität Regensburg (Fakultät für Chemie und Pharmazie, Universität Regensburg). Die Isolate wurden in 0,6 ml CDCl₃ oder Methanol-d₄ gelöst und in NMR-Röhrchen überführt. Anschließend erfolgte die Messung an einem AVANCE III HD NMR (¹H NMR 400,13 MHz, ¹³C NMR 100,63 MHz, 299 K) oder bei kleinen Probenmengen an einem AVANCE III 600 NMR (¹H NMR 600,25 MHz, ¹³C NMR 150,95 MHz, 298 K) (beides Bruker Corporation, Billerica, USA). Dabei wurden 1D-¹H, 1D-¹³C sowie 2D-¹H,¹³C-HSQC, ¹H,¹³C-HMBC, ¹H,¹H-COSY, ¹H,¹H-NOESY und ¹H,¹H-ROESY aufgezeichnet. Die Auswertung der Spektren erfolgten mit der Software TopSpin 3.5.b.91 pl 7 (Bruker).

Zuerst wurde eine Liste alle ¹³C-Signale erstellt und mithilfe des HSQC-Spektrums zugehörige Protonen identifiziert. Im ¹H-Spektrum wurden anschließend das Integral, die Multiplizität und die Kopplungskonstanten ausgelesen. Alle diese Daten trugen dann gemeinsam mit den HMBC- und COSY-Spektren zur Ermittlung der Konstitution bei. War im Molekül außerdem mehr als ein Stereozentrum vorhanden, wurde zusätzlich mit einem NOESY- (Molekülmasse unter 500 g/mol) oder einem ROESY-Spektrum (Molekülmasse über 500 g/mol) die relative Stereochemie bestimmt.

3.1.6.4. UV-Vis-Spektroskopie

Für die Messungen wurden die Substanzen in Methanol gelöst und in einer Quarzküvette (Schichtdicke 1 cm) an einem Cary 50 Scan UV-Spektralphotometer (Varian Deutschland, Darmstadt, Deutschland) vermessen. Dabei wurde ein Wellenlängenbereich von 190-800 nm abgedeckt. Es wurde darauf geachtet, dass sich die UV_{max} im linearen Bereich (Absorption 0,25-0,75) befanden und die Substanz-Konzentrationen entsprechend angepasst. Diese lagen zwischen 40 und 170 µmol/ml. So konnte von jeder Substanz ein UV-Spektrum erstellt und der molare Absorptionskoeffizient ε durch eine Einfachbestimmung mithilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes (**Formel 1**) berechnet werden.

Formel 1. Lambert-Beer'sches Gesetz.

$$A = \epsilon \cdot c \cdot d$$

- A Absorption
- ε molarer Absorptionskoeffizient [l/(mol·cm)]
- c Konzentration [mol/l]
- d Schichtdicke [cm]

3.1.6.5. Polarimetrie

Der spezifische Drehwert $[\alpha]_D^{25}$ wurde an einem UniPol L 1000 Polarimeter (Schmidt + Haensch, Berlin, Deutschland) bei einer Wellenlänge von 589 nm und einer Temperatur von 25 °C ermittelt. Hierfür wurden die Isolate in Konzentrationen zwischen 0,73 und 2,64 g/l in Methanol gelöst und in ein Mikromessrohr (50 mm, 550 µl) überführt. Die Messung erfolgte gegen Methanol und der spezifische Drehwert $[\alpha]_D^{25}$ wurde aus dem Mittelwert von zehn Messungen durch folgende Formel berechnet (**Formel 2**).

Formel 2. Berechnung des spezifischen Drehwerts.

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\alpha}{c \cdot d}$$

$[\alpha]_D^{25}$	spezifischer Drehwert [$(^{\circ}\cdot\text{ml})\cdot(\text{g}\cdot\text{dm})^{-1}$]
α	Drehwinkel [°]
c	Konzentration [g/ml]
d	Schichtdicke [dm]

3.1.6.6. Circulardichroismus

Zur Aufnahme der CD-Spektren wurde ein J-715 Spektropolarimeter (JASCO Deutschland, Gross-Umstadt, Deutschland) verwendet. Die Isolate wurden in Methanol zu Konzentrationen zwischen 91 und 119 µmol/l gelöst, in eine Quarzküvette (Schichtdicke 0,1 cm) überführt und gegen das reine Lösemittel wie in **Tabelle 11** angegeben, vermessen. Für das Spektrum wurde der Mittelwert aus zehn Messzyklen verwendet und die molare Elliptizität gegen die Wellenlänge aufgetragen. Diese berechnet sich nach **Formel 3**. Abschließend wurde die Kurve unter Anwendung des Savitzky-Golay Algorithmus mit einer Konvolutionsbreite von 15 geglättet.

Formel 3. Berechnung der molaren Elliptizität.

$$[\theta] = \frac{\theta \cdot M}{c \cdot L \cdot 10}$$

$[\theta]$	molare Elliptizität [$(^{\circ}\cdot\text{cm}^2)\cdot\text{dmol}^{-1}$]
θ	Elliptizität [°]
M	molare Masse [g/mol]
c	Konzentration [g/ml]
L	Schichtdicke [cm]

Tabelle 11. Geräteeinstellungen des Spektropolarimeters.

Parameter	Einstellung
Sensitivität	Standard
Wellenlängenbereich	190-300 nm
Messschritte	0,5 nm
Scanmodus	kontinuierlich
Scangeschwindigkeit	100 nm/min
Ansprechzeit	0,5 s
Bandweite	1 nm
Temperatur	22 °C

3.2. Isolierung

3.2.1. Isolierungsstrategie

Um potente ICAM-1 Hemmer aus Myrrhe zu isolieren, kam eine Mischung aus DC-geleiteter und bioaktivitätsgeleiteter Fraktionierung zum Einsatz. So wurde nach jedem Fraktionierungsschritt zuerst dünnenschichtchromatographisch eine Einteilung in Unterfraktionen vorgenommen. Nur so konnte sichergestellt werden, dass diese sich in ihrem Fingerprint möglichst stark unterschieden. Diese Fraktionen wurden während der ersten Auftrennungsschritte (flüssig-flüssig-Verteilung, Kieselgel Flash, teilweise CPC) im ICAM-1 und MTT Assay untersucht. Fraktionen, die Aktivität gegen ICAM-1 zeigten wurden anschließend im Isolierungsprozess bevorzugt weiter bearbeitet (siehe dazu 4.2.1).

Die entstandenen Fraktionen wurden systematisch nach folgendem Schema benannt (**Abbildung 11**).

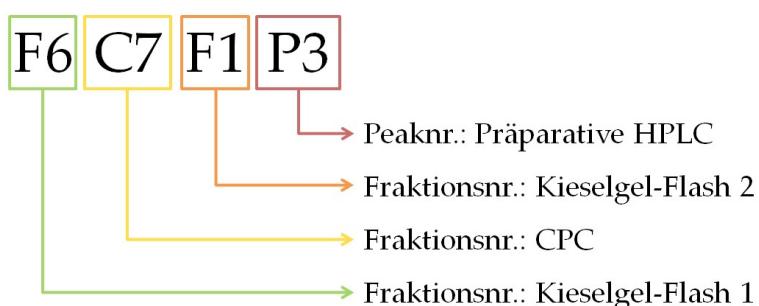


Abbildung 11. Erläuterung zu den verwendeten Fraktionsbezeichnungen am Beispiel von F6C7F1P3.

Aus aktiven Fraktionen konnten im weiteren Verlauf in mehreren Schritten durch Flash-Chromatographie an Kieselgel, CPC und präparative HPLC an einer Biphenylphase Reinsubstanzen isoliert werden. Das genaue Vorgehen ist im Isolierungsschema zusammengefasst (**Abbildung 12**).

Potentielle Isolate wurden durch eine DC- und HPLC-DAD-Analyse näher untersucht, wobei vor allem auf Verunreinigungen geprüft wurde. Verliefen alle Tests zufriedenstellend und war außerdem eine Auswaage größer 0,5 mg gegeben, wurden NMR und LC-MS Daten zur Strukturaufklärung erhoben und ausgewertet. Alle Substanzen, die so gewonnen werden konnten, sind in 3.1.6 zusammengefasst.

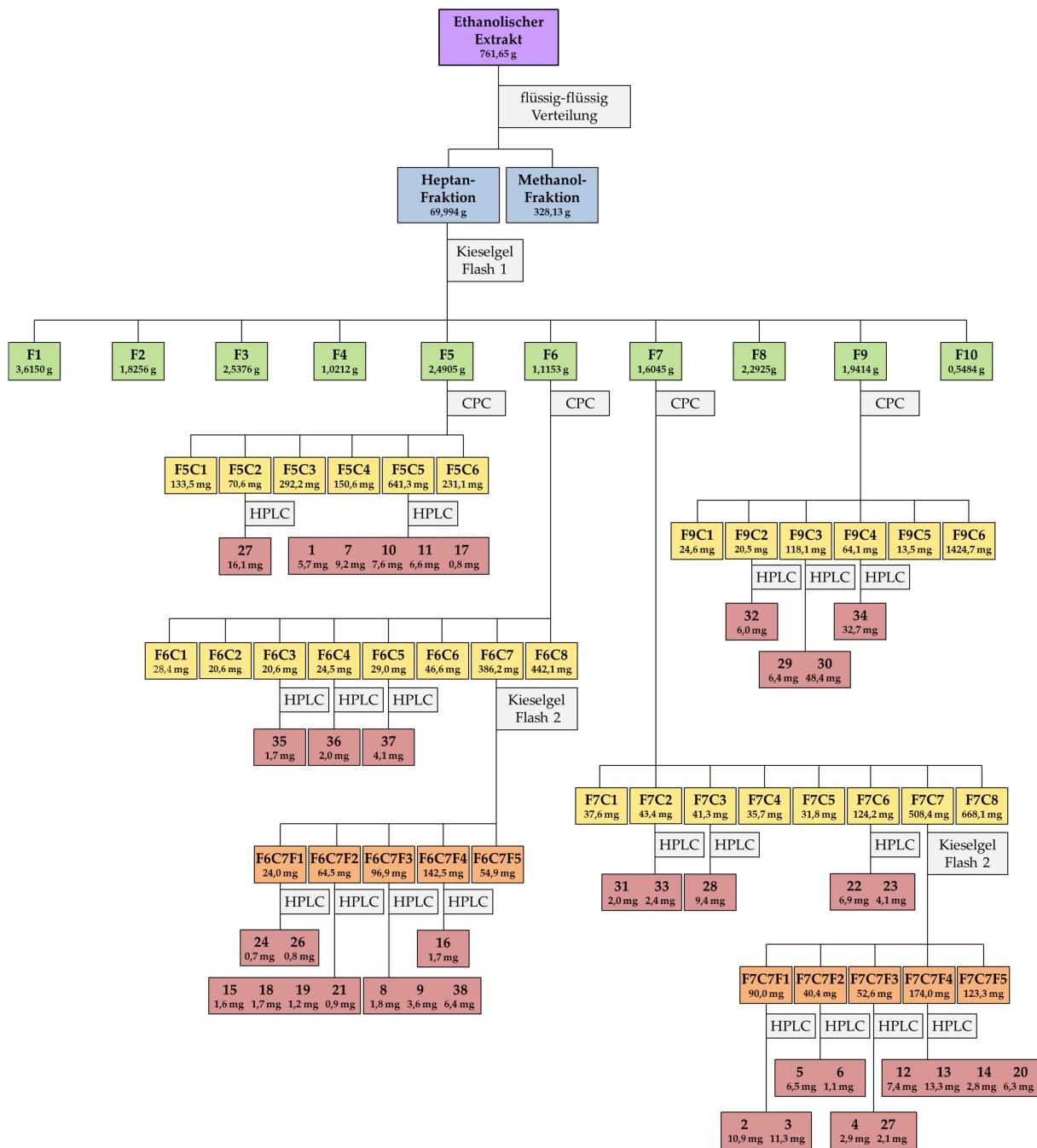


Abbildung 12. Isolierungsschema mit allen Fraktionen, die aus dem ethanolischen Extrakt gewonnen wurden. Dieser wurde zuerst in einer flüssig-flüssig-Verteilung in zwei Phasen getrennt. Die n-Heptan-Fraktion konnte daraufhin durch eine Flash-Chromatographie in zehn Fraktionen unterteilt werden, von denen F5, F6, F7 und F9 durch ein CPC-Verfahren weiter aufgetrennt wurden. Einige Unterfraktionen (F6C7 und F7C7) wurden in einem weiteren Schritt einer Flash-Chromatographie unterzogen. Insgesamt konnten anschließend durch präparative HPLC 38 verschiedene Verbindungen isoliert werden.

3.2.2. Extraktion

Zur Wirkung von Myrrhe in Myrrhinil Intest[®] gab es in der Vergangenheit bereits einige Studien von Vissiennon et al., die die Aktivität in verschiedenen anti-inflammatorischen *in vitro* Assays, sowie eine spasmolytische Wirkung an einem isoliertem Ratten Ileum zeigen konnten [73,81,101]. Im Arzneimittel ist Myrrhe in Form von gepulvertem Gummiharz vorhanden. Deshalb musste aus der Droge zuerst ein geeigneter Extrakt hergestellt werden, um eine erfolgreiche Testung zu gewährleisten. Vissiennon et al. entschieden sich dabei für einen Extrakt, der durch Erhitzen mit Ethanol (96%, V/V) unter Rückfluss entstand. Aus diesem Produkt wurde anschließend das ätherische Öl durch eine Wasserdampfdestillation abgetrennt und nur der getrocknete Rückstand für die Testung verwendet.

Für die bioaktivitätsgeleitete Isolierung sollte ein Extrakt hergestellt werden, der dem von Vissiennon et al. so ähnlich wie möglich und damit in seiner Wirkung vergleichbar ist. Gleichzeitig musste die Extraktionsmethode aber auch angepasst werden, um die thermische Belastung zu reduzieren und damit das Entstehen von Artefakten zu verhindern. Der in dieser Arbeit verwendete Extrakt wurde daher durch Mazeration und Perkolation mit Ethanol 96% (V/V) ohne Hitzeeinwirkung gewonnen. Als Drogenmaterial wurde das Myrrhepulver verwendet, welches auch Bestandteil von Myrrhinil Intest[®] ist.

Um sicherzustellen, dass genügend Extraktmaterial vorhanden ist, wurde eine Menge von 3 kg Myrrhepulver verwendet. Hieraus konnte durch das unter 3.1.3 beschriebene Verfahren 761,65 g Trockenextrakt gewonnen werden, woraus sich ein Drogen-Extrakt-Verhältnis von 3,9:1 berechnet.

3.2.3. Flüssig-flüssig-Verteilung

In einem nächsten Schritt sollte wie bei Vissiennon et al. das Abtrennen von lipophilen Verbindungen durch eine Wasserdampfdestillation nachempfunden werden. Um auch hier auf thermische Belastung zu verzichten, wurde eine flüssig-flüssig-Verteilung des Extraktes zwischen Methanol und n-Heptan gewählt. Durch dieses Vorgehen konnten lipophile Bestandteile in einer n-Heptan Fraktion (HEP, ölige Konsistenz) angereichert werden, während andere in der hydrophileren Methanol Fraktion (MeOH, poröser Feststoff) zurückblieben. Die Auswaagen nach Aufarbeitung von 400,0 g sind in **Tabelle 12** zusammengefasst und ein Übersichts-DC in **Abbildung 13** dargestellt. Hier ist zu sehen, dass sich im lipophileren FM 1 vor allem Komponenten der HEP Fraktion auftrennen, während der Großteil der MeOH Fraktion an der Startlinie zurückbleibt. Wird aber ein hydrophileres Fließmittel wie FM 4 verwendet, können auch Bestandteile der MeOH Fraktion aufgetrennt werden.

Tabelle 12. Auswaagen der MeOH und der HEP Fraktion.

Fraktion	Auswaage [g]	Auswaage [%]
MeOH	328,13	82,0
HEP	69,99	17,5

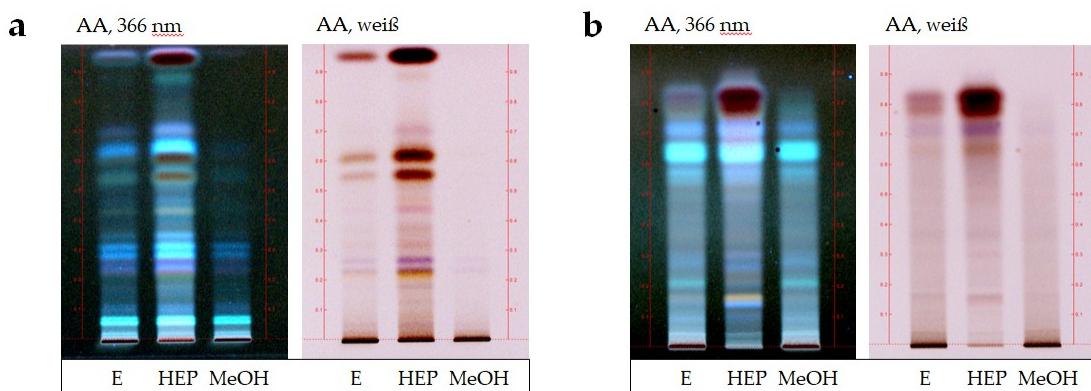


Abbildung 13. Dünnschichtchromatogramme des Extraktes (E), der n-Heptan- (HEP) und der Methanol-Fraktion (MeOH), welche mit FM 1 (a) und FM 4 (b) entwickelt wurden. Die DCs sind abgebildet nach Derivatisierung mit AA bei 366 nm und im weißen Licht. Aufgetragen wurden 5 µl einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

Da vor allem die HEP Fraktion im ICAM-1 Assay Aktivität zeigte (4.2.1), wurde der Fokus in dieser Arbeit auf die lipophilen Inhaltstoffe dieser Fraktion gesetzt.

3.2.4. Kieselgel Flash 1

Für die weitere Auftrennung der HEP Fraktion musste nun ein Verfahren gefunden werden, welches für größere Probenmengen und vor allem für lipophile Substanzen geeignet ist. Da diese Fraktion im DC schon eine breite Auftrennung an Kieselgel gezeigt hatte (**Abbildung 13**), wurde dieses Trennprinzip auch für den ersten Isolierungsschritt gewählt. Dabei wurde als Methode eine Niederdruck-Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie) mit 90 g Kieselgel Kartuschen gewählt, um möglichst viel Probenmaterial aufzugeben zu können.

Angelehnt an das DC Fließmittel FM 1 wurde ein geeigneter Gradient entwickelt. Allerdings wurde auf die Verwendung von Toluol aufgrund des relativ hohen Siedepunkts verzichtet und dieses durch das flüchtigere n-Hexan ersetzt. Ausgehend von 95/5 (n-Hexan/EtOAc) wurde dann der EtOAc Anteil kontinuierlich erhöht, um die Methode zu beschleunigen und auch hydrophilere Substanzen von der Säule zu entfernen. Die angewendete Methode ist unter 3.1.5.2 zusammengefasst. Der Lauf wurde anschließend DC-geleitet in zehn Fraktionen (F1-F10) unterteilt, deren Elutionsvolumina, Auswaagen und Übersichts-DCs in **Tabelle 13**, **Tabelle 14** und **Abbildung 14** dargestellt sind.

Durch die Flash-Chromatographie konnten zehn Unterfraktionen gewonnen werden in denen Verbindungen, nach ihrer Polarität angereichert werden konnten (**Abbildung 14**).

Tabelle 13. Elutionsbereiche aller Flash-Läufe für die Fraktionen F1-10.

Fraktion	Elutionsbereich [ml-ml]									
	Lauf 1	Lauf 2	Lauf 3	Lauf 4	Lauf 5	Lauf 6	Lauf 7	Lauf 8	Lauf 9	Lauf 10
F1	1-175	1-175	1-175	1-175	1-150	1-200	1-175	1-175	1-175	1-175
F2	176-275	176-300	176-275	176-300	151-225	201-275	176-250	176-300	176-350	176-275
F3	276-400	301-475	276-375	301-475	226-350	276-400	251-425	301-725	351-550	276-425
F4	401-1075	476-1300	376-1275	476-1125	351-625	401-700	426-650	726-1000	551-1000	426-800
F5	1076-1650	1301-1875	1276-1875	1126-1950	626-1850	701-1850	651-1850	1001-1975	1001-1975	801-1775
F6	1651-2075	2451-2450	1876-2450	1951-2600	1851-2550	1851-2550	1851-2525	1976-2525	1976-2525	1776-2425
F7	2076-2850	2951-2950	2451-3000	2601-3050	2551-3000	2551-3000	2526-3050	2526-3000	2526-3050	2426-2925
F8	2851-3075	2951-3200	3001-3275	3051-3275	3001-3250	3001-3250	3051-3275	3001-3250	3051-3250	2926-3125
F9	3076-3425	3201-3550	3276-3675	3276-3625	3251-3675	3251-3600	3276-3650	3251-3650	3250-3600	3126-3500
F10	3426-4200	3551-4200	3676-4200	3626-4200	3676-4200	3601-4200	3651-4200	3651-4200	3601-4200	35001-4200

Tabelle 14. Auswaagen der Flash Fraktionen F1-10.

Fraktion	Auswaage [g]	Auswaage [%]
F1	3,6150	18,22
F2	1,8256	9,20
F3	2,5376	12,79
F4	1,0212	5,15
F5	2,4905	12,55
F6	1,1153	5,62
F7	1,6045	8,09
F8	2,2925	11,56
F9	1,9414	9,79
F10	0,5484	2,76

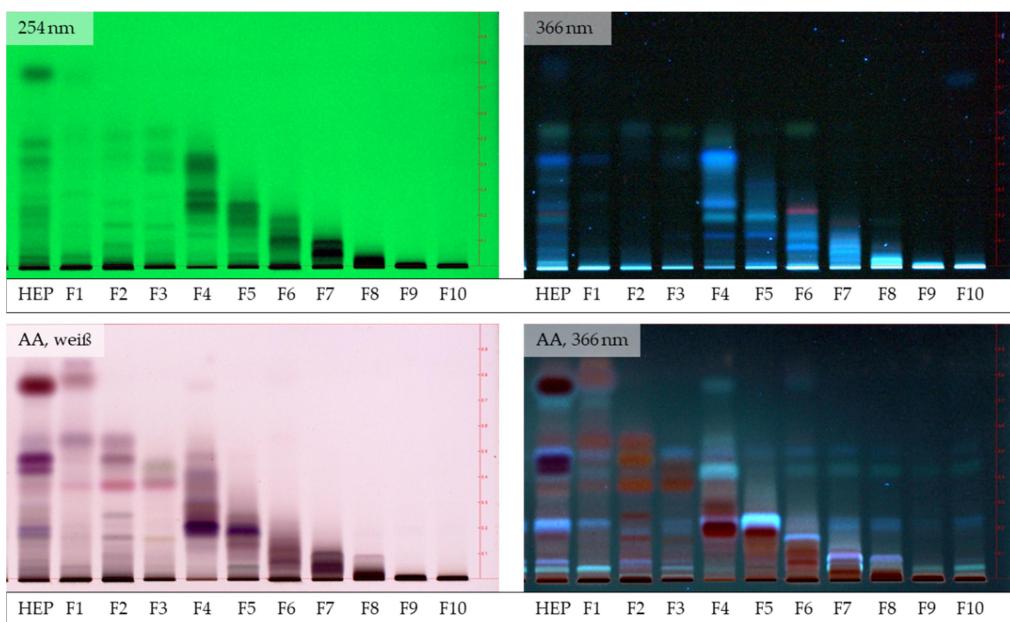


Abbildung 14. Dünnschichtchromatogramm der *n*-Heptan Fraktion (HEP) und der Unterfraktionen F1-10, welches mit FM 1 entwickelt wurde. Die DCs sind underivatisiert abgebildet bei 254 und 366 nm sowie nach Derivatisierung mit AA bei 366 nm und im weißen Licht. Aufgetragen wurden 10 µl einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.5. Centrifugal Partition Chromatography (CPC)

Durch eine Adsorptionschromatographie an Kieselgel (3.1.5.2) konnte bereits eine grobe Fraktionierung vorgenommen werden. In einem nächsten Schritt sollte nun mit einer Verteilungschromatographie ein anderes Trennprinzip genutzt werden, um einzelne Fraktionen weiter aufzutrennen. Hierfür wurde eine Centrifugal Partition Chromatography (CPC) verwendet, bei der Verteilungsvorgänge zwischen zwei miteinander nicht mischbaren Phasen genutzt werden (Verteilungs-Chromatographie). Eine Phase bildet dabei eine stationäre Phase, die im Gerät verbleibt. Die andere, mobile Phase, wird kontinuierlich durch die stationäre hindurchgepumpt. Wird nun ein Substanzgemisch in dieses System eingebracht, stellt sich je nach Lipophilie der Verbindungen ein Verteilungsgleichgewicht zwischen den beiden Phasen ein. Je nach Lage dieses Gleichgewichts kommen unterschiedliche Elutionszeiten und damit eine Trennung von Substanzen zustande. Um eine obligate schnelle Phasentrennung während des gesamten Prozesses zu gewährleisten, befindet sich das System in einem Rotor, welcher mithilfe von Zentrifugalkräften eine Entmischung begünstigt.

Für eine optimale Trennleistung ist die Verwendung eines geeigneten Fließmittelgemisches entscheidend. Daher wurden im Vorfeld verschiedene Gemische in Vorversuchen getestet (nicht abgebildet), bei denen kleine Mengen der Fraktionen zwischen zwei Phasen verteilt und per DC untersucht wurden. Kriterien für ein optimales System waren zum einen eine rasche, stabile Phasentrennung, zum anderen eine gleichmäßige Verteilung der Substanzen in den beiden Phasen. Die besten Ergebnisse für alle untersuchten Fraktionen lieferte ein System von Marston et al. [100] bestehend aus *n*-Hexan/ACN/MeOH

(40/25/10, V/V/V), welches vor allem für lipophile Verbindungen empfohlen wird und für alle hier beschrieben Läufe verwendet wurde (siehe 3.1.5.3). Die Oberphase wurde dabei als mobile und die Unterphase als stationäre Phase verwendet („ascending“ Modus, ASC) und nach einem Elutionsvolumen von 800 ml die Phasen getauscht („descending“ Modus, DSC). In **Tabelle 15** sind die Elutionsbereiche der Unterfraktionen zusammengefasst, die im Folgenden als F5C1, F5C2 usw. bezeichnet werden, während in **Tabelle 16** und **Abbildung 15** die Auswaagen und DCs dargestellt sind.

Die DCs zeigen, dass durch die CPC Fraktionen gewonnen werden konnten, die teilweise nur noch wenige Verbindungen enthalten und damit einer abschließenden Auftrennung durch die präparative HPLC zugänglich sind. Genauer betrachtet zeigen vor allem die C1-Fraktionen meist nur unspezifische Banden, weshalb sie nicht weiterbearbeitet wurden. Außerdem fällt auf, dass ein Großteil der Auswaagen auf die DSC-Fraktionen entfällt. Deshalb wurde beschlossen, die Fraktionen F6C7 und F7C7 über eine weitere Kieselgel Flash aufzutrennen. Außerdem wurden die Fraktionen F9C4 und -5 aufgrund der starken Ähnlichkeit vereinigt (im Folgenden F9C4).

Tabelle 15. Elutionsbereiche der Unterfraktionen C1-8 aller CPC-Läufe geordnet nach Fraktionen (F5-9) im „ascending“ (ASC) und im „descending“ Modus (DSC).

Fraktion	Elutionsbereich [ml-ml]					
	F5		F6	F7	F9	
	Lauf 1	Lauf 2			Lauf 1	Lauf 2
C1	ASC 1-180	ASC 1-190	ASC 1-105	ASC 1-195	ASC 1-365	ASC 1-370
C2	ASC 181-280	ASC 191-290	ASC 106-190	ASC 196-480	ASC 364-450	ASC 371-460
C3	ASC 281-600	ASC 291-610	ASC 191-275	ASC 481-720	ASC 451-585	ASC 461-600
C4	ASC 601-800 + DSC 136-290	ASC 611-800 + DSC 131-250	ASC 276-385	ASC 721-800 + DSC 141-200	ASC 586-705	ASC 601-800
C5	DSC 21-135	DSC 21-130	ASC 386-520	DSC 111-140	ASC 706-800	DSC 1-200
C6	DSC 1-20	DSC 1-20	ASC 521-800	DSC 51-110	DSC 1-200	
C7			DSC 16-190	DSC 11-50		
C8			DSC 1-15	DSC 1-10		

Tabelle 16. Auswaagen der CPC Fraktionen.

Fraktion	Auswaage					
	F5		F6		F7	
	[mg]	[%]	[mg]	[%]	[mg]	[%]
C1	133,5	7,98	28,4	2,68	37,6	2,43
C2	70,6	4,22	20,6	1,94	43,4	2,81
C3	292,2	17,47	20,6	1,94	41,3	2,67
C4	150,6	9,00	24,5	2,31	35,7	2,31
C5	641,3	38,34	29,0	2,73	31,8	2,05
C6	231,1	13,82	46,6	4,40	124,2	8,03
C7			386,2	36,42	508,4	32,85
C8			443,1	41,79	668,1	43,17

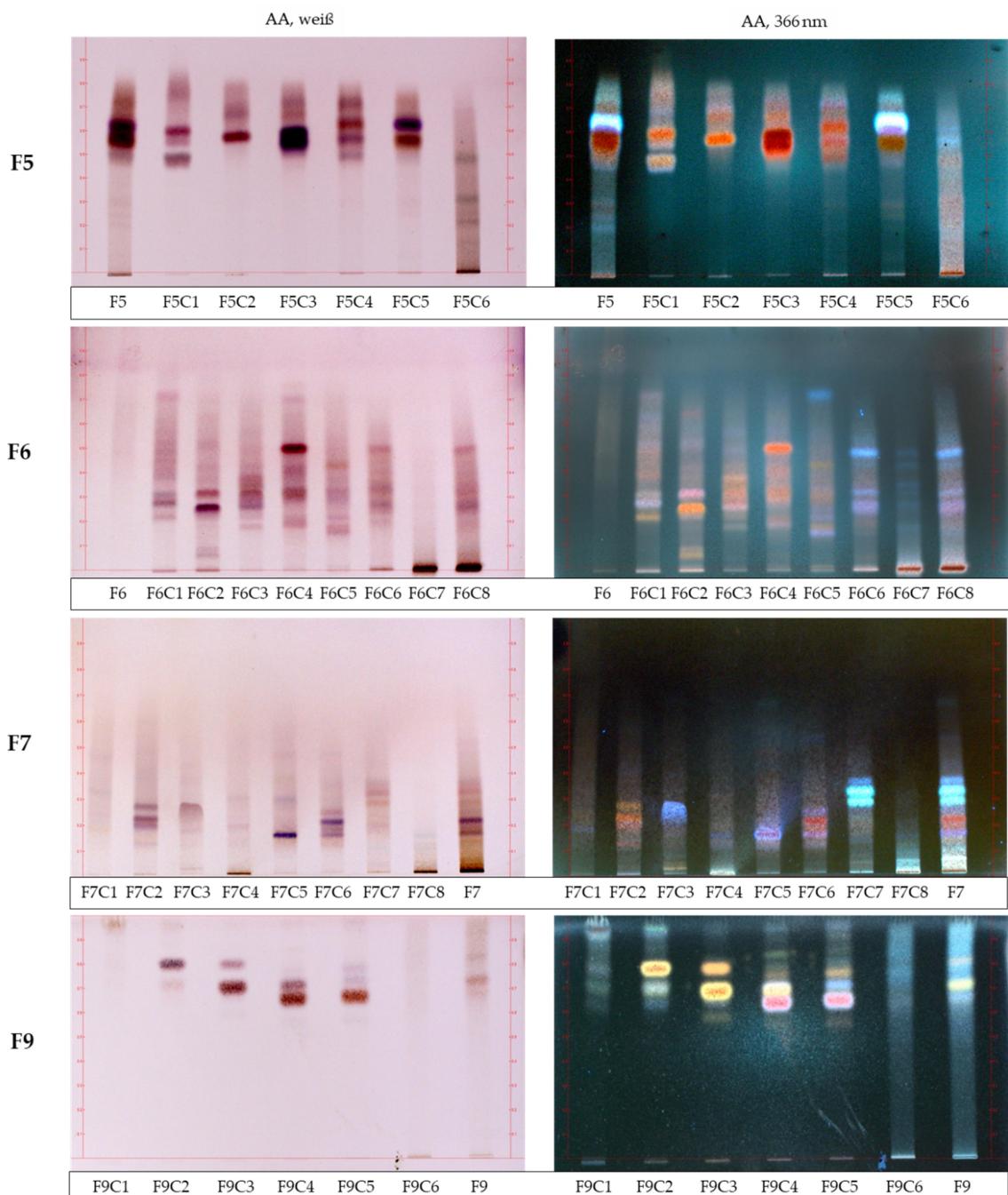


Abbildung 15. Dünnschichtchromatogramme der CPC Fraktionen. Abgebildet sind DCs mit der Ursprungsfraktion (F5, -6, -7 und -9; von oben nach unten) und den jeweiligen CPC Fraktionen. Die DCs sind nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht (links) und bei 366 nm (rechts) abgebildet. Es wurden 2 µl einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc aufgetragen und mit folgenden Fließmitteln entwickelt: F5: FM 4; F6: FM 2; F7: FM 2; F9: FM 4.

3.2.6. Kieselgel Flash 2

Um die Fraktionen F6C7 (386,2 mg) und F7C7 (508,4 mg) durch eine zweite Flash-Chromatographie an Kieselgel weiter aufzutrennen, wurde eine neue Methode spezifisch für diese Fraktionen entwickelt. Durch DC Vorversuche (nicht abgebildet) konnte ein geeigneter Gradient zwischen DCM und EtOAc gefunden werden und die Fraktionen wurden an einer kleineren Flash-Kartusche getrennt (siehe 3.1.5.4).

3.2.6.1. F6C7

Die Elutionsbereiche, Auswaagen und DCs der Unterfraktionen sind in **Abbildung 16** und **Tabelle 17** zusammengefasst.

Durch die zweite Flash-Chromatographie konnten Fraktionen gewonnen werden, die nur noch wenige Substanzen enthielten und damit geeignet für eine Auftrennung an der präparativen HPLC waren. Die DCs im underivatisierten Zustand zeigen teilweise intensive Banden bei 254 nm was dafür spricht, dass hier auch aromatische Substanzen mit größerem Chromophor vorhanden sind.

Tabelle 17. Elutionsbereiche und Auswaagen der Fraktionen F6C7F1-5.

Fraktion	Elutionsbereich [ml-ml]	Auswaage	
		[mg]	[%]
F6C7F1	1-165	24,0	6,87
F6C7F2	166-255	64,5	18,43
F6C7F3	256-510	96,9	27,69
F6C7F4	511-1410	142,5	40,72
F6C7F5	1411-1650	54,9	15,67

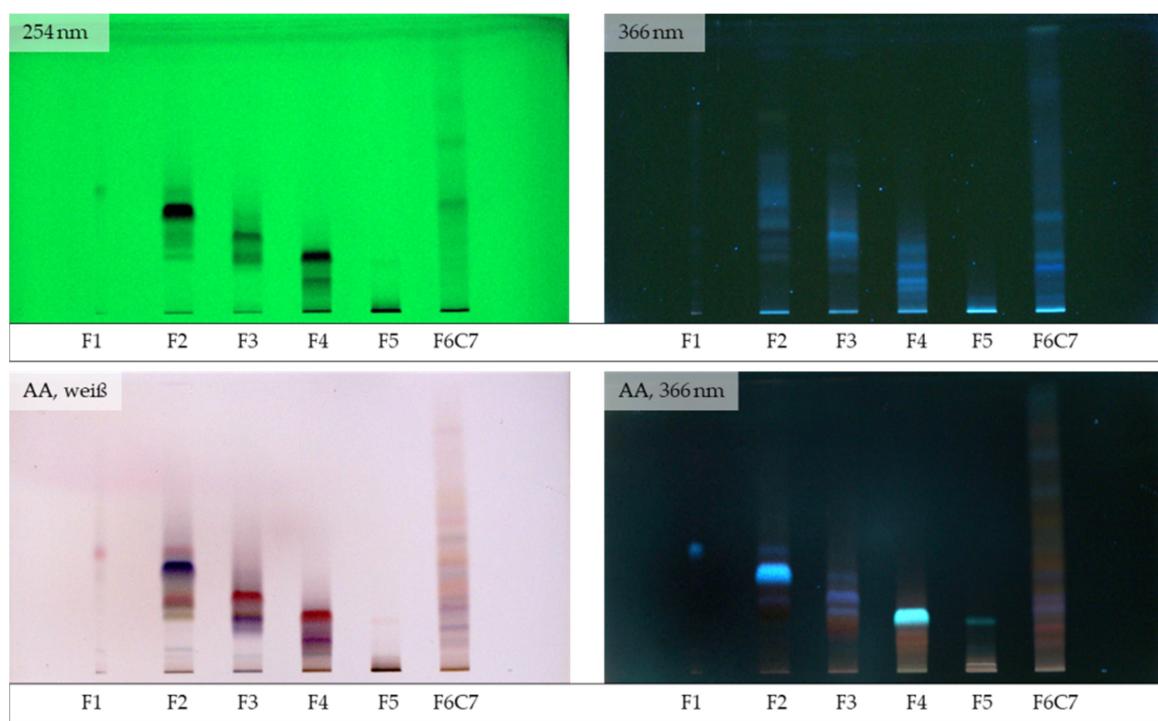


Abbildung 16. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C7 und der Unterfraktionen F6C7F1-5 (Beschriftet als F1-5), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Die DCs sind underivatisiert abgebildet bei 254 und 366 nm sowie nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (F1-5) bzw. 2 µl (F6C7) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.6.2. F7C7

Die Elutionsbereiche, Auswaagen und DCs der Unterfraktionen sind in **Tabelle 18** und **Abbildung 17** zusammengefasst.

Ähnlich wie bei F6C7 konnten hier geeignete Fraktionen für eine präparative Auftrennung per HPLC gewonnen werden. Auch in dieser Fraktion weisen deutliche Banden auf den underivatisierten DCs bei 254 nm auf aromatische Komponenten hin.

Tabelle 18. Elutionsbereiche und Auswaagen der Fraktionen F7C7F1-5.

Fraktion	Elutionsbereich [ml-ml]		Auswaage	
	Lauf 1	Lauf 2	[mg]	[%]
F7C7F1	1-390	1-600	90,2	18,03
F7C7F2	391-465	601-795	40,4	8,08
F7C7F3	466-660	796-1065	52,6	10,53
F7C7F4	661-1410	1066-1425	174,0	34,80
F7C7F5	1411-1650	1426-1650	123,2	24,65

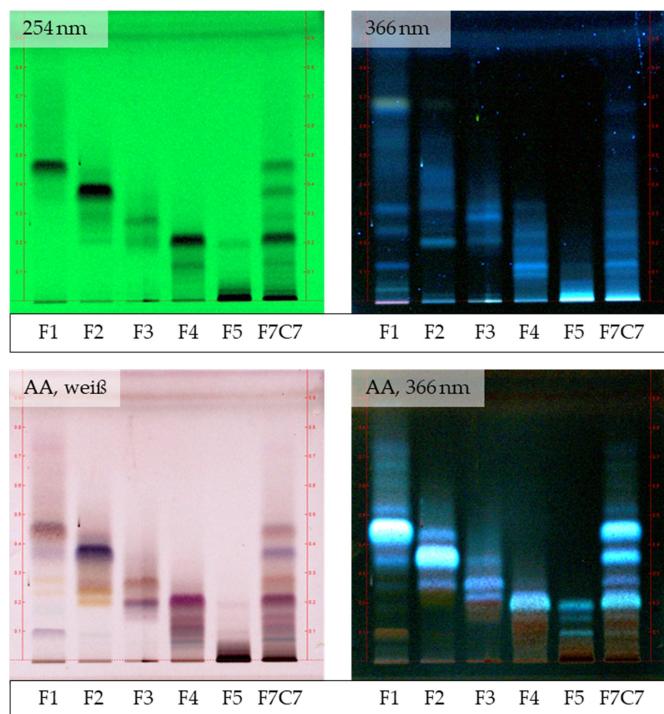


Abbildung 17. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C7 und der Unterfraktionen F7C7F1-5 (Beschriftet als F1-5), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Die DCs sind underivatisiert abgebildet bei 254 und 366 nm sowie nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (F1-5) bzw. 2 µl (F7C7) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7. Präparative HPLC

3.2.7.1. F5C2

In elf Läufen wurden 70,6 mg der Fraktion F5C2 an der préparativen HPLC mit der Methode HPLC 1 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei drei Peaks (P1-3) gesammelt (**Abbildung 18**).

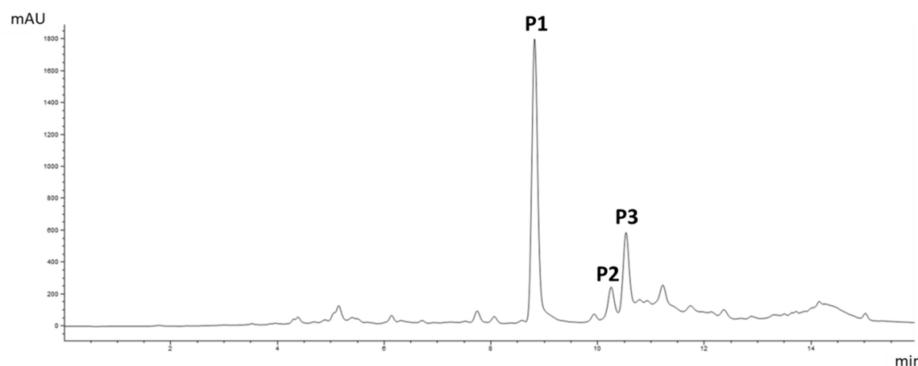


Abbildung 18. Chromatogramm der Fraktion F5C2 bei 200 nm mit den Peaks P1-3.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 19** und **Abbildung 19**. Die Struktur von F5C2P1 (Substanz 27) konnte im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.9.1), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten.

Tabelle 19. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F5C2P1-3.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F5C2P1	Substanz 27	8,8	16,1
F5C2P2		10,4	1,7
F5C2P3		10,7	2,6

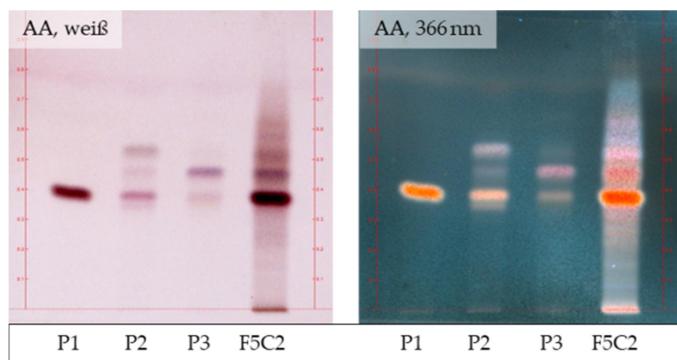


Abbildung 19. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F5C2 und der Unterfraktionen F5C2P1-3 (Beschriftet als P1-3), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-3) bzw. 2 µl (F5C2) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.2. F5C5

In zehn Läufen wurden 152,3 mg der Fraktion F5C5 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 2 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei acht Peaks (P1-8) gesammelt (**Abbildung 20**).

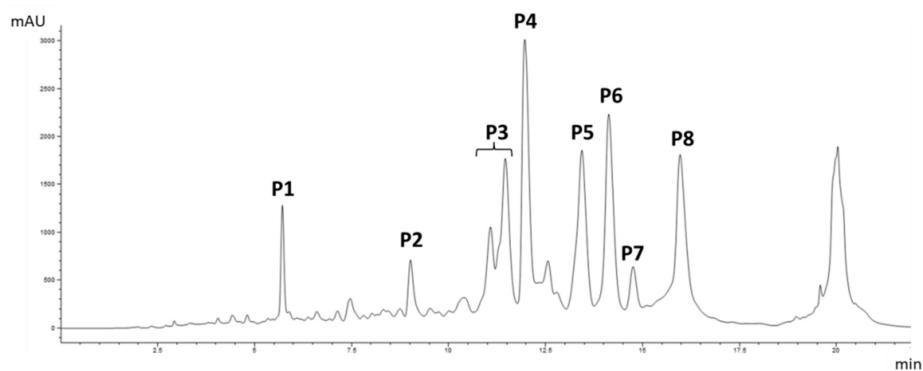


Abbildung 20. Chromatogramm der Fraktion F5C5 bei 200 nm mit den Peaks P1-8.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 20** und **Abbildung 20**. Die Strukturen von F5C5P5-8 (Substanz **1** (3.3.3.1), **10** (3.3.4.1), **11** (3.3.4.2) und **17** (3.3.5.1)) konnten im Folgenden aufgeklärt werden, während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten. F5C5P7 war nach der ersten Trennung mit einer anderen Substanz verunreinigt und wurde daher mit der gleichen Methode erneut chromatographiert. So konnten 0,8 mg dieser Substanz gewonnen werden.

Tabelle 20. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F5C5P1-8.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F5C5P1		6,5	1,0
F5C5P2		11,1	2,0
F5C5P3		14,3-15,3	11,5
F5C5P4	Substanz 7	16,1	9,2
F5C5P5	Substanz 10	18,2	7,6
F5C5P6	Substanz 11	18,9	6,6
F5C5P7	Substanz 17	19,4	2,3 bzw. 0,8
F5C5P8	Substanz 1	20,9	5,7

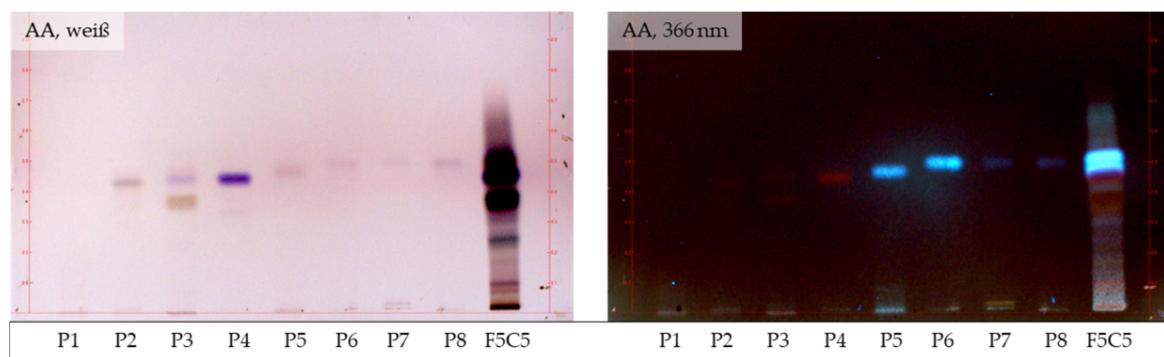


Abbildung 21. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F5C5 und der Unterfraktionen F5C5P1-8 (beschriftet als P1-8), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm abgebildet. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-8) bzw. 2 µl (F5C5) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.3. F6C3

In fünf Läufen wurden 20,6 mg der Fraktion F6C3 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 3 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei zwei Peaks (P1-2) gesammelt (**Abbildung 22**).

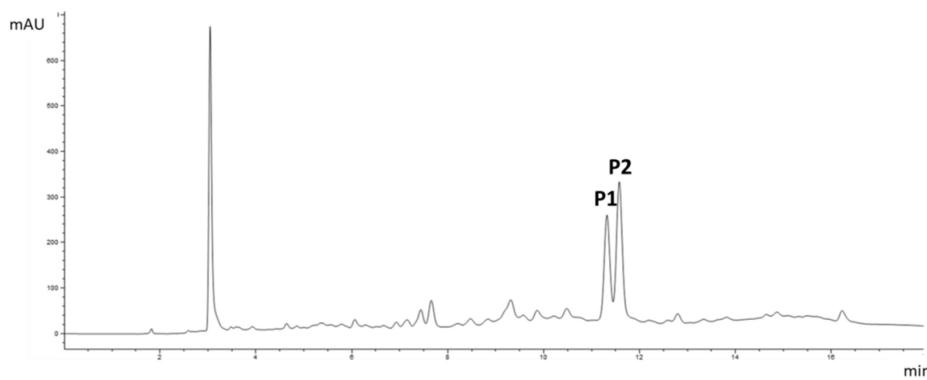


Abbildung 22. Chromatogramm der Fraktion F6C3 bei 200 nm mit den Peaks P1-2.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 21** und **Abbildung 23**. Die Strukturen beider Verbindungen (Substanz 33 und 35) konnte im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.10.5 und 3.3.10.7). Substanz 33 wurde auch in Fraktion F7C2P6 nachgewiesen.

Tabelle 21. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F6C3P1-2.

Fraktion	Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F6C3P1	Substanz 35	1,7
F6C3P2	Substanz 33	2,3

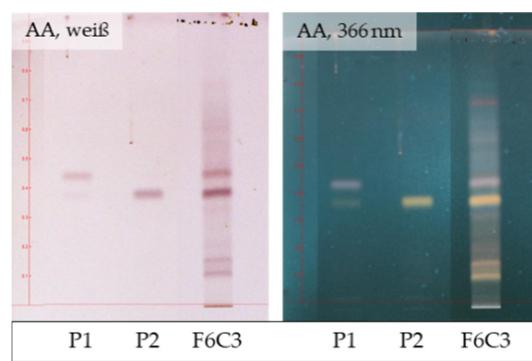


Abbildung 23. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C3 und der Unterfraktionen F5C3P1-2 (beschriftet als P1-2), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-2) bzw. 2 µl (F6C3) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.4. F6C4

In fünf Läufen wurden 24,5 mg der Fraktion F6C4 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 4 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei vier Peaks (P1-4) gesammelt (**Abbildung 24**).

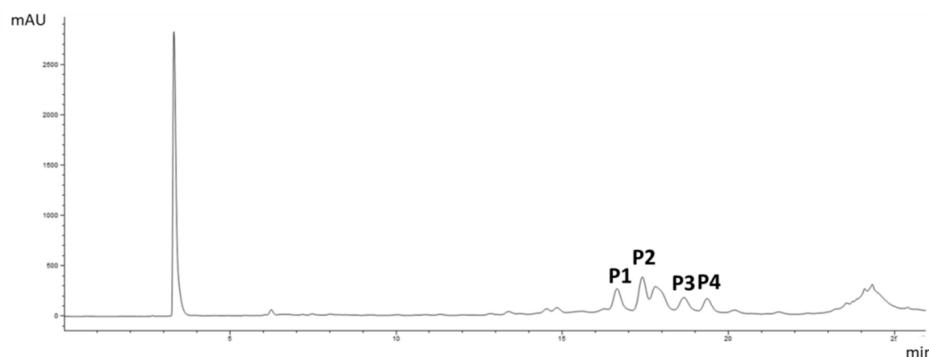


Abbildung 24. Chromatogramm der Fraktion F6C4 bei 200 nm mit den Peaks P1-4.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 22** und **Abbildung 25**. Die Struktur von F6C4P2 (Substanz 36) konnte im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.10.8), während die anderen Verbindungen, wie auf dem DC ersichtlich nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten.

Tabelle 22. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F6C4P1-4.

Fraktion	Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F6C4P1	16,7	1,4
F6C4P2 Substanz 36	17,4	2,0
F6C4P3	18,9	1,6
F6C4P4	19,4	1,6

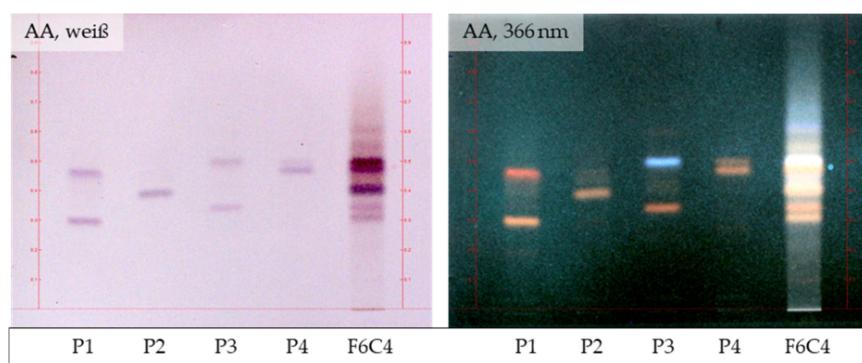


Abbildung 25. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C4 und der Unterfraktionen F6C4P1-4 (beschriftet als P1-4), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-4) bzw. 2 µl (F6C4) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.5. F6C5

In acht Läufen wurden 29,0 mg der Fraktion F6C5 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 5 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei ein Peak (P1) gesammelt (**Abbildung 26**).

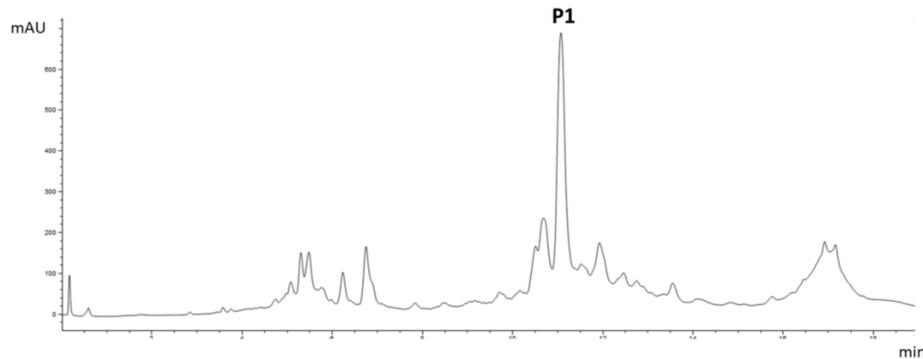


Abbildung 26. Chromatogramm der Fraktion F6C5 bei 200 nm mit dem Peak P1.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 23** und **Abbildung 27**. Die Struktur von F6C5P1 (Substanz 37) konnte im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.10.9).

Tabelle 23. Elutionszeit und Auswaage der Fraktion F6C5P1.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F6C5P1	Substanz 37	12,0	4,1

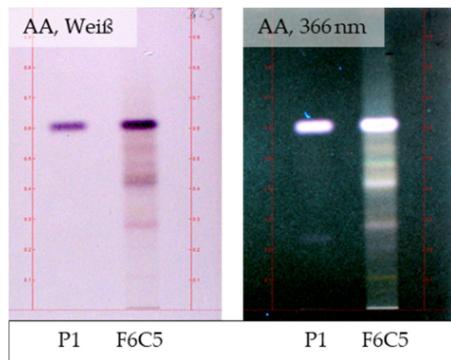


Abbildung 27. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C5 und der Unterfraktion F6C5P1 (beschriftet als P1), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1) bzw. 2 µl (F6C5) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.6. F6C7F1

In sieben Läufen wurden 24,0 mg der Fraktion F6C7F1 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 6 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei vier Peaks (P1-4) gesammelt (**Abbildung 28**).

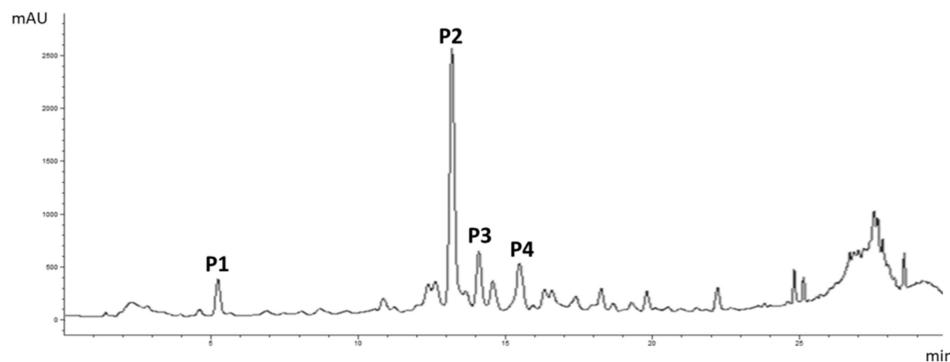


Abbildung 28. Chromatogramm der Fraktion F6C7F1 bei 200 nm mit den Peaks P1-4.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 24** und **Abbildung 29**. Die Strukturen von F6C7F1P2 und -P3 (Substanz **26** und **24**) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.8.3 und 3.3.8.1), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Menge und Reinheit gewonnen werden konnten.

Tabelle 24. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F6C7F1P1-4.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F6C7F1P1		5,4	0,6
F6C7F1P2	Substanz 26	13,4	0,8
F6C7F1P3	Substanz 24	14,2	0,7
F6C7F1P4		15,7	0,7

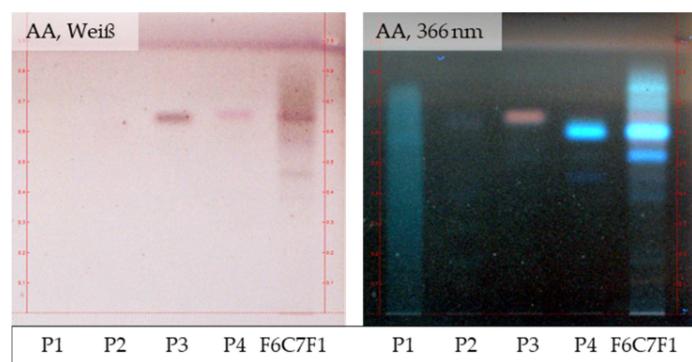


Abbildung 29. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C7F1 und der Unterfraktionen F6C7F1P1-4 (beschriftet als P1-4), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-4) bzw. 2 µl (F6C7F1) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc

3.2.7.7. F6C7F2

In sechs Läufen wurden 64,5 mg der Fraktion F6C7F2 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 7 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei sechs Peaks (P1-6) gesammelt (**Abbildung 30**).

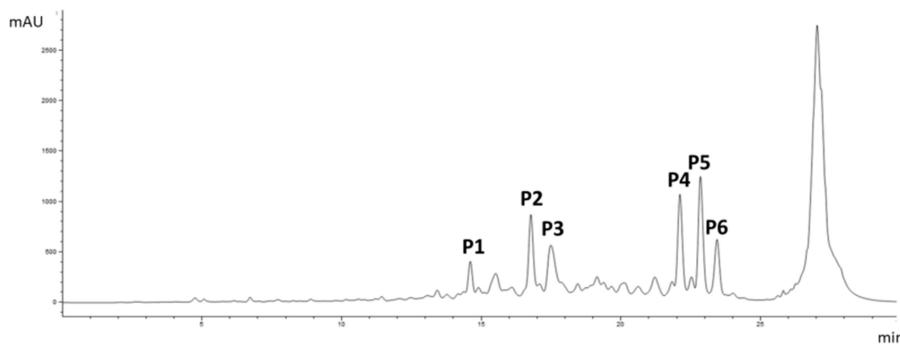


Abbildung 30. Chromatogramm der Fraktion F6C7F2 bei 200 nm mit den Peaks P1-6.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 25** und **Abbildung 31**. Die Strukturen von F6C7F2P2 sowie -P4-6 (Substanz 15, 19, 18 und 21) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.4.6, 3.3.5.3, 3.3.5.2 und 3.3.6.1), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten.

Tabelle 25. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F6C7F2P1-6.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F6C7F2P1		14,6	0,9
F6C7F2P2	Substanz 15	16,8	1,6
F6C7F2P3		17,5	1,9
F6C7F2P4	Substanz 19	22,1	1,2
F6C7F2P5	Substanz 18	22,9	1,7
F6C7F2P6	Substanz 21	23,5	0,9

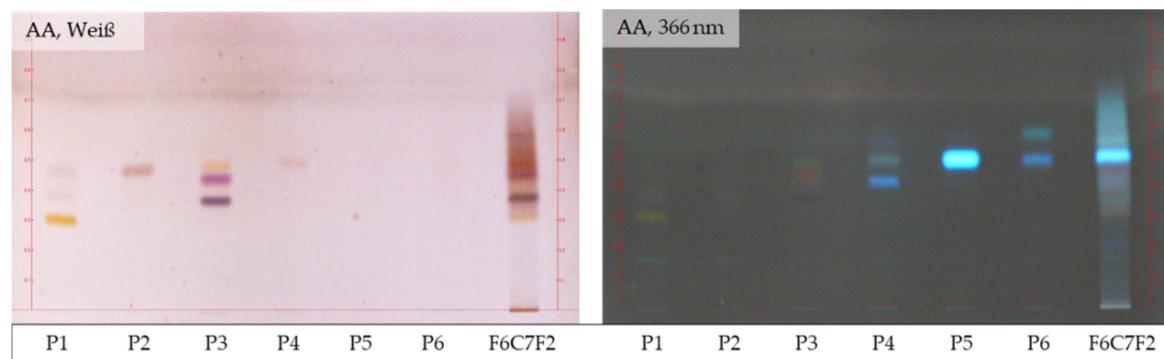


Abbildung 31. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C7F2 und der Unterfraktionen F6C7F2P1-6 (beschriftet als P1-6), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-6) bzw. 2 µl (F6C7F2) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.8. F6C7F3

In acht Läufen wurden 96,9 mg der Fraktion F6C7F3 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 8 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei sieben Peaks (P1-7) gesammelt (**Abbildung 32**).

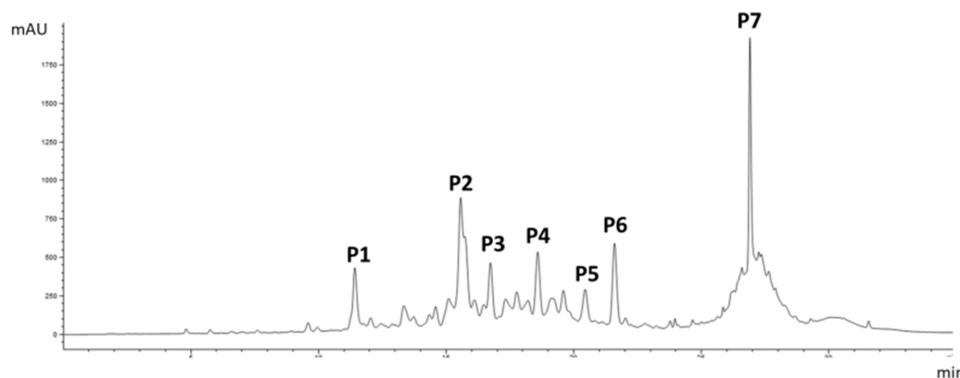


Abbildung 32. Chromatogramm der Fraktion F6C7F3 bei 200 nm mit den Peaks P1-7.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 26** und **Abbildung 33**. Die Strukturen von F6C7P1, -P3, -P6 und -P7 (Substanz 9, 5, 8 und 38) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.3.9, 3.3.3.5, 3.3.3.8 und 3.3.10.10), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten. F6C7F3P6 wurde erneut mit derselben Methode (HPLC 8) aufgereinigt, wodurch 1,8 mg Substanz gewonnen werden konnten. Substanz 5 konnte neben F6C7F3P3 auch noch aus F7C7F2P5 isoliert werden.

Tabelle 26. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F6C7F3P1-7.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F6C7F3P1	Substanz 9	11,7	3,6
F6C7F3P2		15,7	5,0
F6C7F3P3	Substanz 5	16,8	1,5
F6C7F3P4		18,6	2,3
F6C7F3P5		20,5	1,9
F6C7F3P6	Substanz 8	21,6	3,7 bzw. 1,8
F6C7F3P7	Substanz 38	26,8	6,2

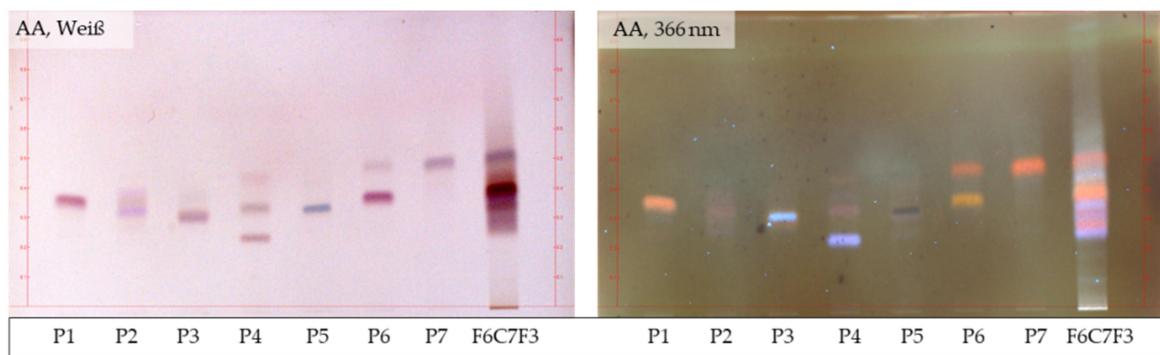


Abbildung 33. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C7F3 und der Unterfraktionen F6C7F3P1-7 (beschriftet als P1-7), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-7) bzw. 2 µl (F6C7F3) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.9. F6C7F4

In 14 Läufen wurden 142,5 mg der Fraktion F6C7F4 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 9 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei sechs Peaks (P1-6) gesammelt (**Abbildung 34**).

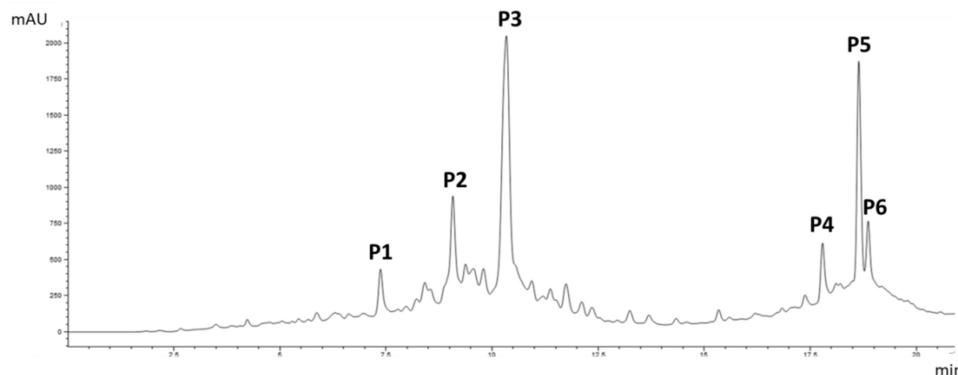


Abbildung 34. Chromatogramm der Fraktion F6C7F4 bei 200 nm mit den Peaks P1-6.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 27** und **Abbildung 35**. Die Strukturen von F6C7F4P1 und -P2 (Substanz **16** und **4**) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.4.6.1 und 3.3.3.4), während die anderen Verbindungen während der NMR-Analyse Abbauprodukte bildeten. Substanz **4** wurde aus den Fraktionen F7C7F2P3 und F7C7F3P1 ebenfalls isoliert

Tabelle 27. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F6C7F4P1-6.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F6C7F4P1	Substanz 16	7,5	1,7
F6C7F4P2	Substanz 4	9,2	4,3
F6C7F4P3		10,3	14,2
F6C7F4P4		17,7	2,5
F6C7F4P5		18,8	3,3
F6C7F4P6		18,9	1,9

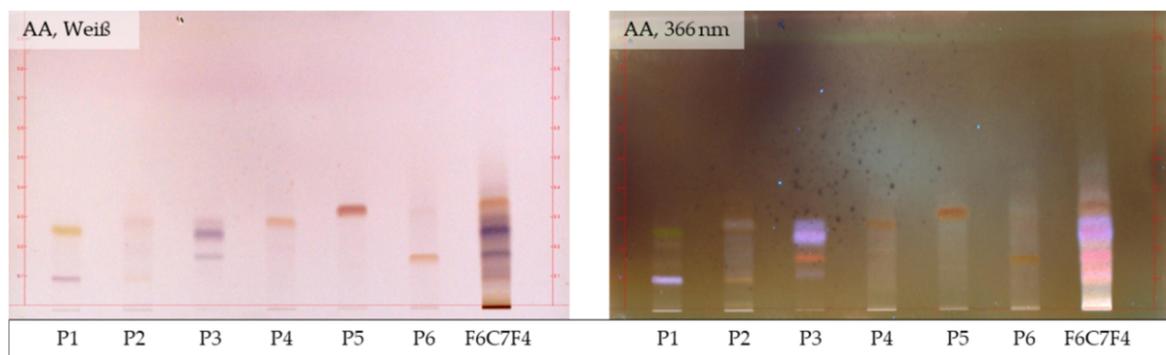


Abbildung 35. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F6C7F4 und der Unterfraktionen F6C7F4P1-6 (beschriftet als P1-6), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-6) bzw. 2 µl (F6C7F4) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.10. F7C2

In neun Läufen wurden 43,4 mg der Fraktion F7C2 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 10 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei sechs Peaks (P1-6) gesammelt (**Abbildung 36**).

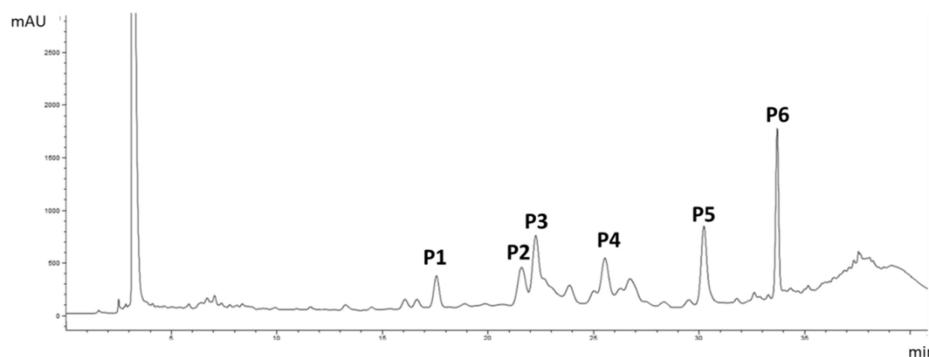


Abbildung 36. Chromatogramm der Fraktion F7C2 bei 200 nm mit den Peaks P1-6.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 28** und **Abbildung 37**. Die Strukturen von F7C2P5 und -P6 (Substanz 31 und 33) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.10.3 und 3.3.10.5), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Menge und Reinheit gewonnen werden konnten.

Tabelle 28. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F7C2P1-6.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F7C2P1		17,3	0,6
F7C2P2		21,2	1,2
F7C2P3		22,0	1,1
F7C2P4		25,2	1,2
F7C2P5	Substanz 31	29,9	2,0
F7C2P6	Substanz 33	33,4	2,4

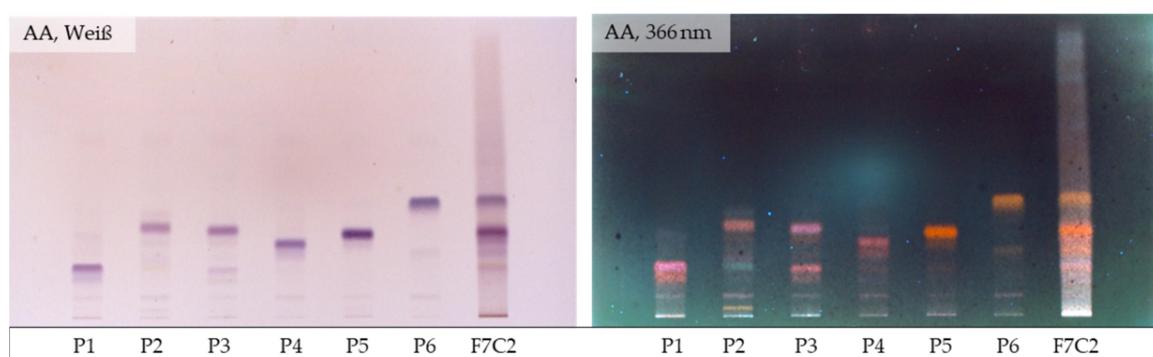


Abbildung 37. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C2 und der Unterfraktionen F7C2P1-6 (beschriftet als P1-6), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-6) bzw. 2 µl (F7C2) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.11. F7C3

In fünf Läufen wurden 41,3 mg der Fraktion F7C3 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 11 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei ein Peak (P1) gesammelt (**Abbildung 38**).

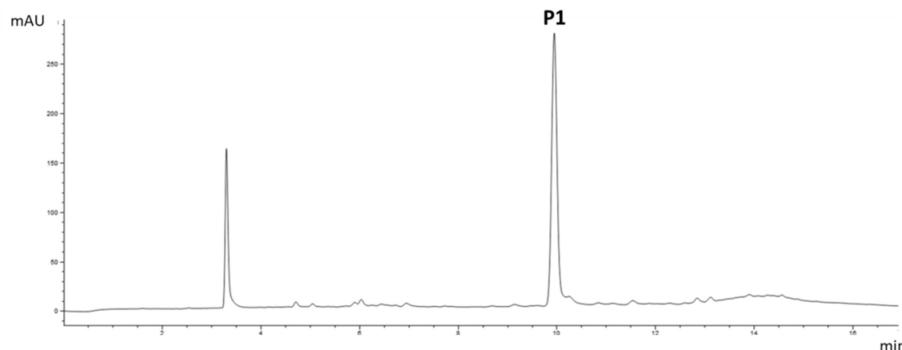


Abbildung 38. Chromatogramm der Fraktion F7C3 bei 200 nm mit dem Peak P1.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 29** und **Abbildung 39**. Die Struktur von F7C3P1 (Substanz 28) konnte im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.9.2). Das starke Tailing der DC Bande ist durch die Acidität der Verbindung zu erklären, die eine Carbonsäurefunktion trägt.

Tabelle 29. Elutionszeit und Auswaage der Fraktion F7C3P1.

Fraktion	Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F7C3P1 Substanz 28	9,9	9,4

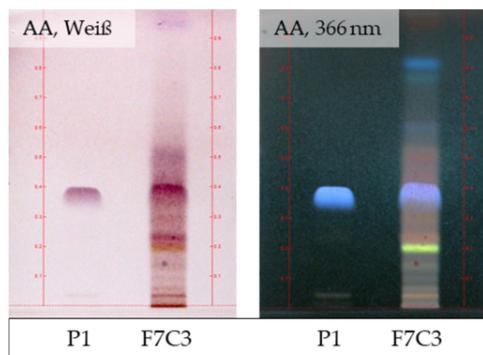


Abbildung 39. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C3 und der Unterfraktion F7C3P1 (beschriftet als P1), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1) bzw. 2 µl (F7C3) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.12. F7C6

In elf Läufen wurden 124,2 mg der Fraktion F7C6 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 12 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei vier Peaks (P1-4) gesammelt (**Abbildung 40**).

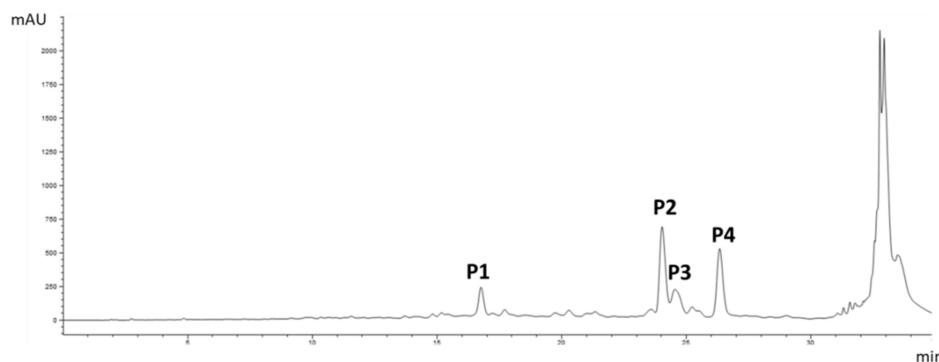


Abbildung 40. Chromatogramm der Fraktion F7C6 bei 200 nm mit den Peaks P1-4.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 30** und **Abbildung 41**. Die Strukturen von F7C6P2 und -P4 (Substanz **22** und **23**) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.7.1 und 3.3.7.2), während -P1 unter Blaufärbung Artefakte bildete. F7C6P3 konnte nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden.

Tabelle 30. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F7C6P1-4.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F7C6P1		16,5	1,4
F7C6P2	Substanz 22	23,4	6,9
F7C6P3		23,8	3,8
F7C6P4	Substanz 23	25,6	4,1

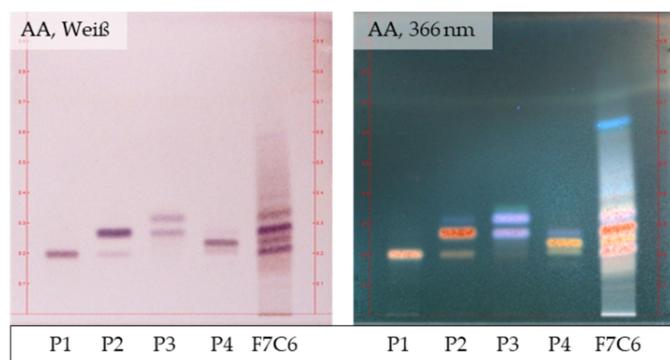


Abbildung 41. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C6 und der Unterfraktionen F7C6P1-4 (beschriftet als P1-4), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-4) bzw. 2 µl (F7C6) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.13. F7C7F1

In neun Läufen wurden 90,2 mg der Fraktion F7C7F1 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 13 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei drei Peaks (P1-3) gesammelt (**Abbildung 42**).

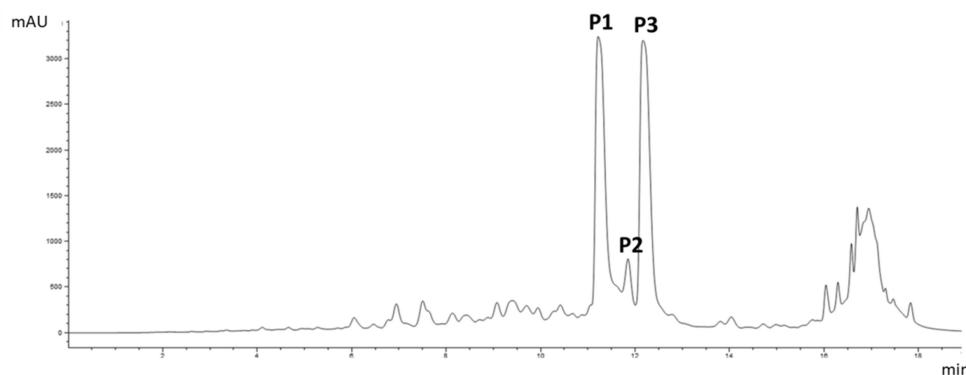


Abbildung 42. Chromatogramm der Fraktion F7C7F1 bei 200 nm mit den Peaks P1-3.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 31** und **Abbildung 43**. Die Strukturen von F7C7F1P1 und -P3 (Substanz 2 und 3) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.3.2 bzw. 3.3.3.3), während -P2 mit den Nachbarfraktionen verunreinigt war. Die Substanz 2 konnte darüber hinaus auch aus der Fraktion F7C7F2P6 gewonnen werden.

Tabelle 31. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F7C7F1P1-3.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F7C7F1P1	Substanz 2	11,3	10,9
F7C7F1P2		11,9	2,3
F7C7F1P3	Substanz 3	12,2	11,3

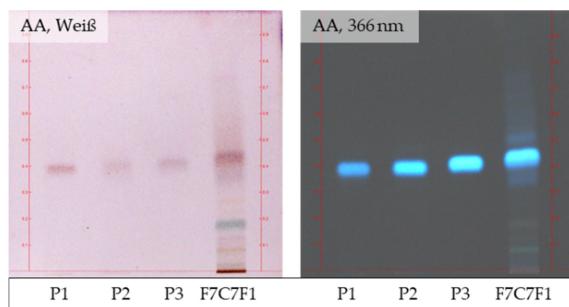


Abbildung 43. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C7F1 und der Unterfraktionen F7C7F1P1-3 (beschriftet als P1-3), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-3) bzw. 2 µl (F7C7F1) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.14. F7C7F2

In acht Läufen wurden 40,4 mg der Fraktion F7C7F2 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 14 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei neun Peaks (P1-9) gesammelt (**Abbildung 44**).

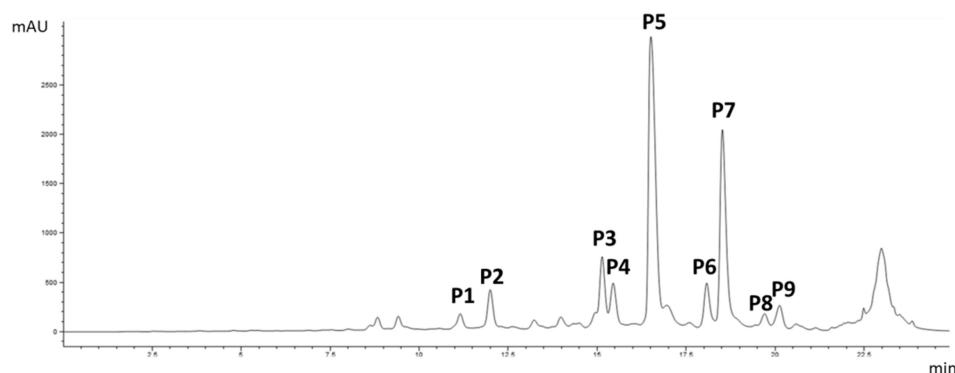


Abbildung 44. Chromatogramm der Fraktion F7C7F2 bei 200 nm mit den Peaks P1-9.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 32** und **Abbildung 45**. Die Strukturen von F7C7F2P3-6 (Substanz **4**, **6**, **5** und **2**) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.3.4, 3.3.3.6, 3.3.3.5 bzw. 3.3.3.2), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten bzw. sich im Fall von -P7 abbauten. Die Substanzen **2**, **4** und **5** konnten außerdem auch aus anderen Fraktionen gewonnen werden (F6C7F3P3, F7C7F3P1 bzw. F7C7F1P1).

Tabelle 32. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F7C7F2P1-9.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F7C7F2P1		11,2	0,8
F7C7F2P2		12,0	3,4
F7C7F2P3	Substanz 4	15,2	1,7
F7C7F2P4	Substanz 6	15,5	1,1
F7C7F2P5	Substanz 5	16,6	6,5
F7C7F2P6	Substanz 2	18,1	1,2
F7C7F2P7		18,6	3,3
F7C7F2P8		19,7	0,7
F7C7F2P9		20,2	1,0

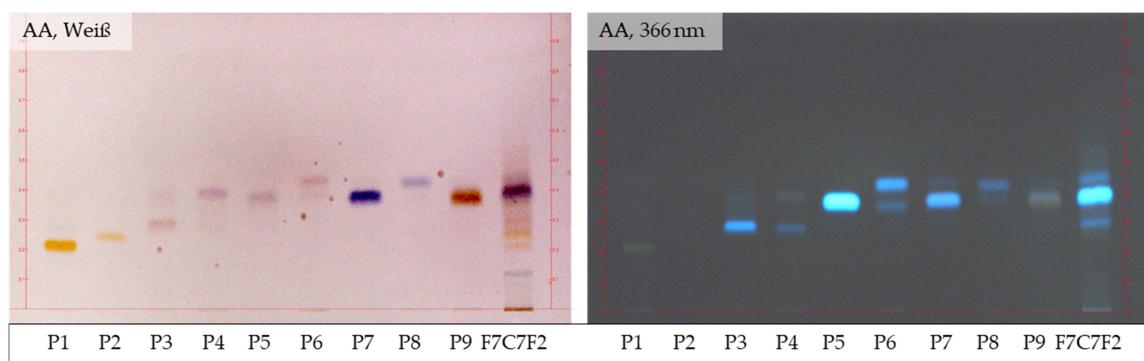


Abbildung 45. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C7F2 und der Unterfraktionen F7C7F2P1-9 (beschriftet als P1-9), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-9) bzw. 2 µl (F7C7F2) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.15. F7C7F3

In neun Läufen wurden 52,6 mg der Fraktion F7C7F3 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 15 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei drei Peaks (P1-3) gesammelt (**Abbildung 46**).

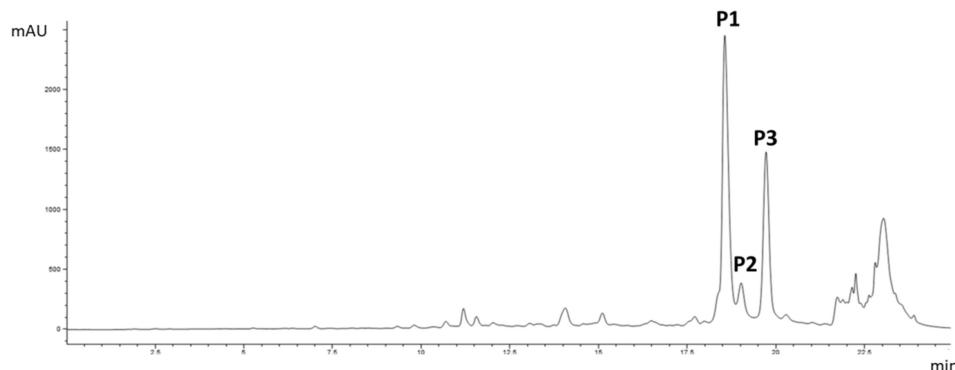


Abbildung 46. Chromatogramm der Fraktion F7C7F3 bei 200 nm mit den Peaks P1-3.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 33** und **Abbildung 47**. Die Strukturen von F7C7F3P1 und -P3 (Substanz 4 und 25) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.3.4 und 3.3.8.2), während -P2 nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnte. Substanz 3 wurde auch aus den Fraktionen F6C7F4P2 und F7C7F2P3 isoliert.

Tabelle 33. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F7C7F3P1-3.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F7C7F3P1	Substanz 4	19,0	2,9
F7C7F3P2		19,5	1,6
F7C7F3P3	Substanz 25	20,1	2,1

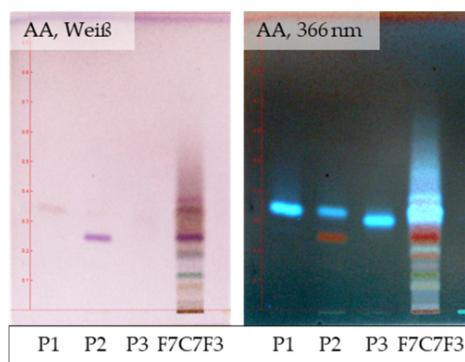


Abbildung 47. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C7F3 und der Unterfraktionen F7C7F3 P1-3 (beschriftet als P1-3), welches mit FM 5 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-3) bzw. 2 µl (F7C7F3) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.16. F7C7F4

In zehn Läufen wurden 174,0 mg der Fraktion F7C7F4 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 16 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei vier Peaks (P1-4) gesammelt (**Abbildung 48**).

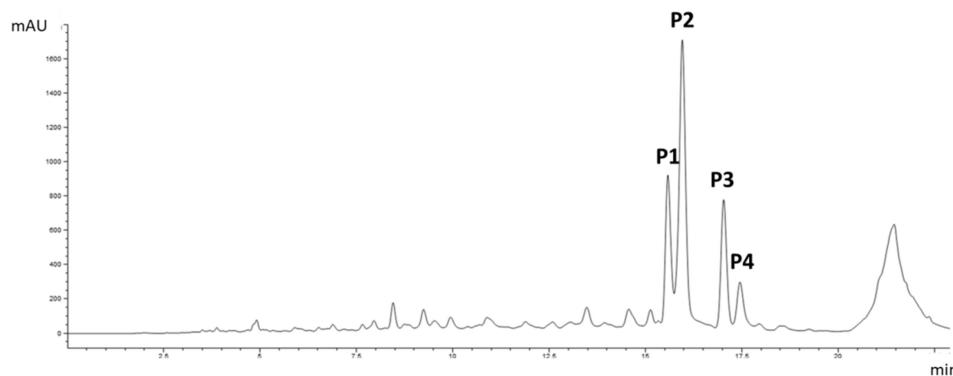


Abbildung 48. Chromatogramm der Fraktion F7C7F4 bei 200 nm mit den Peaks P1-4.

Die Elutionszeiten, Auswaagen und Übersichts-DCs der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 34** und **Abbildung 49**. Die Strukturen von F7C7F4P1-4 (Substanz **12**, **13**, **20** und **14**) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.4.3, 3.3.4.4, 3.3.5.4 und 3.3.4.5).

Tabelle 34. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F7C7F4P1-4.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F7C7F4P1	Substanz 12	15,6	7,4
F7C7F4P2	Substanz 13	17,0	13,3
F7C7F4P3	Substanz 20	17,0	6,3
F7C7F4P4	Substanz 14	17,4	2,8

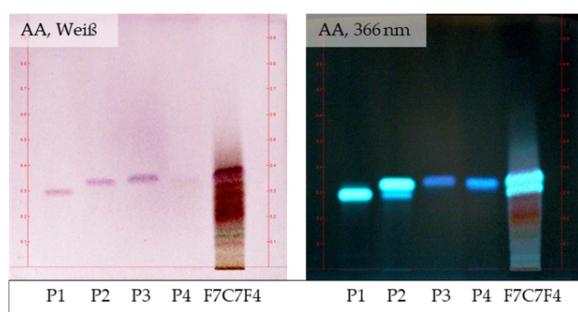


Abbildung 49. Dünnschichtchromatogramm der Fraktion F7C7F4 und der Unterfraktionen F7C7F4P1-4 (beschriftet als P1-4), welches mit FM 2 entwickelt wurde. Das DC ist abgebildet nach Derivatisierung mit AA im weißen Licht und bei 366 nm. Aufgetragen wurden 1 µl (P1-4) bzw. 2 µl (F7C7F4) einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

3.2.7.17. F9C2

In fünf Läufen wurden 20,5 mg der Fraktion F9C2 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 17 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei vier Peaks (P1-4) gesammelt (**Abbildung 50**).

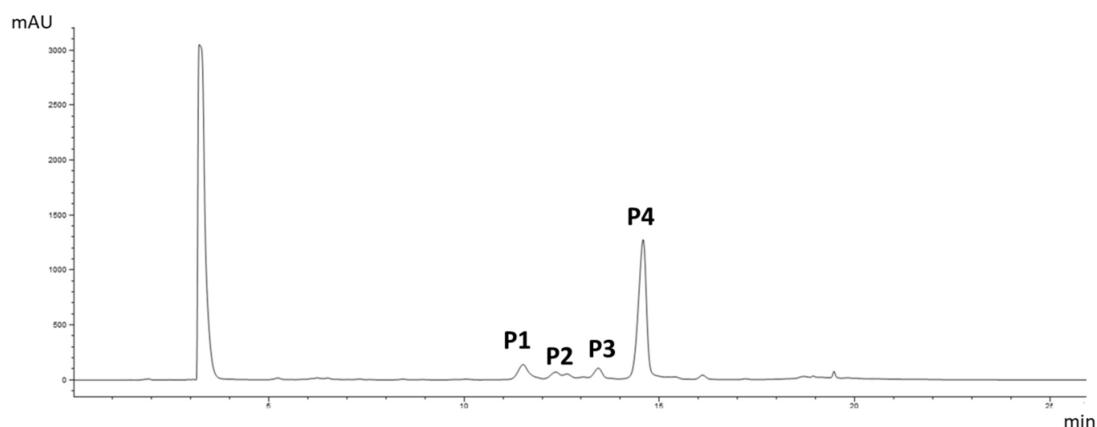


Abbildung 50. Chromatogramm der Fraktion F9C2 bei 200 nm mit den Peaks P1-4.

Die Elutionszeiten und Auswaagen der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 35**. Die Struktur von F9C2P4 (Substanz 32) konnte im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.10.4), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten.

Tabelle 35. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F9C2P1-4

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F9C2P1		11,6	5,0
F9C2P2		12,4	2,5
F9C2P3		13,4	0,7
F9C2P4	Substanz 32	14,6	6,0

3.2.7.18. F9C3

In 14 Läufen wurden 118,1 mg der Fraktion F9C3 an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 17 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei zwei Peaks (P1-2) gesammelt (**Abbildung 51**).

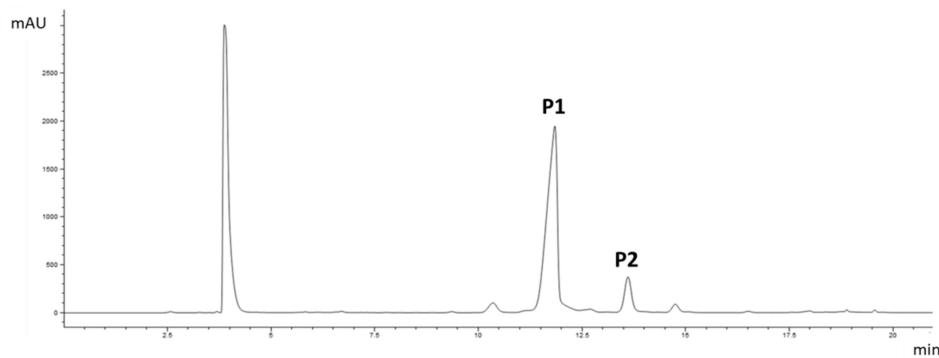


Abbildung 51. Chromatogramm der Fraktion F9C3 bei 200 nm mit den Peaks P1-2.

Die Elutionszeiten und Auswaagen der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 36**. Die Strukturen von F9C3P1-2 (Substanz 30 und 29) konnten im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.10.2 und 3.3.10.1).

Tabelle 36. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F9C3P1-2.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F9C3P1	Substanz 30	11,7	48,4
F9C3P2	Substanz 29	13,4	6,4

3.2.7.19. F9C4

In 14 Läufen wurden 77,6 mg der Fraktionen F9C4-5, welche zuvor vereinigt wurden, an der präparativen HPLC mit der Methode HPLC 18 (3.1.5.6) aufgetrennt und dabei drei Peaks (P1-3) gesammelt (**Abbildung 52**).

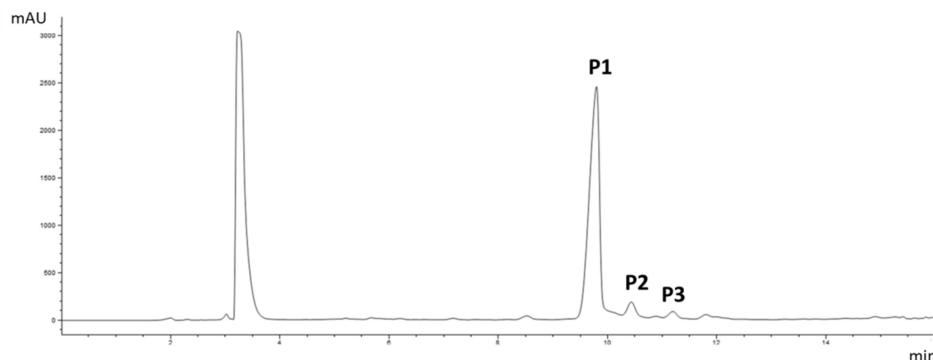


Abbildung 52. Chromatogramm der Fraktion F9C4 bei 200 nm mit den Peaks P1-3.

Die Elutionszeiten und Auswaagen der entstandenen Fraktionen finden sich in **Tabelle 37**. Die Struktur von F9C4P1 (Substanz 34) konnte im Folgenden aufgeklärt werden (3.3.10.6), während die anderen Verbindungen nicht in ausreichender Reinheit gewonnen werden konnten.

Tabelle 37. Elutionszeiten und Auswaagen der Fraktionen F9C4P1-3.

Fraktion		Elutionszeit [min]	Auswaage [mg]
F9C4P1	Substanz 34	9,9	32,7
F9C4P2		10,5	3,6
F9C4P3		11,0	4,6

3.2.8. Instabilitäten und Artefaktbildung

In Verlauf der Isolierung traten immer wieder Probleme mit der Stabilität einiger Verbindungen und Fraktionen auf. Dies führte zur Bildung von Artefakten und war der Grund dafür, dass einige Reinsubstanzen nicht aufgeklärt werden konnten. Der Effekt trat zum ersten Mal in Form von lagerungsbedingten Veränderungen auf Ebene der Flash-Fraktionen auf. Da dies auch Auswirkung auf die Auswahl von Fraktionen hatte, die im Folgendem weiter bearbeitet wurden, sollen diese Instabilitäten hier kurz vorgestellt werden.

Es wurden DCs von Flash-Fraktionen, die zu unterschiedlichen Zeiten entstanden waren, angefertigt. Dies war möglich, da insgesamt zehn Flash-Durchgänge über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurden und so unterschiedlich „alte“ Fraktionen vorhanden waren. Durch diese Untersuchungen konnten gelagerte (2 Monate alt) mit frischen Fraktionen (3 Tage alt) verglichen werden. Für die DCs wurden aufgrund der unterschiedlichen Polarität der Fraktionen zwei verschiedene Fließmittel für F1-5 und F6-10 verwendet (**Abbildung 53**).

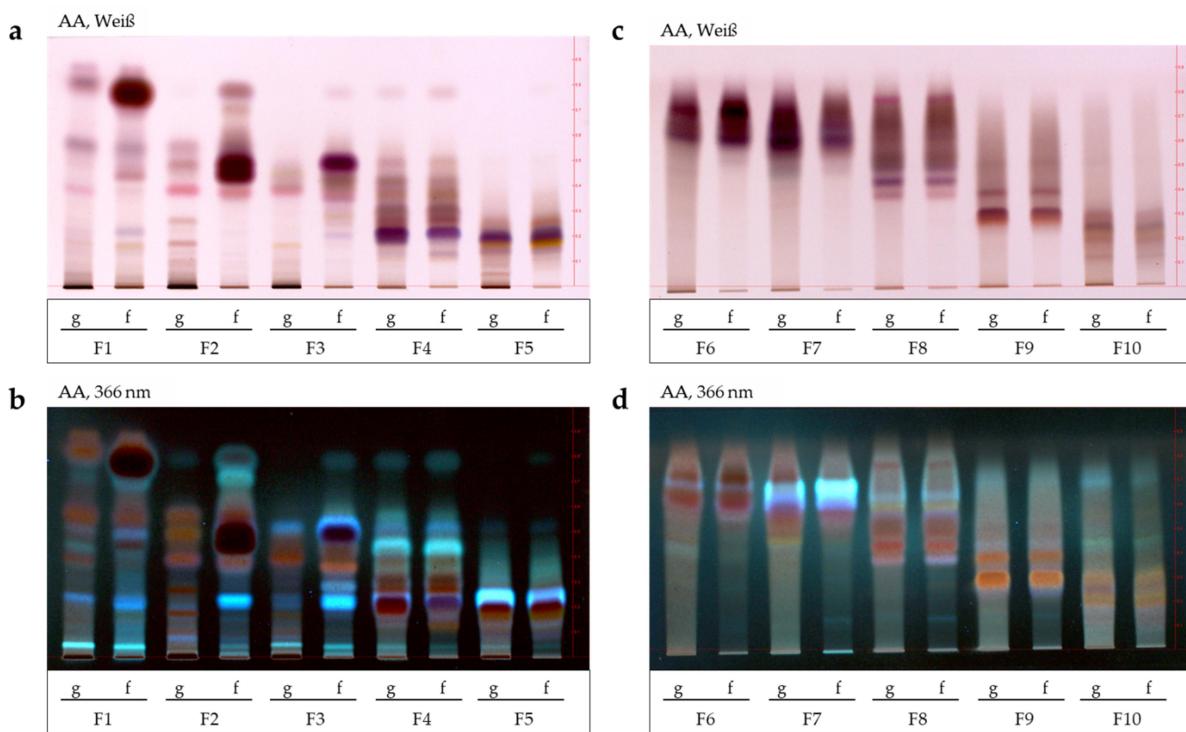


Abbildung 53. Dünnschichtchromatogramme der Fraktion F1-10 im gelagerten (g) und frischem (f) Zustand. Die DCs wurden mit FM 1 (a und b) bzw. FM 7 (c und d) entwickelt und mit AA derivatisiert. Sie sind abgebildet im weißen Licht (a und c) bzw. bei 366 nm (b und d). Aufgetragen wurden je 10 µl einer Lösung der Konzentration 10 mg/ml in EtOAc.

Durch die dünnenschichtchromatographischen Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass es vor allem bei den lipophileren Fraktionen F1-4 zu starken Veränderungen während der Lagerung kommt und sich bei diesen der Fingerprint zwischen gelagerten (g)

und frischen (f) Fraktionen stark unterscheidet. Bei den Fraktionen F5-10 traten nur kleine Unterschiede auf.

Diese Ergebnisse waren ausschlaggebend dafür, dass die lipophileren Fraktionen bei den folgenden Isolierungsschritten nicht weiter bearbeitet wurden, obwohl sie im ICAM-1 Assay stärkere Effekte zeigten (siehe Kapitel 4). Stattdessen wurde der Fokus auf die stabileren und ebenfalls aktiven Fraktionen F5-7 gelegt.

Aber auch auf Ebene der Reinsubstanzen kam es immer wieder zu Instabilitäten, die zum Abbau einiger Verbindungen führten. So zersetzte sich zum Beispiel die Verbindung F7C6P1 in CDCl_3 unter Blaufärbung, während der Messung der NMR-Spektren (3.2.7.12). Aber auch bei anderen Verbindungen traten immer wieder Veränderungen auf, die zur Folge hatten, dass die Strukturen vieler Reinsubstanzen nicht aufgeklärt werden konnten.

Um die Bildung von Artefakten zu verhindern oder einzudämmen wurden mehrere Maßnahmen ergriffen. Zum einen wurde darauf geachtet Fraktionen und Reinsubstanzen unter Lichtausschluss und bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ zu lagern. Zum anderen wurde auch versucht die thermische Belastung während des Isolierungsprozesses zu vermindern. Zum Beispiel wurden Rotationsverdampfer nicht bei Temperaturen über $38\text{ }^\circ\text{C}$ betrieben und Trocknungsprozesse wenn möglich bei Raumtemperatur im Stickstoffstrom durchgeführt. Auch Substanzen, die nach der präparativen Aufarbeitung (3.1.5.6) in wässriger Lösung vorlagen, wurden durch Ausschütteln mit Diethylether in der organischen Phase angereichert. Diese konnte anschließend deutlich temperaturschonender getrocknet werden, als es für die wässrige Lösung der Fall gewesen wäre. Da die Artefaktbildung im sauren Milieu begünstigt sein kann, wurde außerdem auf Säurezusätze zu Laufmitteln während der präparativen Arbeiten verzichtet.

3.3. Strukturaufklärung

Aus Fraktionen, die durch den Isolierungsprozess gewonnenen wurden, konnten im Folgenden 38 Strukturen aufgeklärt werden. Dies geschah vor allem auf Basis der 1D- und 2D-NMR-Spektroskopie sowie der durch LC-HRESIMS ermittelten Summenformel. Die Reinheit isolierter Verbindungen wurde mithilfe von HPLC-DAD bestimmt und die Substanzen mittels UV-Vis-Spektroskopie, Polarimetrie und CD-Spektroskopie charakterisiert.

Bei den isolierten Verbindungen handelt es sich zum einen um Sesquiterpene, die sich in die Klassen Germacrane, Eudesmane, Elemane, Cadinane, Guajane sowie Seco-Verbindungen unterteilen lassen. Zum anderen finden sich auch Triterpene, welche zum Teil eine verkürzte Seitenkette besitzen.

Das folgende Kapitel ist dementsprechend nach Strukturtypen gegliedert und soll alle relevanten Daten, die zu den Verbindungen gesammelt wurden, zusammenfassen. Die UV- und CD-Spektren sowie die Chromatogramme, die während der Reinheitsbestimmung mit HPLC-DAD entstanden, sind gesammelt im Anhang abgebildet. (**Abbildung 152**, **Abbildung 153**, **Abbildung 154**)

3.3.1. Verunreinigungen

Betrachtet man die während dieser Arbeit entstandenen ^1H - und ^{13}C -Spektren fallen einige zusätzliche Signale auf, die nicht den betreffenden Isolaten zuzuordnen sind und auf Verunreinigungen zurückgehen. Bei diesen handelt es sich neben den Lösemittelsignalen von Chloroform und Methanol vor allem um Wasser, Diethylether, Ethanol oder Schliffett. Deren chemische Verschiebungen in CDCl_3 und Methanol-d₄ nach Gottlieb et al. [102] sind in **Tabelle 38** zusammengefasst.

Tabelle 38. Chemische Verschiebungen typischer Verunreinigungen in CDCl_3 und Methanol-d₄ (Mult. Multiplizität, δ in ppm, s Singulett, t Triplett, q Quartett, br breites Signal, m Multiplett) nach Gottlieb et al. [102].

Mult.	CDCl_3		Methanol-d ₄	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
Lösemittelsignal	7,26	77,2	3,31	49,0
Wasser	s 1,56	-	4,87	-
Diethylether	t, CH ₃ 1,21	15,2	1,18	15,5
	q, CH ₂ 3,48	65,9	2,49	66,9
Ethanol	t, CH ₃ 1,25	18,4	1,19	18,4
	q, CH ₂ 3,72	58,3	3,60	58,3
Schliffett	m, CH ₃ 0,86	-	0,86	-
	brs, CH ₂ 1,26	29,8	1,29	31,3

Die genannten Verunreinigungen stammen aus dem Isolierungsprozess und sind meist auf ungenügendes Trocknen vor der NMR-Messung zurückzuführen. So wurde teilweise Diethylether oder Wasser aus dem Ausschüttelvorgang (3.1.5.6) oder zum Überführen verwendetes Ethanol in die NMR-Proben verschleppt. Bei vielen Spektren zeigen sich außerdem deutlich Signale, die laut Gottlieb et al. [102] „grease“ zuzuordnen sind. Hierbei handelt es sich höchstwahrscheinlich um Schlifffett, welches durch das Fettens des Scheidetrichters während des Ausschüttelns in die Probe gelangt ist. Diese Signale hatten in der Regel keinen störenden Einfluss auf die Strukturaufklärung der Substanzen. Nur selten kam es zu Überlagerungen, die allerdings durch 2D-Daten eindeutig nachvollzogen werden konnten. Andere zusätzliche Signale stammen von anderen Substanzen aus dem Extrakt, die während des Isolierungsprozesses nicht abgetrennt werden konnten oder entstanden durch Abbauprodukte.

3.3.2. Allgemeine Strukturmerkmale

Zwei Strukturmerkmale finden sich in mehreren Verbindungen und sollen zu Beginn kurz allgemein erörtert werden.

3.3.2.1. 2-Methyl-2-butenolid

Ein Teil der isolierten Substanzen gehört der Gruppe der Sesquiterpenlactone an, bei welchen es während der Biosynthese zu einem zusätzlichen Ringschluss kommt und eine Lacton-Partialstruktur entsteht. Dieses Strukturelement, ein 2-Methyl-2-butenolid (**Abbildung 54**), findet sich in vielen Verbindungen und ist durch spezifische NMR-Signale gut zu identifizieren.

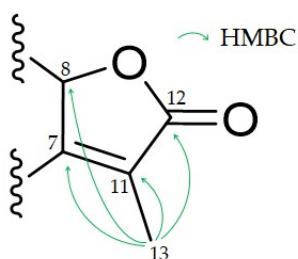


Abbildung 54. 2-Methyl-2-butenolid Teilstruktur mit typischen HMBC-Signalen.

So liegt die chemische Verschiebung des C-12 meist zwischen 172-178 ppm, was typisch für eine Ester-Funktion ist (150-190 ppm) [103]. Auch C-7 und -11 weisen typische Verschiebungen für eine C-C Doppelbindung auf, wobei C-7 durch den -M-Effekt der Carbonylfunktion weit tieffeldverschoben ist (156-164 ppm). Im Gegensatz dazu liegt C-13 mit Werten zwischen 6-12 ppm meist auffallend weit im Hochfeld und die zugehörigen Protonen H₃-13 bilden aufgrund einer Fernkopplung ein breites Singulett bei 1,8-1,9 ppm.

In 2D-Spektren zeigen sich außerdem HMBC-Kopplungen zwischen H₃-13 und C-7, -8, -11 und -12 (**Abbildung 54**) sowie long-range COSY-Korrelationen mit H-6 und H-9.

3.3.2.2. 3-Methylfuran

Während bei einigen Verbindungen der Ring als Lacton-Struktur ausgebildet ist, kann er auch zum 3-Methylfuran reduziert sein (**Abbildung 55**).

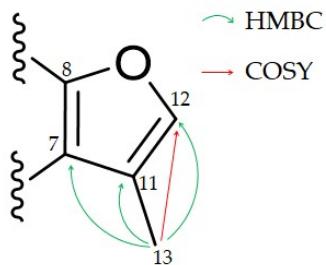


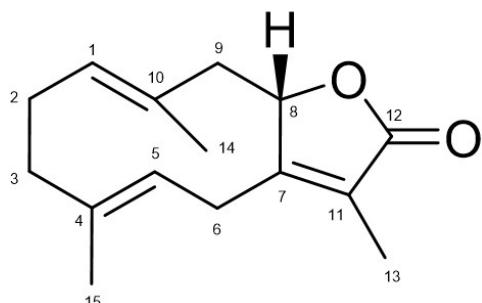
Abbildung 55. 3-Methylfuran Teilstruktur mit typischen HMBC- und COSY-Signalen.

In diesem Fall weisen die aromatischen Kohlenstoffe C-7 und -11 Verschiebungen zwischen 119-123 ppm auf, während C-8 und -12 aufgrund ihrer direkten Nachbarschaft zum Sauerstoff ins Tieffeld verschoben sind (135-165 ppm). Wie schon bei der 2-Methyl-2-butenolid Teilstruktur, liegt auch hier das Kohlenstoffsignal der Methylgruppe C-13 im Hochfeld bei 7-11 ppm und die zugehörigen Protonen erscheinen als breites Singulett bei 1,9-2,3 ppm.

Typisch sind außerdem HMBC-Kopplungen zwischen $H_3\text{-}13$ und C-7, -11 und -12 sowie ein COSY-Signal zwischen $H_3\text{-}13$ und H-12 (7,1-7,2 ppm) (**Abbildung 55**).

3.3.3. Germacrane

3.3.3.1. Substanz 1: Glechomanolid



Auswaage: 5,7 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +6 (c 1,84 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \epsilon)$: 214,0 nm (4,10);
c 53 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 99 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 233,1540 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₂₀O₂; 233,1536)

Reinheit: 97,2% (**Abbildung 154**)

Tabelle 39. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 1 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	4,85 (1H, brd, 13,7)	130,7
2	2,09 ¹ (1H, m) 2,20 ¹ (1H, m)	25,6
3	1,87 ¹ (1H, m) 2,24 ¹ (1H, m)	38,5
4		132,9
5	4,33 (1H, brd, 11,0)	123,8
6	2,89 (1H, dd, 11,0, 14,6) 3,41 (1H, brd, 14,6)	27,5
7		162,8
8	4,96 (1H, dd, 4,3, 11,5)	82,8
9	2,10 ¹ (1H, m) 3,10 (1H, brd, 13,0)	47,2
10		132,4
11		126,0
12		173,8
13	1,87 (3H, s)	8,9
14	1,50 (3H, s)	16,5
15	1,62 (3H, s)	16,8

¹ Überlagerte Signale

Substanz 1 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F5C5P8 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 39** und **Abbildung 56** zusammengefasst.

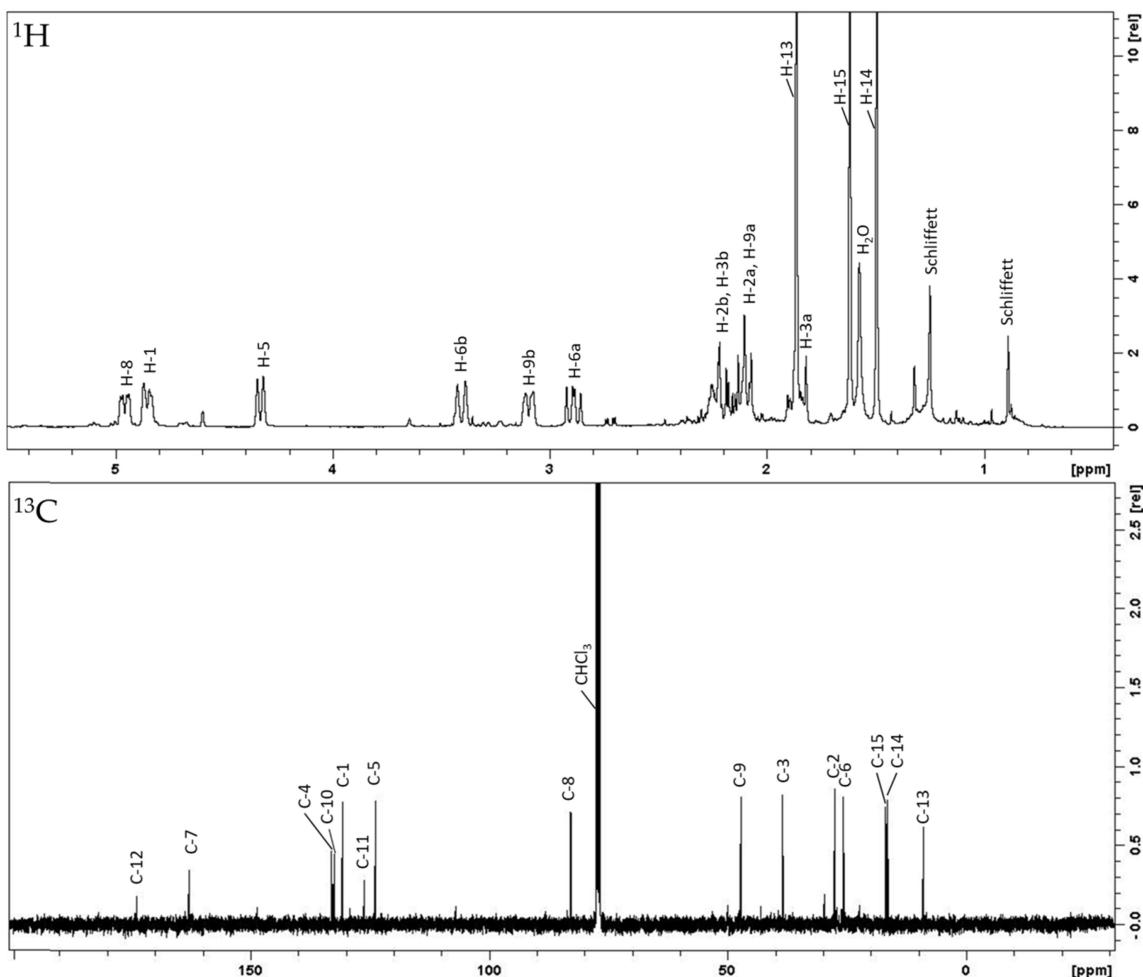
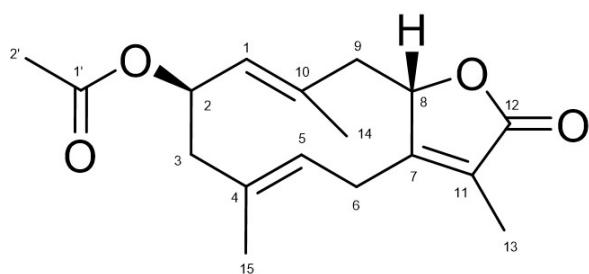


Abbildung 56. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 1 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃).

Bei dieser Verbindung handelt es sich um Glechomanolid, was durch Abgleich der NMR- und HRESIMS-Daten mit Literaturwerten bestätigt werden konnte. Glechomanolid wurde erstmals von Stahl und Datta 1972 aus *Glechoma hederacea* isoliert [104]. Seit dem wurde die Verbindung auch in anderen Pflanzen wie *Curcuma comosa* [105] oder *Vepris punctata* [106] nachgewiesen. In der Gattung *Commiphora* war ihr Vorkommen bisher nicht dokumentiert.

3.3.3.2. Substanz 2: 2β -Acetyloxyglechomanolid



Auswaage: 10,9 mg
Aussehen: weiße Kristalle
[α]_D²⁵: +26 (c 2,31 g/l)
 λ_{\max} ($\log \varepsilon$): 216,0 nm (4,15), 285,0 nm (2,91);
 c 53 μ mol/l, **Abbildung 152**
CD: c 99 μ mol/l, **Abbildung 153**
HRESIMS: m/z 291,1595 [M+H]⁺
 (berechnet: C₁₇H₂₂O₄; 291,1591)
Reinheit: 95,4% (**Abbildung 154**)

Tabelle 40. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 2 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,05 (1H, d, 9,7)	128,7
2	5,53 (1H, ddd, 5,0, 10,5, 10,5)	71,4
3	2,03 (1H, dd, 12,0, 12,0) 2,57 (1H, dd, 5,0, 11,4)	44,9
4		133,9
5	4,99 (1H, dd, 4,1, 11,1)	125,8
6	3,16 (1H, dd, 2,7, 17,9) 3,35 (1H, dd, 10,3, 18,2)	27,0
7		161,7
8	5,11 (1H, dd, 7,4, 7,4)	83,1
9	2,18 (1H, dd, 7,7, 14,1) 3,06 (1H, dd, 6,4, 14,1)	42,6
10		135,3
11		126,1
12		173,4
13	1,87 (3H, brs)	9,3
14	1,45 (3H, s)	19,8
15	1,64 (3H, brs)	17,9
1'		170,6
2'	2,06 (3H, s)	21,3

Substanz 2 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) aus den Fraktionen F7C7F1P1 und F7C7F2P6 isoliert. Alle hier abgebildeten spektroskopischen und chromatographischen Daten beziehen sich auf Fraktion F7C7F1P1. NMR-Daten sind in **Tabelle 40** und **Abbildung 57** zusammengefasst.

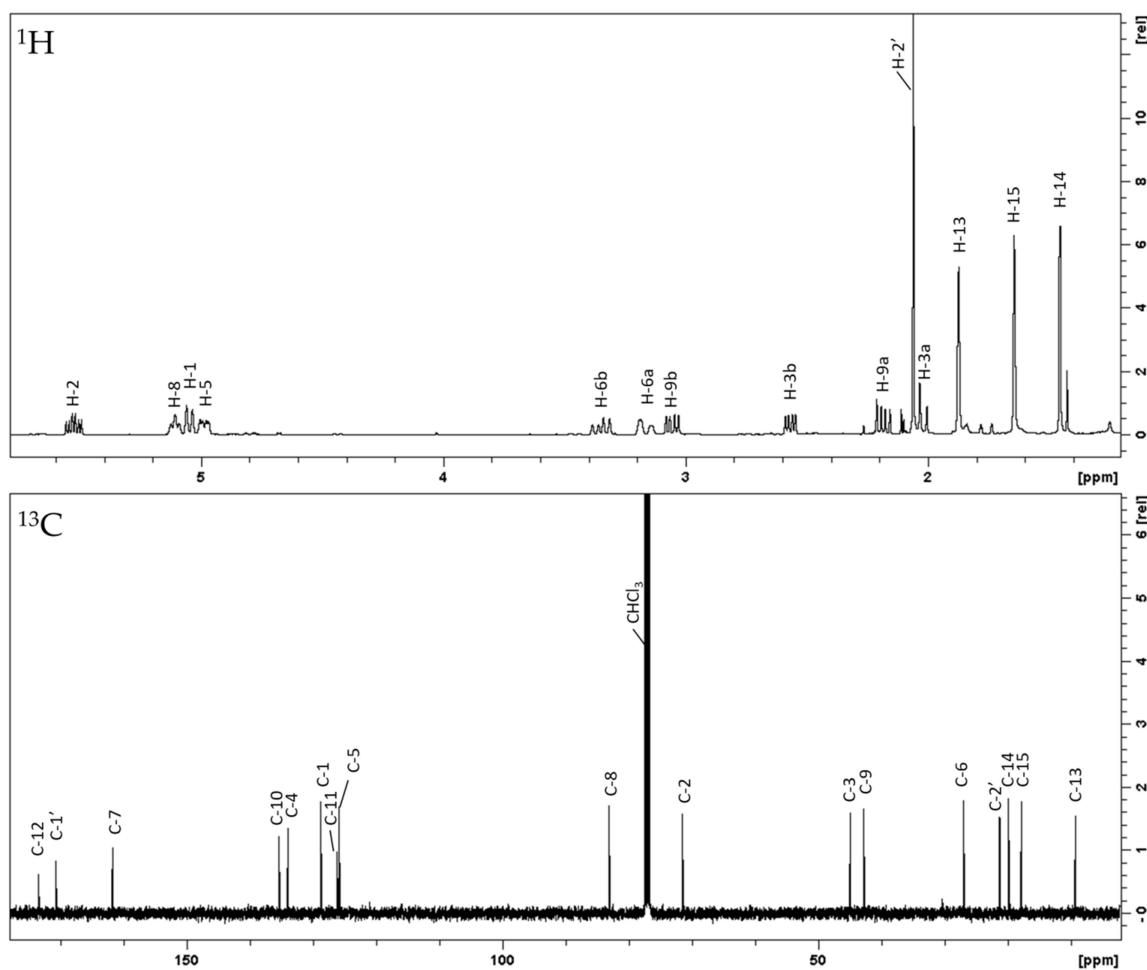
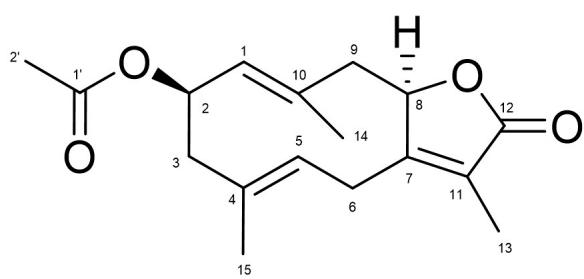


Abbildung 57. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 2 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Verbindung 2 stimmt in seinen NMR- und HRESIMS-Daten mit einer Substanz überein, die 2020 von Greve et al. für *C. myrrha* beschrieben wurde [29]. Das sogenannte 2β -Acetoxyglechomanolid wurde dabei in einer Mischung mit seinem *8-epi*-Isomer (siehe 3) isoliert und aufgeklärt. In der vorliegenden Arbeit ist es zum ersten Mal gelungen diese Verbindung als Reinstoff zu gewinnen und alle Charakterisierung mittels Polarimetrie, UV- und CD-Spektroskopie durchzuführen.

3.3.3.3. Substanz 3: 8-*epi*-2β-Acetoxyglechomanolid



Auswaage: 11,3 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: -76 (c 2,27 g/l)

λ_{max} (log ε): 214,0 nm (4,20);
c 52 μmol/l, **Abbildung 152**

CD: c 98 μmol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: *m/z* 291,1598 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₇H₂₂O₄; 291,1591)

Reinheit: 92,0% (**Abbildung 154**)

Tabelle 41. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 3 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ _H	δ _C
1	4,95 (1H, d, 9,8)	129,8
2	5,54 (1H, ddd, 5,0, 10,4, 10,4)	70,8
3	2,02 (1H, dd, 11,1, 11,1) 2,55 (1H, dd, 5,0, 11,3)	44,2
4		132,4
5	4,60 (1H, brd, 11,1)	127,0
6	2,89 (1H, dd, 11,1, 15,0) 3,42 (1H, brd, 15,1)	27,6
7		161,9
8	4,93 ¹ (1H, m)	82,6
9	2,08 (1H, dd, 12,6, 12,6) 3,09 (1H, dd, 4,3, 12,6)	46,5
10		134,4
11		126,5
12		173,5
13	1,87 (3H, brs)	9,0
14	1,63 (3H, s)	17,4
15	1,70 (3H, brs)	17,8
1'		170,6
2''	2,05 (3H, s)	21,2

¹ Überlagerte Signale

Substanz 3 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C7F1P3 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 41** und **Abbildung 58** zusammengefasst.

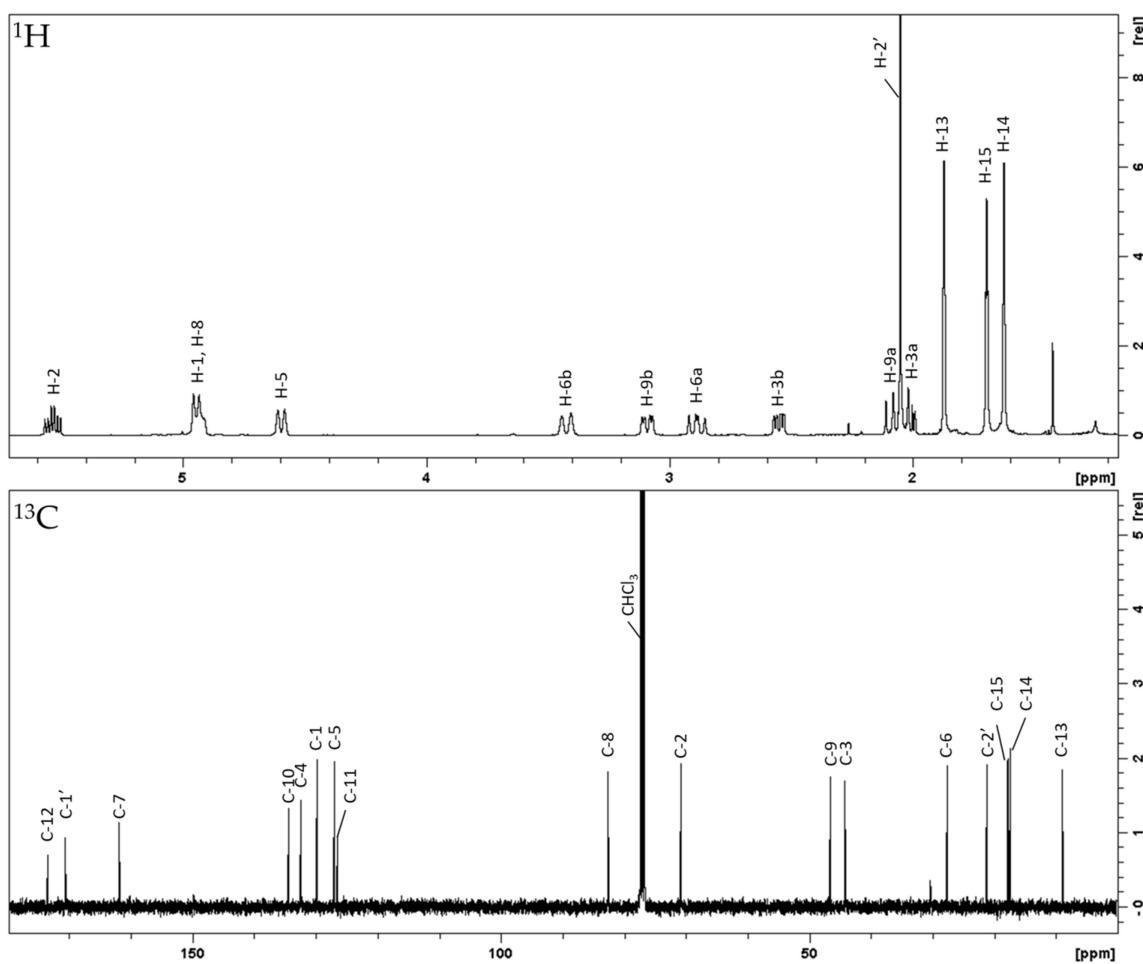
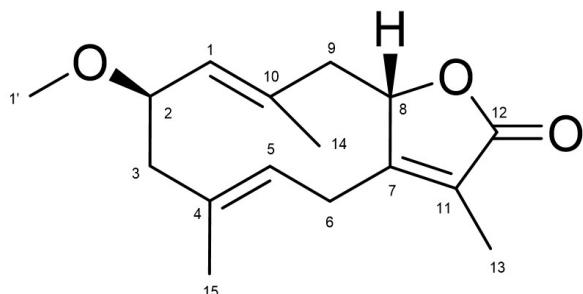


Abbildung 58. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 3 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Verbindung 3 ist ein Stereoisomer von 2 und wurde in einer Mischung mit diesem 2020 von Greve et al. aus *C. myrrha* isoliert [29]. Die Verbindung wird als 8-*epi*-2 β -Acetoxyglechomanolid bezeichnet und ist das 8-*epi*-Isomer von 2. Die Substanz wurde in dieser Arbeit zum ersten Mal als Reinstoff gewonnen und mittels Polarimetrie, UV- und CD-Spektroskopie charakterisiert.

3.3.3.4. Substanz 4: 2β -Methoxyglechomanolid



Auswaage: 2,9 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +53 (c 1,60 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \epsilon)$: 218,1 nm (3,98);
c 41 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 101 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 263,1646 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₆H₂₂O₃; 263,1642)

Reinheit: 90,9% (**Abbildung 154**)

Tabelle 42. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 4 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	4,99 (1H, d, 10,8)	132,1
2	4,13 (1H, ddd, 5,0, 10,1, 10,5)	78,2
3	1,96 (1H, dd, 11,3, 11,3) 2,55 (1H, dd, 5,0, 11,3)	45,9
4		134,8
5	4,96 (1H, dd, 4,4, 10,5)	124,9
6	3,14 (1H, dd, 3,3, 18,2) 3,34 (1H, dd, 10,5, 17,9)	27,0
7		162,0
8	5,12 (1H, dd, 6,6, 6,6)	83,3
9	2,23 (1H, dd, 6,6, 14,5) 3,06 (1H, dd, 6,6, 14,5)	42,9
10		135,4
11		125,9
12		173,5
13	1,88 (3H, brs)	9,3
14	1,44 (3H, s)	19,6
15	1,61 (3H, s)	18,0
1'	3,35 (3H, s)	57,4

Substanz 4 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) aus den Fraktionen F7C7F3P1, F7C7F2P3 und F6C7F4P2 isoliert. Alle hier abgebildeten spektroskopischen und chromatographischen Daten beziehen sich auf Fraktion F7C7F3P1. NMR-Daten sind in **Tabelle 42** und **Abbildung 59** zusammengefasst.

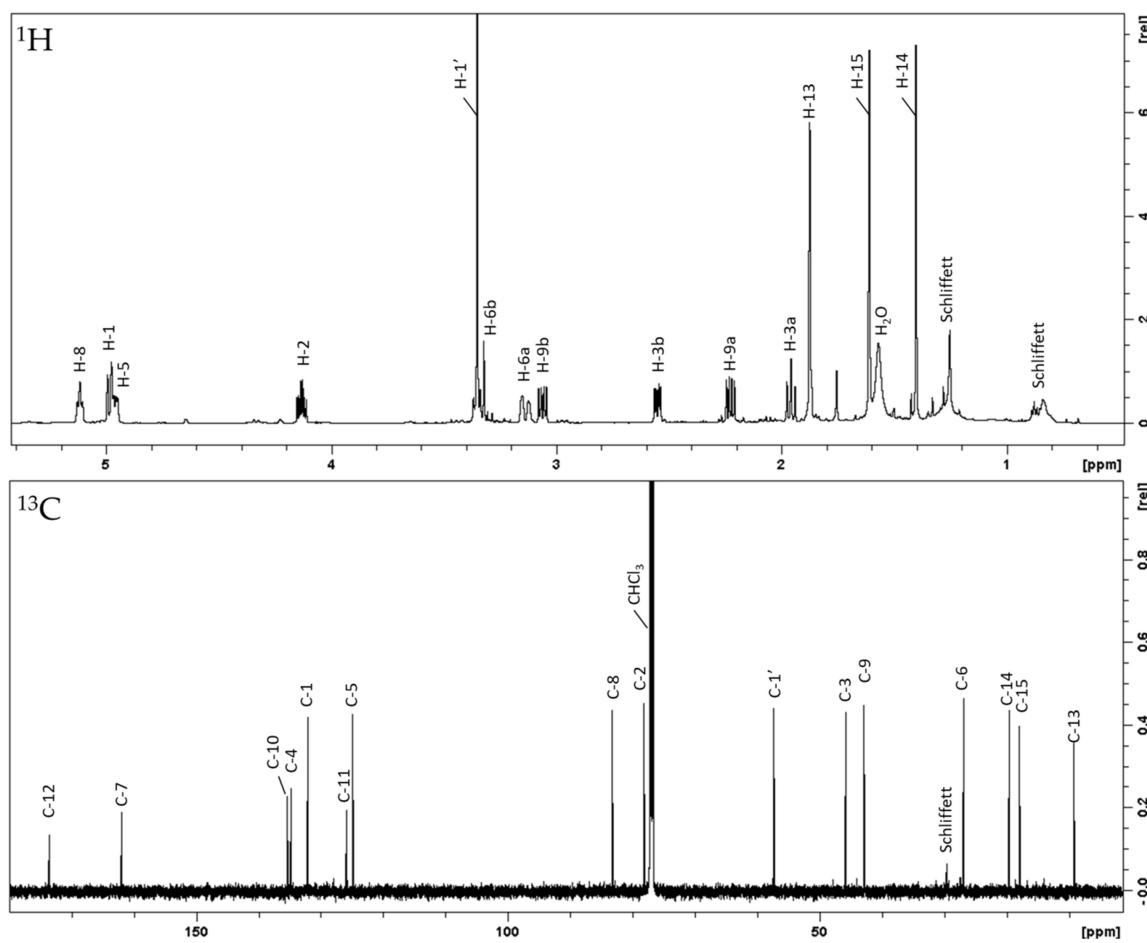


Abbildung 59. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 4 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Die durch HRESIMS ermittelte Summenformel deckt sich mit den ^1H - und ^{13}C -Daten, die ebenfalls 22 Protonen und 16 Kohlenstoffe zeigen. Durch HSQC konnten folgende Funktionalitäten ermittelt werden: vier tertiäre Methylgruppen (δ_{H} 1,88 (brs, H₃-13), 1,44 (s, H₃-14), 1,61 (s, H₃-15), 3,35 (s, H₃-1'); δ_{C} 9,3, 19,6, 18,0 bzw. 57,4), drei sp^3 hybridisierte Methylenegruppen (δ_{H} 1,96/2,55 (dd/dd, H-3), 3,14/3,34 (dd/dd, H-6), 2,23/3,06 (dd/dd, H-9); δ_{C} 45,9, 27,0 bzw. 42,9), zwei sp^3 hybridisierte Methingruppen (δ_{H} 4,13 (ddd, H-2), 5,12 (dd, H-8); δ_{C} 78,2 bzw. 83,3), sechs sp^2 hybridisierte Positionen (δ_{H} 4,99 (d, H-1), δ_{C} 132,1; δ_{C} 134,8 (C-4); δ_{H} 4,96 (dd, H-5), δ_{C} 124,9; δ_{C} 135,4 (C-10), 125,9 (C-11), 162,0 (C-7)) und ein Carbonyl-Kohlenstoff (δ_{C} 173,5 (C-12)).

Durch typische chemische Verschiebungen und HMBC- sowie COSY-Kopplungen kann die Anwesenheit eines 2-Methyl-2-butenolids (siehe 3.3.2.1) nachgewiesen werden. Das übrige Molekül weist große Ähnlichkeiten zu den Verbindungen **1**, **2** und mit Einschränkungen auch **3** auf und besitzt wie diese ebenfalls zwei Doppelbindungen, zwei ABX-Spinsysteme (Pos. 5/6 und 8/9) sowie ein komplexeres Spinsystem zwischen H-1, -2 und -3. Die Vermutung, dass es sich auch hier um ein Germacrandervat handelt, kann durch HMBC- und COSY-Daten bestätigt werden (**Abbildung 60**).

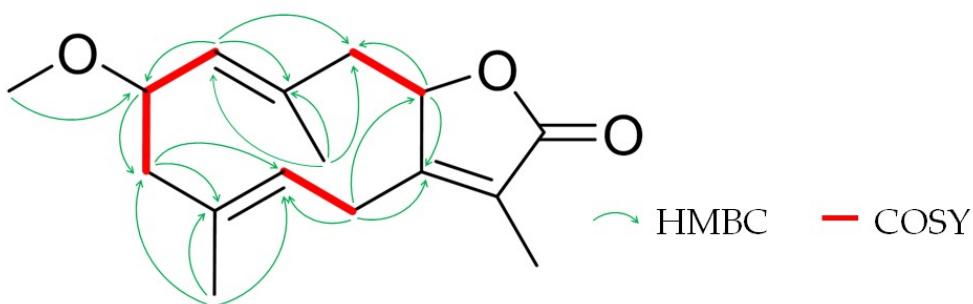


Abbildung 60. Ausschlaggebende HMBC- und COSY-Korrelationen für Verbindung 4 (Signale des 2-Methyl-2-butenolids nicht abgebildet).

Im Unterschied zu **2** fehlen allerdings hier die Signale für die Acetyl-Gruppe, während ein zusätzliche Methylgruppe zur Resonanz kommt. Diese Signale sind typisch für eine Methoxy-Gruppe, deren Anwesenheit auch durch die durch HRESIMS ermittelte Summenformel bestätigt werden konnte. Ein HMBC-Signal zwischen H₃-1' und C-2 zeigt außerdem eindeutig, dass sich der Substituent an Pos. 2 befindet.

Die Konfigurationen von Sesquiterpenen vom Germacran-Typ alleine durch NMR-Daten zu bestimmen gestaltet sich allgemein schwierig. Grund dafür ist vor allem der Cyclodecan-Ring, in dem aufgrund seiner Flexibilität, Aussagen über Winkel und Abstände nicht trivial sind. Mit den Verbindungen **2** und **3** stehen hier aber Daten zu strukturähnlichen Substanzen zur Verfügung, deren Stereochemie eindeutig bestimmt werden konnte und sich nur in Pos. 8 unterscheidet. Ein Vergleich dieser Verbindungen macht deutlich, dass die bei **4** gemessenen chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten hohe Ähnlichkeit zu **2** zeigen, während einige Werte der Substanz **3** deutlich abweichen. Unterschiede zeigen sich hier vor allem an den Pos. 5-9 sowie 14. Im Vergleich mit **2** fällt lediglich die Verschiebung von H-2 auf, die um 1,40 ppm erhöht ist. Dieser Effekt ist aber vermutlich der abweichenden Substitution an dieser Position geschuldet und kann auch bei der zweiten isolierten Methoxy-Verbindung (**5**) beobachtet werden. Neben den NMR-Daten sprechen vor allem auch die CD-Spektren der Substanzen **2-5** dafür, dass jeweils **2** und **4** sowie **3** und **5** die gleiche Konfiguration besitzen (**Abbildung 61**).

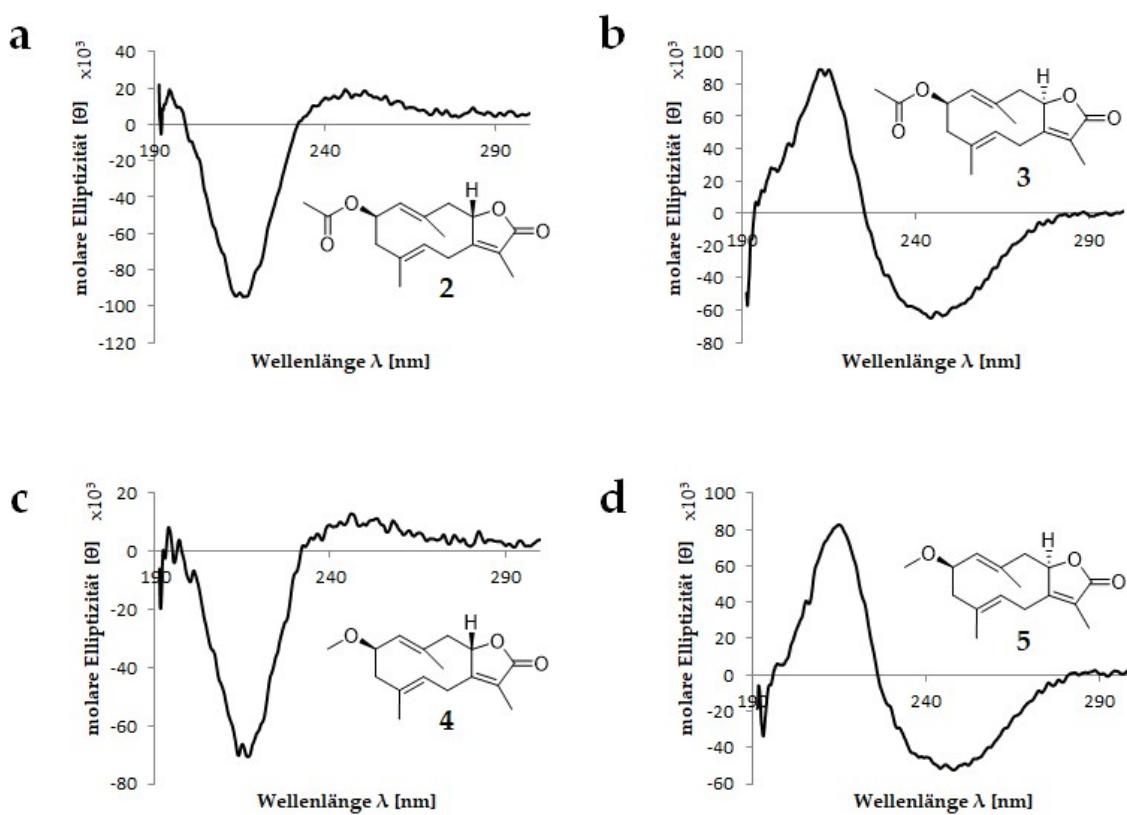
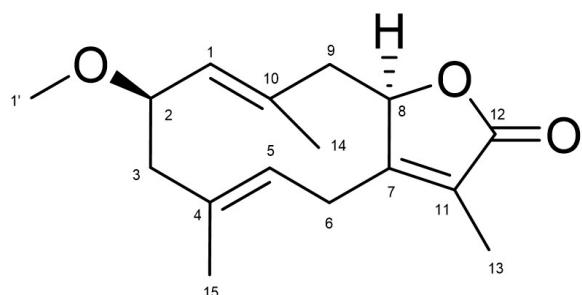


Abbildung 61. CD-Spektren und Strukturen der Verbindungen 2-5 (a-d).

Somit wird für **4** eine (*rel*-*2R,8S*)-Konfiguration postuliert. Die Verbindung ist bisher noch nicht beschrieben und es wird in Analogie zu **2** der Name 2*β*-Methoxyglechomanolid vorgeschlagen.

3.3.3.5. Substanz 5: 8-*epi*-2β-Methoxyglechomanolid



Auswaage: 6,5 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: -69 (c 2,23 g/l)

λ_{max} (log ε): 215,1 nm (4,17);
c 57 μmol/l, **Abbildung 152**

CD: c 106 μmol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: *m/z* 263,1646 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₆H₂₂O₃; 263,1642)

Reinheit: 96,9% (**Abbildung 154**)

Tabelle 43. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 5 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ _H	δ _C
1	4,89 (1H, d, 10,0)	133,3
2	4,16 (1H, ddd, 5,0, 10,1, 10,1)	77,2
3	1,94 (1H, dd, 11,0, 11,0) 2,54 (1H, dd, 5,0, 10,1)	45,3
4		133,3
5	4,56 (1H, brd, 11,2)	126,1
6	2,88 (1H, dd, 11,2, 14,9) 3,42 (1H, brd, 14,7)	27,7
7		162,2
8	4,93 (1H, dd, 4,3, 11,7)	82,6
9	2,12 (1H, dd, 11,7, 12,4) 3,09 (1H, dd, 4,3, 12,8)	46,8
10		134,5
11		126,3
12		173,6
13	1,87 (3H, brs)	8,9
14	1,57 (3H, s)	17,4
15	1,67 (3H, brs)	18,0
1'	3,34 (3H, s)	57,4

Substanz 5 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) aus den Fraktionen F7C7F2P5 und F6C7F3P3 isoliert. Alle hier abgebildeten spektroskopischen und chromatographischen Daten beziehen sich auf Fraktion F7C7F2P5. NMR-Daten sind in **Tabelle 43** und **Abbildung 62** zusammengefasst.

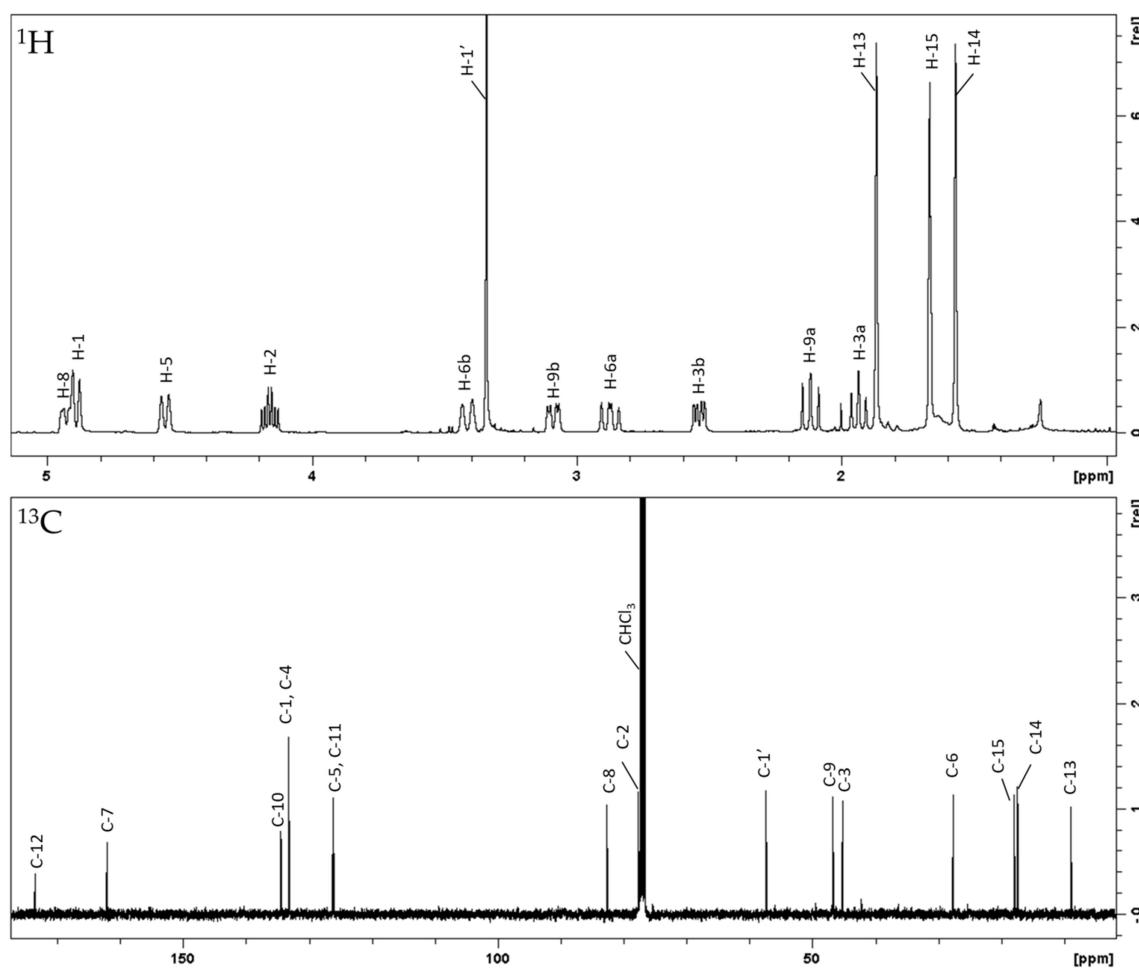


Abbildung 62. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 5 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Die durch HRESIMS ermittelte Summenformel deckt sich mit ^1H - und ^{13}C -Daten, die ebenfalls 22 Protonen und 16 Kohlenstoffe zeigen. Durch HSQC konnten folgende Funktionalitäten ermittelt werden: vier tertiäre Methylgruppen (δ_{H} 1,87 (brs, H₃-13), 1,57 (s, H₃-14), 1,67 (brs, H₃-15), 3,34 (s, H₃-1'); δ_{C} 8,9, 17,4, 18,0 bzw. 57,4), drei sp^3 hybridisierte Methylengruppen (δ_{H} 1,94/2,54 (dd/dd, H-3), 2,88/3,42 (dd/brd, H-6), 2,12/3,09 (dd/dd, H-9); δ_{C} 45,3, 27,7 bzw. 46,8), zwei sp^3 hybridisierte Methingruppen (δ_{H} 4,16 (ddd, H-2), 4,93 (dd, H-8); δ_{C} 77,2 bzw. 82,6), sechs sp^2 hybridisierte Positionen (δ_{H} 4,89 (d, H-1), δ_{C} 133,3; δ_{C} 133,3 (C-4); δ_{H} 4,56 (dd, H-5), δ_{C} 126,1; δ_{C} 134,5 (C-10); 126,3 (C-11); 162,2 (C-7)) und ein Carbonyl-Kohlenstoff (δ_{C} 173,6 (C-12)).

Durch Auswertung der HMBC- und COSY-Daten konnte 5 als Stereoisomer von 4 mit identischer Konstitution und Summenformel identifiziert werden. Auch die HMBC- und COSY-Daten der beiden Verbindungen stimmen weitestgehend überein (**Abbildung 63**).

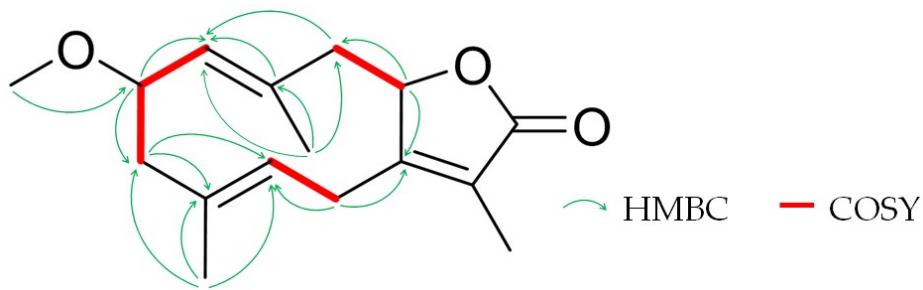
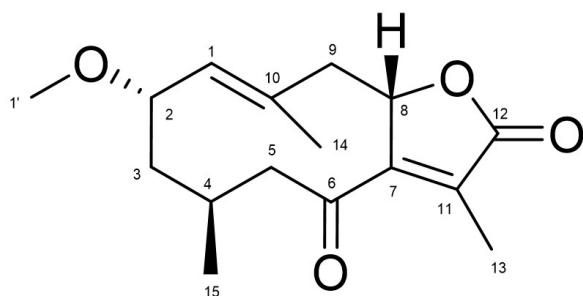


Abbildung 63. Ausschlaggebende HMBC- und COSY-Korrelationen für Verbindung 5 (Signale des 2-Methyl-2-butenolids nicht abgebildet).

Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten zeigen allerdings größere Ähnlichkeit zu **3** und auch das CD-Spektrum von **5** zeigt eher Parallelen zu **3** als zu **4** (**Abbildung 61**). Es kann daher davon ausgegangen werden, dass **5** dieselbe Konfiguration wie **3** besitzt und sich nur in der Methyoxy-Gruppe an Pos. 2 unterscheidet. Damit besitzt es eine Konfiguration. Diese Verbindung wird damit in dieser Arbeit zum ersten Mal beschrieben und es wird der Name *8-epi-2β-Methoxyglechomanolid* in Analogie zu den Substanzen **2-4** vorgeschlagen.

3.3.3.6. Substanz 6: 2α -Methoxy-6-oxogermacra-1(10),7(11)-dien-8,12-olid



Auswaage: 1,1 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +107 (c 1,12 g/l)

λ_{\max} (log ε): 230,0 nm (3,76);

c 67 μmol/l, **Abbildung 152**

CD: c 101 μmol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 279,1598 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₆H₂₂O₄; 279,1591)

Reinheit: 89,3% (**Abbildung 154**)

Tabelle 44. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 6 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ _H	δ _C
1	5,20 (1H, d, 7,7)	134,0
2	4,04 (1H, ddd, 2,7, 7,4, 7,4)	75,4
3	1,78 (1H, ddd, 2,9, 8,7, 14,7) 1,90 (1H, ddd, 4,3, 7,1, 14,3)	35,9
4	2,32 (1H, m)	25,3
5	2,51 (1H, dd, 6,3, 17,3) 2,82 ¹ (1H, m)	47,3
6		197,9
7		158,8
8	5,35 (1H, m)	81,1
9	2,10 (1H, dd, 4,9, 12,1) 2,82 (1H, dd, 12,1, 12,1)	45,8
10		133,7
11		129,8
12		172,8
13	2,01 (3H, brs)	10,3
14	1,74 (3H, s)	17,4
15	1,18 (3H, d, 7,2)	22,8
1'	3,25 (3H, s)	56,0

¹ Überlagerte Signale

Substanz 6 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C7F2P4 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 44** und **Abbildung 64** zusammengefasst.

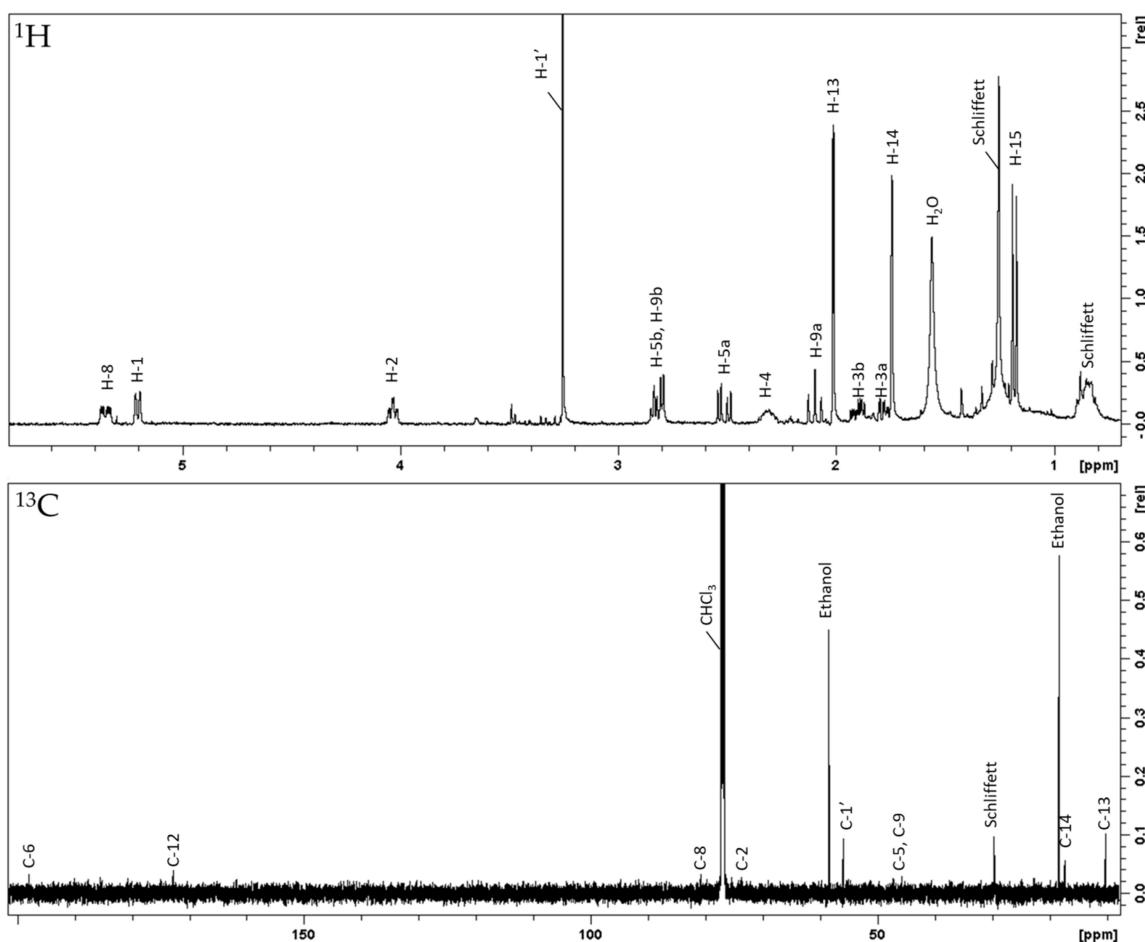
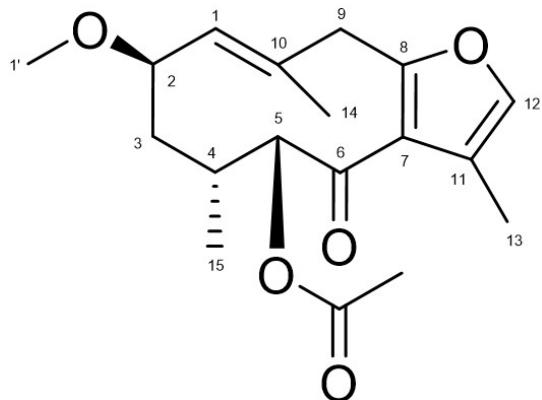


Abbildung 64. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 6 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Durch Abgleich von NMR- und HRESIMS-Daten konnte 6 als 2α -Methoxy-6-oxogermaca-1(10),7(11)-dien-8,12-olid identifiziert werden. Diese Verbindung wurde von Shen et al. 2008 erstmals für *C. opobalsamum* beschrieben [107] und 2011 auch in *C. myrrha* nachgewiesen [28].

Da sich bei der Messung der ^{13}C -Daten noch Reste von Ethanol in der Probe befanden, sind im zugehörigen Spektrum nicht alle Signale eindeutig erkennbar. Eine Zuordnung konnte aber durch Kreuzsignale in den zweidimensionalen Spektren vorgenommen werden.

3.3.3.7. Substanz 7: Methoxy-5-acetoxyfuranogermacr-1(10)-en-6-on



Auswaage: 9,2 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: -21 (c 2,22 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \epsilon)$: 207,0 nm (4,19), 284,1 nm (3,27);
c 46 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 99 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 321,1699 [$\text{M}+\text{H}]^+$
(berechnet: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$; 321,1697)

Reinheit: 98,5% (**Abbildung 154**)

Tabelle 45. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 7 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,23 (1H, d, 9,4)	132,8
2	4,13 (1H, m)	73,8
3	1,90 ¹ (2H, m)	37,8
4	2,38 (1H, m)	30,6
5	5,52 (1H, d, 8,4)	78,9
6		195,8
7		121,2
8		154,3
9	3,31 (1H, d, 16,8) 3,64 (1H, d, 16,8)	38,1
10		135,2
11		123,2
12	7,03 (1H, s)	138,0
13	1,92 (3H, s)	8,7
14	1,95 (3H, s)	18,8
15	1,08 (3H, d, 7,1)	17,3
1'	3,25 (3H, s)	55,8
1''		170,3
2''	2,04 (3H, s)	20,7

¹ Überlagerte Signale

Substanz 7 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F5C5P4 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 45** und **Abbildung 65** zusammengefasst.

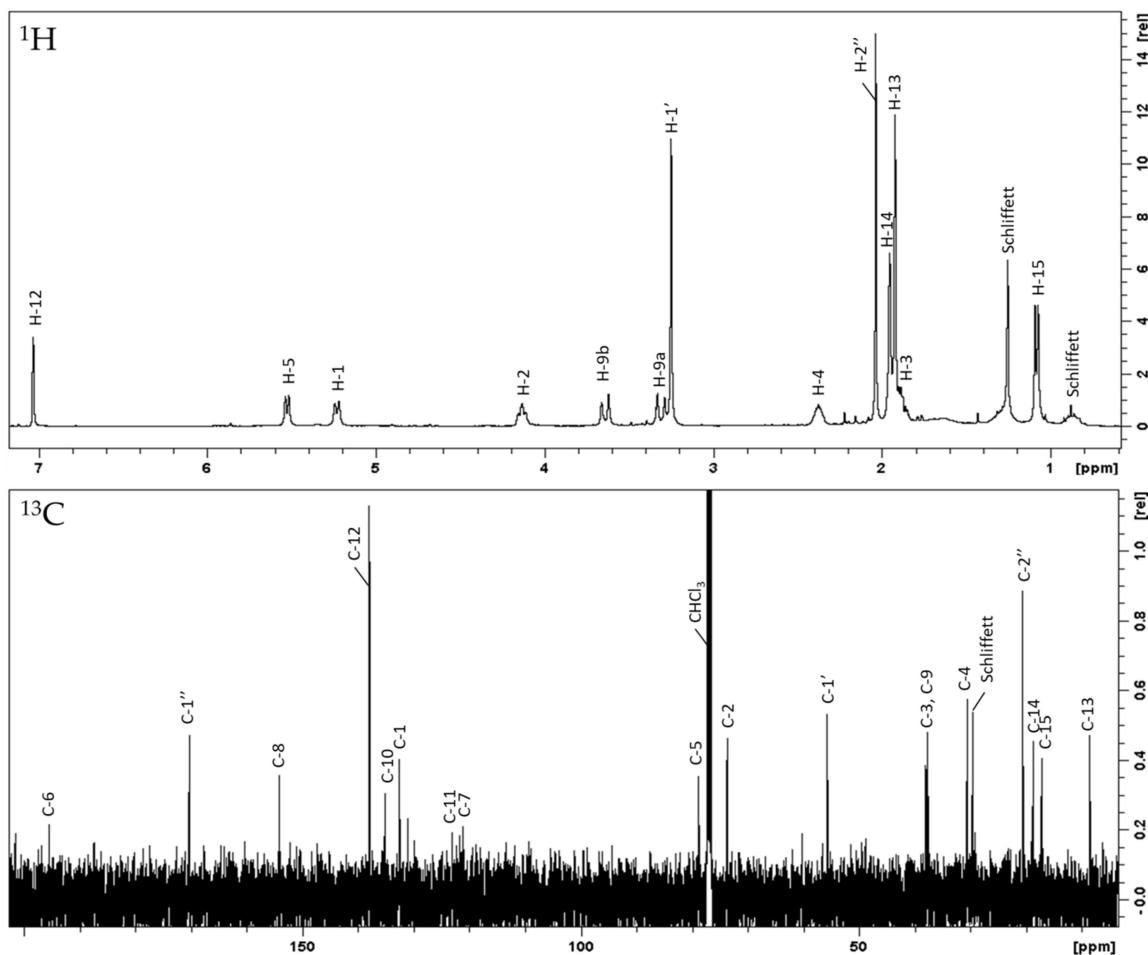


Abbildung 65. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 7 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Durch Vergleich der NMR-Spektren mit Literaturdaten [108,109] konnte 7 als eine Verbindung identifiziert werden, die als 2-Methoxy-5-acetoxyfuranogermacr-1(10)-en-6-on bezeichnet wird. Sie wurde erstmals 1980 von Brieskorn und Noble aus *C. myrrha* isoliert [108]. Obwohl die Verbindung drei Stereozentren und eine Doppelbindung besitzt, wurde Konfiguration der Substanz in dieser Quelle außer Acht gelassen.

Mit diesem Thema befassten sich erst 2007 Shen et al. wieder, die die Verbindung ebenfalls isolierten und eine (*rel*-2*R*,4*R*-*Z*)-Konfiguration angaben, die Stereochemie an Pos. 5 allerdings offen ließen [110]. Zhao et al. bestimmten hingegen eine (*rel*-2*R*,4*R*,5*S*-*E*)-Konfiguration für dieselbe Substanz [111].

Durch die große Flexibilität des Kohlenstoffgerüsts der Verbindung gestaltet sich die Bestimmung der exakten Stereochemie schwierig. Allerdings kann durch NOESY-Signale von H-1 zu -9a, -9b und H-2 zu H-14 eine (*E*)-Konfiguration der Doppelbindung angenommen werden (Abbildung 66). Starke NOESY-Kopplungen zwischen H-2, -5 und der Methylgruppe H-14 sprechen außerdem dafür, dass Zhao et al. mit seiner Bestimmung richtig lag und an Pos. 5 eine (*S*)-Konfiguration vorliegt.

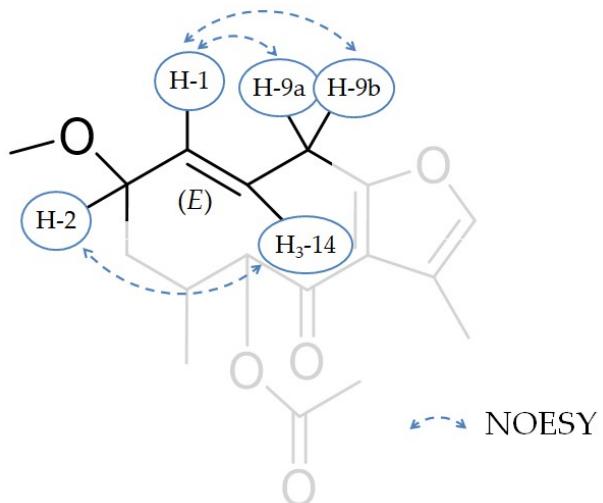
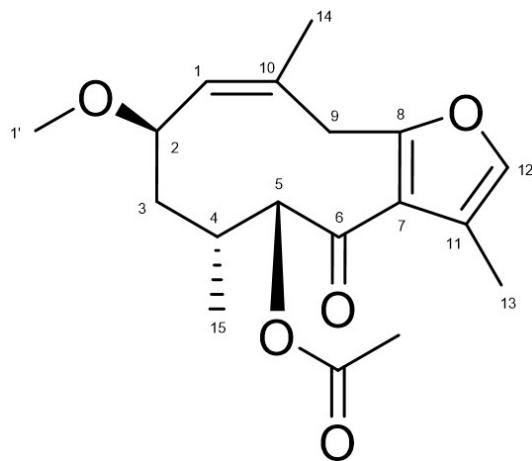


Abbildung 66. Ausschlaggebende NOESY-Signale zur Bestimmung der Konfiguration der Doppelbindung bei Verbindung 7.

Von 7 wurde außerdem ein Stereoisomer isoliert (8), dass sich in der Konfiguration der Doppelbindung unterscheidet (**Abbildung 68**).

3.3.3.8. Substanz 8: *rel*-2*R*-Methyl-5*S*-acetoxy-4*R*-furanogermacr-1(10)Z-en-6-on



Auswaage: 1,8 mg

Aussehen: farbloses Öl

[α]_D²⁵: +56 (c 1,80 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): 275,0 nm (3,36);
c 94 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 99 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 321,1702 [$\text{M}+\text{H}$]⁺
(berechnet: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$; 321,1697)

Reinheit: 92,2% (**Abbildung 154**)

Tabelle 46. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 8 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,19 (1H, d, 8,8)	129,6
2	4,35 (1H, ddd, 4,0, 8,4, 12,0)	76,4
3	1,29 ¹ (1H, m) 1,94 (1H, ddd, 4,7, 12,9, 12,9)	39,2
4	2,15 ¹ (1H, m)	31,5
5	5,86 (1H, brs)	76,2
6		191,5
7		119,6
8		157,0
9	3,37 (1H, d, 14,9) 4,06 (1H, d, 14,9)	34,3
10		134,9
11		123,0
12	7,12 (1H, s)	139,0
13	2,16 (3H, s)	10,4
14	1,86 (3H, s)	23,8
15	0,91 (3H, d, 7,2)	14,1
1'	3,34 (3H, s)	56,8
1''		171,1
2''	2,22 (3H, s)	20,7

¹ Überlagerte Signale

Substanz 8 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F3P6 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 46** und **Abbildung 67** zusammengefasst.

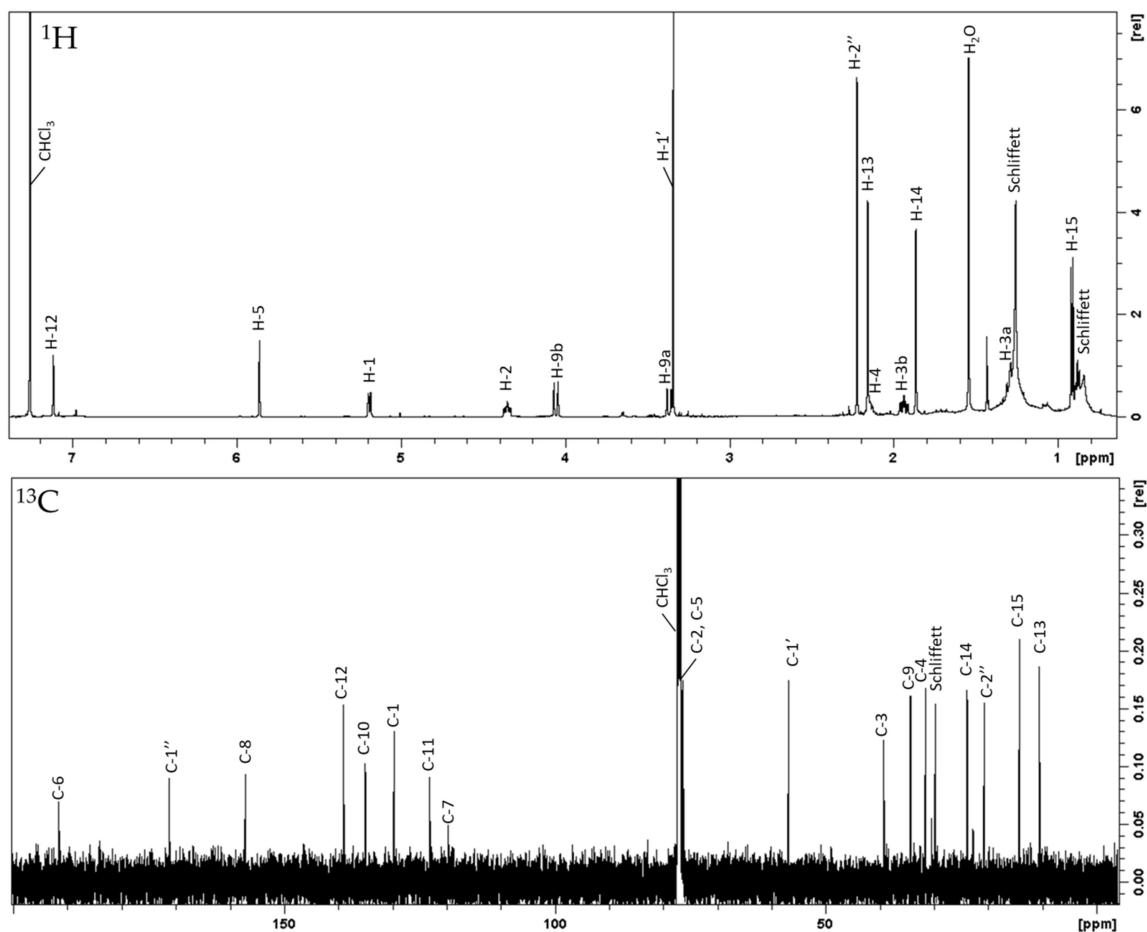


Abbildung 67. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 8 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Verbindung 8 besitzt dieselbe Konstitution wie 7, unterscheidet sich aber sowohl in den polarimetrischen Daten, als auch den Kernresonanz- und CD-Spektren. Es handelt sich bei dieser Substanz um ein Stereoisomer von 7, dass in der Orientierung der Doppelbindung variiert. Während für 7 eine (*E*)-Konfiguration bestimmt werden konnte, weisen hier NOESY-Korrelationen zwischen H-1 und H₃-14 sowie H-2 und -9a bzw. -9b auf eine (*Z*)-Stellung hin (Abbildung 68). Dies konnte auch durch Vergleich mit Literaturdaten von Zhu et al. [112] bestätigt werden. Ein weiteres Indiz für die abweichende Orientierung der Doppelbindung liefert die chemische Verschiebung des C-14 (23,8 ppm). Es ist bekannt, dass Methylgruppen an einer (*E*)-konfigurierten Doppelbindung eher Werte unter 20 ppm aufweisen, während bei einer (*Z*)-Konfiguration Werte über 20 ppm zu erwarten sind [113]. Und tatsächlich fällt im Vergleich mit anderen δ_{C} von C-14 bei den Verbindungen 1-7 auf, dass dieser Wert hier aus der Reihe fällt, weshalb hier von einer (*rel*-2*R*,4*R*,5*S*-*E*)-Konfiguration ausgegangen werden kann.

Die Verbindung wurde 2001 erstmals aus *C. myrrha* isoliert und trägt den Namen *rel*-2*R*-Methyl-5*S*-acetoxy-4*R*-furanogermacr-1(10)*Z*-en-6-on [112].

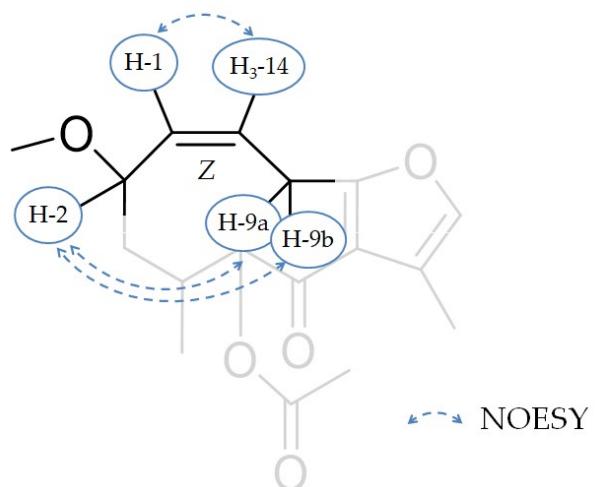
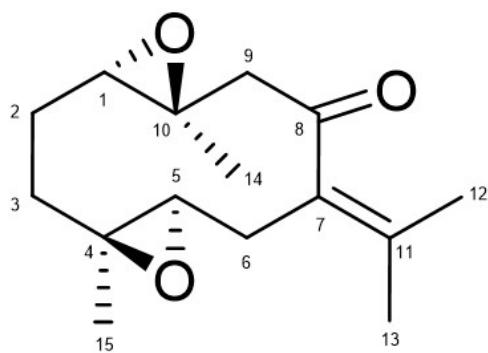


Abbildung 68. Ausschlaggebende NOESY-Signale zur Bestimmung der Konfiguration der Doppelbindung bei Verbindung 8.

3.3.3.9. Substanz 9: (1S,4S,5S,10S)-Germacron-1(10),4-diepoxid



Auswaage: 3,6 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: +3 (c 1,80 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): 247,9 nm (3,50);
c 167 μ mol/l, **Abbildung 152**

CD: c 108 μ mol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 251,1647 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₂₂O₃; 251,1642)

Reinheit: 88,2% (**Abbildung 154**)

Tabelle 47. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 9 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	2,91 (1H, brd, 10,5)	61,4
2	1,46 (1H, ddd, 5,8, 11,6, 14,0) 2,06 (1H, brdd, 5,8, 14,6)	22,8
3	1,28 ¹ (1H, ddd, 6,1, 13,2) 2,21 (1H, ddd, 2,5, 5,8, 13,7)	35,7
4		60,1
5	2,65 (1H, dd, 2,2, 11,0)	64,0
6	2,26 (1H dd, 11,0, 13,8) 2,86 (1H, brd, 13,8)	29,3
7		134,3
8		207,2
9	2,64 (1H, d, 11,0) 3,00 (1H, d, 11,0)	54,6
10		58,4
11		137,8
12	1,86 (3H, s)	20,8
13	1,79 (3H, s)	22,9
14	1,44 (3H, s)	17,4
15	1,14 (3H, s)	15,6

¹ Überlagerte Signale

Substanz 9 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F3P1 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 47** und **Abbildung 69** zusammengefasst.

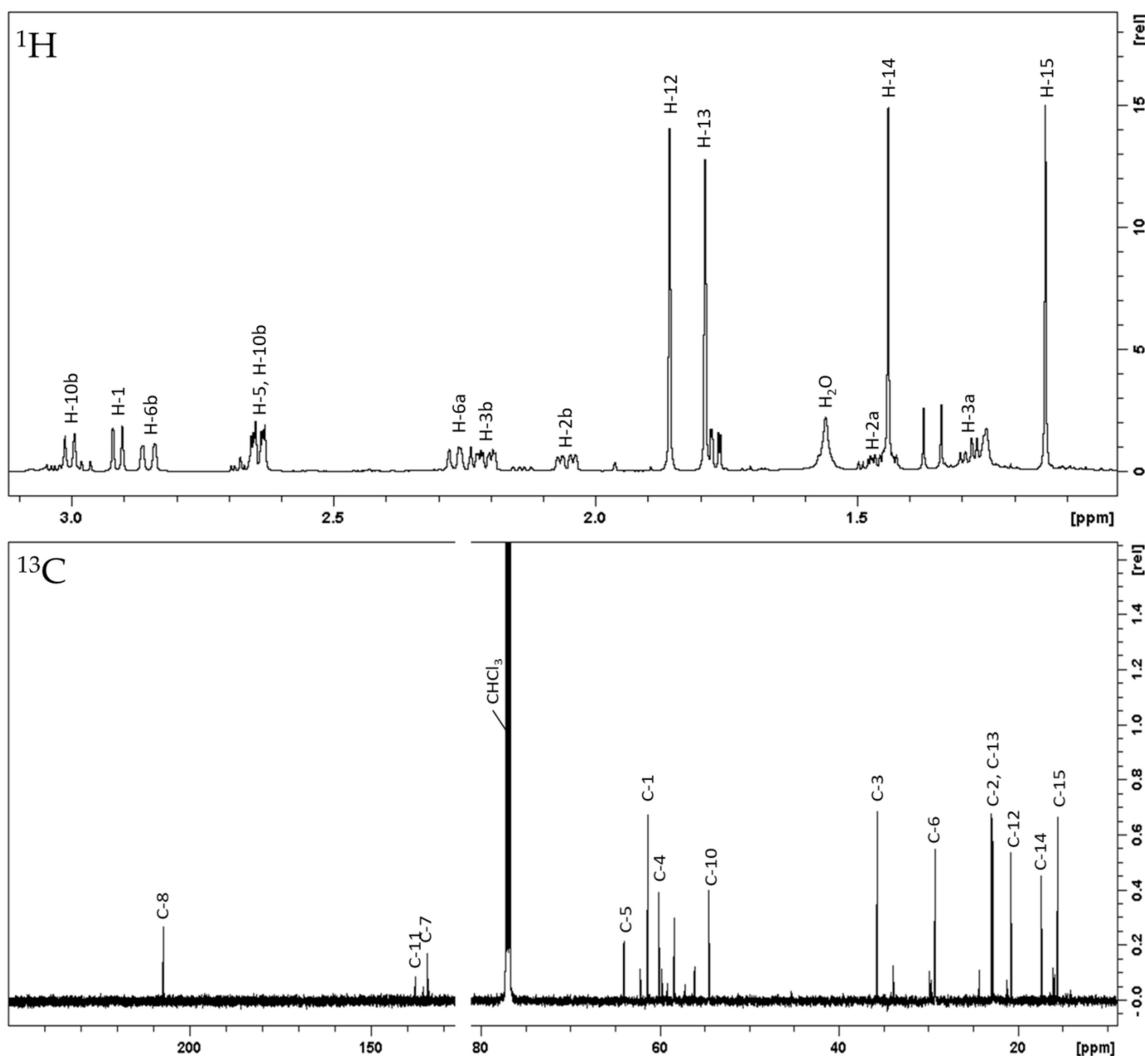
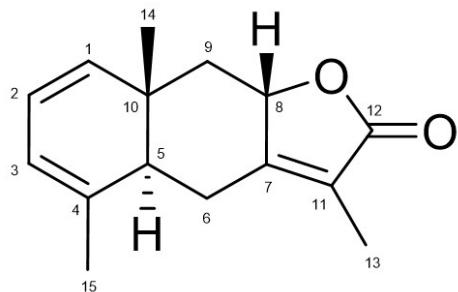


Abbildung 69. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 9 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Die NMR-Daten der Substanz stimmen mit denen der Verbindung (1*S*,4*S*,5*S*,10*S*)-Germacron-1(10),4-diepoxid überein. Diese Verbindung wurde erstmals 1986 von Ulubelen et al. erwähnt [114] aber erst 1989 ausführlich beschrieben, als es aus *Curcuma wenyujin* isoliert wurde [115]. Für die Gattung *Commiphora* war sie bisher unbekannt.

3.3.4. Eudesmane

3.3.4.1. Substanz 10: 5- α H,8- β H-Eudesma-1,3,7(11)-trien-8,12-olid



Auswaage: 7,6 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: +53 (c 2,17 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \varepsilon)$: 219,0 nm (3,96);

c 63 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 152

CD: c 105 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 231,1382 [$\text{M}+\text{H}]^+$
(berechnet: $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$; 231,1380)

Reinheit: 73,3% (Abbildung 154)

Tabelle 48. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 10 (400 bzw. 100 MHz, $\text{MeOH}-d_4$; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,54 (1H, d, 9,4)	136,0
2	5,79 (1H, dd, 5,1, 9,4)	122,8
3	5,74 ¹ (1H, m)	120,2
4		136,7
5	2,33 ¹ (1H, m)	46,7
6	2,45 (1H, dd, 13,8, 13,8) 3,08 (1H, dd, 3,9, 13,8)	23,7
7		163,8
8	4,99 (1H, dd, 6,3, 11,6)	78,8
9	1,31 (1H, dd, 11,6, 11,6) 2,32 (1H, dd, 6,3, 11,6)	44,3
10		35,8
11		119,7
12		175,7
13	1,81 (3H, s)	6,7
14	1,02 (3H, s)	13,7
15	1,89 (3H, s)	18,7

¹ Überlagerte Signale

Substanz 10 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F5C5P5 isoliert. NMR-Daten sind in Tabelle 48 und Abbildung 70 zusammengefasst.

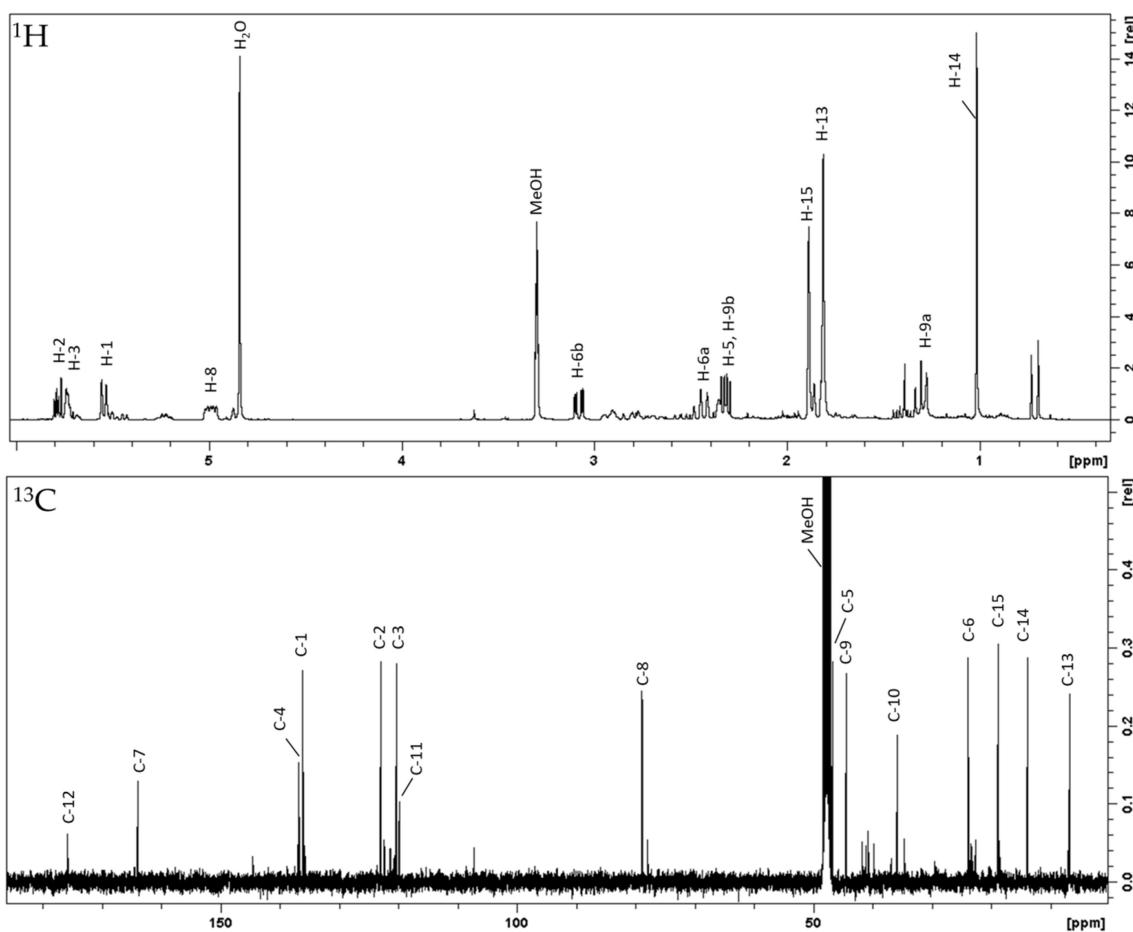
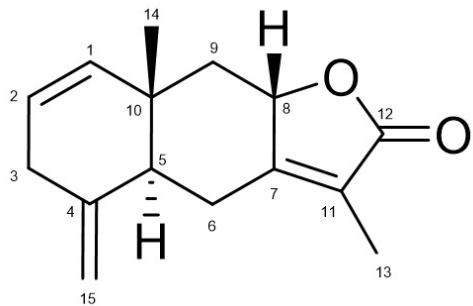


Abbildung 70. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **10** (400 bzw. 100 MHz, MeOH-d_4).

Bei dieser Verbindung handelt es sich um $5\text{-}\alpha\text{H},8\text{-}\beta\text{H}$ -Eudesma-1,3,7(11)-trien-8,12-olid, was durch Abgleich der NMR- und HRESIMS-Daten bestätigt werden konnte. Die Substanz ist bereits als Bestandteil von *C. myrrha* bekannt und wurde zuerst 2015 von Ayyad et al. beschrieben [31].

3.3.4.2. Substanz 11: Lindestrenolid



Auswaage: 6,6 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: +96 (c 2,29 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \varepsilon)$: 219,0 nm (4,04); 263,9 nm (3,07);
c 66 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 107 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 231,1382 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₁₈O₂; 231,1380)

Reinheit: 97,5% (**Abbildung 154**)

Tabelle 49. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 11 (400 bzw. 100 MHz, MeOH-*d*₄; δ in ppm, *J* in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,55 ¹ (1H, m)	136,5
2	5,55 ¹ (1H, m)	123,6
3	2,79 (1H, dd, 19,2) 2,92 (1H, dd, 19,0)	34,7
4		145,4
5	2,18 (1H, dd, 3,3, 13,1)	48,1
6	2,52 (1H, dd, 13,1, 14,0) 2,85 (1H, dd, 3,5, 14,0)	24,6
7		164,1
8	4,97 ¹ (1H, m)	78,8
9	1,20 (1H, dd, 11,9) 2,37 (1H, dd, 6,6, 11,9)	44,6
10		37,8
11		119,6
12		175,8
13	1,80 (3H, s)	6,7
14	0,98 (3H, s)	18,2
15	4,81 (1H, s) 4,99 (1H, s)	106,5

¹ Überlagerte Signale

Substanz 11 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F5C5P6 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 49** und **Abbildung 71** zusammengefasst.

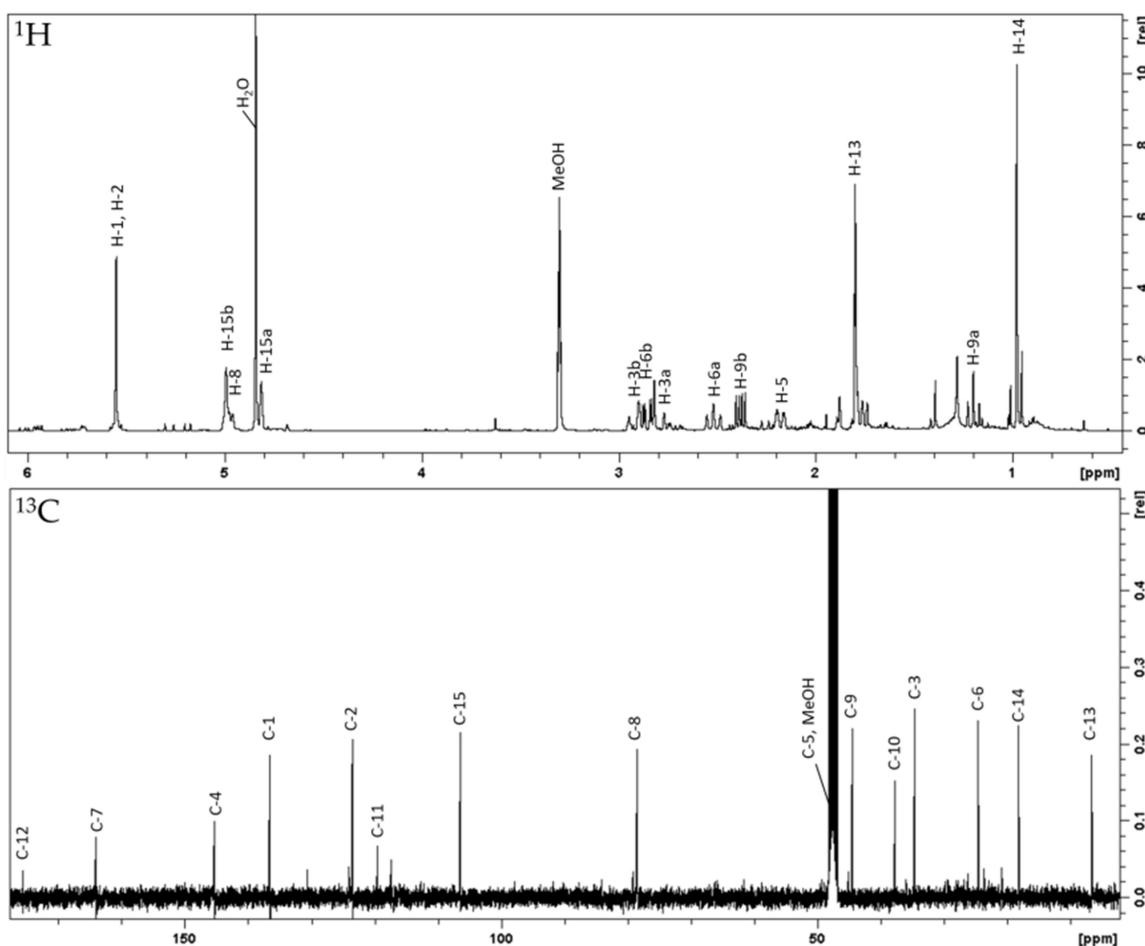
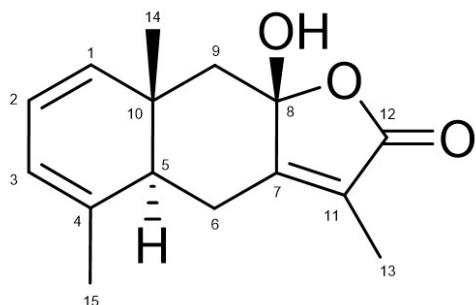


Abbildung 71. ¹H- (oben) und ¹³C-NMR-Spektrum (unten) von Substanz 11 (400 bzw. 100 MHz, MeOH-d_4).

Durch Vergleich der NMR-Daten konnte Substanz 11 als Lindestrenolid identifiziert werden, welches 1968 zuerst von Takeda et al. aus *Lindera strychnifolia* gewonnen wurde [116]. In der Gattung *Commiphora* ist diese Verbindung hiermit zum ersten Mal nachgewiesen worden.

3.3.4.3. Substanz 12: Isohydroxylindestrenolid



Auswaage: 7,4 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +57 (c 1,81 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \varepsilon)$: 215,1 nm (4,14); 263,9 nm (3,68);

c 49 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 105 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 247,1330 [M+H] $^+$
(berechnet: C₁₅H₁₈O₃; 247,1329)

Reinheit: 94,9% (**Abbildung 154**)

Tabelle 50. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 12 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,53 (1H, d, 8,7)	137,0
2	5,76 (1H, dd, 5,7, 8,7)	122,5
3	5,74 ¹ (1H, m)	120,7
4		136,2
5	2,32 (1H, m)	48,3
6	2,45 (1H, dd, 13,0, 13,0)	23,1
	2,87 (1H, dd, 3,4, 13,0)	
7		160,4
8		103,5
9	1,82 (1H, d, 13,8) 2,28 (1H, d, 13,8)	48,0
10		35,8
11		122,4
12		172,1
13	1,84 (3H, brs)	8,3
14	1,13 (3H, s)	15,3
15	1,89 (1H, s)	20,2

¹ Überlagerte Signale

Substanz 12 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C7F4P1 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 50** und **Abbildung 72** zusammengefasst.

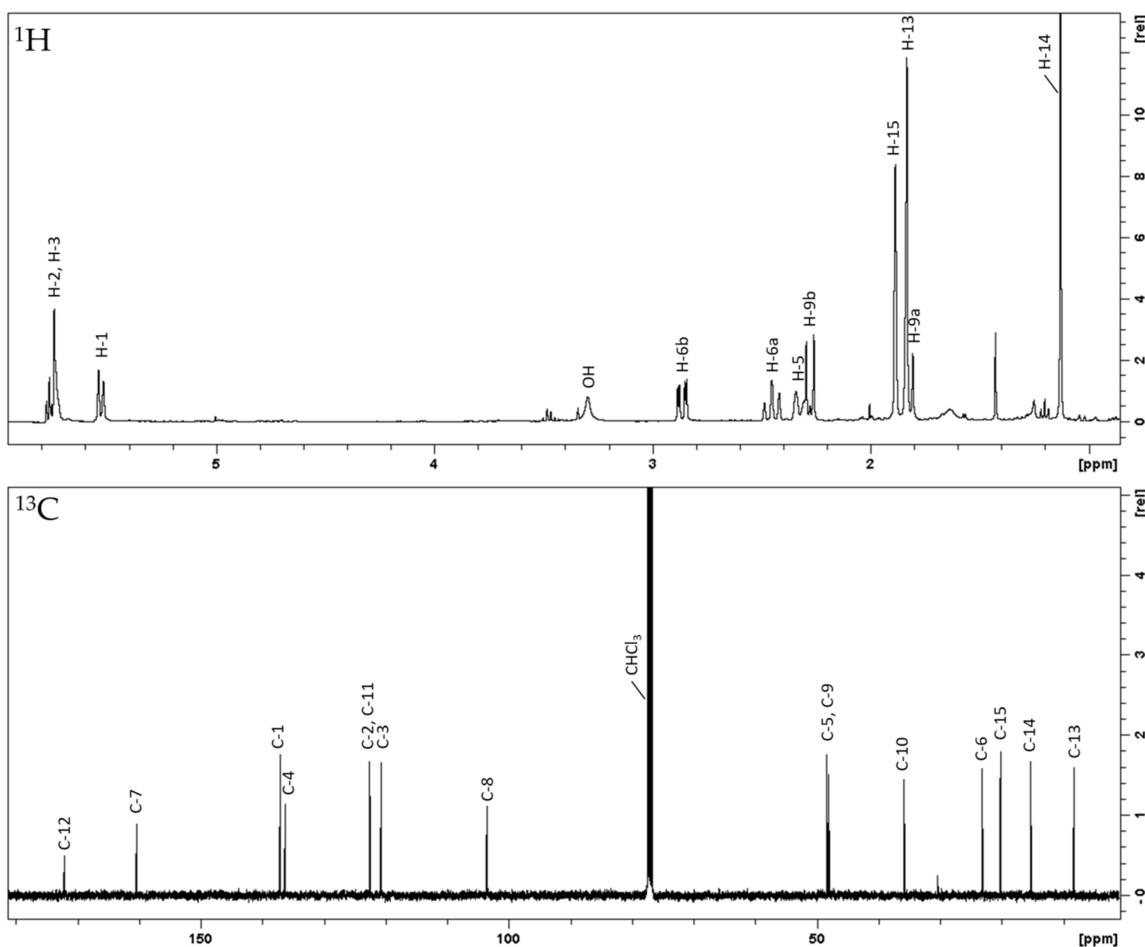
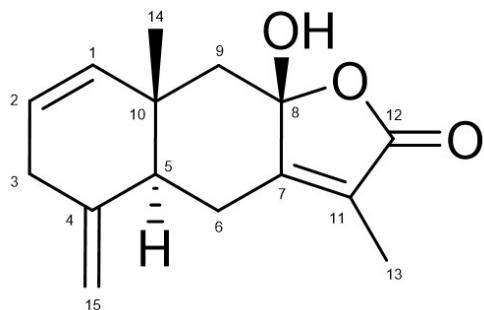


Abbildung 72. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 12 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Durch Abgleich der gesammelten Daten mit Literaturwerten konnte die Substanz als Isohydroxylinestrenolid identifiziert werden, eine Verbindung, die 2020 erstmals aus *C. myrrha* isoliert wurde [29].

3.3.4.4. Substanz 13: Hydroxylindestrenolid



Auswaage: 13,3 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: +195 (c 2,14 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): 218,1 nm (4,11);
c 58 μ mol/l, **Abbildung 152**

CD: c 109 μ mol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 247,1334 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₁₈O₃; 247,1329)

Reinheit: 98,1% (**Abbildung 154**)

Tabelle 51. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 13 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,55 (1H, brd, 3,2)	137,5
2	5,48 (1H, ddd, 3,2, 3,2, 9,8)	123,1
3	2,79 (1H, brd, 20,4) 2,90 (1H, brd, 20,4)	34,8
4		145,3
5	2,14 (1H, brd, 13,1)	49,9
6	2,52 (1H, dd, 13,1, 13,1) 2,71 (1H, dd, 3,0, 13,3)	24,0
7		160,8
8		103,5
9	1,68 (1H, d, 13,6) 2,33 (1H, d, 13,6)	48,4
10		37,6
11		122,4
12		172,2
13	1,82 (3H, brs)	8,3
14	1,09 (3H, s)	20,4
15	4,76 (1H, brs) 4,98 (1H, brs)	107,5

Substanz 13 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C7F4P2 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 51** und **Abbildung 73** zusammengefasst.

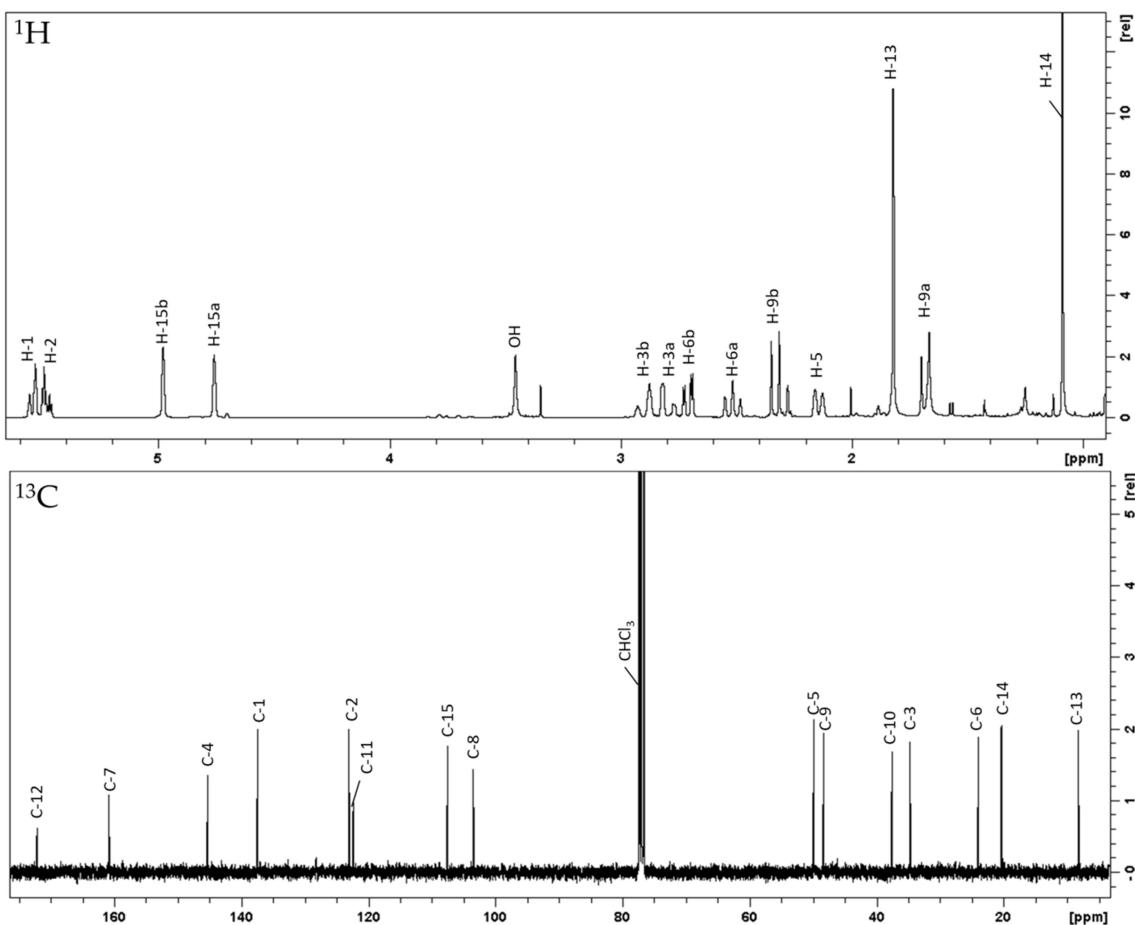
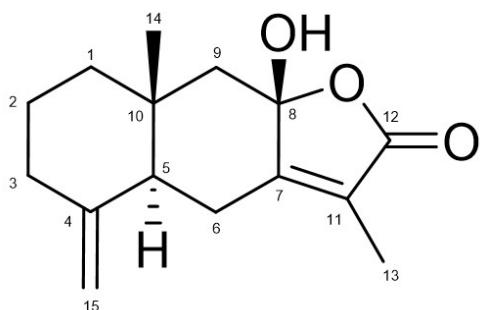


Abbildung 73. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 13 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Die als Hydroxylindestrenolid identifizierte Verbindung ist ein Isomer von Substanz 12, welche sich lediglich in der Lage einer Doppelbindung unterscheidet. Sie wurde bereits 1968 von Takeda et al. aus *Lindera strychnifolia* isoliert [116] und später auch in *C. myrrha* nachgewiesen [30].

3.3.4.5. Substanz 14: Atractylenolid III



Auswaage: 2,8 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: +7 (c 1,72 g/l)

λ_{\max} ($\log \epsilon$): 219,0 nm (3,82);
c 69 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 108 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 249,1490 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₂₀O₃; 249,1485)

Reinheit: 87,5% (**Abbildung 154**)

Tabelle 52. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 14 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	1,25 ¹ (1H, m) 1,58 (1H, m)	41,3
2	1,64 (2H, m)	22,3
3	1,97 (1H, ddd, 6,7, 12,5, 12,5) 2,37 (1H, m, 12,5)	36,1
4		148,5
5	1,84 (1H, dd, 3,3, 13,2)	51,7
6	2,43 (1H, dd, 13,2, 13,2) 2,63 (1H, dd, 3,3, 13,2)	24,5
7		160,7
8		103,3
9	1,56 (1H, d, 13,8) 2,25 (1H, d, 13,8)	51,3
10		36,7
11		122,3
12		171,9
13	1,83 (3H, brs)	8,2
14	1,03 (3H, s)	16,6
15	4,60 (1H, brs) 4,87 (1H, brs)	106,9

¹ Überlagerte Signale

Substanz 14 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C7F4P4 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 52** und **Abbildung 74** zusammengefasst.

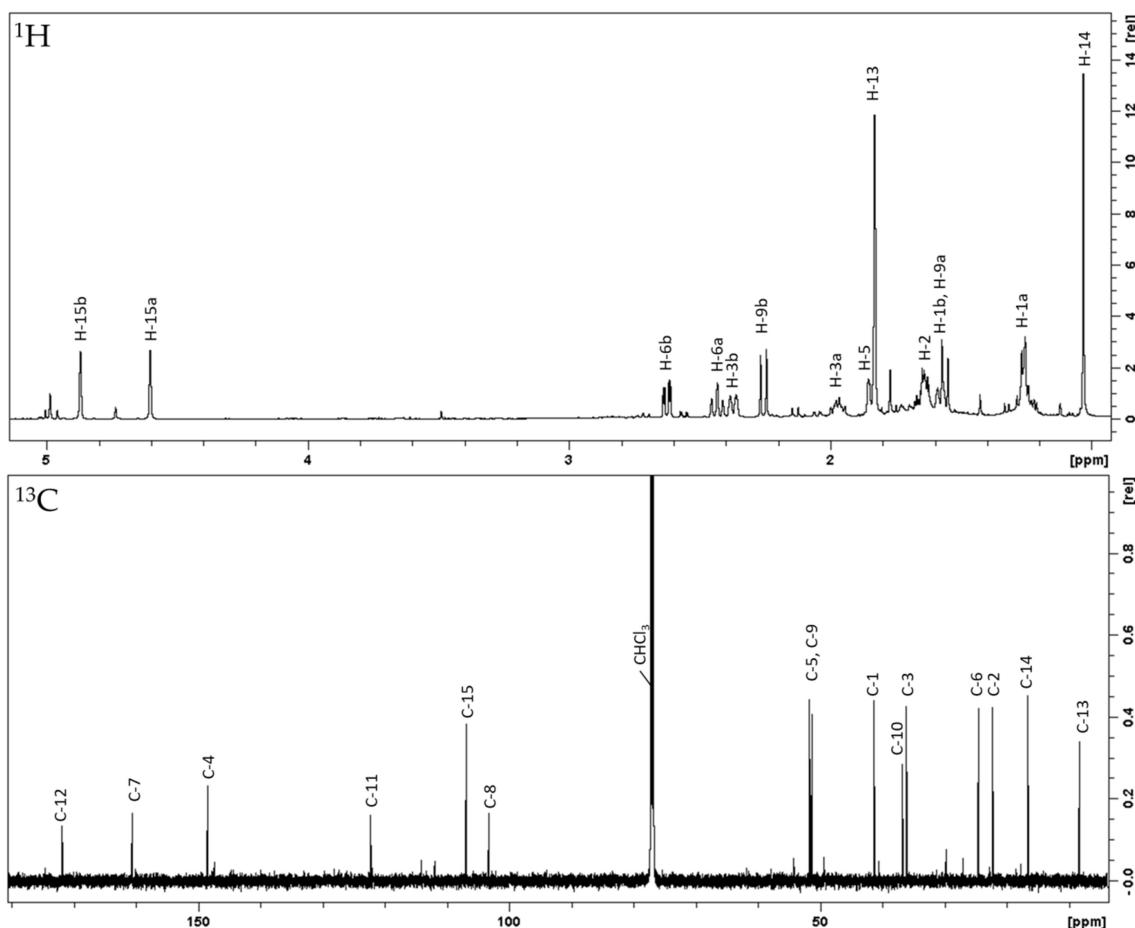
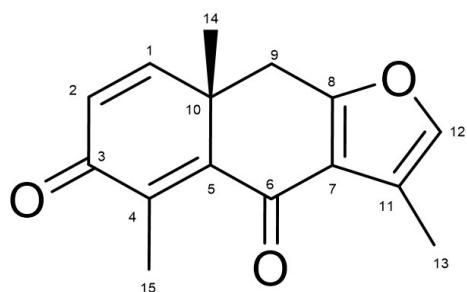


Abbildung 74. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 14 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Anhand von NMR-Daten wurde Substanz 14 als Atractylenolid III identifiziert, welches zuerst 1979 von Endo et al. aus *Atractylodes japonica* isoliert wurde [117].

In der Gattung *Commiphora* ist die Verbindung bisher noch nicht nachgewiesen worden.

3.3.4.6. Substanz 15: Commiphoran E3



Auswaage: 1,6 mg

Aussehen: gelbliche Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: -33 (c 2,00 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \varepsilon)$: 246,9 nm (4,08); 308,7 nm (3,51);
c 55 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 103 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 243,1015 [$\text{M}+\text{H}]^+$
(berechnet: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$; 243,1016)

Reinheit: 94,7% (**Abbildung 154**)

Tabelle 53. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 15 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	6,87 (1H, d, 9,9)	153,0
2	6,37 (1H, d, 9,9)	126,9
3		186,4
4		137,6
5		150,6
6		186,8
7		121,5
8		163,6
9	2,94 (1H, d, 16,9)	36,6
	3,00 (1H, d, 16,9)	
10		42,4
11		119,6
12	7,17 (1H, s)	140,7
13	2,27 (3H, brs)	9,0
14	1,39 (3H, s)	24,9
15	2,19 (3H, s)	12,2

Substanz 15 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F2P2 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 53** und **Abbildung 75** zusammengefasst.

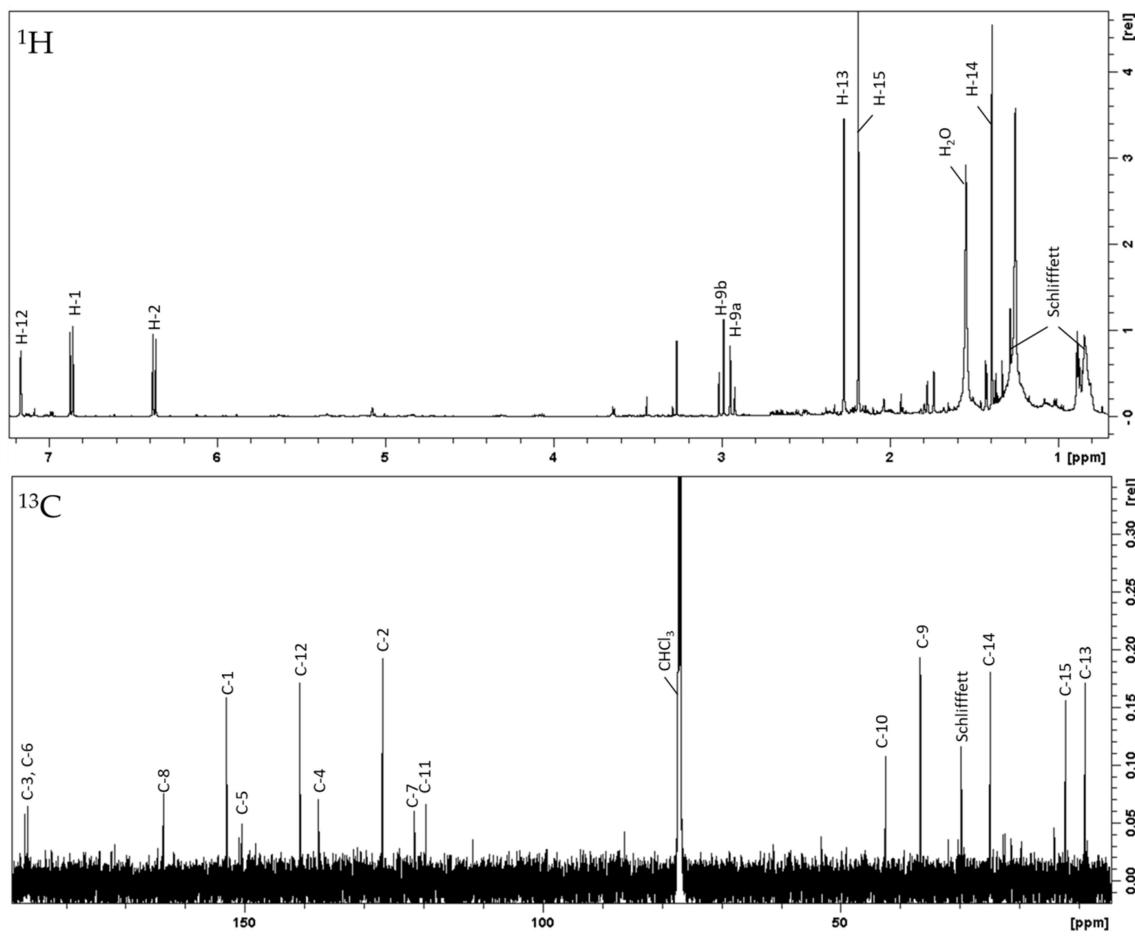
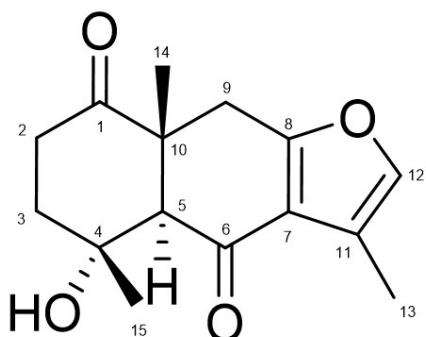


Abbildung 75. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 15 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Substanz 15 ist identisch mit dem von Dong et al. aus Myrrheharz isolierten Commiphoran E3 [118].

3.3.4.6.1. Substanz 16: 4 β -Hydroxy-8,12-epoxyeudesma-7,11-dien-1,6-dion



Auswaage: 1,7 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +14 (c 1,70 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): 203,0 nm (4,11); 267,9 nm (3,31);
c 54 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 97 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 263,1279 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₁₈O₄; 263,1278)

Reinheit: 90,5% (**Abbildung 154**)

Tabelle 54. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 16 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1		210,9
2	2,45 (1H, ddd, 3,6, 4,1, 15,1) 2,73 (1H, ddd, 6,0, 15,1, 15,1)	34,7
3	1,93 (1H, ddd, 5,2, 14,5, 14,9) 2,03 (1H, ddd, 2,8, 6,0, 13,3)	38,8
4		70,2
5	2,89 (1H, s)	62,1
6		195,4
7		119,3
8		165,8
9	3,03 (1H, d, 17,9) 2,95 (1H, d, 17,9)	35,6
10		51,1
11		119,0
12	7,12 (1H, s)	140,1
13	2,20 (3H, s)	8,9
14	1,27 (3H, s)	20,3
15	1,73 (3H, s)	23,8

Substanz 16 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F4P1 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 54** und **Abbildung 76** zusammengefasst.

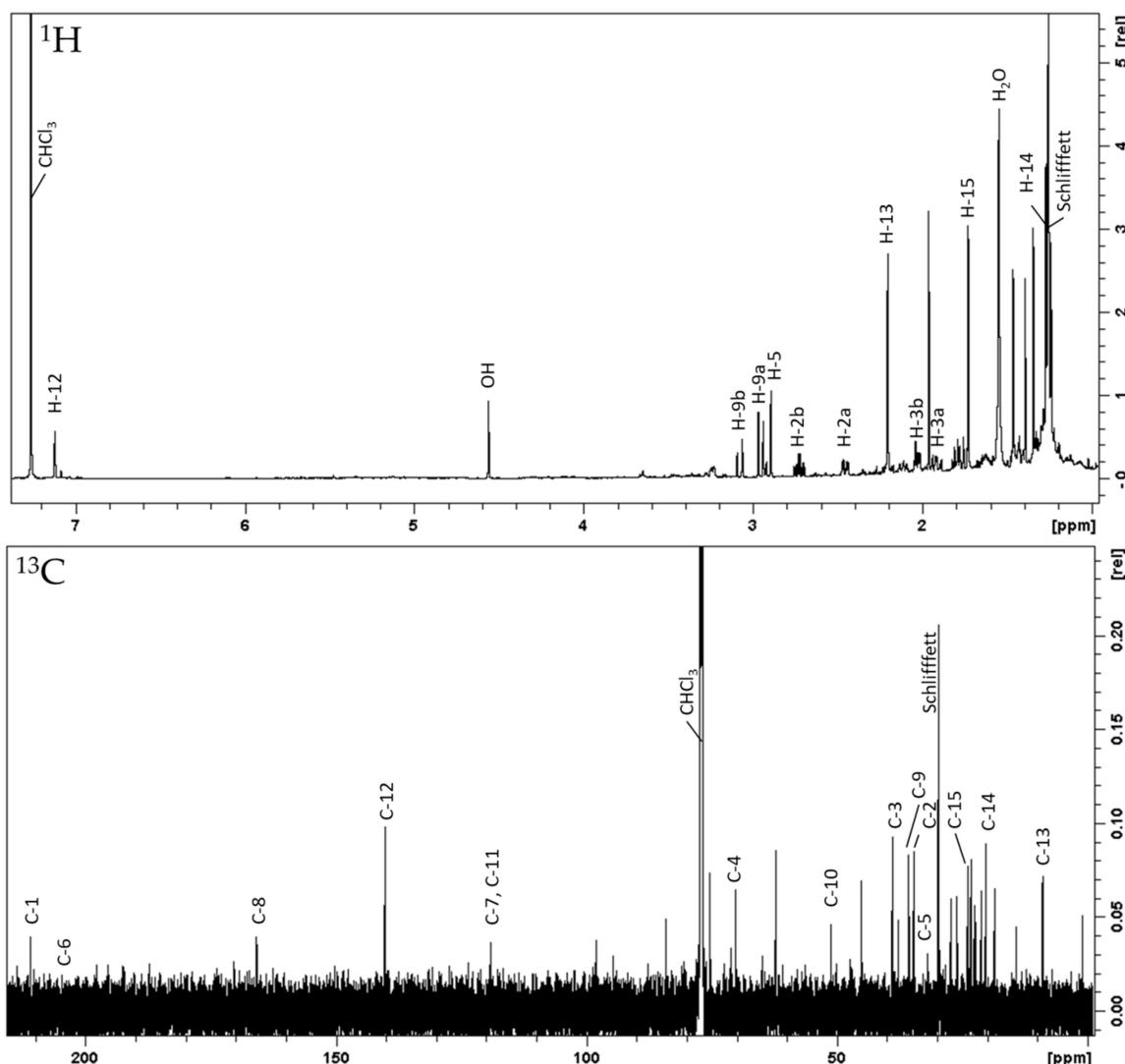
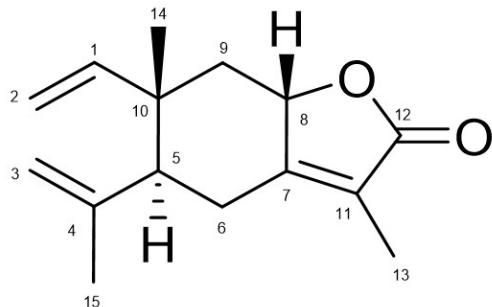


Abbildung 76. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 16 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Durch Vergleich von NMR- und HRESIMS-Daten konnte gezeigt werden, dass es sich bei **16** um 4β -Hydroxy-8,12-epoxyeudesma-7,11-dien-1,6-dion handelt, welches als Inhaltsstoff von *Chloranthus henryi* bekannt ist [119]. Diese Verbindung wurde in dieser Arbeit zum ersten Mal für eine Pflanze der Gattung *Commiphora* beschrieben.

3.3.5. Elemane

3.3.5.1. Substanz 17: Isogermafurenolid



Auswaage: 0,8 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: +14 (c 1,00 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \varepsilon)$: 219,9 nm (3,76);
c 86 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 107 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 233,1539 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₂₀O₂; 233,1536)

Reinheit: 91,0% (**Abbildung 154**)

Tabelle 55. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 17 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	5,73 (1H, dd, 10,8, 17,6)	146,5
2	4,97 (1H, brd, 17,6) 5,00 (1H, brd, 11,0)	111,8
3	4,73 (1H, brs) 4,99 (1H, brs)	113,9
4		144,9
5	2,05 (1H, dd, 4,1, 14,0)	52,9
6	2,55 (1H, dd, 14,0, 14,0) 2,68 (1H, dd, 4,1, 14,0)	28,4
7		161,9
8	4,83 (1H, dd, 6,2, 12,0)	77,9
9	1,34 (1H, dd, 12,0, 12,0) 2,21 (1H, dd, 6,2, 12,0)	45,7
10		40,9
11		120,1
12		174,9
13	1,83 (3H, brs)	8,2
14	1,17 (3H, s)	17,0
15	1,77 (1H, s)	24,7

Substanz 17 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F5C5P7 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 55** und **Abbildung 77** zusammengefasst.

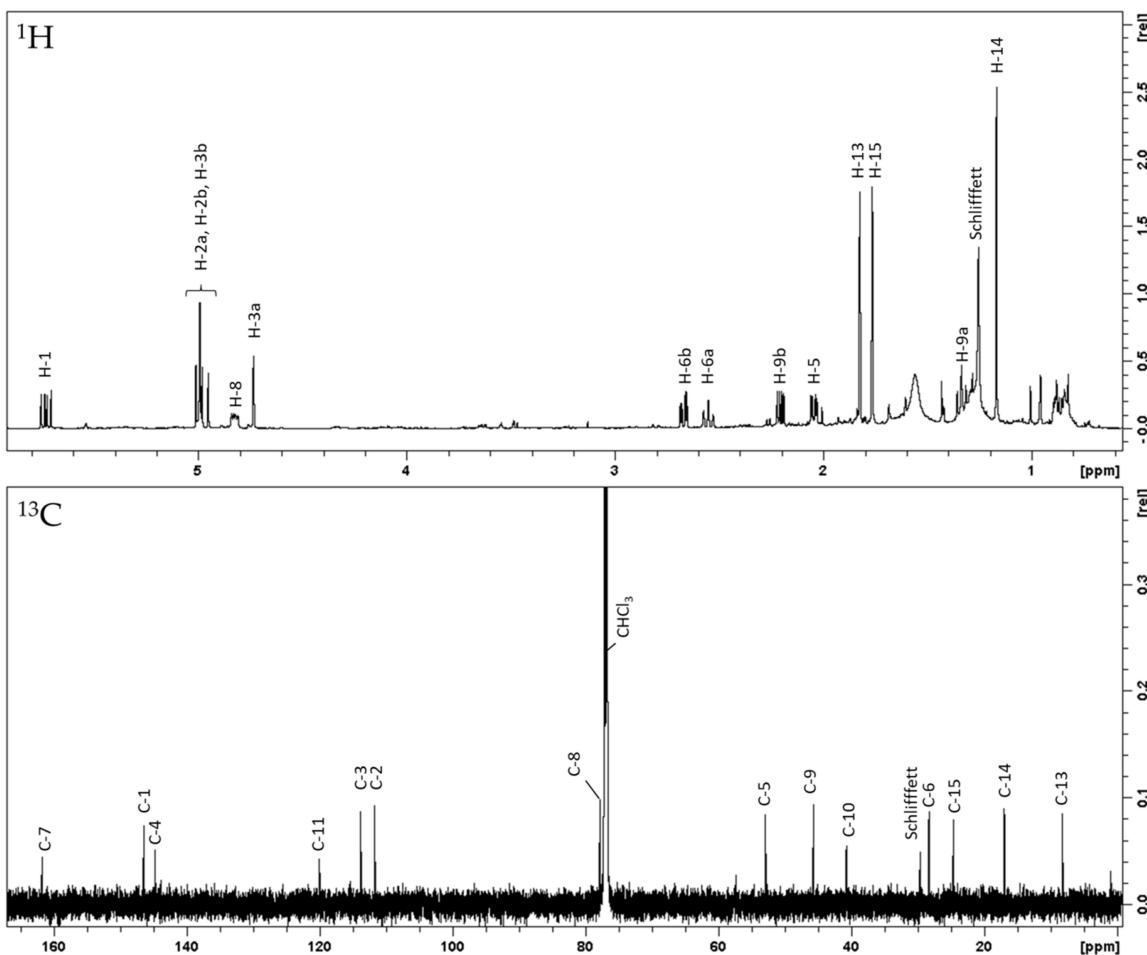
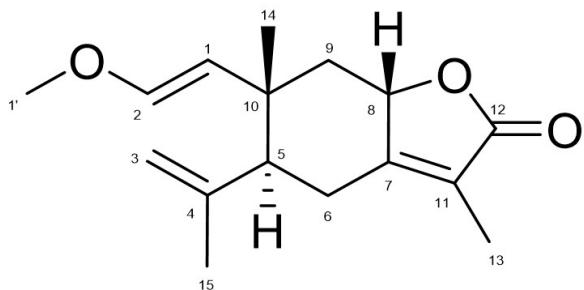


Abbildung 77. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 17 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃).

Durch Abgleich von NMR-Daten konnte gezeigt werden, dass es sich bei 17 um Isogermafurenolid handelt, welches bereits 1968 von Takeda et al. aus *Lindera strychnifolia* isoliert wurde [116]. Auch in anderen Gattungen wie *Curcuma* [120] und *Neolitsea* [121] konnte Isogermafurenolid nachgewiesen werden, in *Commiphora* war ihr Vorkommen allerdings bisher nicht bekannt.

3.3.5.2. Substanz 18: Methoxyisogermafurenolid



Auswaage: 1,7 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: -35 (c 2,34 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): 217,0 nm (4,07);

c 59 μ mol/l, **Abbildung 152**

CD: c 111 μ mol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 263,1643 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₆H₂₂O₃; 263,1642)

Reinheit: 95,6% (**Abbildung 154**)

Tabelle 56. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 18 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	4,68 (1H, d, 12,9)	112,8
2	6,17 (1H, d, 12,9)	145,9
3	4,74 (1H, brs) 5,01 (1H, brs)	113,9
4		145,1
5	2,00 (1H, dd, 4,1, 13,5)	54,0
6	2,53 (1H, dd, 14,0, 14,0) 2,67 (1H, dd, 3,9, 14,0)	28,3
7		162,0
8	4,82 (1H, dd, 6,2, 12,0)	77,8
9	1,31 (1H, dd, 12,1, 12,1) 2,26 (1H, dd, 6,2, 12,1)	47,0
10		38,0
11		120,0
12		174,8
13	1,82 (3H, brs)	8,2
14	1,15 (3H, s)	18,1
15	1,79 (3H, s)	25,0
1'	3,50 (3H, s)	56,1

Substanz 18 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F2P5 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 56** und **Abbildung 78** zusammengefasst.

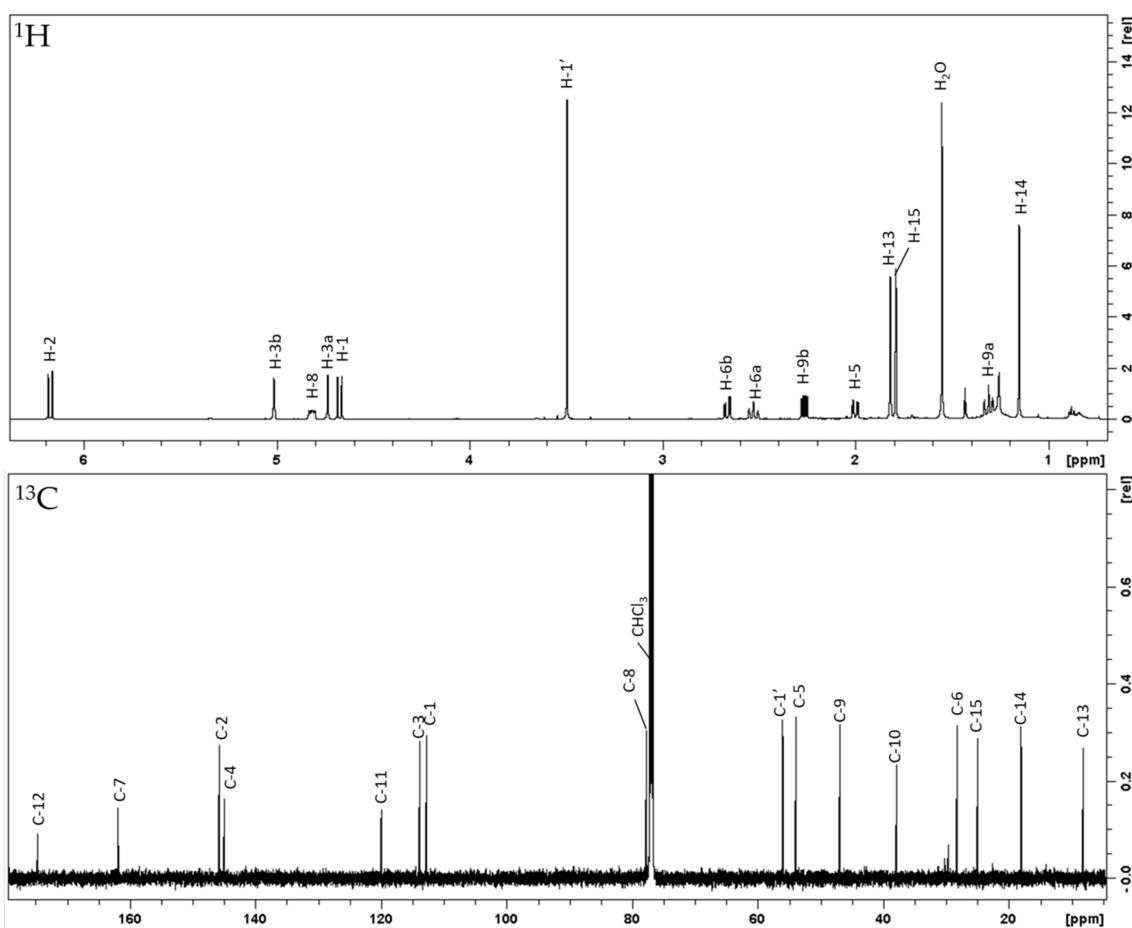


Abbildung 78. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **18** (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Durch Abgleich der NMR-Daten konnte bestätigt werden, dass es sich bei dieser Verbindung um Methoxyisogermafurenolid handelt. Sie wurde zuerst 2020 von Greve et al. aus *C. myrrha* in einer Mischung mit einem anderen Stereoisomer aufgeklärt [29]. In dieser Arbeit konnte diese Verbindung zum ersten Mal als Reinstoff gewonnen und eine Charakterisierung durch optische und spektroskopische Methoden vorgenommen werden. Hierbei konnte über NOESY-Daten die in der Literatur angegebene relative Stereochemie bestätigt werden.

Zuerst wurde die Konformation des Spinsystems bestehend aus H-8 (δ_{H} 4.82 ppm), -9a (δ_{H} 1.31 ppm) und -9b (δ_{H} 2.26 ppm) anhand von Kopplungskonstanten ermittelt. An einem sesselförmigen Cyclohexanring entspricht ein J von 7-12 Hz einer Kopplung zwischen zwei axial-ständigen Protonen, während ein J von 2-5 Hz eher zwischen einem axialen und einem äquatorialem Proton oder zwei äquatorial-ständigen Protonen beobachtet wird [103]. Bezogen auf das genannte Spinsystem, muss also H-9b axial und -8 bzw. -9a äquatorial stehen. Dies wird auch durch ein NOESY-Signal zwischen H-8 und -9b bestätigt.

Anschließend konnte durch weitere NOESY-Korrelationen zwischen H-8 und H-14 bzw. H-9b sowie H-5 und -1 bzw. -9a die Stellung der einzelnen Substituenten am Cyclohexan ober- oder unterhalb der Ringebene etabliert werden (**Abbildung 79**).

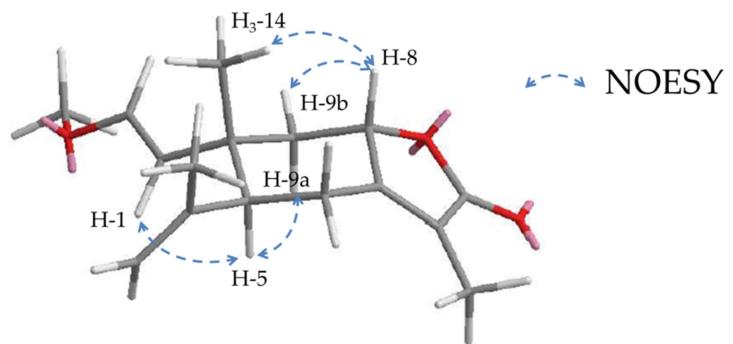
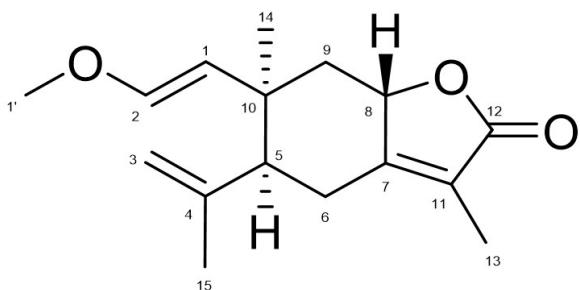


Abbildung 79. Ausschlaggebende NOESY Korrelationen der Verbindung 18.

3.3.5.3. Substanz 19: 8-*epi*-2-Methoxyisogermafurenolid



Auswaage: 1,2 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +54 (c 1,46 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \varepsilon)$: 216,8 nm (4,10);

c 74 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 99 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 263,1642 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₆H₂₂O₃; 263,1642)

Reinheit: 97,9% (**Abbildung 154**)

Tabelle 57. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 19 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	4,90 (1H, d, 12,9)	111,5
2	6,45 (1H, d, 12,9)	147,4
3	4,68 (1H, brs) 4,80 (1H, brs)	113,8
4		147,3
5	2,47 (1H, brd, 6,6)	51,1
6	2,69 (1H, brd, 14,9) 2,72 (1H, dd, 7,1, 14,9)	28,6
7		161,8
8	4,93 (1H, dd, 6,6, 11,6)	78,3
9	1,68 (1H, dd, 12,1, 12,1) 2,20 (1H, dd, 6,6, 12,5)	40,4
10		37,9
11		120,8
12		174,7
13	1,81 (3H, brs)	8,3
14	1,05 (3H, s)	28,9
15	1,70 (3H, s)	25,4
1'	3,55 (1H, brs)	56,4

Substanz 19 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F2P4 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 57** und **Abbildung 80** zusammengefasst.

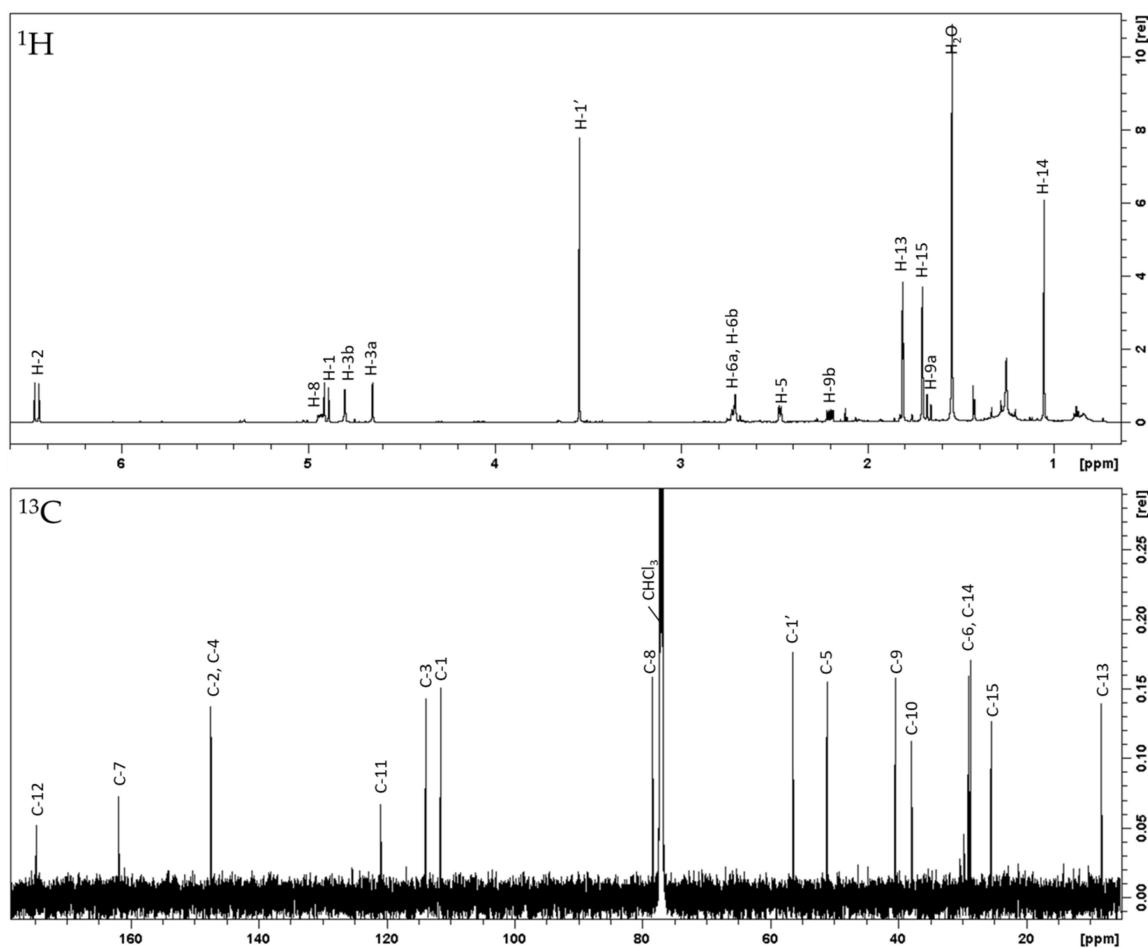


Abbildung 80. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 19 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Anhand der NMR-Daten konnte **19** als ein Isomer von **18** identifiziert werden, welches sich nur geringfügig unterscheidet. Es konnte auch gezeigt werden, dass **19** mit einer Verbindung identisch ist, die Greve et al. im Gemisch mit **18** isoliert und aufgeklärt hatten [29]. In dieser Arbeit war es nun zum ersten Mal möglich eine Charakterisierung durch optische und spektroskopische Methoden und eine präzise Bestimmung der Stereochemie durch NOESY-Spektren vorzunehmen. Während für die Verbindung **18** die in der Literatur angegebene Konfiguration bestätigt werden konnte, wiesen die neu gewonnenen Daten auf eine abweichende Stereochemie bei **19** hin. So konnten Korrelationen unter der Ringebene von H-5 zu -9a und der Methylgruppe an Pos. 14 und oberhalb des Ringes zwischen H-9b und -1, -8 sowie -15 beobachtet werden. Außerdem fehlten Signale von einer Seite des Ringes zur anderen oder waren nur sehr schwach ausgeprägt (Abbildung 81). Aufgrund dieser Signale ist es wahrscheinlicher, dass die Konfiguration der Verbindung (*rel*-5*S*,8*S*,10*S*) lautet anstatt (*rel*-5*S*,8*R*,10*R*) [29]. Bei **19** handelt es sich folglich um das 8-*epi*-2-Methoxyisogermanoloid.

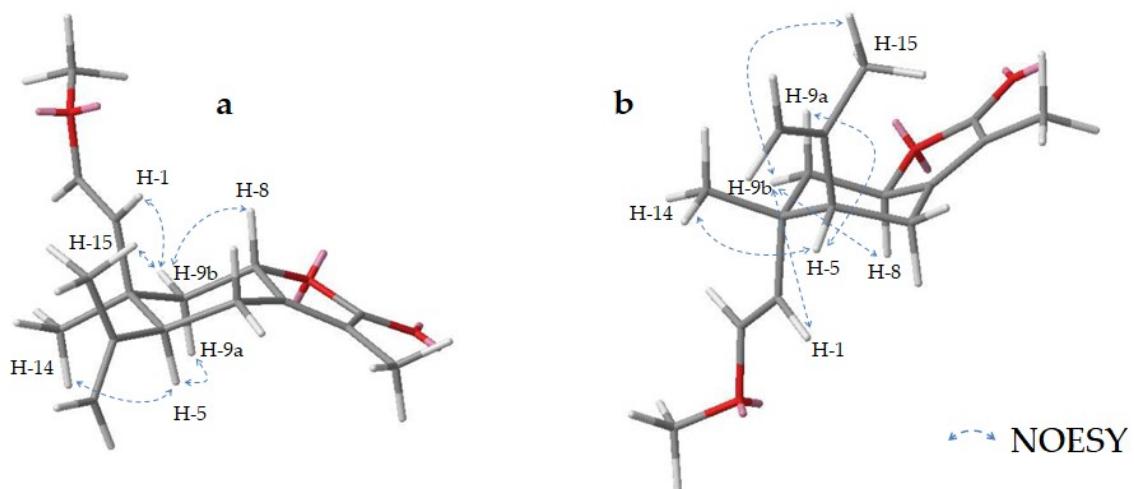
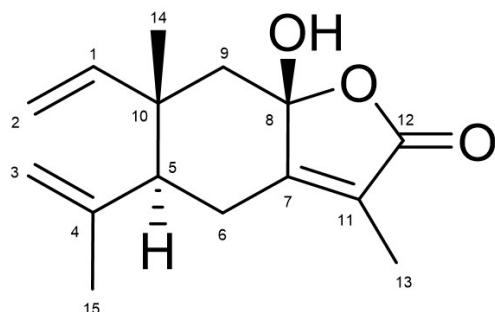


Abbildung 81. Die beobachteten NOESY-Korrelationen der Substanz **19** decken sich gut mit einer rel-5S,8S,10S Konfiguration (a). Dieselben Signale der Substanz **19** in einer rel-5S,8R,10R Konfiguration im Vergleich (b).

3.3.5.4. Substanz 20: Hydroxyisogermafurenolid



Auswaage: 6,3 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: +3 (c 2,05 g/l)

λ_{max} (log ε): 218,1 nm (3,95);

c 55 μmol/l, **Abbildung 152**

CD: c 104 μmol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: *m/z* 249,1487 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₅H₂₀O₃; 249,1485)

Reinheit: 97,9% (**Abbildung 154**)

Tabelle 58. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 20 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ _H	δ _C
1	5,70 (1H, dd, 10,8, 17,4)	147,4
2	4,97 (1H, brd, 17,4) 4,99 (1H, brd, 10,8)	112,0
3	4,73 (1H, brs) 4,98 (1H, brs)	114,2
4		144,8
5	2,04 (1H, dd, 3,5, 13,5)	54,2
6	2,55 (1H, dd, 3,5, 13,5) 2,72 (1H, dd, 13,5, 13,5)	27,1
7		160,3
8		103,0
9	1,74 (1H, d, 14,0) 2,14 (1H, d, 14,0)	49,3
10		40,6
11		122,0
12		172,2
13	1,82 (3H, brs)	8,2
14	1,26 (3H, s)	17,7
15	1,77 (3H, s)	24,4

Substanz 20 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C7F4P3 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 58** und **Abbildung 82** zusammengefasst.

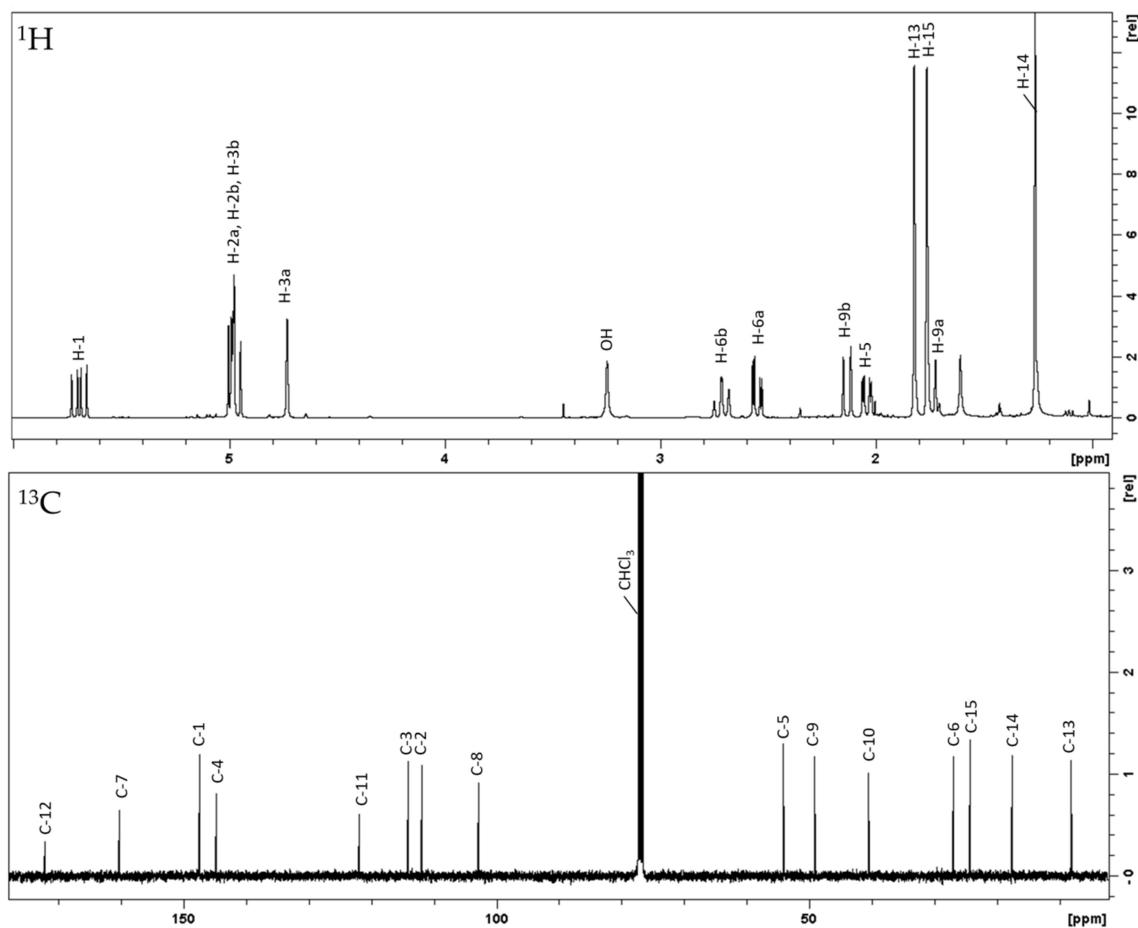
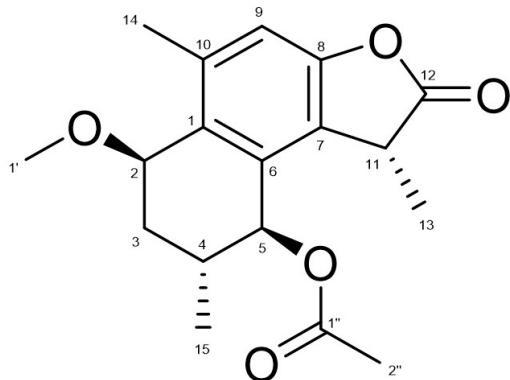


Abbildung 82. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 20 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃).

Bei 20 handelt es sich um Hydroxyisogermafurenolid, eine Substanz die zuerst von Takeda et al. aus *Lindera strychnifolia* isoliert [116] und später auch in *C. myrrha* nachgewiesen wurde [30].

3.3.6. Cadinane

3.3.6.1. Substanz 21: Commiterpen D



Auswaage: 0,9 mg

Aussehen: farbloses Öl

[α]_D²⁵: -8 (c 1,15 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): 204,1 nm (4,11); 276,1 nm (3,29);
c 72 μ mol/l, **Abbildung 152**

CD: c 131 μ mol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 341,1359 [M+Na]⁺
(berechnet: C₁₈H₂₂O₅; 341,1359)

Reinheit: 91,0% (**Abbildung 154**)

Tabelle 59. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 21 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Doublett, q Quartett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1		131,7
2	4,30 (1H, dd, 2,9, 2,9)	73,1
3	1,60 ¹ (1H, m) 2,21 (1H, ddd, 2,9 , 2,9, 14,4)	31,6
4	2,30 (1H, m)	30,3
5	5,87 (1H, d, 9,4)	74,9
6		133,0
7		124,0
8		153,4
9	6,96 (1H, s)	112,9
10		140,3
11	3,61 (1H, q, 7,4)	38,9
12		178,3
13	1,47 (3H, d, 7,4)	15,5
14	2,39 (3H, s)	19,5
15	1,09 (3H, d, 6,6)	19,1
1'	3,45 (3H, s)	56,4
1''		171,1
2''	2,17 (3H, s)	20,9

¹ Überlagerte Signale

Substanz 21 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F2P6 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 59** und **Abbildung 83** zusammengefasst.

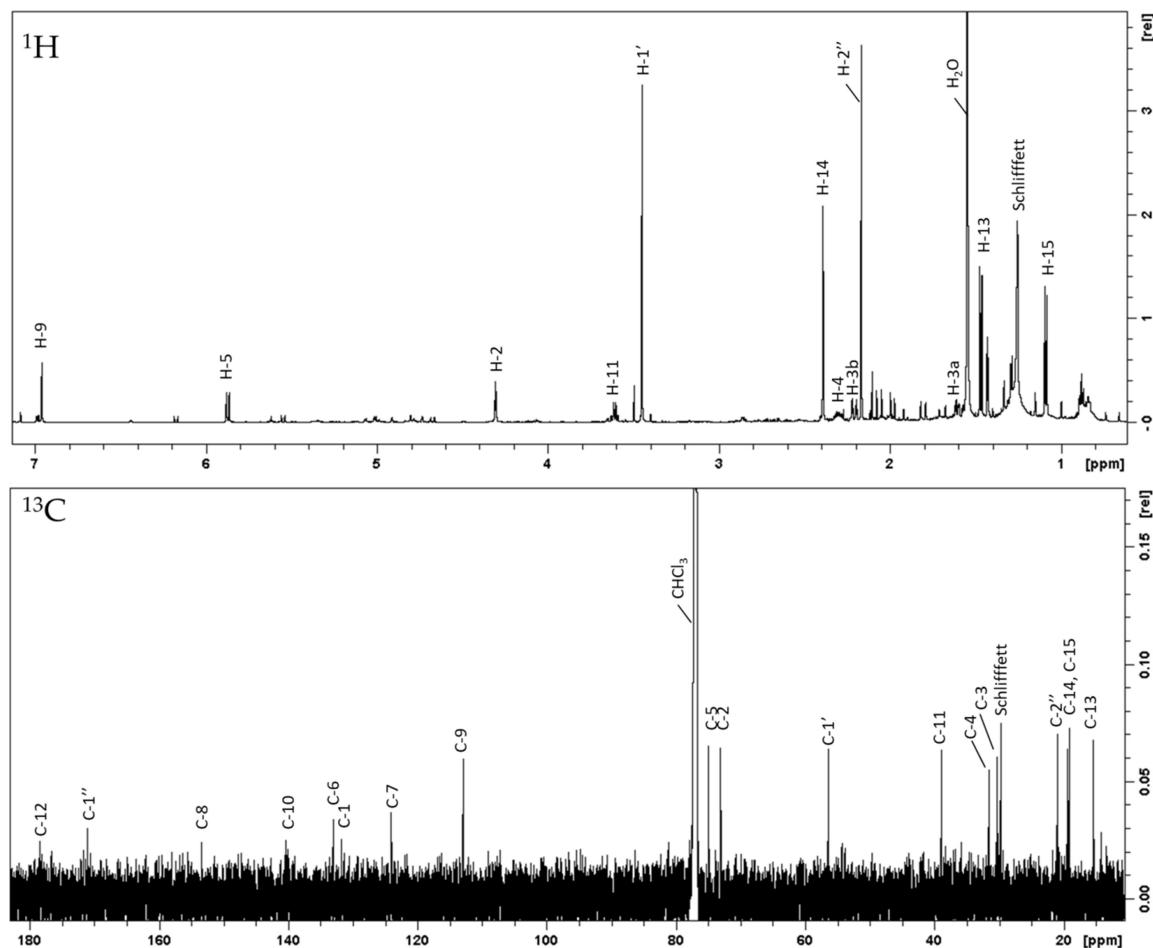


Abbildung 83. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 21 (600 bzw. 160 MHz, CDCl_3).

Die NMR-Daten der Substanz 21 weisen auf ein aromatisches System hin, welches aus fünf quartären Kohlenstoffen (δ_{C} 124,0 (C-7), 131,7 (C-1), 133,0 (C-6), 140,3 (C-10), 153,4 (C-8)) und einem sp²-Methin besteht (δ_{H} 6,96 (s, H-9); δ_{C} 112,9) sowie einem Methoxy- (δ_{H} 3,45 (s, H₃-1')); δ_{C} 56,4) und einen Acetylsubstituenten (δ_{H} 2,17 (s, H₃-2''); δ_{C} 20,9 (C-2'') und 171,1 (C-1'')). Zusätzlich treten drei tertiäre Methylgruppen ((δ_{H} 1,09 (d, H₃-15), 1,47 (d, H₃-13), 2,39 (s, H₃-14); δ_{C} 19,1, 15,5, 19,5), zwei sauerstoffgebundene Methin-Kohlenstoffe (δ_{H} 4,30 (dd, H-2), 5,87 (d, H-5), δ_{C} 73,1 bzw. 74,9) und ein Carbonyl (δ_{C} 178,3 (C-12)) auf.

Die chemischen Verschiebungen zeigen Ähnlichkeiten mit der Verbindung Commiterpen B aus *C. myrrha* [27]. Auch das Substitutionsmuster und die relative Konfiguration der Stereozentren stimmen überein (Abbildung 84, a). Die einzige Abweichung zeigen die Signale von H-11 und H-13, die nicht wie in 3.3.2.1 oder 3.3.2.2 beschrieben ausgeprägt sind. Stattdessen zeigen sie die Aufspaltung eines Quartetts und eines Doublets und teilen sich eine Kopplungskonstante von 7,4 Hz, was darauf hinweist, dass hier der Furanring, wie er bei Commiterpen B vorliegt, oxidiert wurde. Sesquiterpenlactone dieser Art kommen zum Beispiel auch bei *Chloranthus henryi* vor und wurden von Wu et al. bereits beschrieben [122].

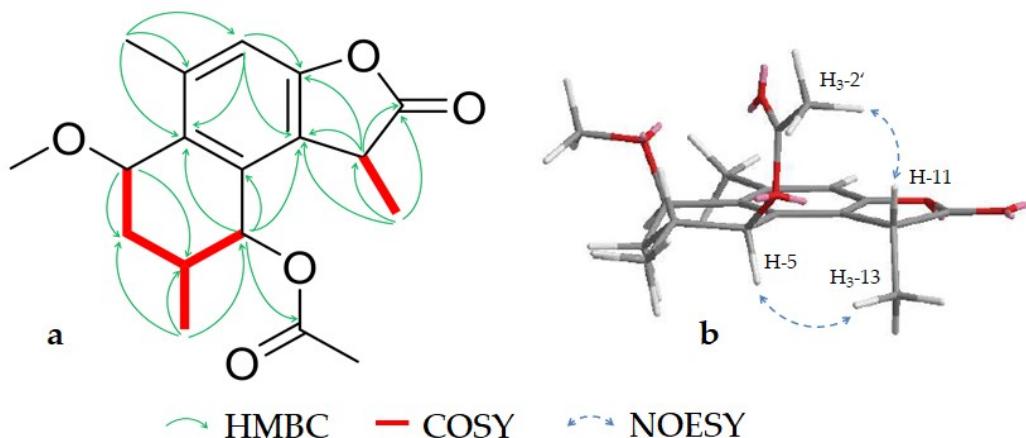
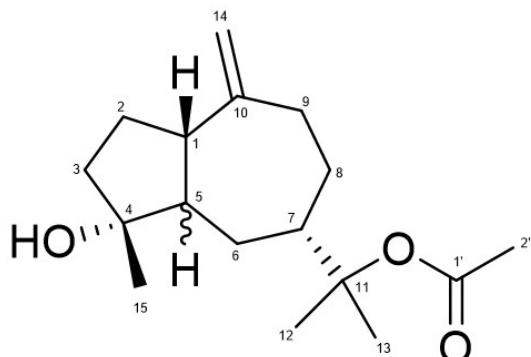


Abbildung 84. Ausschlaggebende HMBC-, COSY- (a) und NOESY (b) Korrelationen von 21.

Um die Orientierung des so entstandenen zusätzlichen Stereozentrums an C-11 zu bestimmen, wurden die NOESY-Signale der angrenzenden Protonen mit dem nächstgelegenen Stereozentrum an Pos. 5 analysiert. Aufgrund der starken Korrelation zwischen H-11 und der Acetylgruppe, sowie H-5 und der Methylgruppe H₃-13 kann für Pos. 5 eine *rel-(R)*-Konfiguration angenommen werden (**Abbildung 84, b**). Anknüpfend an die von Xu et al. initiierte Nomenklatur, wird der Name Commiterpen D für Verbindung 21 vorgeschlagen.

3.3.7. Guajane

3.3.7.1. Substanz 22: *rel*-(+)-(1*S*,4*R*,7*S*)-11-Acetyl-guai-10(14)-en-4,11-ol



Auswaage: 6,9 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: +38 (c 2,39 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \epsilon)$: 202,0 nm (3,68);
c 113 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 152

CD: c 106 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 303,1931 [M+Na]⁺
(berechnet: C₁₇H₂₈O₃; 303,1931)

Reinheit: 95,8% (Abbildung 154)

Tabelle 60. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 22 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	2,23 (1H, ddd, 8,1, 17,5)	47,8
2	1,68 ¹ (1H, m) 1,86 ¹ (1H, m)	25,6
3	1,72 ¹ (2H, m)	40,8
4		81,2
5	1,73 ¹ (1H, m)	52,7
6	1,51 (1H, ddd, 7,7, 11,4, 14,1) 1,64 (1H, ddd, 5,3, 9,1, 14,2)	27,2
7	2,42 (1H, dddd, 5,3, 7,9, 7,9, 10,9)	44,2
8	1,29 (1H, dddd, 2,7, 11,1, 11,1, 13,9) 1,75 ¹ (1H, m)	26,9
9	2,05 (1H, m) 2,53 (1H, ddd, 2,6, 6,6, 14,1)	38,2
10		153,1
11		86,2
12	1,41 (3H, s)	23,2
13	1,41 (3H, s)	23,4
14	4,68 (1H, s) 4,70 (1H, s)	106,3
15	1,20 (3H, s)	23,8
1'		170,5
2'	1,97 (3H, s)	22,6

¹ Überlagerte Signale

Substanz 22 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C6P2 isoliert. NMR-Daten sind in Tabelle 60 und Abbildung 85 zusammengefasst.

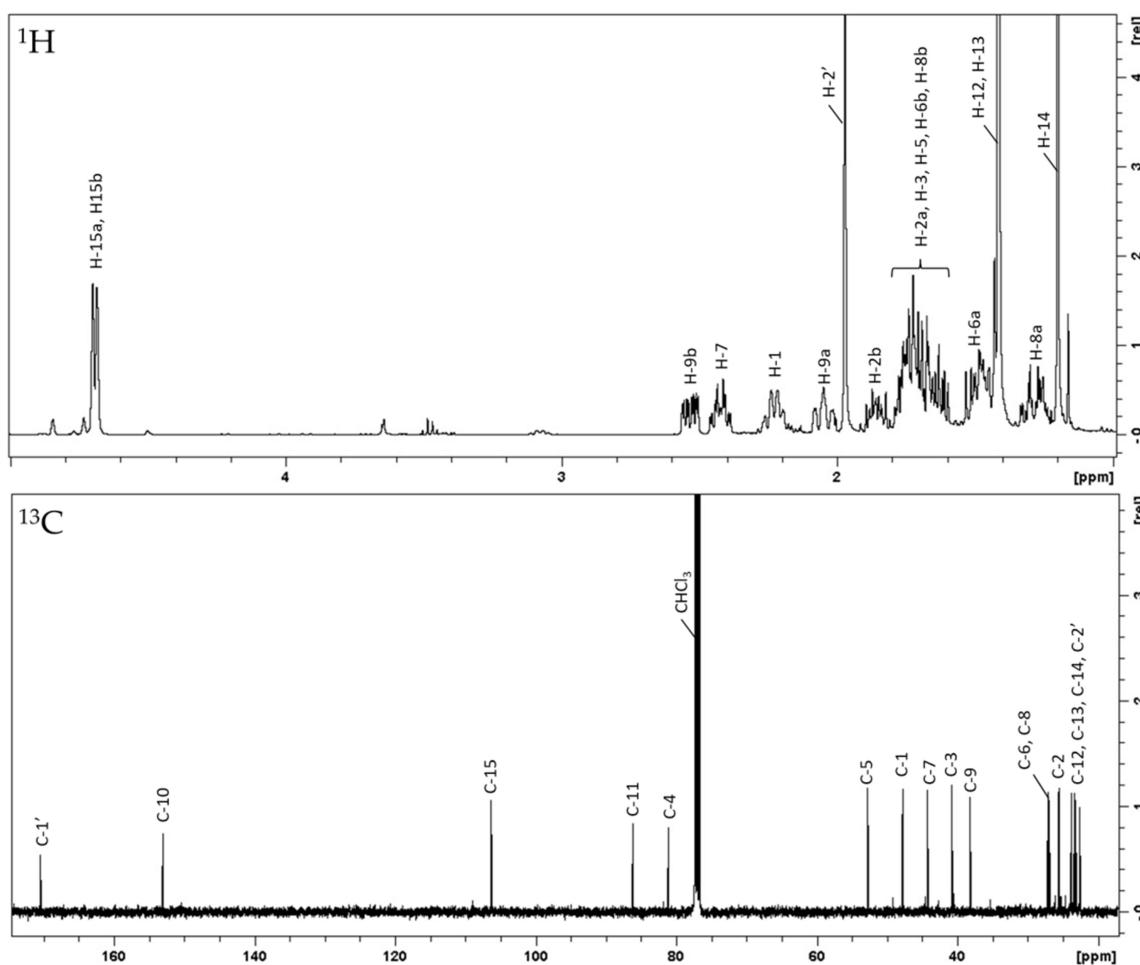


Abbildung 85. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 22 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Die NMR-Daten zeigen analog zu den HRESIMS-Daten 17 Kohlenstoffe, einschließlich eines Acetylsubstituenten (δ_{H} 1,97 (s, $\text{H}_3\text{-}2'$); δ_{C} 22,6 (C-2') und 170,5 (C-1')) sowie drei tertiärer Methylgruppen (δ_{H} 1,41 ($\text{H}_3\text{-}12/\text{H}_3\text{-}13$), 1,20 (s, $\text{H}_3\text{-}15$); δ_{C} 23,2, 23,4 bzw. 23,8), zwei sauerstoffgebundene quaternäre Kohlenstoffe (δ_{C} 81,2 (C-4), 86,2 (C-11)) und zwei sp^2 -hybridisierte Positionen (δ_{H} 4,68/4,70 (s/s, H-14); δ_{C} 106,3 (C-14) und 153,1 (C-10)). Weiterführende Analysen der 2D-Daten deuteten darauf hin, dass es sich bei 22 um ein Sesquiterpen vom Guajan-Typ mit einer olefinischen Doppelbindung zwischen Pos. 10 und 14, einer Hydroxylierung an C-4 und einer Acetylierung an C-11 handelt. Die Position des Acetyl-Substituenten konnte dabei durch eine HMBC Kopplung von $\text{H}_3\text{-}2'$ nach C-11 zweifelsfrei bestimmt werden. Weitere ausschlaggebende HMBC- und COSY-Korrelationen sind in **Abbildung 86** dargestellt.

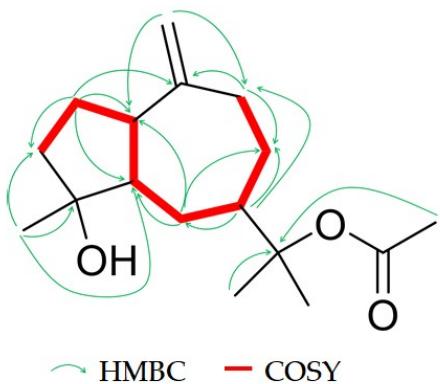
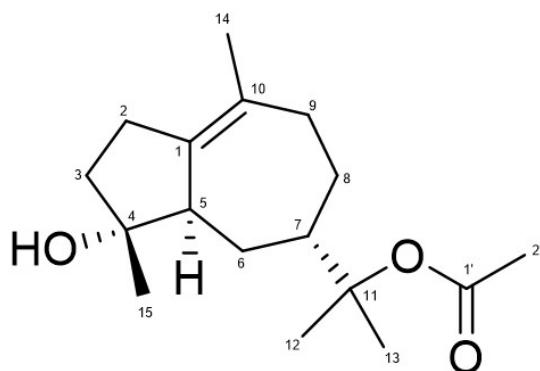


Abbildung 86. Ausschlaggebende HMBC- und COSY-Korrelationen für **22**.

Die Konfiguration der Verbindung konnte aufgrund von NOESY-Signalen zwischen H-1, H-15, H-6a (δ_H 1,51) und H-7 auf der einen Seite des Ringes und zwischen H-6b (δ_H 1,64) und der Isopropylstruktur (H₃-12/13) auf der anderen, bestimmt werden. Aufgrund der Überlagerung des Signals von H-5 mit anderen, konnte die Stereochemie an dieser Stelle nicht ermittelt werden und die unvollständige relative Konfiguration von **22** lautet somit (1*S*,4*R*,7*S*).

Eine Substanz derselben Konstitution wurde bereits zuvor aus *Chenopodium botrys* isoliert [123] wobei eine (1*R*,4*R*,5*R*)-Konfiguration bei einem $[\alpha]_D^{25}$ von +20 postuliert wurde. Obwohl die lückenhaften veröffentlichten NMR-Verschiebungen mit denen von **22** großteils übereinstimmen, kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei den beiden Verbindungen um dieselbe Substanz handelt. Grund dafür sind die eindeutigen NOESY Korrelationen und die große Abweichung des $[\alpha]_D^{25}$ (+38). Bei **22** handelt es sich daher um ein neuartiges Guajan auch wenn andere Vertreter dieses Typs bereits für Myrrhe bekannt sind [5]. Unter Berücksichtigung der Trivialnomenklatur bekannter Guajane wird der Name *rel*-(+)-(1*S*,4*R*,7*S*)-11-Acetyl-guai-10(14)-en-4,11-ol für **22** vorgeschlagen.

3.3.7.2. Substanz 23: *rel*-(+)-(4*R*,5*R*,7*S*)-11-Acetyl-guai-1(10)-en-4,11-ol



Auswaage: 4,1 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: +32 (c 2,15 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \epsilon)$: 203,0 nm (3,73);
c 102 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 152

CD: c 96 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 303,1930 [M+Na]⁺
(berechnet: C₁₇H₂₈O₃; 303,1931)

Reinheit: 85,0%

Tabelle 61. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 23 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1		135,4
2	2,19 ¹ (1H, m)	28,4
	2,30 ¹ (1H, m)	
3	1,68 ¹ (2H, m)	39,2
4		81,0
5	2,65 (1H, brd, 11,2)	49,3
6	1,51 (1H, ddd, 3,6, 7,8, 14,4) 1,72 ¹ (1H, m)	27,9
7	2,26 ¹ (1H, m)	43,4
8	1,65 ¹ (2H, m)	24,9
9	2,11 ¹ (1H, m)	34,8
	2,25 ¹ (1H, m)	
10		127,7
11		86,3
12	1,44 (3H, s)	23,4
13	1,44 (3H, s)	23,7
14	1,55 (3H, s)	20,9
15	1,11 (3H, s)	22,2
1'		170,5
2''	1,97 (3H, s)	22,7

¹ Überlagerte Signale

Substanz 23 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C6P4 isoliert. NMR-Daten sind in Tabelle 61 und Abbildung 87 zusammengefasst.

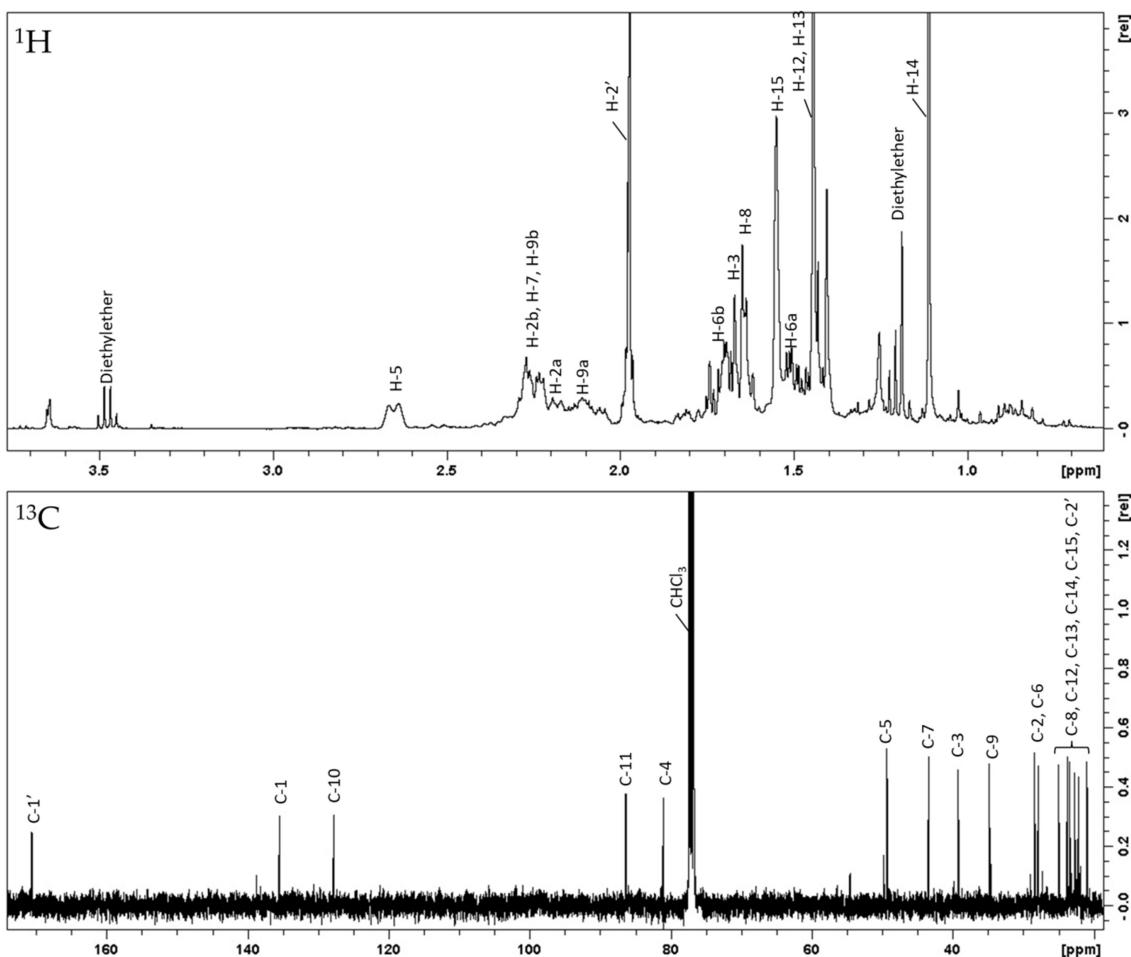


Abbildung 87. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 23 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Verbindung 23 besitzt die gleiche Summenformel wie 22 und auch die NMR-Daten zeigen große Analogien. Der größte Unterschied besteht in Pos. 14, an der das sp^2 -Methylen durch eine CH_3 - Gruppe ($\delta_{\text{H}} 1,55$ (s, H₃-14); $\delta_{\text{C}} 20,9$) ersetzt wurde, wohingegen an Pos. 1 ein quartärer sp^2 hybridisierter Kohlenstoff ($\delta_{\text{C}} 135,4$) statt des sp^3 Methin vorliegt. Dies spricht für eine Verschiebung der Doppelbindung gegenüber 22 von Pos. 10(14) nach 1(10), was durch HMBC- und COSY-Korrelationen bestätigt werden konnte (Abbildung 88, a).

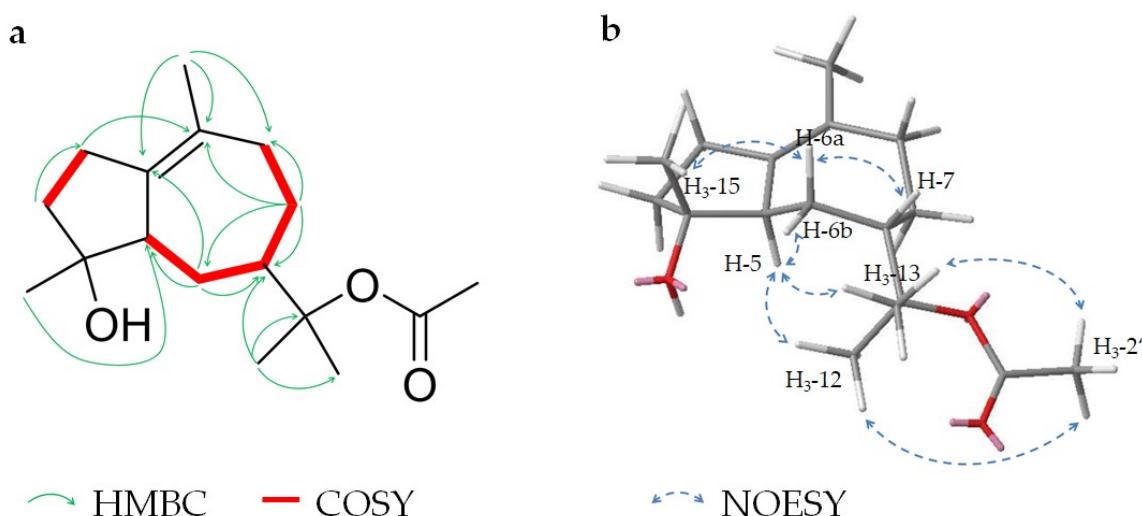
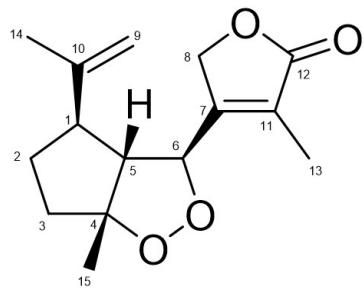


Abbildung 88. Ausschlaggebende HMBC- und COSY (a) sowie NOESY-Korrelationen (b) von 23.

Außerdem konnte die Position der Acetylgruppe durch eine NOESY-Korrelation zwischen H₃-2' und den beiden Methylgruppen in Pos. 12/13 bestimmt und im Gegensatz zu **22** auch die vollständige relative Konfiguration ermittelt werden. Hierfür waren vor allem die NOESY-Signale zwischen H-6a (δ_H 1,51) und -7 sowie -15 oberhalb der Ringebene und unterhalb zwischen H-5 und -6b (δ_H 1,72) sowie beiden Methylgruppen H₆-12/13 ausschlaggebend (**Abbildung 88, b**). Somit wird eine relative Stereochemie von (4*R*,5*R*,7*S*) postuliert und der Name *rel*-(+)-(4*R*,5*R*,7*S*)-11-Acetyl-guai-1(10)-en-4,11-ol in Analogie zu **22** für die bisher unbekannte Verbindung vorgeschlagen.

3.3.8. Seco-Verbindungen

3.3.8.1. Substanz 24: Myrrhanoperoxid



Auswaage: 0,7 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: +17 ($c\ 0,73\ g/l$)

$\lambda_{\max} (\log \epsilon)$: 205,9 nm (3,86);

c 55 $\mu\text{mol}/\text{l}$, Abbildung 152

CD: c 115 $\mu\text{mol}/\text{l}$, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 265,1435 [$\text{M}+\text{H}]^+$
(berechnet: $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$; 265,1434)

Reinheit: 89,4% (Abbildung 154)

Tabelle 62. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 24 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	2,60 (1H, ddd, 6,2, 6,2, 6,2)	52,3
2	1,69 (1H, dddd, 6,6, 6,6, 6,6, 13,0) 2,05 (1H, dddd, 6,5, 6,5, 6,5, 13,0)	30,4
3	1,79 (1H, ddd, 6,9, 6,9, 13,5) 1,92 (1H, ddd, 6,9, 6,9, 13,5)	37,0
4		95,2
5	3,19 (1H, dd, 5,5, 5,5)	66,4
6	4,79 ¹ (1H, m)	83,4
7		161,1
8	4,64 (2H, s)	72,7
9	4,76 (1H, brs) 4,78 ¹ (1H, m)	110,1
10		146,0
11		123,0
12		172,8
13	2,22 (3H, s)	12,8
14	1,76 (3H, s)	21,5
15	1,46 (3H, s)	24,2

¹ Überlagerte Signale

Substanz 24 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F1P3 isoliert. NMR-Daten sind in Tabelle 62 und Abbildung 89 zusammengefasst.

Die durch HRESIMS ermittelte Summenformel deckt sich mit ^1H - und ^{13}C -Daten, die ebenfalls 20 Protonen und 15 Kohlenstoffe zeigen. Durch HSQC können folgende Funktionalitäten ermittelt werden: drei tertiäre Methylgruppen (δ_H 1,46 (s, H₃-15), 1,76 (s, H₃-14), 2,22 (s, H₃-13); δ_C 24,2, 21,5 bzw. 12,8), drei sp^3 hybridisierte Methylengruppen (δ_H 1,69/2,05 (dddd/dddd, H-2), 1,79/1,92 (ddd/ddd, H-3), 4,64 (s, H₂-8); δ_C 30,4, 37,0 bzw. 72,7), eine sp^2 hybridisierte Methylengruppe (δ_H 4,76/4,78 (brs/m, H-9); δ_C 110,1), drei sp^3 hybridisierte Methingruppen (δ_H 2,60 (ddd, H-1), 3,19 (dd, H-5), 4,79 (m, H-6); δ_C 52,3, 66,4

bzw. 83,4), vier quaternäre Kohlenstoffe (δ_c 95,2 (C-4), 123,0 (C-11), 146,0 (C-10), 161,1 (C-7)) und ein Carbonyl-Kohlenstoff (δ_c 172,8 (C-12)).

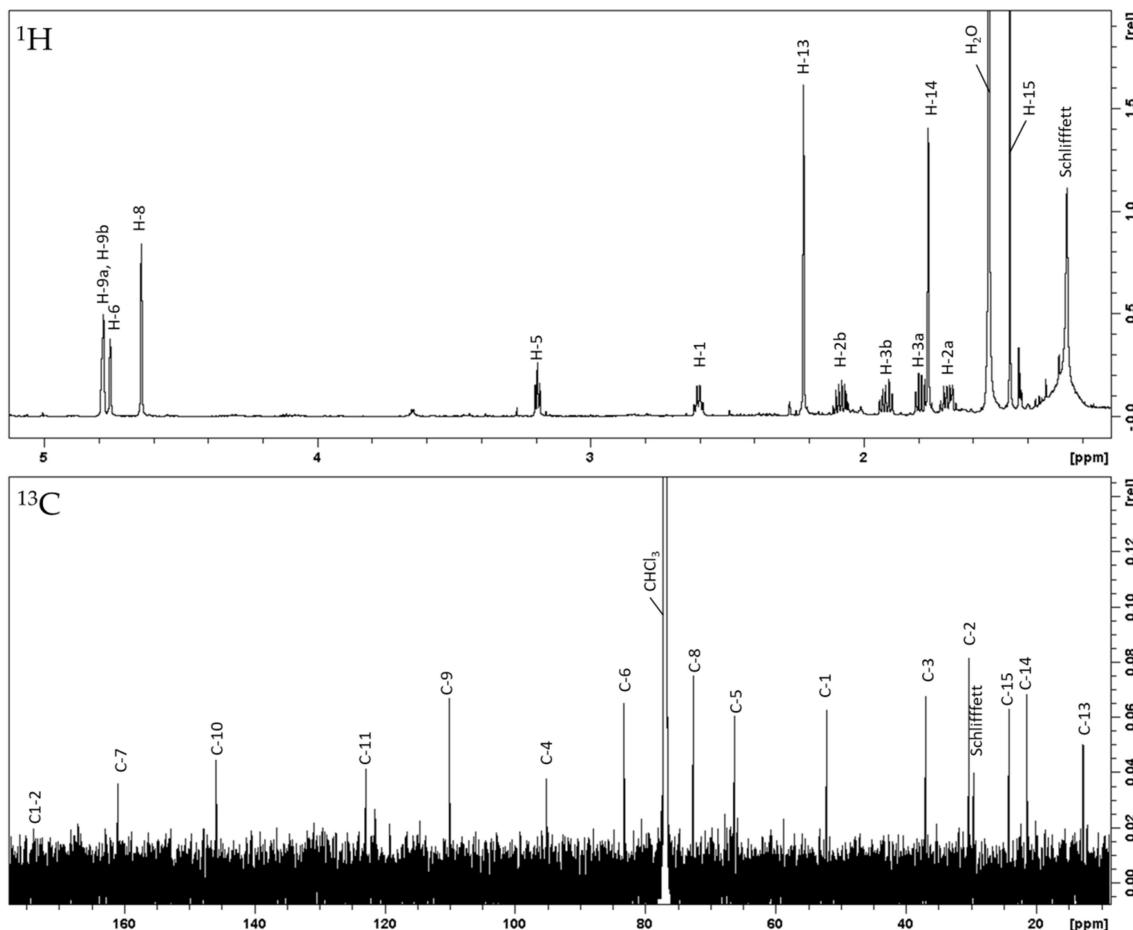


Abbildung 89. 1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 24 (600 bzw. 150 MHz, $CDCl_3$).

Verbindung 24 zeigt die typischen Verschiebungen eines 2-Methyl-2-butenolids (3.3.2.1), wobei C-8 hier zwei statt einem Proton trägt. Dies weist auf einen Bindungsbruch zwischen Pos. 8 und 9 hin. Die Analyse von HMBC- und COSY-Spektren ergab weiterhin, dass die Struktur einen Cyclopentanring besitzt (C-1-5), der durch eine Methyl- (C-15) und eine Isopropylgruppe (C-9, -10 und -14) substituiert ist. HMBC-Signale von beiden Ringsystemen zu C-6 deuten außerdem darauf hin, dass diese beiden Elemente über Pos. 6 verbunden sind. Darüber hinaus zeigen Pos. 4 und 6 typische Verschiebungen für einen direkt gebundenen Sauerstoff, was auf eine Hydroxylgruppe oder Etherbrücke hindeutet. Da laut Summenformel aber bereits alle Protonen und Kohlenstoffe eindeutig zugeordnet werden konnten und vier Sauerstoffe im Molekül vorhanden sind, muss es sich hier um eine intramolekulare Peroxidbrücke handeln (**Abbildung 90, a**).

Zur Bestimmung der Konfiguration wurden NOESY-Spektren herangezogen und die Stereochemie am zyklischen Peroxid durch Signale oberhalb der Ringebene zwischen der Methylgruppe (H₃-15) und den Protonen H-5 und H₂-8 bestimmt (**Abbildung 90, b**).

Weiterhin konnte die Orientierung an Pos. 1 durch Signale von H-5 und -15 zu den Protonen der Isopropylgruppe ermittelt werden (**Abbildung 90, c**). Andere NOESY-Signale der genannten Protonen sind nur sehr schwach ausgeprägt oder fehlen. Dadurch konnte eine (*rel*-1*R*,4*R*,5*R*,6*S*)-Konfiguration für **24** ermittelt werden.

Da es sich bei dieser Verbindung um das erste für Myrrhe beschriebene Peroxid handelt, wird der Name Myrrhanoperoxid vorgeschlagen.

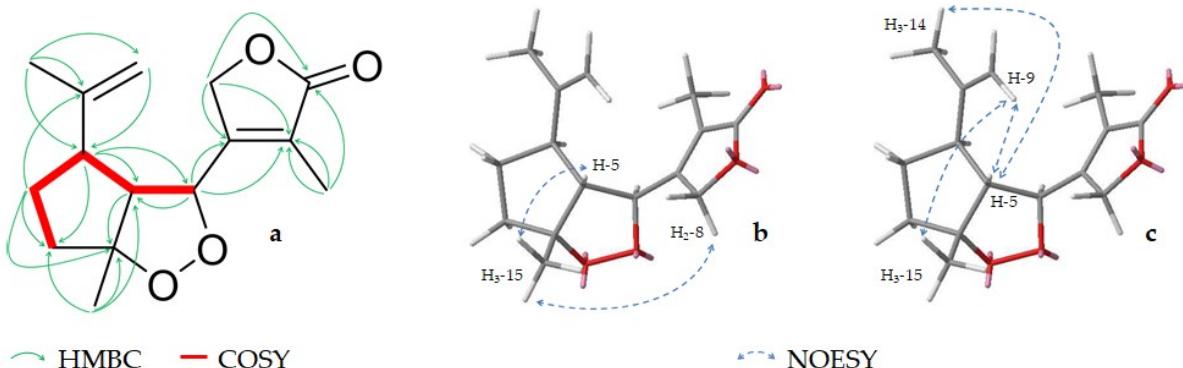
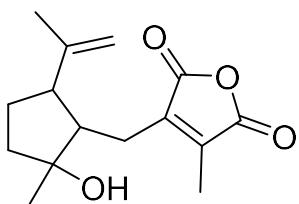


Abbildung 90. Ausschlaggebende HMBC- und COSY (a) sowie NOESY-Korrelationen (b und c) von **24**.

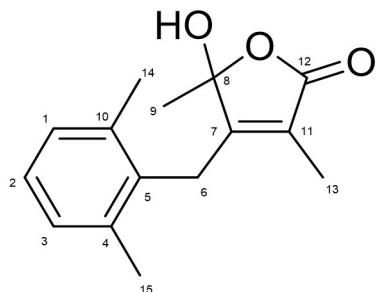
Endoperoxid-Strukturen sind unter sekundären Pflanzeninhaltsstoffen selten, allerdings finden sich Peroxide auch in anderen Sesquiterpenen wie Artemisinin. Das außergewöhnliche Kohlenstoffgerüst der Verbindung entsteht biosynthetisch vermutlich aus einem Guajan durch eine C-C-Spaltung zwischen Pos. 8 und 9 (siehe dazu auch **Abbildung 126**). In der Literatur sind andere Seco-Guaianolide hauptsächlich in den Gattungen *Tanacetum* und *Artemisia* beschrieben. Die Mehrzahl dieser Verbindungen gehört zum 1,10-seco-Typ [124–128], es treten aber auch 4,5-seco-Moleküle [129,130] oder der seltene 8,9-seco-Typ auf, der für *Chloranthus anhuensis* nachgewiesen wurde [131]. Ausgehend von dieser Struktur, dem von Xu et al. isolierten Chloraniolid A, kann die biosynthetische Entstehung von **24** gut nachvollzogen werden (**Abbildung 91**).



Chloraniolid A

Abbildung 91. Struktur von Chloraniolid A.

3.3.8.2. Substanz 25: 9,10-Seco-isohydroxylindestrenolid



Auswaage: 2,1 mg

Aussehen: farbloses Öl

$[\alpha]_D^{25}$: -2 (c 2,17 g/l)

$\lambda_{\max} (\log \varepsilon)$: 210,0 nm (4,10), 282,0 nm (2,93);

c 58 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 110 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 247,1333 [M+H]⁺

(berechnet: C₁₅H₁₈O₃; 247,1329)

Reinheit: 95,6% (**Abbildung 154**)

Tabelle 63. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 25 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	7,04 (1H, d, 7,7)	128,3
2	7,11 (1H, dd, 7,7, 7,7)	127,3
3	7,04 (1H, d, 7,7)	128,3
4		137,1
5		132,5
6	3,69 (1H, d, 18,7) 3,80 (1H, d, 18,7)	27,4
7		157,8
8		105,3
9	1,58 (3H, s)	24,3
10		137,1
11		124,7
12		171,7
13	1,29 (3H, brs)	7,5
14	2,28 (3H, s)	20,1
15	2,28 (3H, s)	20,1

Substanz 25 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F3P3 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 63** und **Abbildung 92** zusammengefasst.

NMR-Daten zeigen Signale für 15 Kohlenstoffe und 18 Protonen, die anhand von HSQC-Signalen in folgende Funktionalitäten eingeteilt werden können: vier tertiäre Methylgruppen (δ_H 1,58 (s, H₃-9) 1,29 (brs, H₃-13), 2,28 (s/s, H₃-14/H₃-15); δ_C 24,3, 7,5 bzw. 20,1), ein sp³-Methylen (δ_H 3,69/3,80 (d/d, H-6), δ_C 27,4), drei aromatische Methine (δ_H 7,04 (d, H-1/3), 7,11 (dd, H-2); δ_H 128,3 bzw. 127,3), sechs quaternäre Kohlenstoffe (δ_H 105,3 (C-8), 137,1 (C-4), 137,1 (C-10), 132,5 (C-5), 157,8 (C-7), 124,7 (C-11)) und ein Carbonyl-Kohlenstoff (δ_C 171,7 (C-12)).

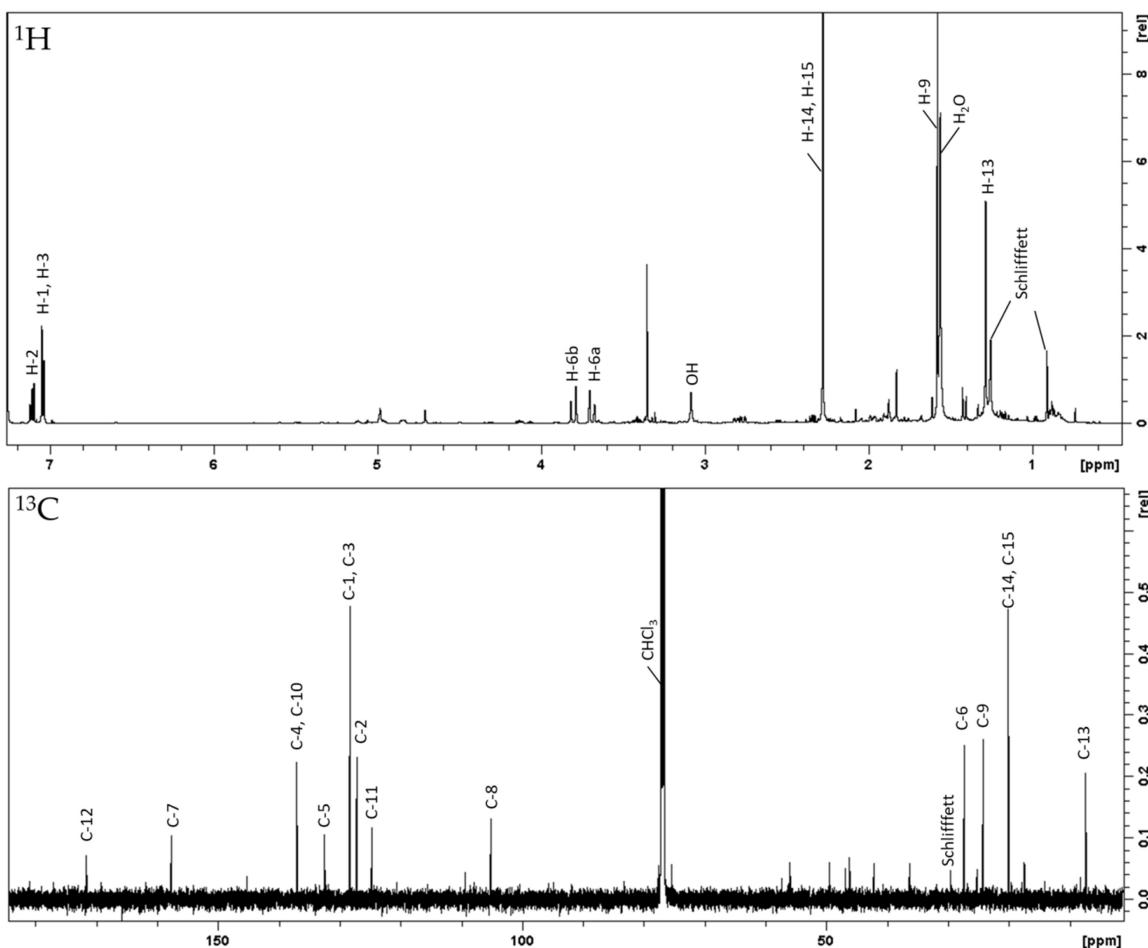


Abbildung 92. ¹H- (oben) und ¹³C-NMR-Spektrum (unten) von Substanz 25 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃).

Ein Vergleich der chemischen Verschiebungen zeigt große Ähnlichkeiten mit einem 2-Methyl-2-butenolid (3.3.2.1). Dieses Strukturelement zeigt HMBC- und COSY-Korrelationen zu einer Methylgruppe (C-9), die sich an die Pos. 8 anschließt. Darüber hinaus deuteten die sechs Kohlenstoffe mit einer Verschiebung zwischen 120-140 ppm und zugehörigen Protonen (bei ca. 7 ppm) auf eine aromatische Struktur hin die eine Symmetrieebene besitzt, da einige Signale doppelt vorliegen (C-1/3, C-4/10, C-14/15, H-1/3, H₃-14/15). Durch Analyse von HMBC- und COSY-Spektren konnte dieses Strukturelement als ein 2,6-Dimethylphenyl identifiziert werden, das über Pos. 6 mit dem 2-Methyl-2-butenolid verbunden ist. H-6 zeigt daher HMBC-Kopplungen zu beiden Ringsystemen (Abbildung 93).

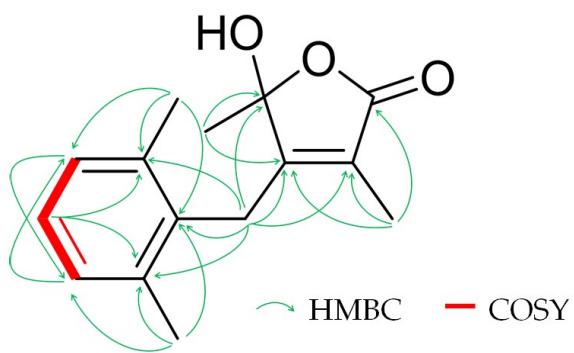
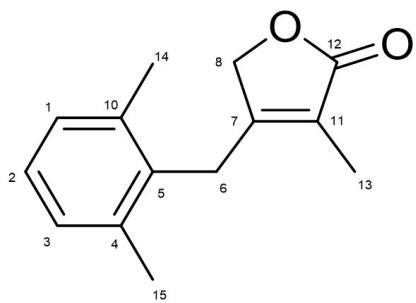


Abbildung 93. Ausschlaggebende HMBC- und COSY-Korrelationen für 25.

Das ungewöhnliche Kohlenstoffskelett entsteht wahrscheinlich durch die biosynthetische Spaltung einer C-C-Bindungen (Pos. 8/9) aus einem Eudesman (siehe dazu auch **Abbildung 126**). Dieser Grundkörper war bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht bekannt und wird hier erstmals beschrieben. In Übereinstimmung mit den bestehenden Trivialnamen von Sesquiterpenen wird der Name 9,10-Seco-isohydroxylindestrenolid für 25 vorgeschlagen.

3.3.8.3. Substanz 26: 9-Nor-9,10-seco-isolindestrenolid



Auswaage: 0,8 mg

Aussehen: farbloses Öl

λ_{\max} ($\log \varepsilon$): 202,0 nm (3,97), 280,9 nm (2,41);
c 82 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 103 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 217,1223 [M+H]⁺
(berechnet: C₁₄H₁₆O₂; 217,1223)

Reinheit: 98,8% (**Abbildung 154**)

Tabelle 64. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 26 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	7,02 (1H, d, 7,4)	128,1
2	7,08 (1H, dd, 7,4, 7,4)	126,7
3	7,02 (1H, d, 7,4)	128,1
4		134,1
5		137,0
6	3,66 (2H, s)	25,7
7		156,2
8	4,55 (2H, s)	72,8
10		134,1
11		123,9
12		175,0
13	1,43 (3H, s)	11,1
14	2,27 (3H, s)	20,3
15	2,27 (3H, s)	20,3

¹ Überlagerte Signale

Substanz 26 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F1P2 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 64** und **Abbildung 94** zusammengefasst.

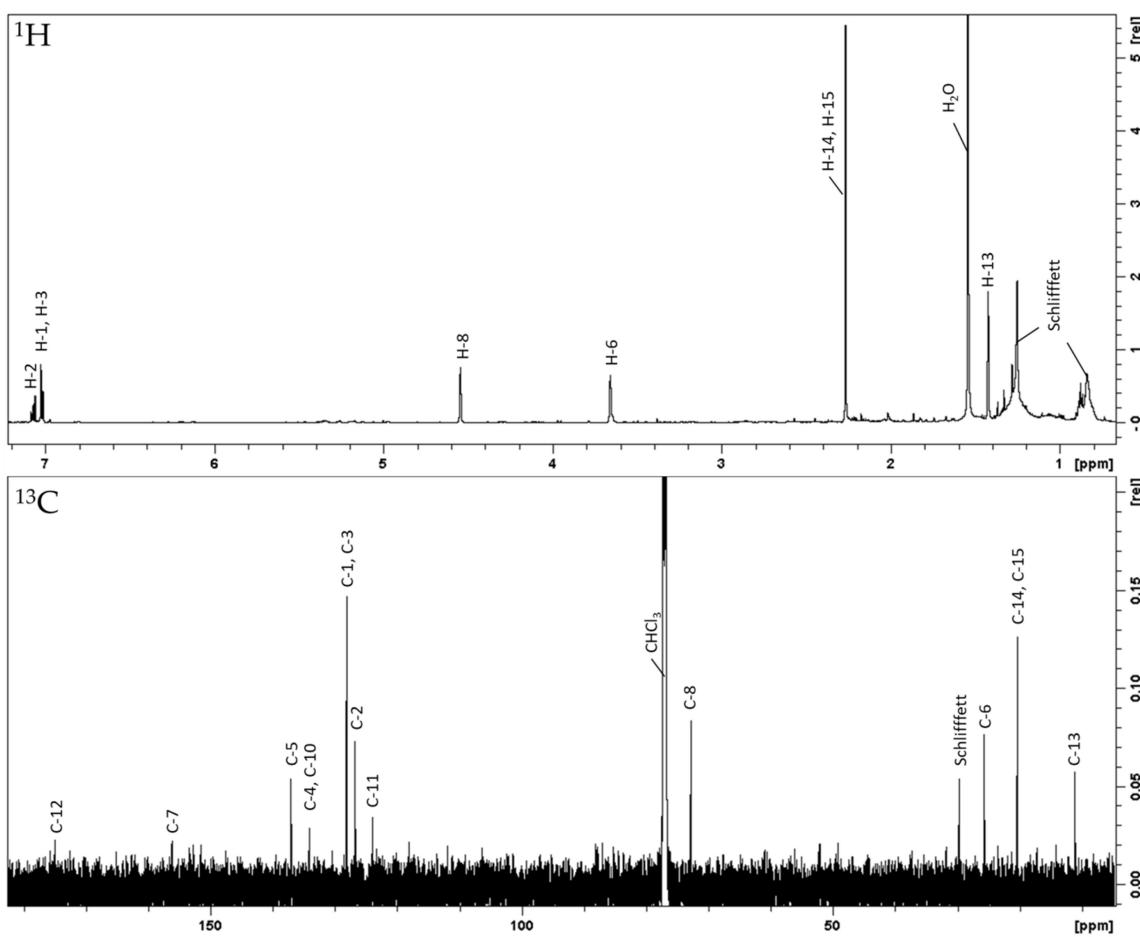


Abbildung 94. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **26** (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

NMR-Daten zeigten Signale für 14 Kohlenstoffe und 16 Protonen, die anhand von HSQC-Signalen in folgende Funktionalitäten eingeteilt werden konnten: drei tertiäre Methylgruppen (δ_{H} 1,43 (s, H₃-13), 2,27 (s/s, H₃-14/H₃-15); δ_{C} 11,1 bzw. 20,3), zwei sp³-Methylene (δ_{H} 3,66 (s, H₂-6), 4,55 (s, H₂-8), δ_{C} 25,7 bzw. 72,8), drei aromatische Methine (δ_{H} 7,02 (d, H-1/3), 7,08 (dd, H-2); δ_{C} 128,1 bzw. 126,7), fünf quaternäre Kohlenstoffe (δ_{C} 134,1 (C-4), 134,1 (C-10), 137,0 (C-5), 156,2 (C-7), 123,9 (C-11)) und ein Carbonylkohlenstoff (δ_{H} 175,0 (C-12)).

Die Verbindung **26** zeigt große Ähnlichkeiten zu **25**, und weist ebenfalls eine 2-Methyl-2-butenolid Einheit sowie ein über Pos. 6 verbundenes 2,6-Dimethylphenyl auf. Allerdings fehlt hier das Signal der Methylgruppe (C-9) und eines quaternären Kohlenstoffs (C-8). Stattdessen wird ein zusätzliches sp³ hybridisiertes Methylen beobachtet (δ_{H} 4,55 (s, H₂-8), δ_{C} 72,8), welches COSY- und HMBC-Korrelationen zum 2-Methyl-2-butenolid zeigt. Unter Berücksichtigung der HRESIMS-Daten, die gegenüber **25** eine um CH_2O verminderte Masse zeigen, kann vermutet werden, dass sowohl die Methyl- (C-9) als auch die Hydroxylgruppe an Pos. 8 abgespalten wurden. Dies konnte durch COSY- und HMBC- Daten bestätigt werden (**Abbildung 95**).

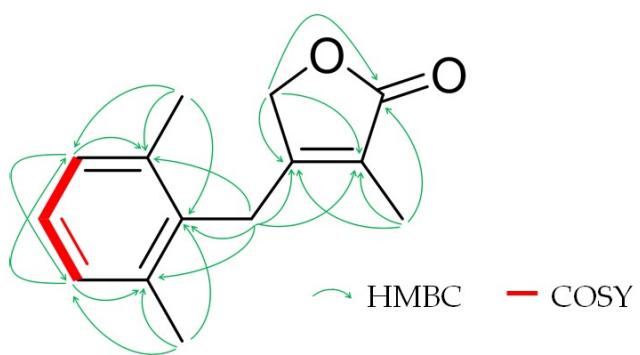
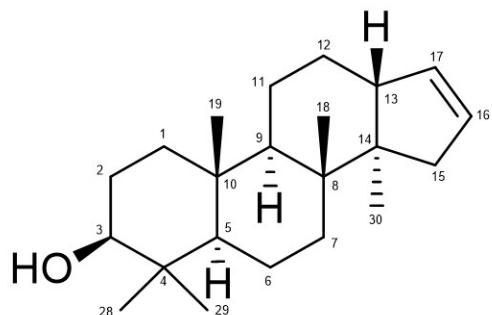


Abbildung 95. Ausschlaggebende HMBC- und COSY-Korrelationen der Verbindung 26.

Bei Abspaltung von Methylgruppen spricht man von sogenannten Nor-Verbindungen, es wird daher die Bezeichnung 9-Nor-9,10-seco-isolindestrenolid für die bisher unbekannte Verbindung **26** vorgeschlagen.

3.3.9. Verkürzte Triterpene

3.3.9.1. Substanz 27: Mansumbinol



Auswaage: 16,1 mg

Aussehen: weiße Nadeln

[α]_D²⁵: -19 (c 2,64 g/l)

λ_{\max} (log ε): kein Maximum;
c 164 μ mol/l, Abbildung 152

CD: c 104 μ mol/l, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 334,3105 [M+NH₄]⁺
(berechnet: C₂₂H₃₆O; 334,3104)

Reinheit: 83,1% (Abbildung 154)

Tabelle 65. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 27 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_c
1	0,98 (1H, ddd, 4,4) 1,69 ¹ (1H, m)	39,0
2	1,59 ¹ (2H, m)	27,4
3	3,20 (1H, dd, 5,0, 11,2)	78,9
4		39,0
5	0,76 (1H, dd, 3,2, 11,8)	56,0
6	1,51 ¹ (2H, m)	18,3
7	1,29 ¹ (1H, m) 1,57 ¹ (1H, m)	35,5
8		39,9
9	1,46 ¹ (1H, m)	50,9
10		37,4
11	1,27 ¹ (1H, m) 1,59 ¹ (1H, m)	21,9
12	1,43 ¹ (1H, m) 1,72 ¹ (1H, m)	23,9
13	2,72 (1H, m)	47,7
14		53,0
15	1,69 ¹ (1H, m) 2,35 (1H, brd, 15,9)	39,9
16	5,65 (1H, m)	130,0
17	5,56 (1H, m)	134,1
18	1,01 (3H, s)	18,3
19	0,85 (3H, s)	16,1
28	0,78 (3H, s)	15,3
29	0,98 (3H, s)	28,0
30	0,99 (3H, s)	17,1

¹ Überlagerte Signale

Substanz 27 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F5C2P1 isoliert. NMR-Daten sind in Tabelle 65 und Abbildung 96 zusammengefasst.

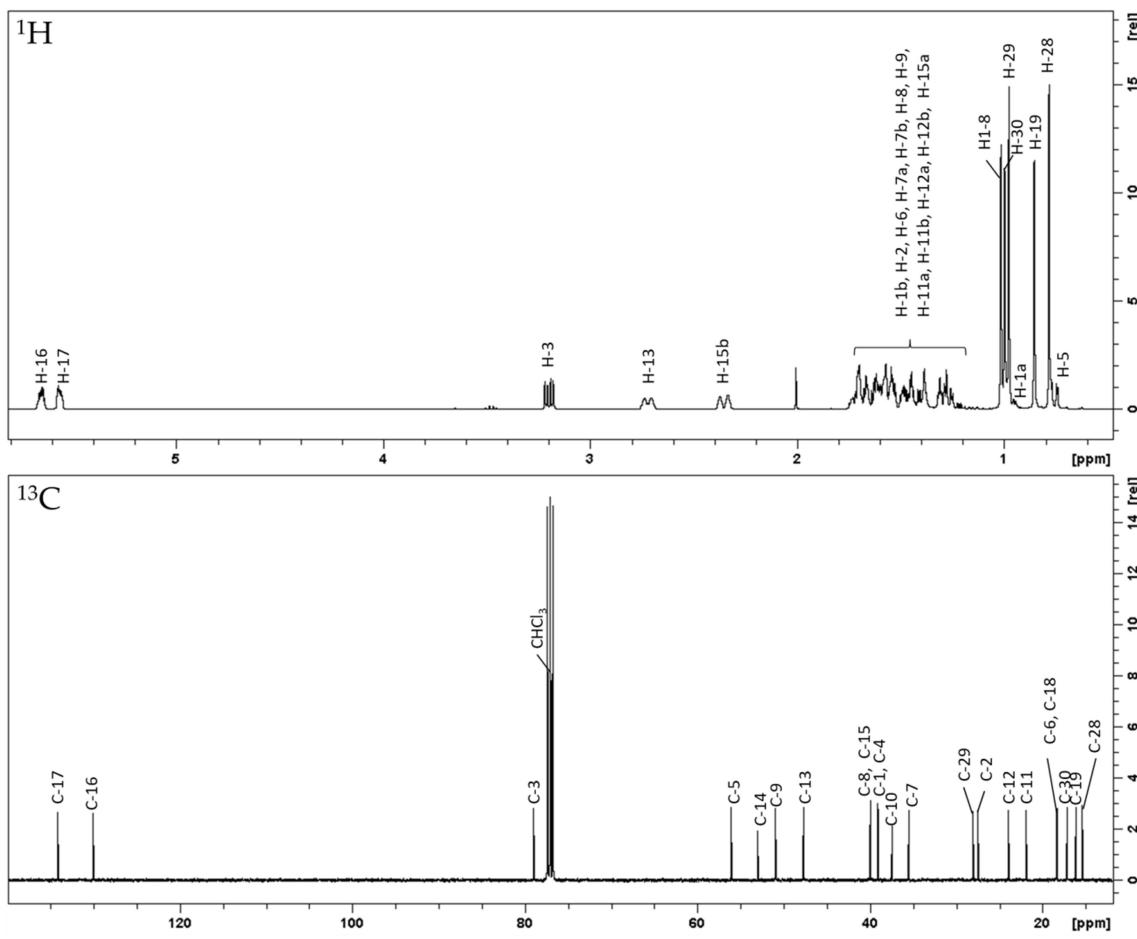
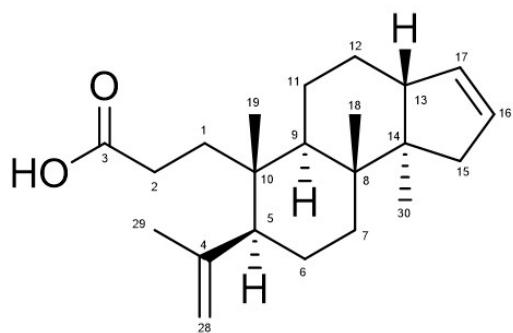


Abbildung 96. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 27 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Die Verbindung konnte anhand von NMR-Daten und dem übereinstimmenden $[\alpha]_D^{25}$ (-23) als das von Provan et al. 1986 erstmals aus *C. incisa* isolierte Mansumbinol identifiziert werden [36]. In *C. myrrha* wurde Mansumbinol 2020 zum ersten Mal nachgewiesen [29].

3.3.9.2. Substanz 28: 3,4-Seco-mansumbionsäure



Auswaage: 9,4 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +1 ($c\ 1,85\ g/l$)

$\lambda_{\max} (\log \epsilon)$: kein Maximum;
c 56 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 100 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: $m/z\ 329,2491\ [\text{M}-\text{H}]^-$
(berechnet: $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_2$; 329,2486)

Reinheit: 93,4% (**Abbildung 154**)

Tabelle 66. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 28 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	1,62 ¹ (2H, m)	34,3
2	2,21 (1H, ddd, 7,3, 10,5, 15,2) 2,41 ¹ (1H, m)	28,2
3		179,8
4		147,5
5	2,00 (1H, dd, 3,8, 11,9)	51,0
6	1,39 ¹ (1H, m)	24,7
	1,87 (1H, ddd, 3,3, 12,9, 25,9)	
7	1,25 (1H, ddd, 3,2, 3,2, 12,9) 1,62 ¹ (1H, m)	34,1
8		39,6
9	1,64 ¹ (1H, m)	41,4
10		39,3
11	1,34 ¹ (1H, m) 1,49 ¹ (1H, m)	22,4
12	1,45 ¹ (1H, m) 1,74 ¹ (1H, m)	23,8
13	2,72 (1H, m)	47,7
14		53,4
15	1,70 ¹ (1H, m) 2,35 ¹ (1H, brd)	40,0
16	5,65 (1H, m)	130,0
17	5,56 (1H, m)	134,0
18	1,07 (3H, s)	17,9
19	0,87 (3H, s)	20,0
28	4,68 (1H, d, 1,5)	113,5
29	4,86 (3H, brs)	23,2
30	1,74 (3H, s)	17,0

¹ Überlagerte Signale

Substanz 28 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C3P1 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 66** und **Abbildung 97** zusammengefasst.

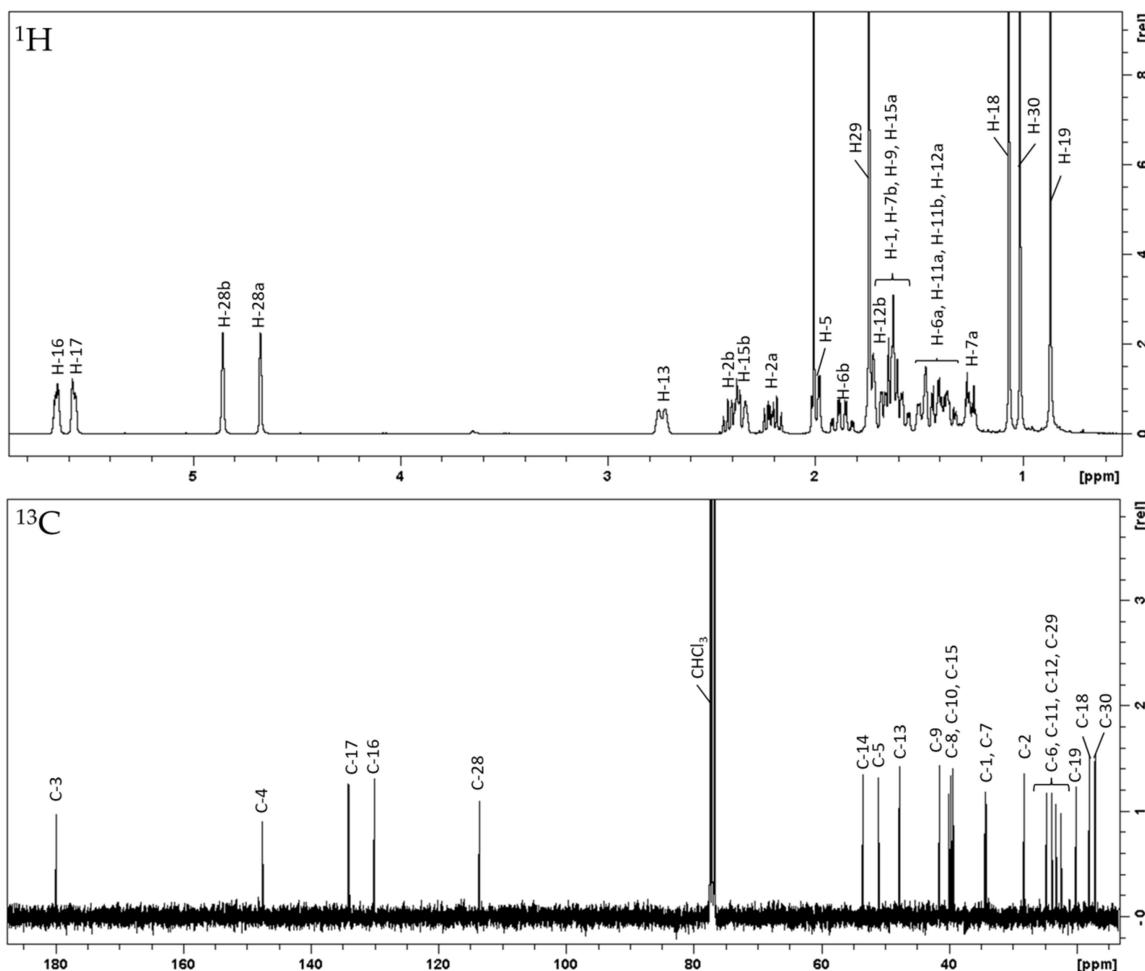
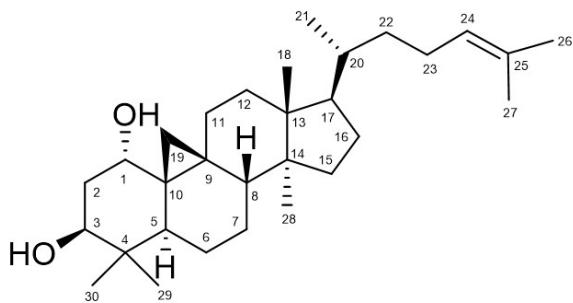


Abbildung 97. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 28 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Bei **28** handelt es sich um 3,4-Seco-mansumbionsäure, eine Verbindung die wie **27** ebenfalls aus *C. incisa* bekannt ist [36] und auch in *C. myrrha* vorkommt [35]. Auch bei **28** handelt es sich um ein verkürztes Triterpen, dem die Seitenkette an C-17 fehlt. Außerdem kam es während der Biosynthese zu einem zusätzlichen Bindungsbruch zwischen C-3 und -4, wodurch eine Carbonsäure-Gruppe entstanden ist. Der saure Charakter der Verbindung machte sich auch während der Isolierung durch ein ausgeprägtes Tailing bemerkbar (Bsp. DC unter 3.2.7.11)

3.3.10. Triterpene

3.3.10.1. Substanz 29: Cycloartan-24-en-1 α ,3 β -diol



Auswaage: 6,4 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +64 (c 2,02 g/l)

$\lambda_{\text{max}} (\log \epsilon)$: kein Maximum; c 76 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 152

CD: c 114 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 477,3507 [M+Cl] $^-$
(berechnet: C₃₀H₅₀O₂; 477,3505)

Reinheit: 90,5% (Abbildung 154)

Tabelle 67. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 29 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	3,58 (1H, dd, 2,9)	73,7
2	1,74 (1H, ddd, 2,9, 12,7, 12,7) 1,90 ¹ (1H, m)	36,6
3	3,74 (1H, dd, 4,4, 12,1)	73,8
4		40,5
5	1,89 ¹ (1H, m)	39,5
6	0,83 (1H, dd, 2,4, 12,4) 1,66 ¹ (1H, m)	20,8
7	1,09 ¹ (1H, m) 1,33 ¹ (1H, m)	25,7
8	1,49 (1H, dd, 4,5, 12,5)	48,0
9		20,8
10		30,3
11	1,30 ¹ (1H, m) 2,19 (1H, ddd, 8,5, 8,7, 14,6)	26,1
12	1,67 ¹ (2H, m)	32,9
13		45,1
14		48,8
15	1,29 ¹ (2H, m)	35,7
16	1,291 (1H, m) 1,90 ¹ (1H, m)	28,1
17	1,59 ¹ (1H, m)	52,3
18	0,95 ¹ (3H, s)	18,2
19	0,46 (1H, d, 4,6) 0,71 (1H, d, 4,6)	30,0
20	1,38 ¹ (1H, m)	35,9
21	0,88 (3H, d, 6,4)	18,2
22	1,05 ¹ (1H, m) 1,44 ¹ (1H, m)	36,3
23	1,86 ¹ (1H, m) 2,04 ¹ (1H, m)	25,0
24	5,10 (1H, dd, 7,0, 7,0)	125,2
25		131,0
26	1,60 (3H, s)	17,7
27	1,68 (3H, s)	25,8
28	0,92 (3H, s)	19,5
29	1,00 (3H, s)	25,2
30	0,79 (3H, s)	13,0

¹ Überlagerte Signale

Substanz **29** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F9C3P2 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 67** und **Abbildung 98** zusammengefasst.

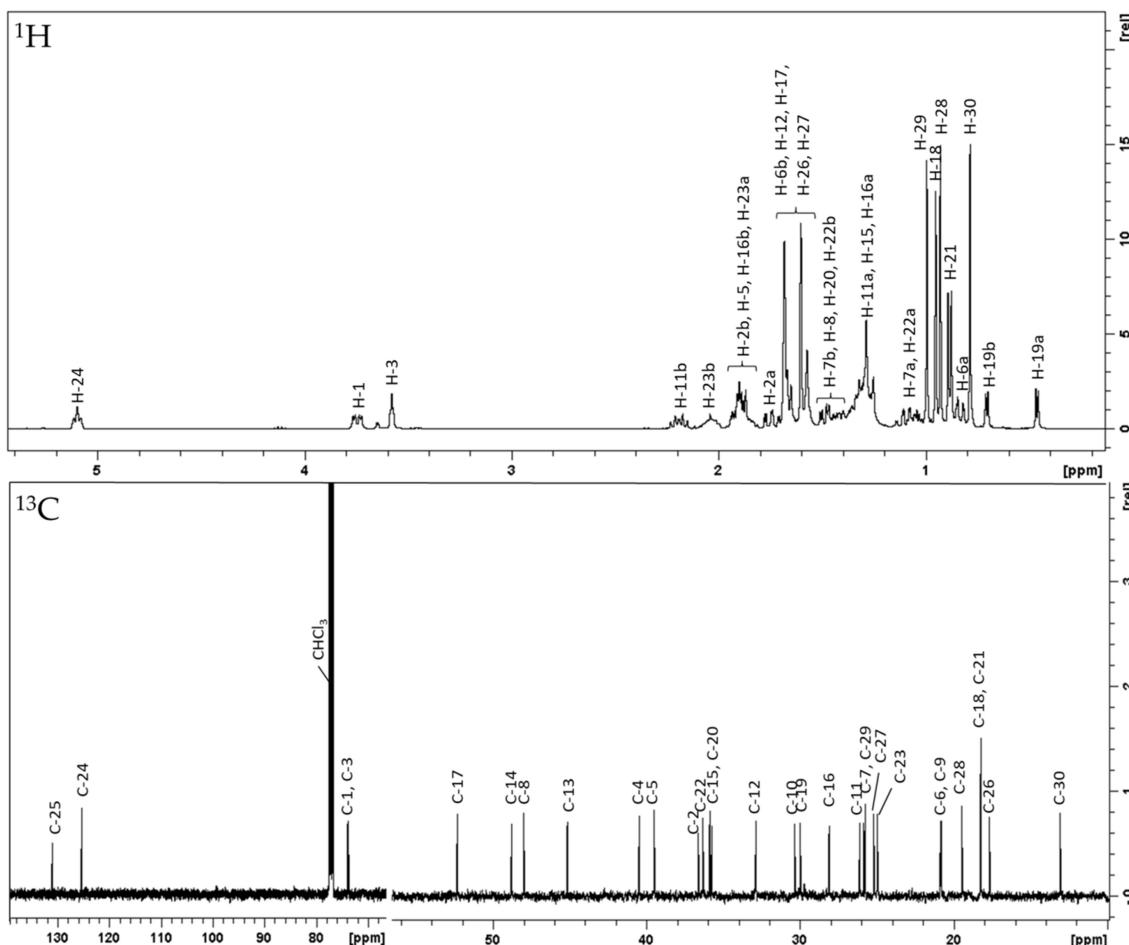
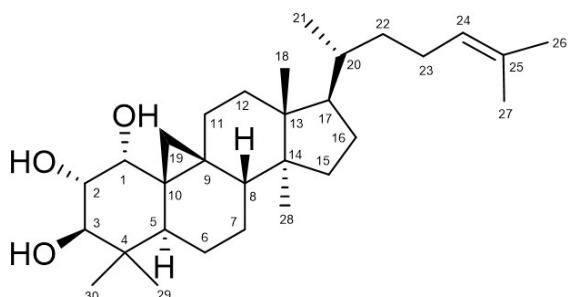


Abbildung 98. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **29** (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Die Verbindung konnte als Cycloartan-24-en- $1\alpha,3\beta$ -diol identifiziert werden, da sowohl die ermittelten chemischen Verschiebungen als auch die Kopplungskonstanten mit der 2008 von Shen et al. aus *C. opobalsamum* isolierten Substanz übereinstimmen [132]. Aus derselben Pflanze wurde 2012 auch das 3α -Isomer der Verbindung isoliert, hier zeigen sich in den NMR Daten aber deutliche Abweichungen [133]. Diese Substanz wurde damit erstmals auch in *C. myrrha* nachgewiesen.

3.3.10.2. Substanz 30: Cycloartan-24-en-1 α ,2 α ,3 β -triol



- Auswaage:** 48,4 mg
Aussehen: weiße Kristalle
[α]_D²⁵: +68 (c 1,74 g/l)
 λ_{\max} (log ε): kein Maximum; c 124 μmol/l, **Abbildung 152**
CD: c 91 μmol/l, **Abbildung 153**
HRESIMS: *m/z* 476,4100 [M+NH₄]⁺ (berechnet: C₃₀H₅₀O₃; 476,4098)
Reinheit: 90,6% (**Abbildung 154**)

Tabelle 68. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 30 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ _H	δ _C
1	3,54 (1H, d, 3,1)	75,3
2	3,63 (1H, brd, 9,8)	72,6
3	3,48 (1H, d, 9,0)	78,3
4		40,1
5	1,92 ¹ (1H, m)	39,3
6	0,82 ¹ (1H, m) 1,63 ¹ (1H, m)	20,3
7	1,14 ¹ (1H, m, 2,4, 12,5) 1,34 ¹ (1H, m)	25,6
8	1,52 (1H, dd, 4,6, 12,3)	47,9
9		20,6
10		29,1
11	1,26 ¹ (1H, m) 2,28 (1H, ddd, 8,6, 8,6, 15,0)	26,2
12	1,67 ¹ (2H, m)	32,8
13		45,2
14		48,8
15	1,29 ¹ (2H, m)	35,7
16	1,29 ¹ (1H, m) 1,91 ¹ (1H, m)	28,1
17	1,59 ¹ (1H, m)	52,3
18	0,95 (3H, s)	18,1
19	0,48 (1H, d, 4,4)	29,4
20	0,72 (1H, d, 4,4)	35,9
21	1,38 ¹ (1H, m)	18,2
22	0,89 (3H, d, 6,4)	36,3
23	1,04 ¹ (1H, m) 1,43 ¹ (1H, m)	25,0
24	1,86 ¹ (1H, m) 2,04 (1H, m)	125,2
25	5,10 (1H, dd, 7,2, 7,2)	130,9
26		17,7
27	1,60 (3H, s)	25,7
28	1,69 (3H, s)	19,4
29	0,95 (3H, s)	25,6
30	1,00 (3H, s)	14,3

¹ Überlagerte Signale

Substanz **30** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F9C3P1 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 68** und **Abbildung 99** zusammengefasst.

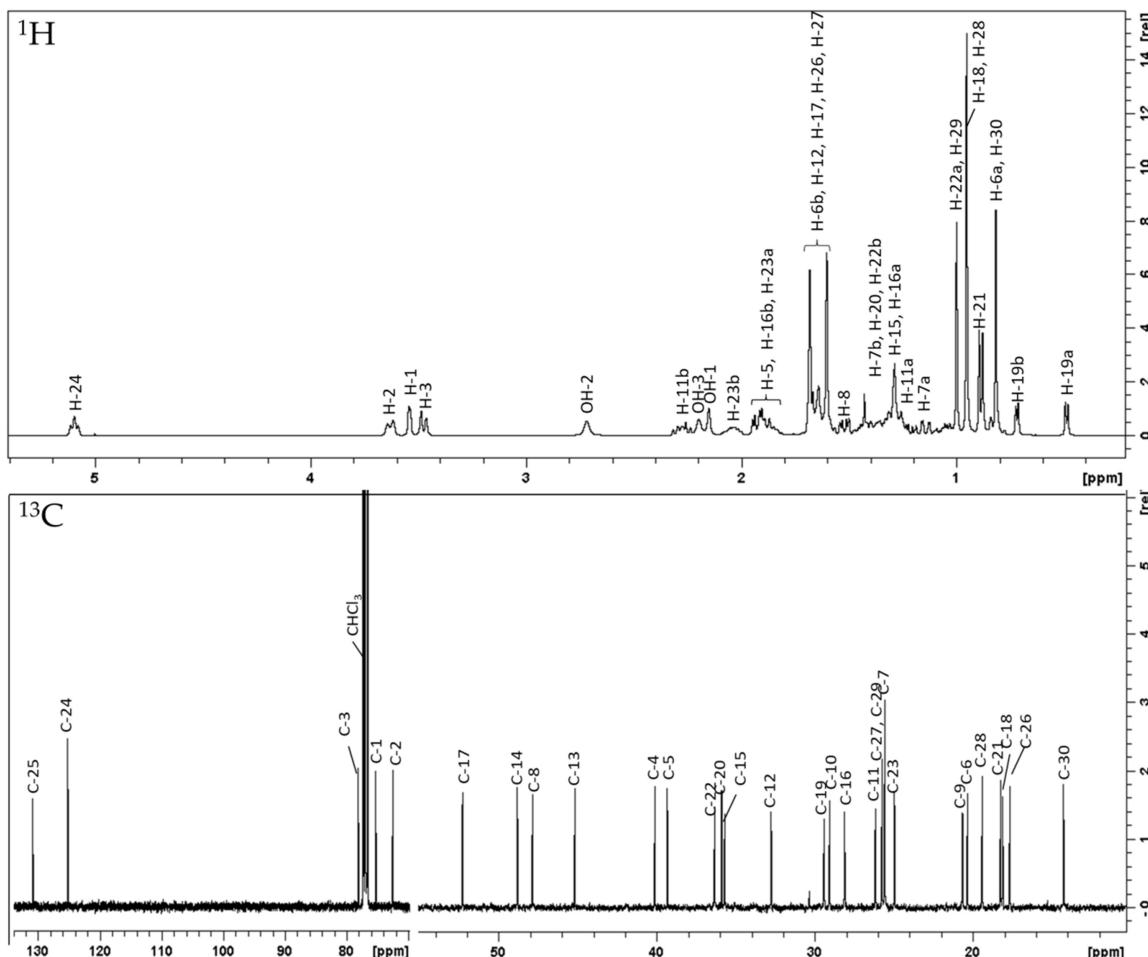
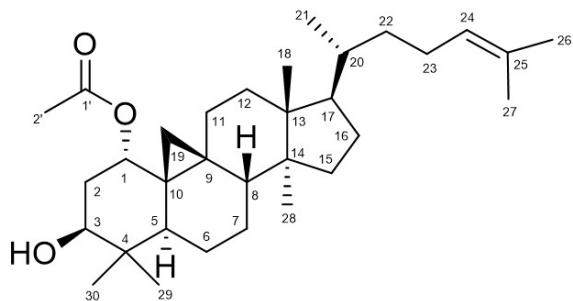


Abbildung 99. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **30** (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Verbindung **30** weist große Ähnlichkeiten mit **29** auf. Lediglich an Pos. 2 ist eine zusätzliche Hydroxyl-Gruppe in α -Stellung eingefügt. Bei dieser Verbindung handelt es sich daher um Cycloartan-24-en-1 α ,2 α ,3 β -triol welches von Shen et al. 2007 aus *C. opobalsamum* isoliert [110] und 2015 auch ins *C. myrrha* nachgewiesen wurde [134]. Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten sprechen dabei eindeutig für das 3 β - und nicht das 3 α -Isomer, welches ebenfalls bekannt ist [132]. Aufgrund der großen Substanzmenge, die durch die Isolierung gewonnen und im NMR in CDCl_3 eingesetzt werden konnte, sind die drei Hydroxy-Gruppen auch im ^1H -Spektrum von **30** sichtbar (**Abbildung 99**) und konnten über HMBC-Signale den Pos. 1, 2 und 3 zugeordnet werden.

3.3.10.3. Substanz 31: 1α -Acetoxy-9,19-cyclolanost-24-en-3 β -ol



Auswaage: 2,0 mg
Aussehen: weiße Kristalle
[α]_D²⁵: +46 (c 2,07 g/l)
 λ_{max} (log ε): kein Maximum;
 c 85 μmol/l, Abbildung 152
CD: c 107 μmol/l, Abbildung 153
HRLIFDIMS: m/z 484,3900 M $^{+}$
 (berechnet: C₃₂H₅₂O₃; 484,3911)
Reinheit: 68,8% (Abbildung 154)

Tabelle 69. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 31 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	4,63 (1H, dd, 2,8, 2,8)	76,3
2	1,75 (1H, ddd, 2,8, 12,2, 14,0) 2,01 (1H, ddd, 3,0, 4,4, 14,0)	34,2
3	3,57 (1H, dd, 4,4, 12,1)	74,2
4		40,2
5	1,86 ¹ (1H, m)	40,7
6	0,87 ¹ (1H, m) 1,65 ¹ (1H, m)	20,5
7	1,15 ¹ (1H, m) 1,37 ¹ (1H, m)	25,1
8	1,58 ¹ (1H, m)	46,6
9		21,1
10		28,2
11	1,21 ¹ (1H, m) 1,86 ¹ (1H, m)	26,0
12	1,54 ¹ (2H, m)	32,7
13		45,1
14		48,8
15	1,28 ¹ (2H, m)	35,5
16	1,29 ¹ (1H, m) 1,90 ¹ (1H, m)	28,0
17	1,57 ¹ (1H, m)	52,2
18	0,93 (3H, s)	17,8
19	0,44 (1H, d, 4,4) 0,74 (1H, d, 4,4)	28,3
20	1,38 ¹ (1H, m)	35,9
21	0,87 (3H, d, 6,6)	18,2
22	1,04 ¹ (1H, m) 1,44 ¹ (1H, m)	36,3
23	1,86 ¹ (1H, m) 2,04 ¹ (1H, m)	24,9
24	5,10 (1H, dd, 7,2, 7,2)	125,2
25		130,9
26	1,60 (3H, s)	17,6
27	1,68 (3H, s)	25,7
28	0,91 (3H, s)	19,1
29	1,01 (3H, s)	25,0
30	0,80 (3H, s)	13,0
1'		170,3
2'	2,06 (3H, s)	21,4

¹ Überlagerte Signale

Substanz **31** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F7C2P5 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 69** und **Abbildung 100** zusammengefasst.

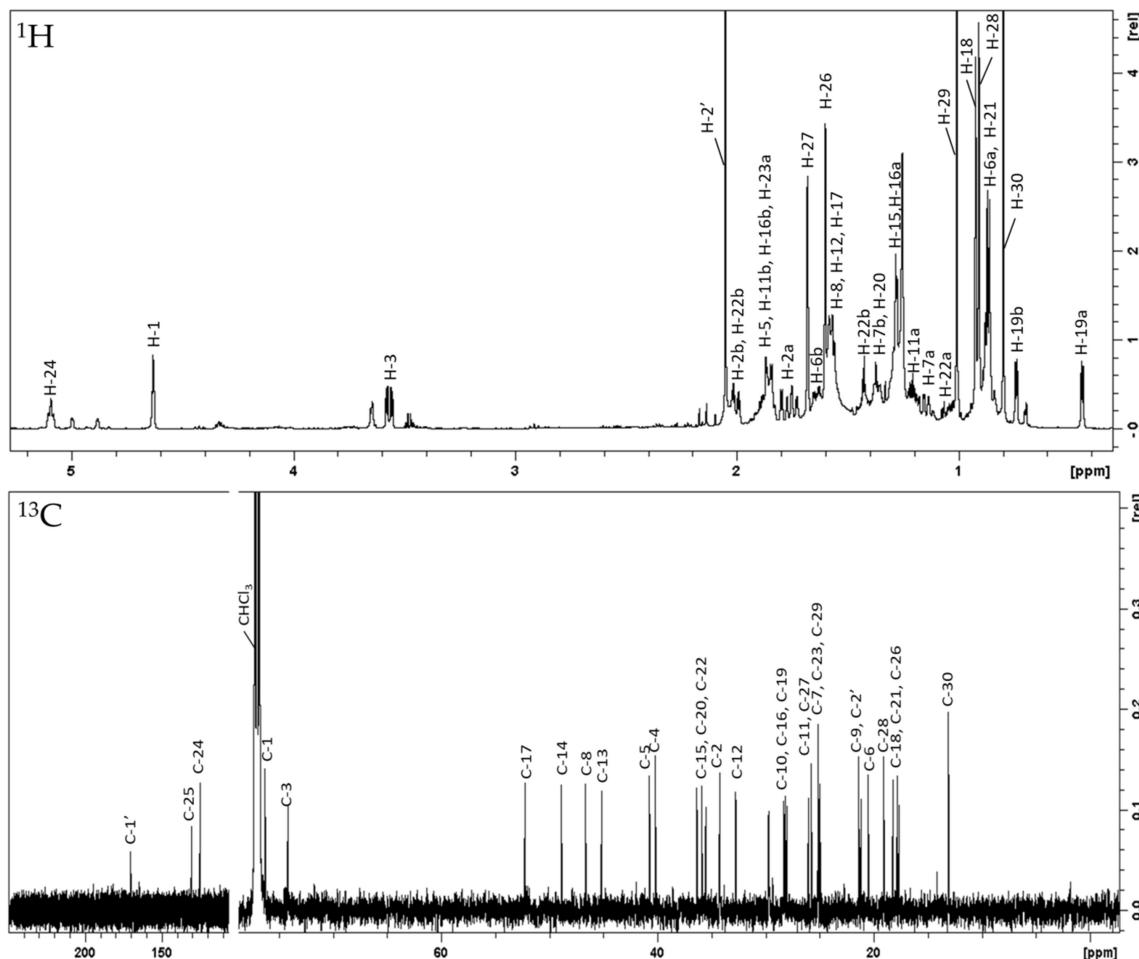
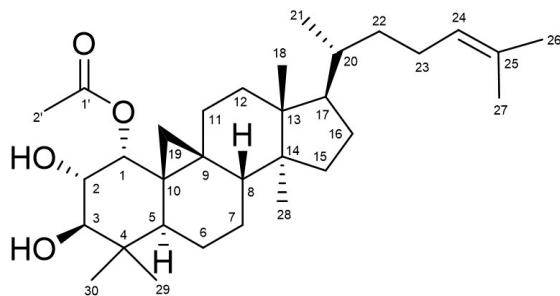


Abbildung 100. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **31** (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Die NMR-Daten von **31** zeigen große Ähnlichkeiten mit **29**. Der größte Unterschied tritt im A-Ring bei der chemischen Verschiebung von H-1 auf, die um 1,05 ppm abweicht. Außerdem deuten sowohl HRLIFDIMS als auch ^1H - und ^{13}C -Daten auf eine zusätzliche Acetyl-Gruppe hin (δ_{H} 2,06 (s, H₃-2'); δ_{C} 21,4 (C-2'), 170,3 (C-1')). Die Lage der Acetylgruppe konnte durch HMBC-Signale zwischen H₃-2' und C-1 sowie zwischen H-1 und C-1' eindeutig bestimmt werden. Da auch die Kopplungskonstanten und NOESY-Signale sich mit **29** decken, kann auch für **31** eine (1 α ,3 β)-Konfiguration angenommen werden. Literaturdaten lassen vermuten, dass die Verbindung 1988 von Provan et al. aus *C. incisa* isoliert und als 1 α -Acetoxy-9,19-cyclolanost-24-en-3 β -ol bezeichnet wurde [135]. Die angegebenen NMR-Daten sind nur lückenhaft vorhanden, decken sich aber mit denen von **31**. Dies ist damit die erste vollständige Beschreibung von 1 α -Acetoxy-9,19-cyclolanost-24-en-3 β -ol und der erste Nachweis der Verbindung in *C. myrrha*.

3.3.10.4. Substanz 32: 1α -Acetoxycycloartan-24-en- $2\alpha,3\beta$ -diol



- Auswaage:** 6,0 mg
Aussehen: weiße Kristalle
[α]_D²⁵: +30 (c 1,92 g/l)
 λ_{\max} (log ε): kein Maximum;
CD: c 96 μmol/l, Abbildung 153
HRESIMS: m/z 523,3751 [M+Na]⁺
(berechnet: C₃₂H₅₂O₄; 523,3758)
Reinheit: 89,2% (Abbildung 154)

Tabelle 70. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 32 (400 bzw. 100 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Doublett, m Multiplett).

Nr.	δ _H	δ _C
1	4,87 (1H, d, 3,5)	77,9
2	3,84 (1H, dd, 3,5, 10,0)	71,9
3	3,43 (1H, d, 10,0)	77,6
4		39,9
5	1,89 ¹ (1H, m)	40,6
6	0,86 ¹ (1H, m)	20,4
	1,63 ¹ (1H, m)	
7	1,14 ¹ (1H, m)	25,1
	1,37 ¹ (1H, m)	
8	1,59 ¹ (1H, m)	46,7
9		20,8
10		28,0
11	1,22 ¹ (1H, m) 1,85 ¹ (1H, m)	26,4
12	1,60 ¹ (2H, m)	32,7
13		45,1
14		48,9
15	1,28 ¹ (2H, m)	35,5
16	1,29 ¹ (1H, m) 1,89 ¹ (1H, m)	28,0
17	1,57 ¹ (1H, m)	52,2
18	0,92 (3H, s)	17,9
19	0,53 (1H, d, 5,0) 0,81 (1H, d, 5,0)	28,2
20	1,36 ¹ (1H, m)	35,9
21	0,86 (3H, d, 6,6)	18,2
22	1,04 ¹ (1H, m) 1,42 ¹ (1H, m)	36,3
23	1,85 ¹ (1H, m) 2,03 ¹ (1H, m)	25,0
24	5,09 (1H, dd, 7,1, 7,1)	125,2
25		131,0
26	1,60 (3H, s)	17,6
27	1,68 (3H, s)	25,7
28	0,91 (3H, s)	19,0
29	1,04 (3H, s)	25,6
30	0,85 (3H, s)	14,4
1'	2,12 (3H, s)	172,0
2'	0,85 (3H, s)	21,2

¹ Überlagerte Signale

Substanz **32** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F9C2P4 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 70** und **Abbildung 98 Abbildung 101** zusammengefasst.

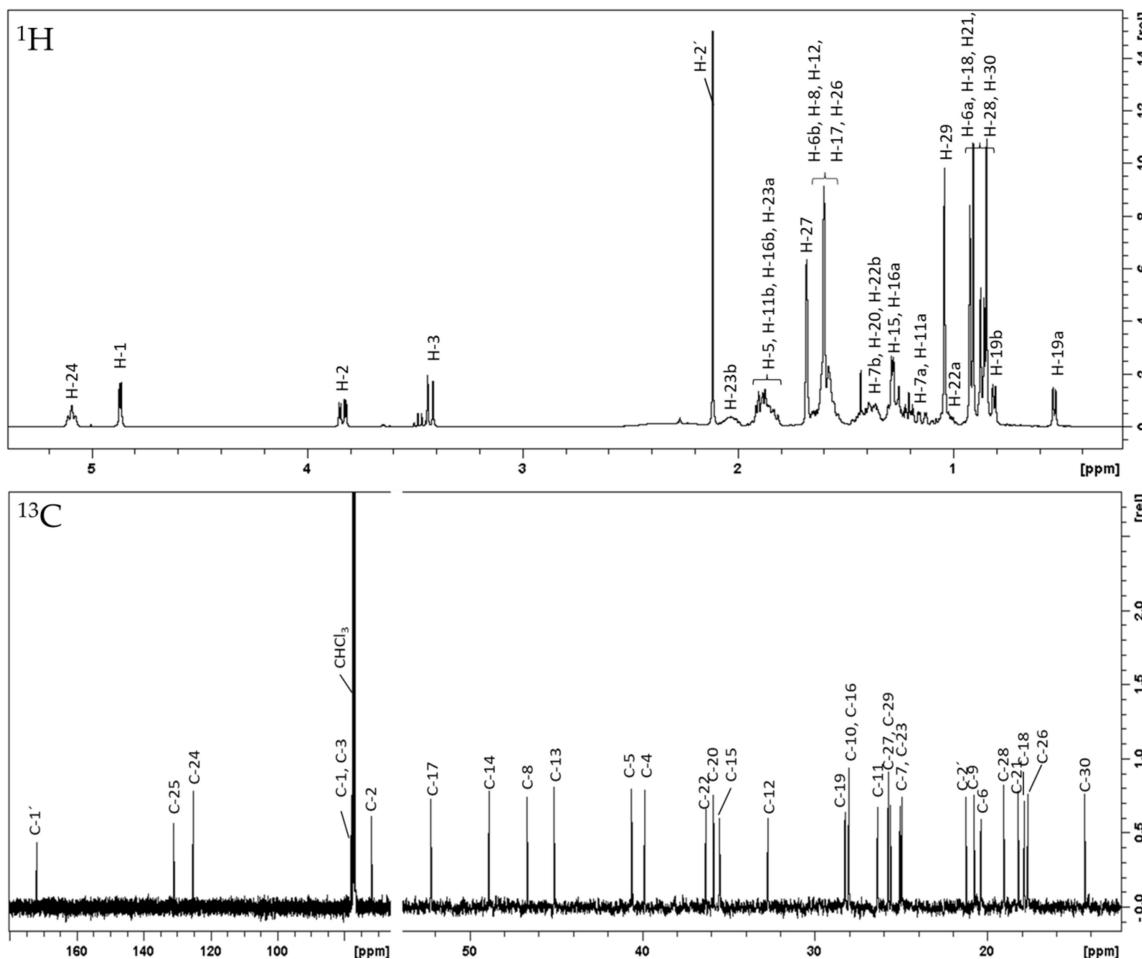
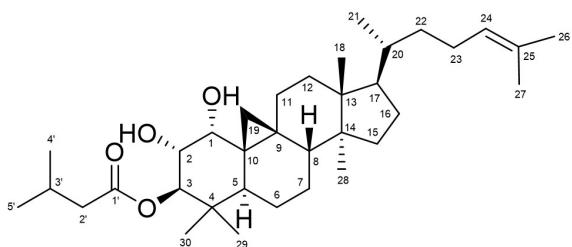


Abbildung 101. ¹H- (oben) und ¹³C-NMR-Spektrum (unten) von Substanz **32** (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Bei der Verbindung handelt es sich um 1α -Acetoxyxycloartan-24-en- $2\alpha,3\beta$ -diol, ein bekannter Inhaltstoff von *C. opobalsamum*, der zuerst 2008 von Shen et al. beschrieben wurde [132]. Sowohl HRESIMS als auch NMR-Daten stimmen überein. 1α -Acetoxyxycloartan-24-en- $2\alpha,3\beta$ -diol wurde in dieser Arbeit erstmals in *C. myrrha* nachgewiesen.

3.3.10.5. Substanz 33: 3 β -Isovaleroxyloxcycloartan-24-en-1 α ,2 α -diol



Auswaage: 2,4 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +25 (c 2,58 g/l)

$\lambda_{\text{max}} (\log \varepsilon)$: kein Maximum;

c 79 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 119 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 565,4233 [M+Na]⁺
(berechnet: C₃₅H₅₈O₄; 565,4227)

Reinheit: 54,9% (**Abbildung 154**)

Tabelle 71. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 33 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, m Multiplett).

Nr.	δ_{H}	δ_{C}
1	3,52 (1H, d, 3,3)	75,8
2	3,75 (1H, dd, 3,3, 10,5)	71,7
3	4,92 (1H, d, 10,5)	80,4
4		40,0
5	2,04 (1H, dd, 4,7, 12,4)	38,9
6	0,83 ¹ (1H, m)	20,6
7	1,63 ¹ (1H, m)	
7	1,17 ¹ (1H, m)	25,6
7	1,35 ¹ (1H, m)	
8	1,52 (1H, dd, 4,4, 12,7)	47,9
9		20,3
10		28,8
11	1,25 ¹ (1H, m)	26,1
11	2,29 ¹ (1H, m)	
12	1,68 ¹ (2H, m)	32,7
13		45,2
14		48,8
15	1,31 ¹ (2H, m)	35,7
16	1,30 ¹ (1H, m)	28,1
16	1,92 ¹ (1H, m)	
17	1,61 ¹ (1H, m)	52,3
18	0,96 (3H, s)	18,1
19	0,51 (1H, d, 4,4)	29,3
19	0,72 (1H, d, 4,4)	
20	1,39 ¹ (1H, m)	35,9
21	0,89 ¹ (3H, m)	18,2
22	1,05 ¹ (1H, m)	36,3
22	1,44 ¹ (1H, m)	
23	1,86 ¹ (1H, m)	24,9
23	2,04 ¹ (1H, m)	
24	5,10 (1H, dd, 7,2, 7,2)	125,2
25		130,9
26	1,60 (3H, s)	17,6
27	1,69 (3H, s)	25,7
28	0,96 (3H, s)	19,4
29	0,88 (3H, s)	25,4

Fortsetzung Tabelle 71

30	0,89 (3H, s)	15,4
1'		175,0
2'	2,29 (2H, d, 7,2)	43,8
3'	2,15 (1H, m)	25,7
4'	1,00 (3H, d, 6,8)	22,4
5'	1,00 (3H, d, 6,8)	22,5

¹ Überlagerte Signale

Substanz **33** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) aus den Fraktionen F7C2P6 und F6C3P2 isoliert. Alle hier abgebildeten spektroskopischen und chromatographischen Daten beziehen sich aber auf die Fraktion F7C2P6. NMR-Daten sind in **Tabelle 71** und **Abbildung 102** zusammengefasst.

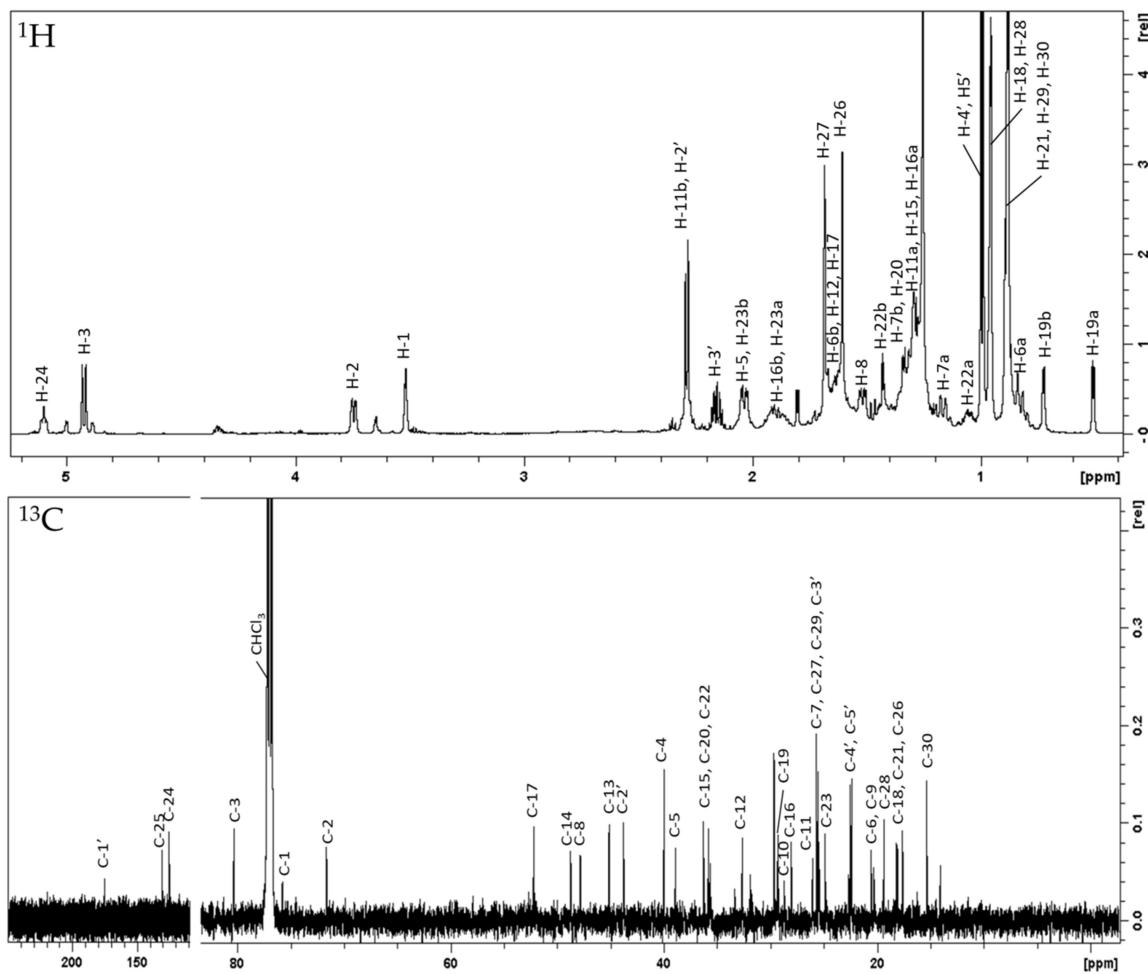
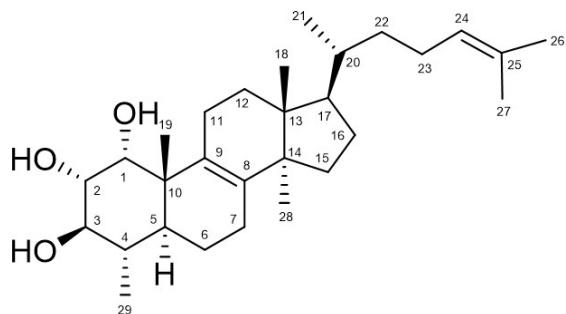


Abbildung 102. ¹H- (oben) und ¹³C-NMR-Spektrum (unten) von Substanz **33** (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃).

Die NMR-Daten von **33** zeigen viele Übereinstimmungen mit **30**. Lediglich H-3 ist deutlich weiter ins Tieffeld verschoben und neue Signale (C/H-1'-5') weisen auf eine Substitution von **30** mit einem Isovaleryl-Rest hin. Die Position des Substituenten an Pos. 3

konnte durch ein deutliches HMBC-Signal zwischen H-3 und C-1' bestimmt werden. Ein Abgleich mit Literaturdaten ergab, dass es sich bei 33 um 3β -Isovaleroyloxycycloartan-24-en- $1\alpha,2\alpha$ -diol handelt, eine Verbindung die 2008 von Shen et al. für *C. opobalsamum* beschrieben wurde [132]. Die Substanz wurde in dieser Arbeit zum ersten Mal aus *C. myrrha* isoliert.

3.3.10.6. Substanz 34: 29-Nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α ,3 β -triol



Auswaage: 32,7 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +83 (c 1,08 g/l)

$\lambda_{\text{max}} (\log \varepsilon)$: kein Maximum;
c 54 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 152

CD: c 94 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 445,3675 [M+H] $^+$
(berechnet: C₂₉H₄₈O₃; 445,3676)

Reinheit: 93,9% (Abbildung 154)

Tabelle 72. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 34 (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	3,94 (1H, d, 2,9)	74,9
2	3,62 (1H, dd, 2,9, 9,4)	73,8
3	3,32 (1H, dd, 9,4, 9,4)	77,1
4	1,47 (1H, m)	36,5
5	1,50 (1H, m)	39,9
6	1,32 (1H, m)	20,0
	1,79 (1H, m)	
7	2,17 (2H, m)	21,5
8		139,0
9		130,0
10		42,3
11	2,06 (2H, m)	25,7
12	1,78 (2H, m)	30,9
13		44,6
14		50,2
15	1,19 (1H, m) 1,59 (1H, m)	30,8
16	1,32 (1H, m) 1,93 (1H, m)	28,0
17	1,51 (1H, m)	50,3
18	0,72 (3H, s)	15,7
19	0,99 (3H, s)	18,6
20	1,39 (1H, m)	36,3
21	0,92 (3H, d)	18,7
22	1,04 (1H, m) nicht detektiert ¹	36,3
23	1,86 (1H, m) 2,03 (1H, m)	24,9
24	5,10 (1H, dd, 7,0, 7,0)	125,2
25		131,0
26	1,60 (3H, s)	17,5
27	1,69 (3H, s)	25,8
28	0,92 (3H, s)	25,1
30	1,04 (3H, d, 5,9)	14,9

¹ Überlagerte Signale

Substanz **34** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F9C4P1 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 72** und **Abbildung 103** zusammengefasst.

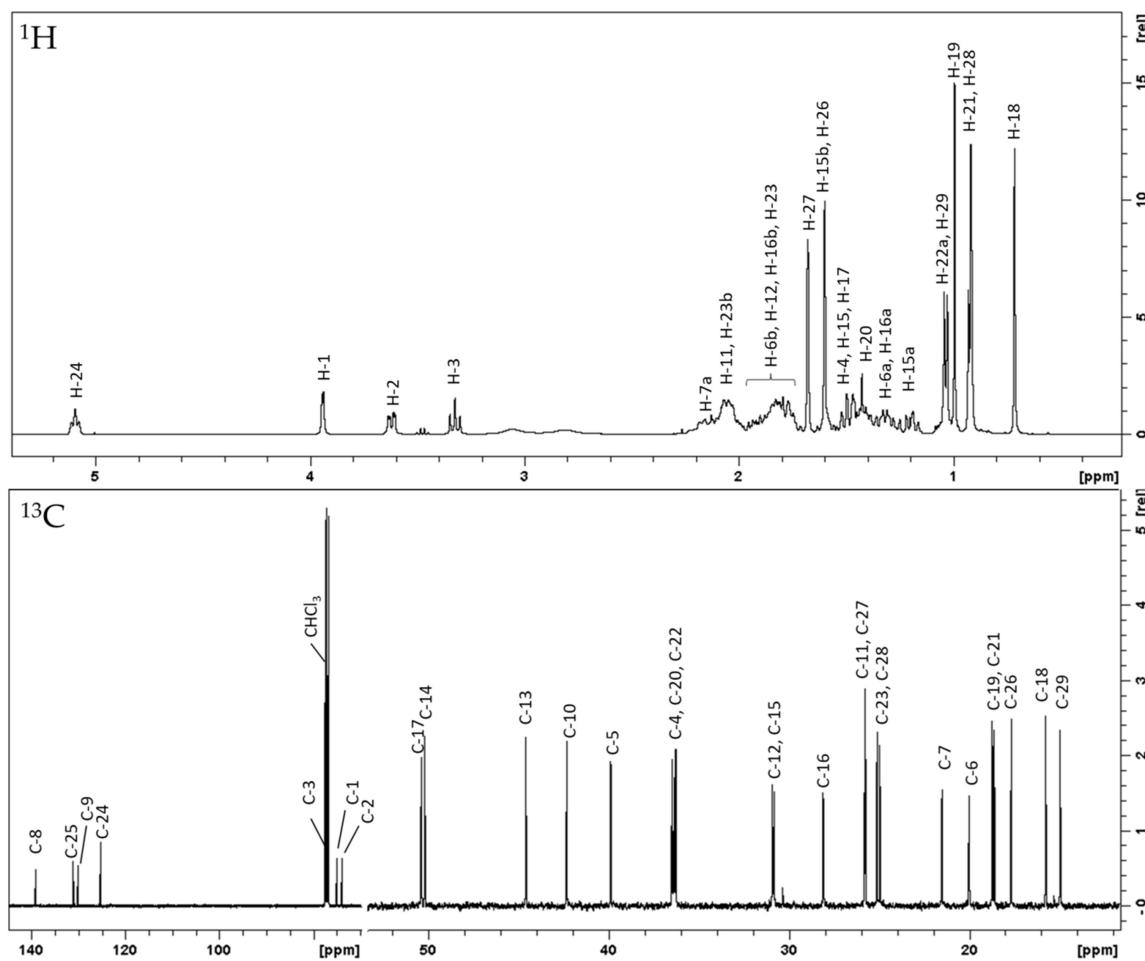
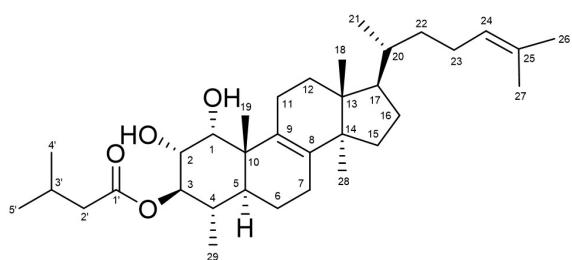


Abbildung 103. ¹H- (oben) und ¹³C-NMR-Spektrum (unten) von Substanz **34** (400 bzw. 100 MHz, CDCl_3).

Die gemessenen NMR-Daten von **34** zeigen große Ähnlichkeit mit dem von Provan et al. 1988 aus *C. incisa* isoliertem 29-Nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α ,3 β -triol [135] und der dort publizierte Strukturvorschlag konnte mithilfe von HRESIMS-, HMBC- und COSY-Daten bestätigt werden. Da die Literaturangaben lückenhaft sind, stellt dies den ersten kompletten Datensatz von 29-Nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α ,3 β -triol dar, wobei durch die detaillierteren NMR-Daten die Zuordnung der Kohlenstoffe an den Positionen 1-3, 7-9, 11, 12, 16, 19 und 26-28 angepasst wurde. Diese Substanz wurde damit in dieser Arbeit erstmals in *C. myrrha* nachgewiesen.

3.3.10.7. Substanz 35: 3β -Isovaleroyloxy-29-nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α -diol



Auswaage: 1,7 mg

Aussehen: weiße Kristalle

$[\alpha]_D^{25}$: +28 (c 1,70 g/l)

λ_{max} (log ε): kein Maximum;
c 50 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 152

CD: c 96 $\mu\text{mol/l}$, Abbildung 153

HRESIMS: m/z 463,3876 [M+Cl]⁻
(berechnet: C₃₄H₅₆O₄; 563,3873)

Reinheit: 60,9% (Abbildung 154)

Tabelle 73. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindung 35 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3 ; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, br breites Signal, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	3,94 (1H, brs)	75,1
2	3,75 (1H, dd, 2,9, 9,8)	72,3
3	4,77 (1H, dd, 9,9, 9,9)	80,0
4	1,63 ¹ (1H, m)	34,8
5	1,62 ¹ (1H, m)	39,3
6	1,32 ¹ (1H, m) 1,80 ¹ (1H, m)	20,1
7	2,04 ¹ (1H, m)	25,8
	2,10 ¹ (1H, m)	
8		138,6
9		130,0
10		41,8
11	2,12 ¹ (1H, m) 2,22 ¹ (1H, m)	21,5
12	1,75 ¹ (1H, m) 1,82 ¹ (1H, m)	30,8
13		44,6
14		50,1
15	1,21 ¹ (1H, m) 1,60 ¹ (1H, m)	30,8
16	1,33 ¹ (1H, m) 1,93 ¹ (1H, m)	28,1
17	1,52 ¹ (1H, m)	50,3
18	0,72 (3H, s)	15,7
19	1,00 ¹ (3H, s)	18,2
20	1,40 ¹ (1H, m)	36,3
21	0,93 ¹ (3H, m)	18,7
22	1,05 ¹ (1H, m) 1,45 ¹ (1H, m)	36,3
23	1,86 ¹ (1H, m) 2,04 ¹ (1H, m)	25,0
24	5,10 (1H, dd, 7,2, 7,2)	125,0
25		130,9
26	1,61 (3H, s)	17,6

¹ Überlagerte Signale

Fortsetzung Tabelle 73

27	1,69 (3H, s)	25,6
28	0,93 (3H, s)	24,9
29	0,91 (3H, d, 6,1)	15,0
1'		175,2
2'	2,27 ¹ (2H, m)	43,7
3'	2,16 ¹ (1H, m)	25,7
4'	0,99 (3H, d, 6,8)	22,4
5'	0,99 (3H, d, 6,8)	22,5

¹ Überlagerte Signale

Substanz **35** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C3P2 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 73** und **Abbildung 104** zusammengefasst.

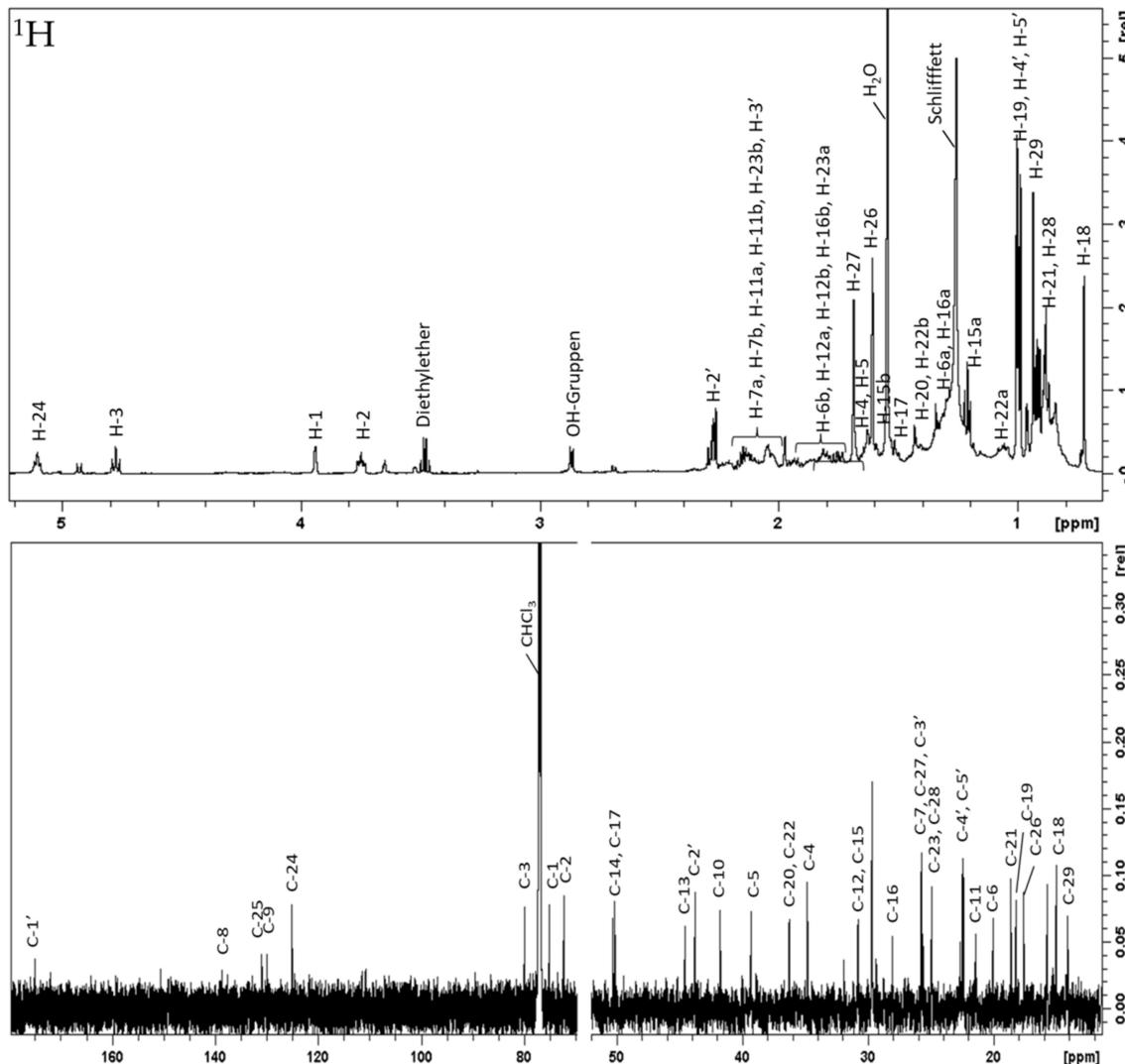


Abbildung 104. ¹H- (oben) und ¹³C-NMR-Spektrum (unten) von Substanz **35** (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Durch HSQC-Daten konnten folgende Funktionalitäten ermittelt werden: neun tertiäre Methylgruppen (δ_H 0,72 (s, H₃-18), 1,00 (s, H₃-19), 0,93 (m, H₃-21), 1,61 (s, H₃-26), 1,69 (s, H₃-27), 0,93 (s, H₃-28), 0,91 (d, H₃-29), 0,99 (d, H₃-4'/H₃-5'); δ_C 15,7, 18,2, 18,7, 17,6, 25,6, 24,9, 15,0, 22,4 bzw. 22,5), neun sp³-hybridisierte Methylengruppen (δ_H 1,32/1,80 (m/m, H-6), 2,04/2,10 (m/m, H-7), 2,12/2,22 (m/m, H-11), 1,75/1,82 (m/m, H-12), 1,21/1,60 (m/m, H-15), 1,33/1,93 (m/m, H-16), 1,05/1,45 (m/m, H-22), 1,86/2,04 (m/m, H-23), 2,27 (m, H₂-2'); δ_C 20,1, 25,8, 21,5, 30,8, 30,8, 28,1, 36,3, 25,0 bzw. 43,7), acht sp³-hybridisierte Methingruppen (δ_H 3,94 (brs, H-1), 3,75 (dd, H-2), 4,77 (dd, H-3), 1,63 (m, H-4), 1,62 (m, H-5), 1,52 (m, H-17), 1,40 (m, H-20), 2,16 (m, H-3'); δ_C 75,1, 72,3, 80,0, 34,8, 39,3, 50,3, 36,3 bzw. 25,7), drei quartäre Kohlenstoffe (δ_C 41,8 (C-10), 44,6 (C-13), 50,1 (C-14)), vier sp²-hybridisierte Positionen (δ_C 138,6 (C-8), 130,0 (C-9), 125,0 (C-24) und δ_H 5,10 (dd, H-24), 130,9 (C-25)) und ein Carbonyl-Kohlenstoff (δ_C 175,2 (C-1')).

Die NMR-Spektren von Verbindung **35** zeigen große Ähnlichkeit zu **34** wobei sich die stärkste Abweichung an H-3 zeigt, welches bei **35** ins Tieffeld verschoben ist. Dieser Effekt konnte auch bei anderen O-substituierten Triterpenen wie **31-33** beobachtet werden, die ebenfalls höhere Protonen-Verschiebungen an der substituierten Position zeigen. Es liegt also nahe, dass an Pos. 3 ein Rest eingeführt wurde. Durch die durch HRESIMS ermittelte Summenformel und zusätzliche Signale, die denen von **33** ähneln, konnte der Substituent als ein Isovalerat identifiziert werden. Dessen Position wurde außerdem durch ein HMBC-Signal zwischen H-3 und C-1' zusätzlich bestätigt.

Die große Ähnlichkeit von **35** zu **34** lässt vermuten, dass die beiden Verbindungen auch dieselbe Konfiguration besitzen. Dies konnte anhand von Kopplungskonstanten und NOESY-Korrelationen auch belegt werden. So weist eine relativ hohe Kopplungskonstante von 9,9 Hz zwischen H-3 und H-2 bzw. -4 auf axiale Stellung dieser drei Protonen hin, während die niedrigere Kopplungskonstante zwischen H-1 und -2 (*J* H-2: 2,9 Hz) auf eine axial-äquatoriale Kopplung und damit auf eine äquatoriale Stellung von H-1 hindeutet [103]. Dies kann durch NOESY-Signale zwischen H-1 und -2 sowie -19 und zwischen H-3 und -29 bestätigt werden (**Abbildung 105**).

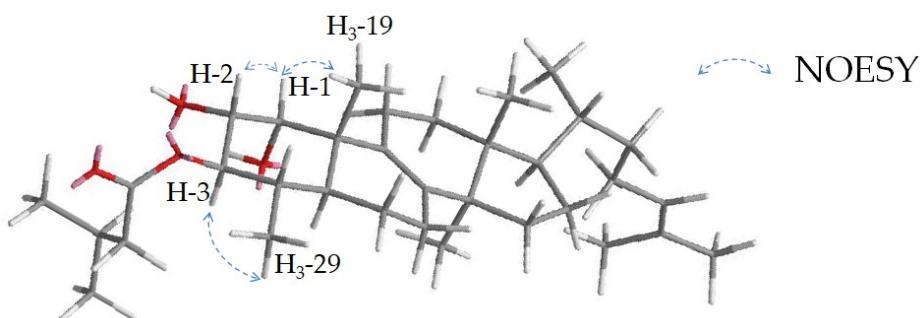
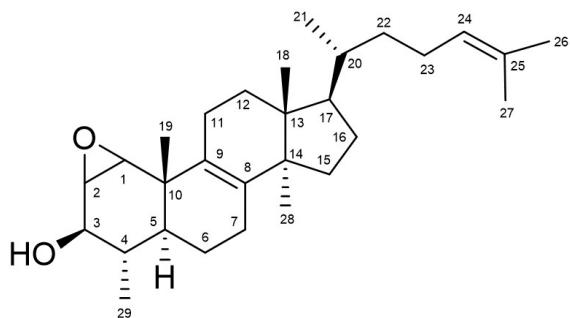


Abbildung 105. Ausschlaggebende NOESY-Signale von **35** zur Bestimmung der Konfiguration im A-Ring.

Verbindung **35** besitzt damit eine ($1\alpha,2\alpha,3\beta$)-Konfiguration und an die Nomenklatur von **34** angelehnt wird der Name 3β -Isovaleroyloxy-29-nor-lanost-8,24-dien- $1\alpha,2\alpha$ -diol für das bisher unbekannte Molekül vorgeschlagen.

3.3.10.8. Substanz 36: 29-Nor-1,2-cis-epoxy-lanost-8,24-dien-3 β -triol



- Auswaage:** 2,0 mg
Aussehen: weiße Kristalle
[α]_D²⁵: +32 (c 2,00 g/l)
 λ_{\max} ($\log \varepsilon$): kein Maximum;
 c 162 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**
CD: c 100 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**
HRESIMS: m/z 427,3581 [M+H]⁺
 (berechnet: C₂₉H₄₆O₂; 427,3571)
Reinheit: 83,2% (**Abbildung 154**)

Tabelle 74. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 36 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	3,22 (1H, d, 3,9)	59,6
2	3,12 (1H, d, 3,9)	57,5
3	3,47 ¹ (1H, m)	72,8
4	1,29 ¹ (1H, m)	36,1
5	1,21 ¹ (1H, m)	35,6
6	1,33 ¹ (1H, m)	19,2
	1,74 ¹ (1H, m)	
7	2,03 ¹ (2H, m)	24,5
8		136,5
9		130,3
10		37,6
11	2,23 (1H, m) 2,29 (1H, m)	22,3
12	1,76 ¹ (1H, m) 1,82 ¹ (1H, m)	30,7
13		44,5
14		49,9
15	1,18 ¹ (1H, m) 1,57 ¹ (1H, m)	30,6
16	1,33 ¹ (1H, m) 1,93 (1H, m)	28,1
17	1,52 ¹ (1H, m)	50,2
18	0,74 ¹ (3H, s)	15,7
19	1,06 (3H, s)	17,9
20	1,40 ¹ (1H, m)	36,3
21	0,93 (3H, d, 6,6)	18,7
22	1,05 ¹ (1H, m) 1,45 ¹ (1H, m)	36,3
23	1,87 ¹ (1H, m) 2,04 ¹ (1H, m)	24,9
24	5,10 (1H, dd, 7,2, 7,2)	125,2
25		131,0
26	1,61 (3H, s)	17,6
27	1,69 (3H, s)	25,7
28	0,91 (3H, s)	24,3
29	0,97 (3H, d, 6,6)	16,3

¹ Überlagerte Signale

Substanz **36** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C4P2 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 74** und **Abbildung 106** zusammengefasst.

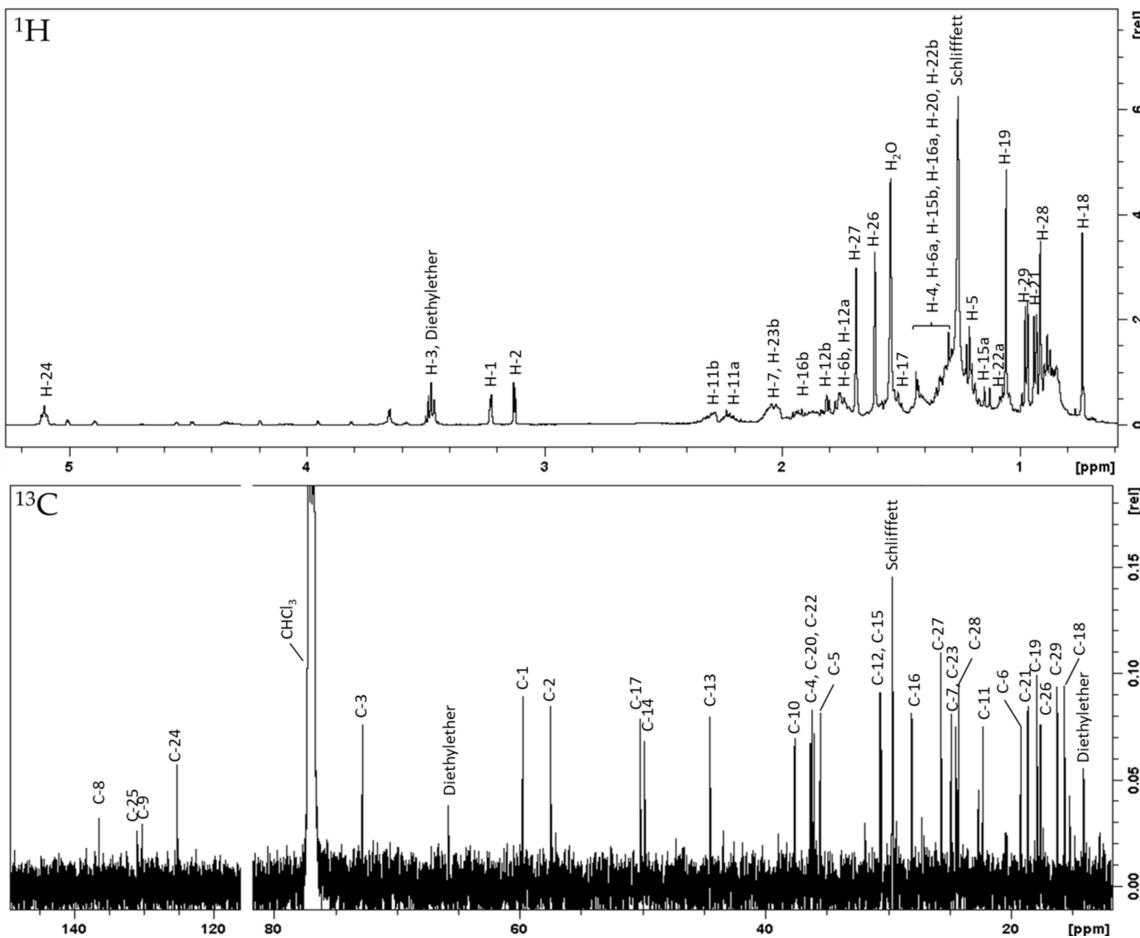


Abbildung 106. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **36** (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Durch HSQC-Daten konnten folgende Funktionalitäten ermittelt werden: sieben tertiäre Methylgruppen (δ_{H} 0,74 (s, H₃-18), 1,06 (s, H₃-19), 0,93 (d, H₃-21), 1,61 (s, H₃-26), 1,69 (s, H₃-27), 0,91 (s, H₃-28), 0,97 (d, H₃-29); δ_{C} 15,7, 17,9, 18,7, 17,6, 25,7, 24,3 bzw. 16,3), acht sp³-hybridisierte Methylengruppen (δ_{H} 1,33/1,74 (m/m, H-6), 2,03 (m, H-7), 2,23/2,29 (m/m, H-11), 1,76/1,82 (m/m, H-12), 1,18/1,57 (m/m, H-15), 1,33/1,93 (m/m, H-16), 1,05/1,45 (m/m, H-22), 1,87/2,04 (m/m, H-23); δ_{C} 19,2, 24,5, 22,3, 30,7, 30,6, 28,1, 36,3 bzw. 24,9), sieben sp³-hybridisierte Methingruppen (δ_{H} 3,22 (d, H-1), 3,12 (d, H-2), 3,47 (m, H-3), 1,29 (m, H-4), 1,21 (m, H-5), 1,52 (m, H-17), 1,40 (m, H-20); δ_{C} 59,6, 27,5, 72,8, 36,1, 35,6, 50,2 bzw. 36,3), drei quartäre Kohlenstoffe (δ_{C} 37,6 (C-10), 44,5 (C-13), 49,9 (C-14)) und vier sp²-hybridisierte Positionen (δ_{C} 136,5 (C-8), 130,3 (C-9), 125,2 (C-24) und δ_{H} 5,10 (dd, H-24), 131,0 (C-25)).

Bei Verbindung **36** zeigen sich in den NMR-Daten viele Parallelen zu **34**. Vor allem aufgrund des Dubletts von H-29 (0,97 ppm) und des Doppelbindungscharakters von C-8, -9, -24 und -25 (136,5, 130,3, 125,6 und 131,0 ppm) kann bei **36** ebenfalls ein 29-Nor-Lanost-8-24-dien Grundkörper identifiziert werden. Die Verbindung besitzt mit den Protonen H-1

bis -3 (3,10-3,50 ppm) auch drei potentiell hydroxylierte Positionen, allerdings sind vor allem die Signale von Pos. 1 und 2 im Vergleich zu **34** nicht so weit tieffeldverschoben wie zu erwarten wäre (3,22 und 3,12 gegenüber 3,94 und 3,62 ppm; sowie 59,6 und 57,5 gegenüber 74,9 ppm und 73,8 ppm). Besonders die für Hydroxy-substituierte Kohlenstoffe ungewöhnlich niedrigeren δ_c -Werte weisen hier auf die Bildung eines Epoxides zwischen Pos. 1 und 2 hin, für welches Verschiebungen um 55 ppm typisch sind [103]. Das Vorhandensein einer Epoxidierung kann auch durch die per HRESIMS ermittelte Summenformel bestätigt werden, die gegenüber **34** formal um ein H₂O vermindert ist.

Aufgrund der hohen Ähnlichkeit der chemischen Verschiebungen kann angenommen werden, dass die Konfiguration im B-, C- und D-Ring sowie in der Seitenkette, der von **34** entspricht. Folglich gilt es nur noch die Konfiguration im A-Ring zu klären. Wie erwartet, kann durch NOESY-Signale zwischen H₃-18 und -19 eine β -Stellung der Methylgruppe an Pos. 19 und analog durch eine Korrelation zwischen H-5 und H₃-28 eine α -Stellung von H-5 belegt werden. Ausgehend davon konnte durch Signale oberhalb (H₃-19, H-4) und unterhalb der Ringebene (H-3, -5) die Orientierung an Pos. 3 und 4 geklärt werden (**Abbildung 107**).

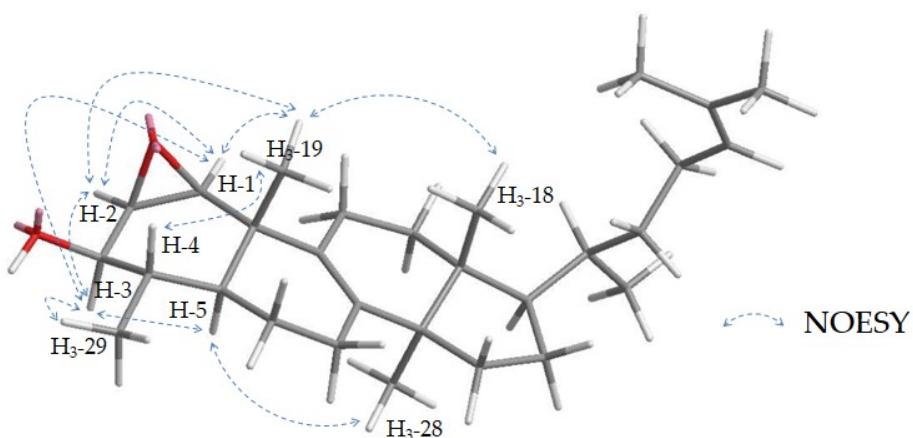


Abbildung 107. Ausschlaggebende NOESY-Korrelationen von **36** zur Bestimmung der Konfiguration im A-Ring.

Weiterhin kommt für die Konfiguration der Epoxid-Gruppe grundsätzlich eine *cis*- oder *trans*-Orientierung in Frage, wobei die *cis*-Anordnung sich durch eine äquatoriale Stellung der Protonen H-1 und -2 auszeichnet, während sie bei der *trans*-Konfiguration axial auseinander stehen. H-1 und H-2 zeigen zum einen untereinander ein starkes NOESY-Signal, was für axial-axial-ständige Protonen eher untypisch ist. Zum anderen sind auch Korrelationen beider Protonen zu Gruppen oberhalb (H₃-19) oder unterhalb (H-3) der Ringebene zu beobachten (**Abbildung 107**), was ebenfalls für eine äquatoriale Anordnung spricht. Daher kann von einer *cis*-Konfiguration des Epoxids ausgegangen werden. Ob das Epoxid aber α - oder β -ständig ist, ist mit den hier verwendeten Methoden nicht zu bestimmen, da dies kaum Einfluss auf die Anordnung des Moleküls im Raum und damit auf die NMR-Daten hat (**Abbildung 108**). Aufgrund der beiden α -ständigen Hydroxylgruppen bei **34** scheint allerdings eine α -Orientierung des Epoxids wahrscheinlicher.

Diese Verbindung wurde so noch nie in der Literatur beschrieben und es wird der Name 29-Nor-1,2-cis-epoxy-lanost-8,24-dien-3 β -triol für **36** vorgeschlagen.

Epoxidierte Strukturen sind in der Gattung *Commiphora* bereits bekannt. So finden sich in der Literatur Hinweise auf epoxidierte Mono- [136], Sesqui- [112], Di- [137] und auch Triterpene, die an der Seitenkette [138] oder auch am Grundkörper [29] substituiert sein können.

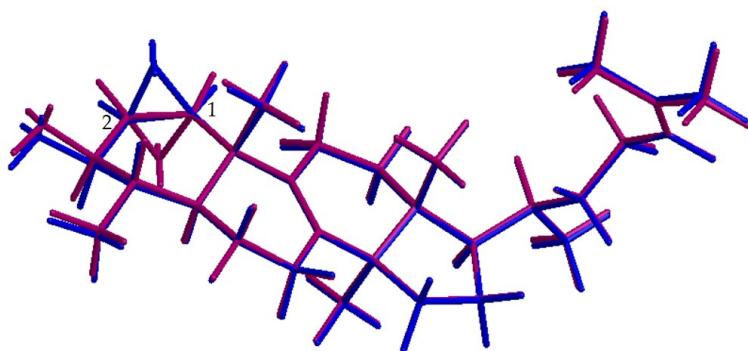
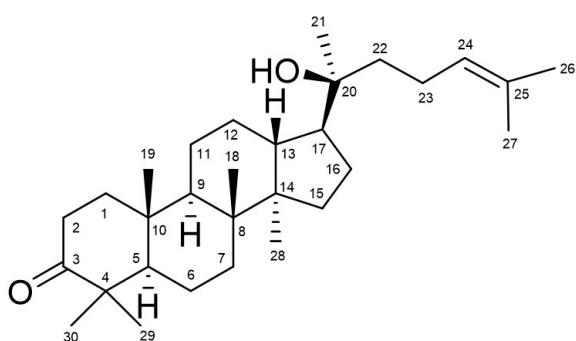


Abbildung 108. 3D-Modell von 29-Nor-1 β ,2 β -cis-Epoxy-lanost-8,24-dien-3 β -triol (blau) und 29-Nor-1 α 2 α -cis-Epoxy-lanost-8,24-dien-3 β -triol (violett).

3.3.10.9. Substanz 37: Hydroxydammarenon II



Auswaage: 4,1 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: +42 (c 2,05 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): kein Maximum;
c 108 μ mol/l, **Abbildung 152**

CD: c 103 μ mol/l, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 443,3897 [M+H]⁺
(berechnet: C₃₀H₅₀O₂; 443,3884)

Reinheit: 89,8% (**Abbildung 154**)

Tabelle 75. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 37 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, t Triplett, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	1,45 ¹ (1H, m) 1,92 (1H, ddd, 4,7, 8,0, 12,9)	39,9
2	2,43 (1H, ddd, 4,5, 8,0, 15,8) 2,50 (1H, ddd, 7,7, 9,6, 15,7)	34,1
3		218,1
4		47,4
5	1,37 ¹ (1H, m)	55,3
6	1,47 ¹ (1H, m) 1,56 ¹ (1H, m)	19,6
7	1,32 (1H, m) 1,56 ¹ (1H, m)	34,5
8		40,3
9	1,42 ¹ (1H, m)	50,0
10		36,8
11	1,31 ¹ (1H, m) 1,50 ¹ (1H, m)	22,0
12	1,28 ¹ (1H, m) 1,85 (1H, m)	27,5
13	1,66 ¹ (1H, m)	42,4
14		50,3
15	1,09 ¹ (1H, m) 1,47 ¹ (1H, m)	31,1
16	1,49 ¹ (1H, m) 1,75 ¹ (1H, m)	24,8
17	1,75 ¹ (1H, m)	49,8
18	1,00 (3H, s)	15,2
19	0,95 (3H, s)	16,0
20		75,4
21	1,15 ¹ (3H, s)	25,5
22	1,48 ¹ (2H, m)	40,4
23	2,06 (2H, m)	22,6
24	5,13 (1H, t, 7,2)	124,7
25		131,7
26	1,63 (3H, s)	17,7
27	1,69 (3H, s)	25,7
28	0,89 (3H, s)	16,3
29	1,04 (3H, s)	21,0
30	1,08 (3H, s)	26,7

¹ Überlagerte Signale

Substanz 37 wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C5P1 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 75** und **Abbildung 109** zusammengefasst.

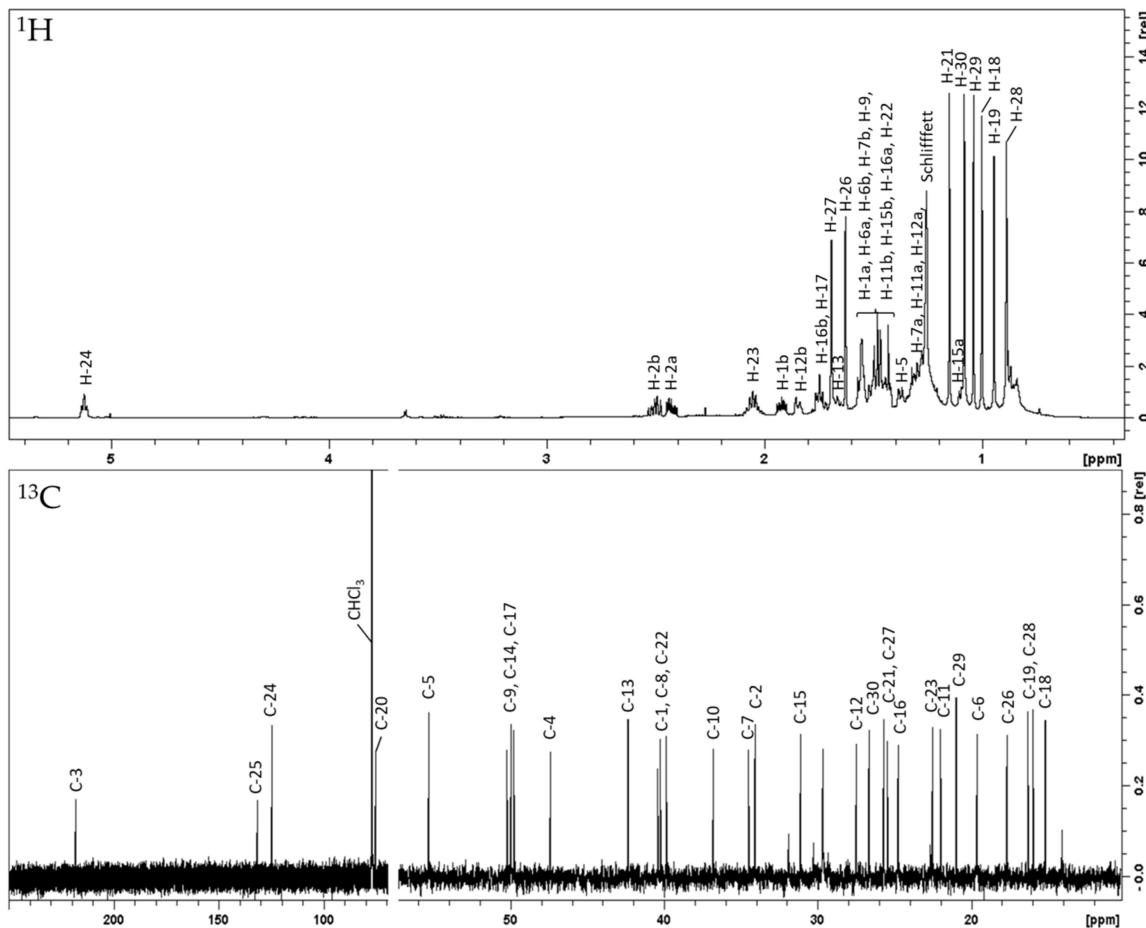


Abbildung 109. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz 37 (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Bei 37 handelt es sich um Hydroxydammarenon II, eine Verbindung, die bereits bei Mills und Werner 1955 erwähnt wurde [139]. Genauer beschrieben wurde die Substanz und ihr Isomer Hydroxydammarenon I, dass sich in der Konfiguration an Pos. 20 unterscheidet dann 1977 von Asakawa et al. [140]. Welches der beiden Isomere hier vorliegt kann mit den chemischen Verschiebungen alleine schlecht bestimmt werden, wobei das δ_{C} von C-22 (40,4 ppm) eher für Hydroxydammarenon II (40,5 ppm) als für Hydroxydammarenon I (41,8 ppm) spricht.

Mit NOESY-Daten war es aber möglich die Identität von 37 eindeutig zu klären. Zunächst wurde die Stellung der Protonen an Pos. 12 durch eine Korrelation zwischen $\text{H}_3\text{-}28$ und $\text{H}-12\text{a}$ (1,28 ppm) ermittelt. Nun konnte durch Signale zwischen $\text{H}_3\text{-}21$ und $\text{H}-12\text{b}$ (1,85 ppm), -13 sowie -17 die Konfiguration an Pos. 20 als (*S*) bestimmt werden (**Abbildung 110**) und damit das Vorliegen von Hydroxydammarenon II bestätigt werden.

Dies ist das erste Mal, dass diese Verbindung in einer Spezies der Gattung *Commiphora* nachgewiesen wurde.

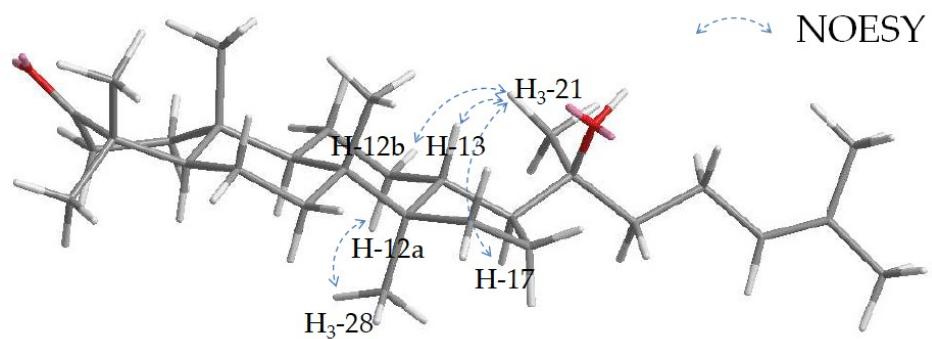
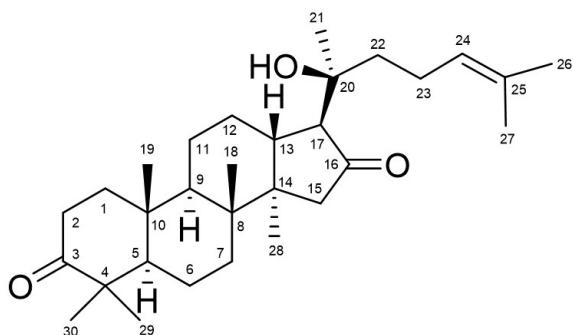


Abbildung 110. Ausschlaggebende NOESY-Korrelationen der Verbindung 37 zur Bestimmung der Konfiguration an Pos. 20.

3.3.10.10. Substanz 38: Hydroxydammar-24-en-3,16-dion



Auswaage: 6,2 mg

Aussehen: weiße Kristalle

[α]_D²⁵: +1 (c 2,07 g/l)

λ_{\max} (log ϵ): kein Maximum;
c 70 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 152**

CD: c 102 $\mu\text{mol/l}$, **Abbildung 153**

HRESIMS: m/z 491,3305 [M+Cl]⁻
(berechnet: C₃₀H₄₈O₃; 491,3297)

Reinheit: 71,6% (**Abbildung 154**)

Tabelle 76. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Verbindung 38 (600 bzw. 150 MHz, CDCl₃; δ in ppm, J in Hz, s Singulett, d Dublett, m Multiplett).

Nr.	δ_H	δ_C
1	1,47 ¹ (1H, m) 1,94 ¹ (1H, m)	39,5
2	2,46 (1H, ddd, 4,4, 7,7, 16,0) 2,51 (1H, ddd, 7,4, 9,1, 15,7)	34,0
3		217,5
4		47,4
5	1,40 (1H, dd, 3,0, 11,2)	55,2
6	1,55 ¹ (2H, m)	19,6
7	1,27 (1H, m) 1,58 (1H, m)	34,7
8		39,5
9	1,56 ¹ (1H, m)	49,8
10		36,9
11	1,42 ¹ (1H, m) 1,65 ¹ (1H, m)	21,8
12	1,54 ¹ (1H, m) 1,90 ¹ (1H, m)	26,7
13	2,06 (1H, ddd, 3,3, 12,1, 12,1)	41,7
14		45,5
15	1,96 (1H, d, 15,4) 2,20 (1H, d, 16,4)	49,4
16		223,9
17	2,23 (1H, d, 12,1)	57,2
18	1,09 (3H, s)	15,6
19	0,97 (3H, s)	15,9
20		74,4
21	1,11 (3H, s)	24,9
22	1,45 ¹ (2H, m)	41,1
23	1,96 ¹ (1H, m) 2,15 ¹ (1H, m)	21,9
24	5,06 (1H, dd, 6,9, 6,9)	124,2
25		131,6
26	1,61 (3H, s)	17,8
27	1,68 (3H, s)	25,8
28	0,98 (3H, s)	16,8
29	1,05 (3H, s)	21,0
30	1,09 (3H, s)	26,7

¹ Überlagerte Signale

Substanz **38** wurde durch Kieselgel-Flash (3.1.5.2), CPC (3.1.5.3), eine weitere Flash (3.1.5.4) und präparative HPLC (3.1.5.6) als Fraktion F6C7F3P7 isoliert. NMR-Daten sind in **Tabelle 76** und **Abbildung 111** zusammengefasst.

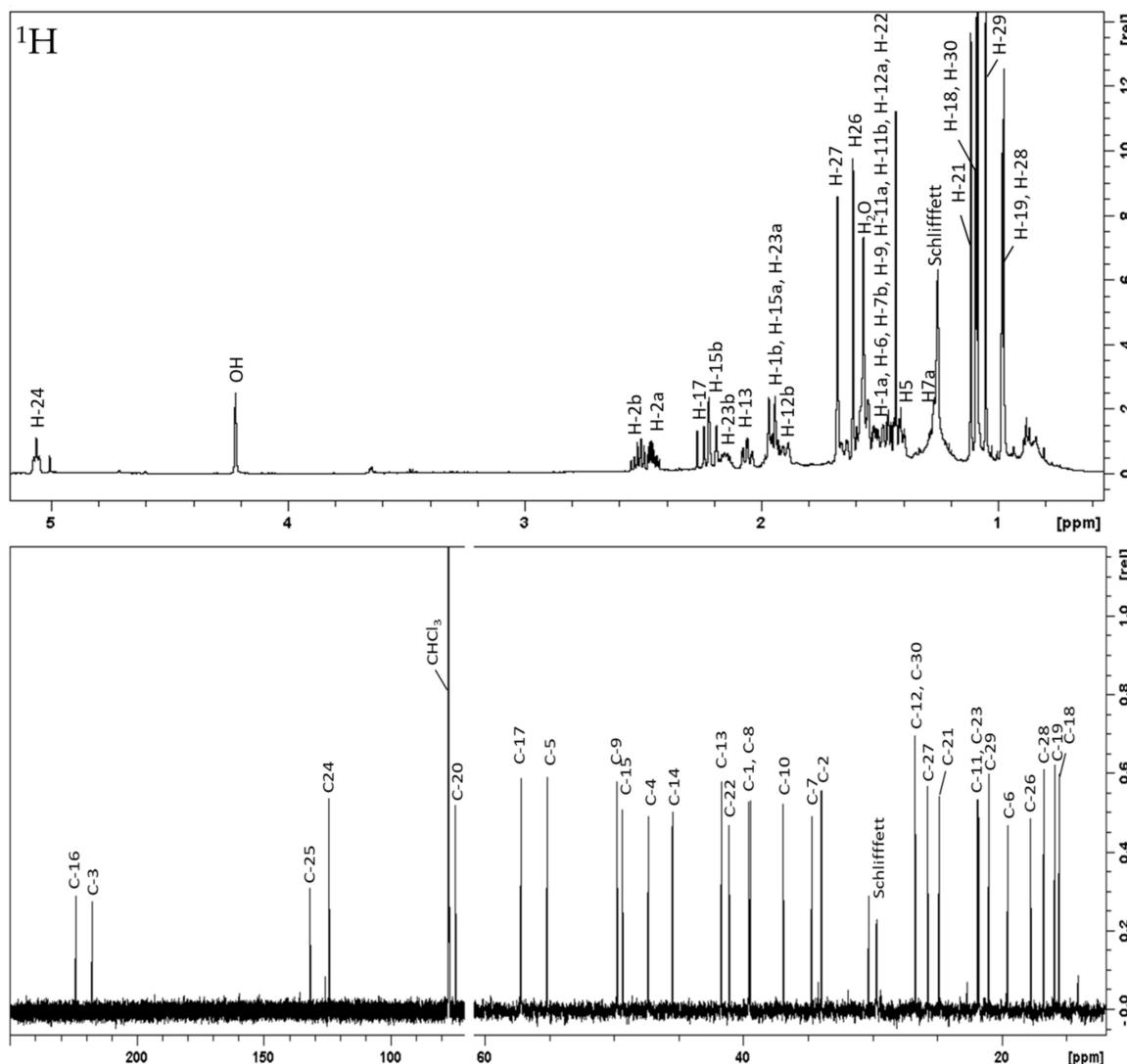


Abbildung 111. ^1H - (oben) und ^{13}C -NMR-Spektrum (unten) von Substanz **38** (600 bzw. 150 MHz, CDCl_3).

Durch Analyse der HSQC-Daten konnten folgende Funktionalitäten ermittelt werden: acht tertiäre Methylgruppen (δ_{H} 1,09 (s, H₃-18), 0,97 (s, H₃-19), 1,11 (s, H₃-21), 1,61 (s, H₃-26), 1,68 (s, H₃-27), 0,98 (s, H₃-28), 1,05 (s, H₃-29) 1,09 (s, H₃-30); δ_{C} 15,6, 15,9, 24,9, 17,8, 25,8, 16,8, 21,0 bzw. 26,7), neun sp³-hybridisierte Methylengruppen (δ_{H} 1,47/1,94 (m/m, H-1), 2,46/2,51 (ddd/ddd, H-2), 1,55 (m, H₂-6), 1,27/1,58 (m/m, H-7), 1,42/1,65 (m/m, H-11), 1,54/1,90 (m/m, H-12), 1,96/2,20 (d/d, H-15), 1,45 (m, H₂-22), 1,96/2,15 (m/m, H-23); δ_{C} 39,5, 34,0, 19,6, 34,7, 21,8, 36,7, 49,4, 41,1 bzw. 21,9), vier sp³-hybridisierte Methingruppen (δ_{H} 1,40 (dd, H-5), 1,56 (m, H-9), 2,06 (ddd, H-13), 2,23 (d, H-17), δ_{C} 55,2, 49,8, 41,7 bzw. 57,2), fünf quartäre Kohlenstoffe (δ_{C} 47,4 (C-4), 39,5 (C-8), 36,9 (C-10), 45,5 (C-14), 74,4 (C-20)), zwei

sp² hybridisierte Positionen (δ_c 124,2 (C-24) und δ_H 5,06 (dd, H-24), 131,6 (C-25)) und zwei Carbonyl-Kohlenstoffe (δ_c 217,5 (C-3), 223,9 (C-16))

Verbindung **38** zeigt eine große Strukturverwandtschaft mit **37**, wobei sich einige kleinere Abweichungen vor allem im D-Ring zeigen. Der größte Unterschied findet sich an Pos. 16, an der bei den Kohlenstoffsignalen die Methylengruppe fehlt und durch einen quartären Kohlenstoff bei 223,9 ppm ersetzt wurde. Diese chemische Verschiebung ist typisch für ein Keton und spricht für eine zusätzliche Carbonylfunktion an Pos. 16. Durch das Wegfallen von H-16a und -16b vereinfacht sich außerdem das Aufspaltungsmuster der angrenzenden Protonen, so dass H-15a, -15b und -17 eindeutig als Duplett zu erkennen sind. Der Strukturvorschlag konnte durch COSY- und HMBC-Daten bestätigt werden.

Die betreffende Verbindung fand in der Literatur nur einmal bei Provan et al. Erwähnung [36] und wird dort als Hydroxydammar-24-en-3,16-dion bezeichnet. Gewonnen wurde sie halbsynthetisch durch Oxidation des 16-Hydroxy-Isomers von **38**, welches zuvor aus *C. incisa* isoliert wurde. Da die Literaturangaben zu der Verbindung lückenhaft sind, ist dies die erste vollständige Beschreibung der Substanz und der erste Nachweis von Hydroxydammar-24-en-3,16-dion als Naturstoff.

3.4. Zusammenfassung und Diskussion

3.4.1. Zusammenfassung

In dieser Arbeit ist es gelungen einen ethanolischen Myrrheextrakt (96%, V/V) durch eine flüssig-flüssig-Verteilung in eine hydrophilere Methanol- und eine lipophilere n-Heptan-Fraktion zu teilen. Diese Dissertation widmet sich der Aufarbeitung der n-Heptan-Fraktion und damit der Gewinnung liphophiler Reinsubstanzen. Durch Flash-Chromatographie an Kieselgel, CPC mit einem wasserfreien Fließmittelgemisch und préparative HPLC an einer Biphenyl-Phase ist es gelungen insgesamt 38 Reinsubstanzen zu gewinnen. Deren Konstitution wurde durch HRESIMS- und NMR-Daten ermittelt und die Verbindungen als verschiedene Vertreter der Terpene identifiziert. Da in dieser Inhaltstoffklasse eine hohe Variabilität der Stereochemie möglich ist, war es nötig, sich intensiv der Konfigurationsbestimmung mittels ein- und zweidimensionaler Kernresonanzspektren zu widmen. Alle Isolate wurden außerdem mit spektroskopischen und optischen Methoden charakterisiert (Polarimetrie, UV-Vis- und CD-Spektroskopie) und die Reinheit mittels eines HPLC-DAD-Verfahrens bestimmt.

Unter den vorgestellten Verbindungen finden sich verschiedenen Vertreter der Sesquiterpene (Germacrane, Eudesmane, Elemane, Cadinane, Guajane) sowie Seco-Verbindungen mit einem neuartigen Kohlenstoffgerüst. Außerdem konnten eine Reihe von Triterpenen vom Cyloartan-, Dammaran- und 4-Demethyllanosterol-Typ und Triterpene mit verkürzter Seitenkette isoliert werden.

Unter den isolierten Substanzen befinden sich fünf Verbindungen, welche erstmals für die Art *C. myrrha* beschrieben werden (29, 31-34), sowie sieben Verbindungen, die im Rahmen dieser Arbeit zum ersten Mal in der Gattung *Commiphora* nachgewiesen werden (1, 9, 11, 14, 16, 17, 37). Außerdem sind in dieser Arbeit elf bisher unbekannte Verbindungen erstmals beschrieben (4, 5, 21-26, 35, 36, 38). Darüber hinaus konnten Literaturangaben zu NMR- und anderen spektroskopischen Daten bekannter Substanzen an vielen Stellen ergänzt oder korrigiert werden (2, 3, 11, 18, 19, 31). Eine Übersicht aller isolierten Substanzen findet sich in **Abbildung 112** und **Tabelle 77**. Dünnschichtchromatogramme, aus denen die R_f-Werte der Substanzen ersichtlich sind, sind im Anhang abgebildet (**Abbildung 155**).

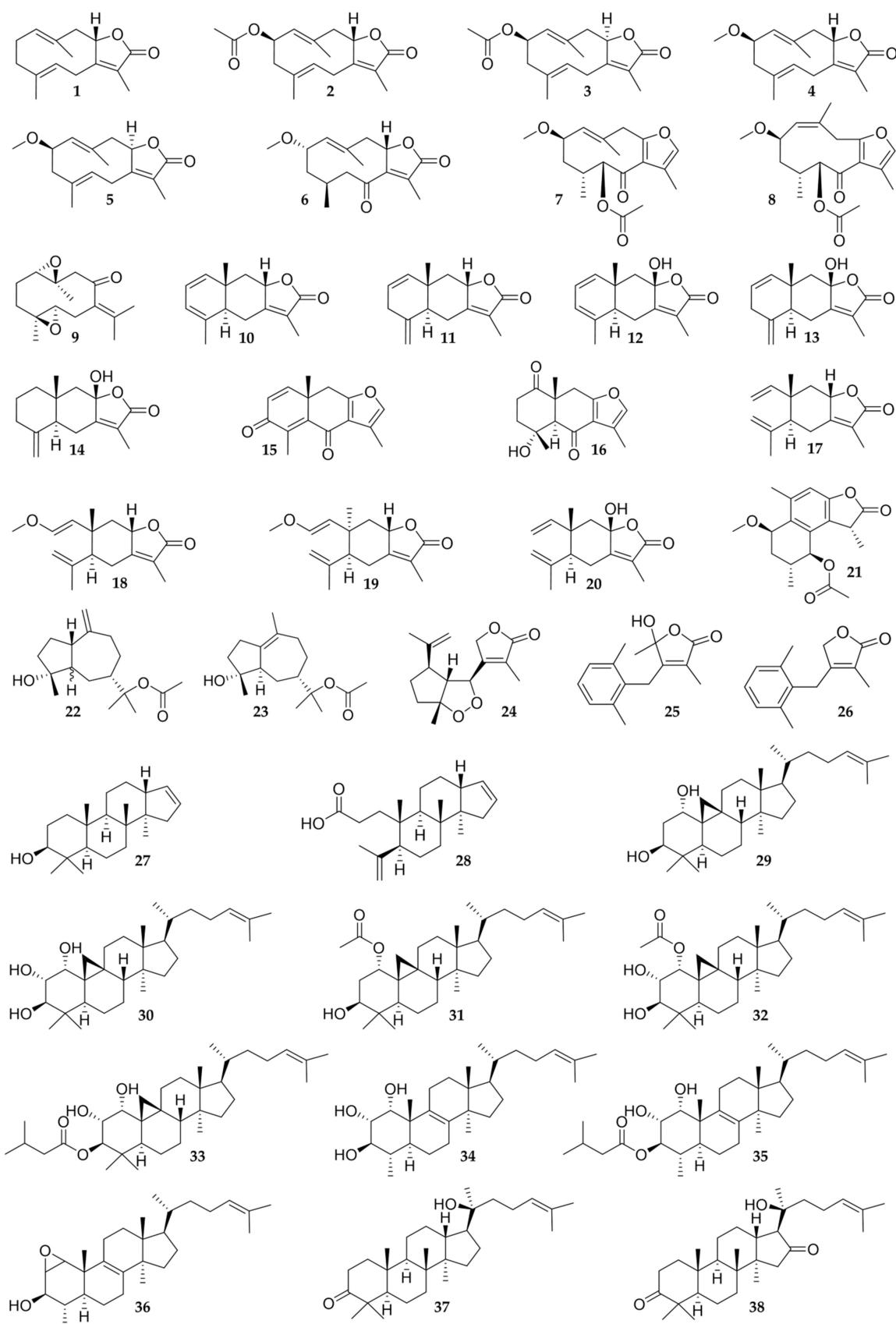


Abbildung 112. Strukturen aller isolierten Verbindungen.

Tabelle 77. Auflistung aller isolierten Verbindungen inklusive deren Nummerierung, Bezeichnung, und wichtiger Kenndaten (Aussehen, Auswaage, spezifischer Drehwert $[\alpha]_D^{25}$, UV-Maxima λ_{max} , NMR-, HRESIMS-Daten und Reinheit (HPLC-DAD)) sowie Angaben zur Klassifizierung der Substanzen. UV-Vis-, CD-Spektren und Chromatogramme aller Verbindungen finden sich in Abbildung 153, Abbildung 152 und Abbildung 154 im Anhang.

Nr.	Bezeichnung	Kenndaten	Klassifizierung
1	Glechomanolid	weiße Kristalle (5,7 mg); $[\alpha]_D^{25} +6$; UV λ_{max} (log ε): 214,0 nm (4,10); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 39); m/z 233,1540 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₂₀ O ₂ ; 233,1536); Reinheit 97,2%	erstmals in <i>Commiphora</i>
2	2 β -Acetoxy- glechomanolid	weiße Kristalle (10,9 mg); $[\alpha]_D^{25} +26$; UV λ_{max} (log ε): 216,0 nm (4,15), 285,0 nm (2,91); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 40); m/z 291,1595 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₇ H ₂₂ O ₄ ; 291,1591); Reinheit 95,4%	bekannt; erstmals charakterisiert
3	8- <i>epi</i> -2 β -Acetoxy- glechomanolid	weiße Kristalle (11,3 mg); $[\alpha]_D^{25} -76$; UV λ_{max} (log ε): 214,0 nm (4,20); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 41); m/z 291,1598 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₇ H ₂₂ O ₄ ; 291,1591); Reinheit 92,0%	bekannt; erstmals charakterisiert
4	2 β -Methoxy- glechomanolid	weiße Kristalle (2,9 mg); $[\alpha]_D^{25} +53$; UV λ_{max} (log ε): 218,1 nm (3,98); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 42); m/z 263,1646 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₆ H ₂₂ O ₃ ; 263,1642); Reinheit 90,9%	bisher nicht bekannt
5	8- <i>epi</i> -2 β -Methoxy- glechomanolid	weiße Kristalle (6,5 mg); $[\alpha]_D^{25} -69$; UV λ_{max} (log ε): 215,1 nm (4,17); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 43); m/z 263,1646 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₆ H ₂₀ O ₃ ; 263,1642); Reinheit 96,9%	bisher nicht bekannt
6	2 α -Methoxy-6-oxo- germacra-1(10),7(11)- dien-8,12-olid	weiße Kristalle (1,1 mg); $[\alpha]_D^{25} +107$; UV λ_{max} (log ε): 230,0 nm (3,76); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 44); m/z 279,1598 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₆ H ₂₂ O ₄ ; 279,1591); Reinheit 89,3%	bekannt
7	Methoxy-5-acetoxy- furanogermacr-1(10)- en-6-on	farbloses Öl (9,2 mg); $[\alpha]_D^{25} -21$; UV λ_{max} (log ε): 207,0 nm (4,19), 284,1 nm (3,27); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 45); m/z 321,1699 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₈ H ₂₄ O ₅ ; 321,1697); Reinheit 98,5%	bekannt
8	<i>rel</i> -2 R -Methyl-5 <i>S</i> - acetoxy-4 <i>R</i> -furano- germacr-1(10) <i>Z</i> -en- 6-on	farbloses Öl (1,8 mg); $[\alpha]_D^{25} +56$; UV λ_{max} (log ε): 275,0 nm (3,36); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 46); m/z 321,1702 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₈ H ₂₄ O ₅ ; 321,1697); Reinheit 92,2%	bekannt
9	(1 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)- Germacron-1(10),4- diepoxid	weiße Kristalle (3,6 mg); $[\alpha]_D^{25} +3$; UV λ_{max} (log ε): 247,9 nm (3,50); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 47); m/z 251,1647 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₂₂ O ₃ ; 251,1642); Reinheit 88,2%	erstmals in <i>Commiphora</i>

Fortsetzung Tabelle 77

Nr.	Bezeichnung	Kenndaten	Klassifizierung
10	5- α H,8- β H-Eudesma-1,3,7(11)-trien-8,12-olid	farbloses Öl (7,6 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +53; UV λ_{\max} (log ε): 219,0 nm (3,96); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 48); m/z 231,1382 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₁₈ O ₂ ; 231,1380); Reinheit 73,3%	bekannt
11	Lindestrenolid	farbloses Öl (6,6 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +96; UV λ_{\max} (log ε): 219,0 nm (4,04), 263,9 nm (3,07); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 49); m/z 231,1382 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₁₈ O ₂ ; 231,1380); Reinheit 97,5%	erstmals in <i>Commiphora</i> ; erstmals komplett beschrieben
12	Isohydroxylindestrenolid	weiße Kristalle (7,4 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +57; UV λ_{\max} (log ε): 215,1 nm (4,14), 263,9 nm (3,68); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 50); m/z 247,1330 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₁₈ O ₃ ; 247,1329); Reinheit 94,9%	bekannt
13	Hydroxylindestrenolid	weiße Kristalle (13,3 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +195; UV λ_{\max} (log ε): 218,1 nm (4,11); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 51); m/z 247,1334 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₁₈ O ₃ ; 247,1329); Reinheit 98,1%	bekannt
14	Atractylenolid III	weiße Kristalle (2,8 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +7; UV λ_{\max} (log ε): 219,0 nm (3,82); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 52); m/z 249,1490 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₂₀ O ₃ ; 249,1485); Reinheit 87,5%	erstmals in <i>Commiphora</i>
15	Commiphoran E3	gelbliche Kristalle (1,6 mg); $[\alpha]_D^{25}$ -33; UV λ_{\max} (log ε): 246,9 nm (4,08), 308,7 nm (3,51); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 53); m/z 243,1015 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₁₄ O ₃ ; 243,1016); Reinheit 94,7%	bekannt
16	4 β -Hydroxy-8,12-epoxyeudesma-7,11-dien-1,6-dion	weiße Kristalle (1,7 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +14; UV λ_{\max} (log ε): 203,0 nm (4,11), 267,9 nm (3,31); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 54); m/z 263,1279 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₁₈ O ₄ ; 263,1278); Reinheit 90,5%	erstmals in <i>Commiphora</i>
17	Isogermafurenolid	farbloses Öl (0,8 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +14; UV λ_{\max} (log ε): 219,9 nm (3,76); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 55); m/z 233,1539 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₅ H ₂₀ O ₂ ; 233,1536); Reinheit 91,0%	erstmals in <i>Commiphora</i>
18	Methoxyisogermafurenolid	weiße Kristalle (1,7 mg); $[\alpha]_D^{25}$ -35; UV λ_{\max} (log ε): 217,0 nm (4,07); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 56); m/z 263,1643 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₆ H ₂₂ O ₃ ; 263,1642); Reinheit 95,6%	bekannt; erstmals charakterisiert
19	8- <i>epi</i> -2-Methoxyisogermafurenolid	weiße Kristalle (1,2 mg); $[\alpha]_D^{25}$ +54; UV λ_{\max} (log ε): 216,8 nm (4,10); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 57); m/z 263,1642 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₁₆ H ₂₂ O ₃ ; 263,1642); Reinheit 97,9%	bekannt; erstmals charakterisiert

Fortsetzung Tabelle 77

Nr.	Bezeichnung	Kenndaten	Klassifizierung
20	Hydroxyisogermafurenolid	weiße Kristalle (6,3 mg); $[\alpha]_D^{25} +3$; UV λ_{\max} (log ε): 218,1 nm (3,95); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 58); m/z 249,1487 [M+H] $^+$ (berechnet: C ₁₅ H ₂₀ O ₃ ; 249,1485); Reinheit 97,9%	bekannt
21	Committerpen D	farbloses Öl (0,9 mg); $[\alpha]_D^{25} -8$; UV λ_{\max} (log ε): 204,1 nm (4,11), 276,1 nm (3,29); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 59); m/z 341,1359 [M+Na] $^+$ (berechnet: C ₁₈ H ₂₂ O ₅ ; 341,1359); Reinheit 91,0%	bisher nicht bekannt
22	rel-(+)-(1S,4R,7S)-11-Acetyl-guai-10(14)-en-4,11-ol	farbloses Öl (6,9 mg); $[\alpha]_D^{25} +38$; UV λ_{\max} (log ε): 202,0 nm (3,68); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 60); m/z 303,1931 [M+Na] $^+$ (berechnet: C ₁₇ H ₂₈ O ₃ ; 303,1931); Reinheit 95,8%	bisher nicht bekannt
23	rel-(+)-(4R,5R,7S)-11-Acetyl-guai-1(10)-en-4,11-ol	farbloses Öl (4,1 mg); $[\alpha]_D^{25} +32$; UV λ_{\max} (log ε): 203,0 nm (3,73); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 61); m/z 303,1930 [M+Na] $^+$ (berechnet: C ₁₇ H ₂₈ O ₃ ; 303,1931); Reinheit 85,0%	bisher nicht bekannt
24	Myrrhanoperoxid	farbloses Öl (0,7 mg); $[\alpha]_D^{25} +17$; UV λ_{\max} (log ε): 205,9 nm (3,86); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 62); m/z 265,1435 [M+H] $^+$ (berechnet: C ₁₅ H ₂₀ O ₄ ; 265,1434); Reinheit 89,4%	bisher nicht bekannt
25	9,10-Seco-iso-hydroxy-lindestrenolid	farbloses Öl (2,1 mg); $[\alpha]_D^{25} -2$; UV λ_{\max} (log ε): 210,0 nm (4,10), 282,0 nm (2,93); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 63); m/z 247,1333 [M+H] $^+$ (berechnet: C ₁₅ H ₁₈ O ₃ ; 247,1329); Reinheit 95,6%	bisher nicht bekannt
26	9-Nor-9,10-seco-isolindestrenolid	farbloses Öl (0,8 mg); UV λ_{\max} (log ε): 202,0 nm (3,97), 280,9 nm (2,41); ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 64); m/z 217,1223 [M+H] $^+$ (berechnet: C ₁₄ H ₁₆ O ₂ ; 217,1223); Reinheit 98,8%	bisher nicht bekannt
27	Mansumbinol	weiße Nadeln (16,1 mg); $[\alpha]_D^{25} -19$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 65); m/z 334,3105 [M+NH ₄] $^+$ (berechnet: C ₂₂ H ₃₆ O; 334,3104); Reinheit 83,1%	bekannt
28	3,4-Seco-mansum-bionsäure	weiße Kristalle (9,4 mg); $[\alpha]_D^{25} +1$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 66); m/z 329,2491 [M-H] $^-$ (berechnet: C ₂₂ H ₃₄ O ₂ ; 329,2486); Reinheit 93,4%	bekannt
29	Cycloartan-24-en-1 α ,3 β -diol	weiße Kristalle (6,4 mg); $[\alpha]_D^{25} +64$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 67); m/z 477,3507 [M+Cl] $^-$ (berechnet: C ₃₀ H ₅₀ O ₂ ; 477,3505); Reinheit 90,5%	erstmals in C. myrrha
30	Cycloartan-24-en-1 α ,2 α ,3 β -triol	weiße Kristalle (48,4 mg); $[\alpha]_D^{25} +68$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 68); m/z 476,4100 [M+NH ₄] $^+$ (berechnet: C ₃₀ H ₅₀ O ₃ ; 476,4098); Reinheit 90,6%	bekannt

Fortsetzung Tabelle 77

Nr.	Bezeichnung	Kenndaten	Klassifizierung
31	1 α -Acetoxy-9,19-cyclolanost-24-en-3 β -ol	weiße Kristalle (2,0 mg); $[\alpha]_D^{25} +46$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 69); m/z 484,3900 M^+ (berechnet: C ₃₂ H ₅₂ O ₃ ; 484,3911); Reinheit 68,8%	erstmals in <i>C. myrrha</i> , erstmals komplett beschrieben
32	1 α -Acetoxy-cycloartan-24-en-2 α ,3 β -diol	weiße Kristalle (6,0 mg); $[\alpha]_D^{25} +30$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 70); m/z 523,3751 [M+Na] ⁺ (berechnet: C ₃₂ H ₅₂ O ₄ ; 523,3758); Reinheit 89,2%	erstmals in <i>C. myrrha</i>
33	3 β -Isovaleroyl-oxy-cycloartan-24-en-1 α ,2 α -diol	weiße Kristalle (2,4 mg); $[\alpha]_D^{25} +25$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 71); m/z 565,4233 [M+Na] ⁺ (berechnet: C ₃₃ H ₅₈ O ₄ ; 565,4227); Reinheit 54,9%	erstmals in <i>C. myrrha</i>
34	29-Nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α ,3 β -triol	weiße Kristalle (32,7 mg); $[\alpha]_D^{25} +83$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 72); m/z 445,3675 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₂₉ H ₄₈ O ₃ ; 445,3676); Reinheit 93,9%	erstmals in <i>C. myrrha</i>
35	3 β -Isovaleroyloxy-29-nor-lanost-8,24-dien-1 α ,2 α -diol	weiße Kristalle (1,7 mg); $[\alpha]_D^{25} +28$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 73); m/z 563,3876 [M+Cl] ⁻ (berechnet: C ₃₄ H ₅₆ O ₄ ; 563,3873); Reinheit 60,9%	bisher nicht bekannt
36	29-Nor-1,2-cis-epoxy-lanost-8,24-dien-3 β -triol	weiße Kristalle (2,0 mg); $[\alpha]_D^{25} +32$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 74); m/z 427,3581 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₂₉ H ₄₆ O ₂ ; 427,3571); Reinheit 83,2%	bisher nicht bekannt
37	Hydroxy-dammarenon II	weiße Kristalle (4,1 mg); $[\alpha]_D^{25} +42$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 75); m/z 443,3897 [M+H] ⁺ (berechnet: C ₃₀ H ₅₀ O ₂ ; 443,3884); Reinheit 89,8%	erstmals in <i>Commiphora</i>
38	Hydroxydammar-24-en-3,16-dion	weiße Kristalle (6,2 mg); $[\alpha]_D^{25} +1$; ^1H - und ^{13}C -NMR (Tabelle 76); m/z 491,3305 [M+Cl] ⁻ (berechnet: C ₃₀ H ₄₈ O ₃ ; 491,3297); Reinheit 71,6%	bisher nicht bekannt, erstmals komplett beschrieben

3.4.2. Sesquiterpene

Sesquiterpene stammen biosynthetisch aus dem Terpen-Stoffwechsel, in dem aus drei Isopreneinheiten zunächst Farnesyldiphosphat entsteht. Ausgehend von der Farnesyl-Grundstruktur kommt es anschließend zu Ringschlüssen, wodurch Germacrane, Cadinane, Eudesmane, Elemane, Guajane oder andere Grundkörper entstehen (Abbildung 113). Zur Bildung der für diese Arbeit relevanten Typen zyklisiert das Farnesan über Pos. 6,7 in einem ersten Schritt formal zum Germacran, das einen flexiblen Cyclodecanring besitzt. Je nach Konformation des Rings sind ausgehend vom Germacran weitere Bindungen möglich. So entsteht durch 1,6-Verknüpfung der Cadinan-Grundkörper, wohingegen bei einer 5,10-Verknüpfung das Eudesman und unter Beteiligung von Pos. 1 und 5 das Guajan gebildet wird. Eine Untergruppe der Eudesmane bilden die Elemane, die durch einen Bindungsbruch

zwischen Pos. 2,3 aus diesen hervorgehen. In weiteren Schritten werden die Grundkörper dann weiter modifiziert und können so eine gewaltige Strukturvielfalt erreichen. Im Folgenden soll auf die einzelnen Strukturtypen genauer eingegangen werden.

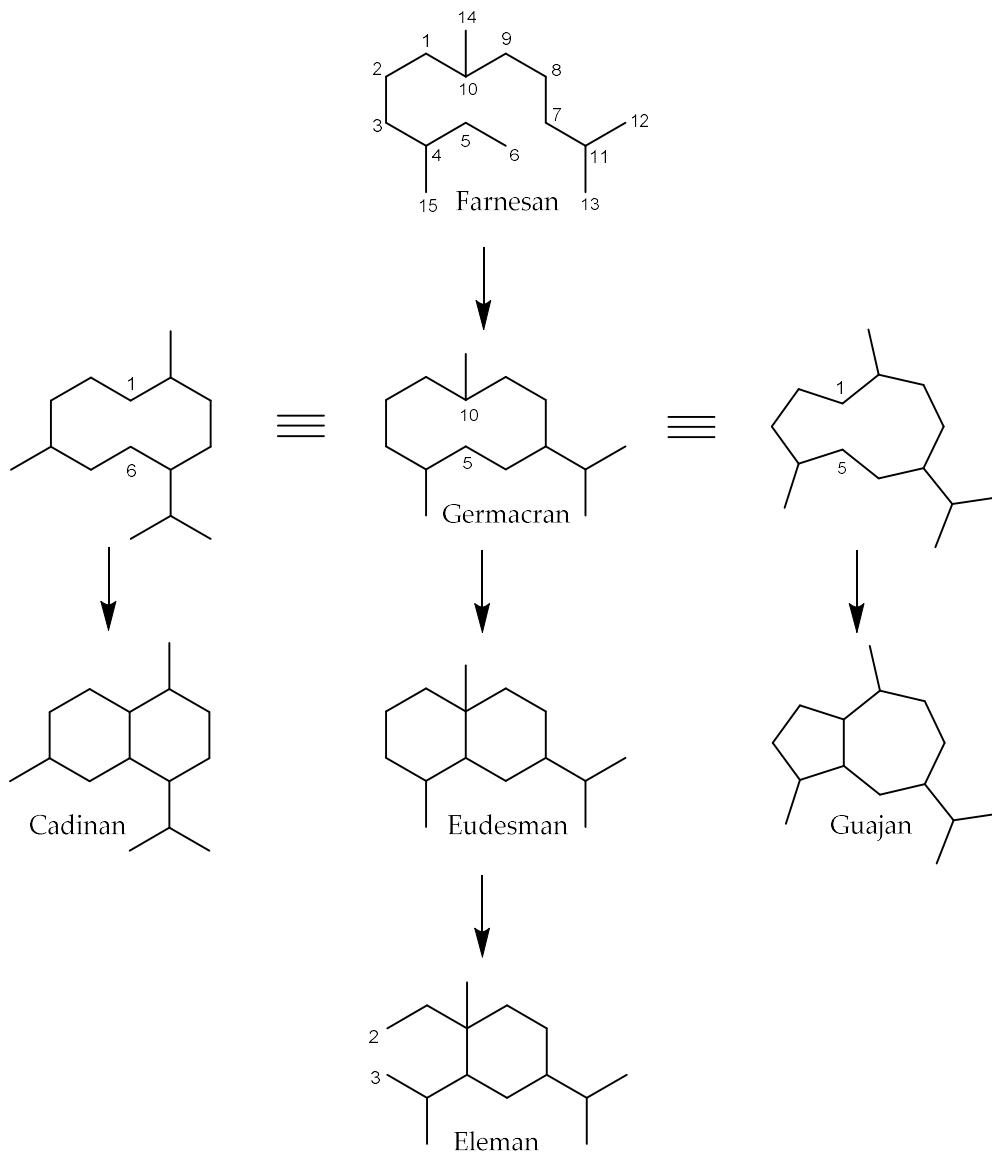


Abbildung 113. Formale Ableitung der isolierten Sesquiterpen-Stukturtypen vom Farnesan Grundskelett (vgl. Pharmakognosie – Phytopharmazie, [18]).

3.4.3. Germacrane

Neun der isolierten Verbindungen (1-9) besitzen ein Germacran Grundgerüst (**Abbildung 114**). Dieses stammt biosynthetisch direkt vom Farnesan ab und entsteht durch einen Ringschluss zwischen Pos. 6 und 7 (**Abbildung 113**).

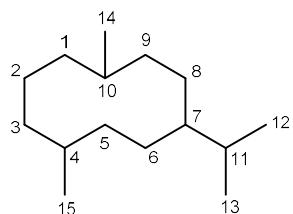


Abbildung 114. Germacran Grundgerüst.

Germacrane zeichnen sich durch einen flexiblen Cyclodecan-Ring aus, der mehrere Doppelbindungen oder Epoxidgruppen, biosynthetisch bedingt meist in Pos. 1(10) und 4(5) sowie verschiedene Substituenten tragen kann. Der Isopropyl-Rest kann oxidiert sein und an Pos. 12 bzw. 13 eine Carbonsäure tragen. Reagiert diese mit einer Hydroxy-Gruppe an Pos. 6 oder 8, entsteht ein Lactonring und man spricht von einem Germacranolid.

Da Germacrane dem Farnesan relativ nahe stehen, sind sie im Pflanzenreich ubiquitär verbreitet. So finden sich zum Beispiel strukturell sehr ähnliche Verbindungen zu den hier isolierten in der Gattung *Curcuma* [105,115] und *Glechoma* [104]. Am weitesten sind sie aber in der Familie der Asteraceae verbreitet [126,141-144] und kommen auch in pharmazeutisch relevanten Pflanzen wie *Cnicus benedictus*, *Taraxacum officinale*, *Artemisia absinthium* und *Tanacetum parthenium* vor [18]. Als prominenteste und bestuntersuchte Vertreter sind zuallererst Parthenolid und Costulonid zu nennen (**Abbildung 115**). Parthenolid wurde 1961 zuerst beschrieben [145] und kommt vor allem in *Tanacetum parthenium*, dem Mutterkraut, aber auch in anderen Asteraceen und Magnoliaceen vor. Seine pharmakologischen Eigenschaften wurden intensiv erforscht, wobei sowohl anti-inflammatorische und anti-protozoische Eigenschaften, als auch selektive anti-proliferative Wirkung auf verschiedene Krebszelllinien *in vitro* gezeigt werden konnten [146,147]. Auch Costulonid wirkt anti-inflammatorisch, anti-ulzerogen und anti-proliferativ [147]. Die Wirkung der Substanz auf Krebszellen geht hier vermutlich auf die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und die dadurch induzierte Apoptose zurück [148]. Eine Leitsubstanz aus Myrrhe vom Typ der Germacrane ist das Furanodien, das zu 20% im ätherischen Öl von *C. myrrha* enthalten ist [136].



Abbildung 115. Struktur von Parthenolid, Costulonid und Furanodien.

Ein Großteil der von Parthenolid und Costulonid vermittelten pharmakologischen Wirkungen gehen wahrscheinlich auf die α -Methylen- γ -lacton-Struktur zurück, welche bei vielen Sesquiterpenlactonen vorhanden ist. Dieses α,β -ungesättigte Carbonyl kann im Zuge einer Michael-Addition reagieren und durch eine Bindung an Thiol-Gruppen von NF- κ B eine Alkylierung hervorrufen [149–151]. Aber auch Substanzen, die keine Lacton-Struktur besitzen, wie Furanodien, können trotz eines fehlenden α,β -ungesättigten Carbonyls in einem Mausmodell anti-inflammatorische Eigenschaften zeigen [148].

Die isolierten Germacrane (**Abbildung 116**) enthalten ebenfalls keine exozyklische Doppelbindung. Diese ist entweder Richtung Pos. 7 verschoben, wodurch ein α,β -ungesättigtes Cyclopentenon entsteht oder der ganze Ring zu einem Furan reduziert.

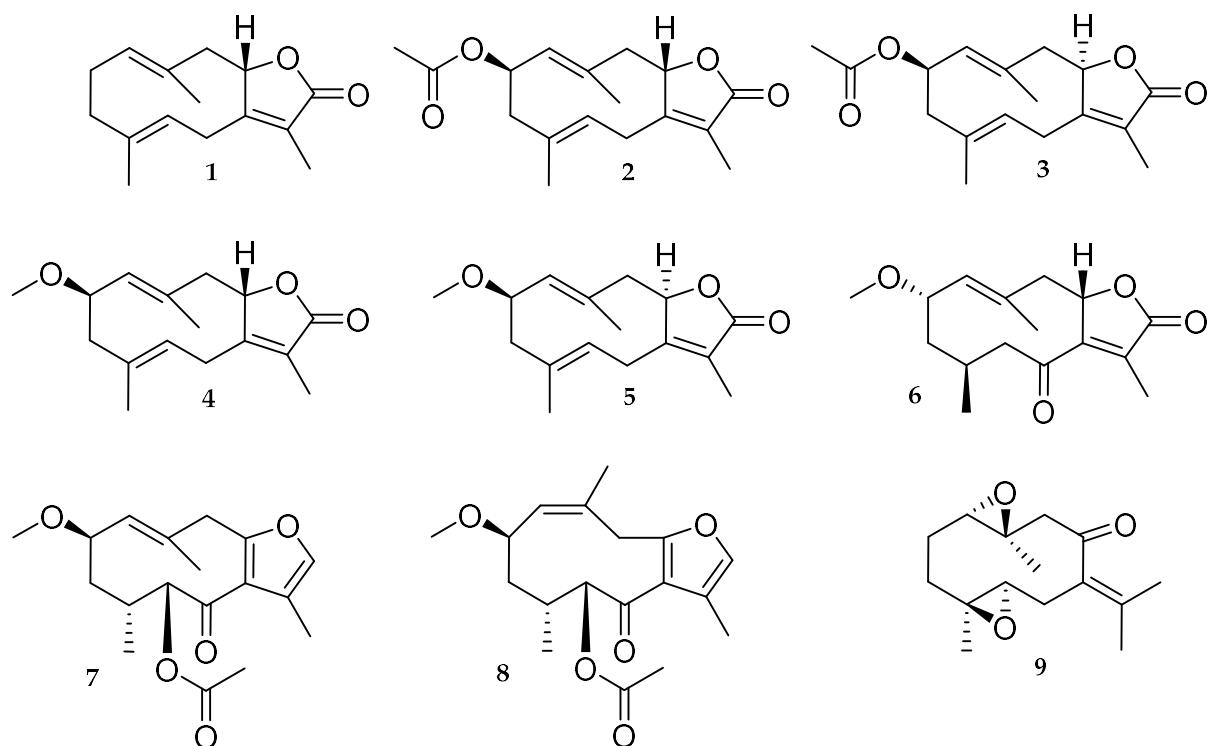


Abbildung 116. Übersicht aller isolierter Sesquiterpene vom Germacran-Typ (1–9)

Die Isolate unterscheiden sich neben der Ausprägung des Lactonrings untereinander in Anzahl und Lage der Doppelbindungen, die gewöhnlich an den Pos. 1(10) und 4(5) liegen und fast immer (E)-konfiguriert sind. Doppelbindungen können aber auch durch Epoxidierung aufgebrochen werden (z.B. 9) oder fehlen (6–8). Eine der Substanzen (8) weist auch eine (Z)-Konfiguration der 1(10)-Bindung auf, was sich vor allem an der chemischen

Verschiebung an C-14 bemerkbar macht [113]. Darüber hinaus entstehen Strukturvariationen durch Substitutionen mit Methoxy- und Acetyl-Gruppen an Pos. 2 oder 5. Nicht zuletzt kommen auch durch die vorhandenen Chiralitätszentren verschiedene Konfigurationsmöglichkeiten in Frage, was zum Auftreten von Stereoisomeren führt (2/3, 4/5).

Aufgrund des Cyclodecan-Rings, treten bei den Germacranen einige Effekte auf, die bei anderen Strukturtypen nicht zu beobachten sind. Zum einen ist die Bestimmung der Konfiguration dieser Verbindungen wegen der hohen Flexibilität des zehngliedrigen Rings oft nicht trivial und erfordert eine genaue Studie der NOESY-Daten, sowie den Abgleich mit Literaturdaten bereits bekannter Verbindungen. Dies liegt vor allem daran, dass viele verschiedene Konformationen der Verbindungen denkbar sind, die sich in ihren Energieniveaus sehr ähneln. So sind alleine für (*E,E*)-Germacrane vier Konformationsmöglichkeiten bekannt, die sich in ihrer Geometrie signifikant unterscheiden [152]. In einigen Konformationen ist es sogar möglich, dass eine der Doppelbindung sich durch den Cyclodecanring wie ein Springseil dreht (Jump-Rope Rotation) [153,154] und dadurch Protonen zur Ringmitte orientiert sein können. Dies kann die Interpretation von NOESY-Spektren unter Umständen erschweren.

Eine weitere Besonderheit ist, dass aufgrund der Ringgröße eine (*E*)- oder (*Z*)-Konfiguration der Doppelbindungen möglich ist. Das ist problematisch, da eine Bestimmung der Konfiguration über die Kopplungskonstanten vinylischer Protonen hier ausgeschlossen ist, da an jeder Doppelbindung immer ein quartärer Kohlenstoff beteiligt ist. Allerdings kann nach Lage et al. über die chemische Verschiebung der Methylgruppe an der Doppelbindung eine Aussage über deren Orientierung getroffen werden. So liegt δ_c der Methylgruppe bei einer (*E*)-Konfiguration in der Regel unter 20 ppm, während sie bei (*Z*) über 20 ppm liegt [113]. Auf diese Weise ist es möglich die Konfiguration trotz fehlender Protonen zu bestimmen.

3.4.4. Eudesmane und Elemane

Die isolierten Eudemanne und Elemane haben sowohl physikochemisch als auch biosynthetisch große Gemeinsamkeiten und sollen deshalb hier zusammen diskutiert werden.

Sieben der isolierten Verbindungen (10-16) gehören zum Strukturtyp der Eudesmane (**Abbildung 117**). Biosynthetisch entstehen sie aus den Germacranen, wobei enzymatisch eine zusätzliche Bindung zwischen Pos. 5 und 10 eingefügt wird, die den Cyclodekan- in zwei Cyclohexanringe teilt (**Abbildung 113**). Auch bei den Eudesmanen kann es durch Oxidation des Isopropyl-Rests zu einem weiteren Ringschluss mit Pos. 6 oder 8 kommen, wodurch trizyklische Verbindungen entstehen. Die Elemane bilden eine Untergruppe der Eudesmane, bei der durch einen C-C-Bindungsbruch zwischen Pos. 2 und 3 ein Ring

geöffnet wird (**Abbildung 113**, **Abbildung 117**). Bei den vier isolierten Elemanen (**17-20**) handelt es sich daher um Sesquiterpenlactone mit einem bizyklischen Ringsystem.

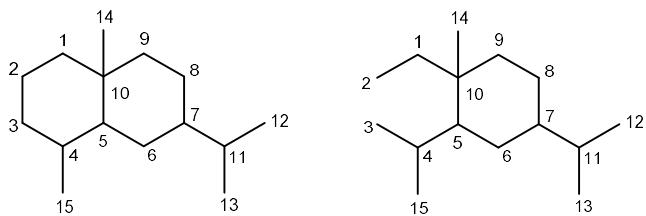


Abbildung 117. Eudesman- (links) und Eleman-Grundgerüst (rechts).

Wie die Germacrane sind auch Eudesmane vor allem in der Familie der Asteraceae weit verbreitet [155]. Zu den am besten untersuchten Sesquiterpenen vom Eudesman-Typ gehören unter anderem Santonin und Atractylenolid III (**Abbildung 118**). Santonin ist eines der am längsten bekannten Sesquiterpenlactone und wurde bereits 1830 in *Artemisia santonica* entdeckt [147]. Es zeigte in Tierversuchen sowohl eine anti-inflammatorische, analgetische als auch antipyretische Aktivität [156]. Eingesetzt wurde es vor allem als Antiwurmmittel, wird aber wegen seiner neurotoxischen Wirkung nicht mehr verwendet [157]. Im Gegensatz dazu inhibiert Atractylenolid III NF- κ B und hat Einfluss auf die NO-Produktion. Die Verbindung wurde zuerst 1979 von Endo et al. aus *Atractylodes japonica* isoliert [117] und auch in zahlreichen anderen Pflanzen nachgewiesen. In dieser Arbeit wurde das Vorkommen von Atractylenolid III (Verbindung **14**) zum ersten Mal innerhalb der Gattung *Commiphora* dokumentiert.

Auch in Myrrhe kommen verschiedene Eudesmane und Elemane vor. Als Leitsubstanzen dieser beiden Strukturklassen werden im Kommentar zum Ph. Eur. Furanoeudesma-1,3-dien und Curzerenon genannt [158] (**Abbildung 118**). Diese beiden Verbindungen wurden auch in die pharmakologischen Untersuchungen miteinbezogen, die in Kapitel 4 vorgestellt werden.

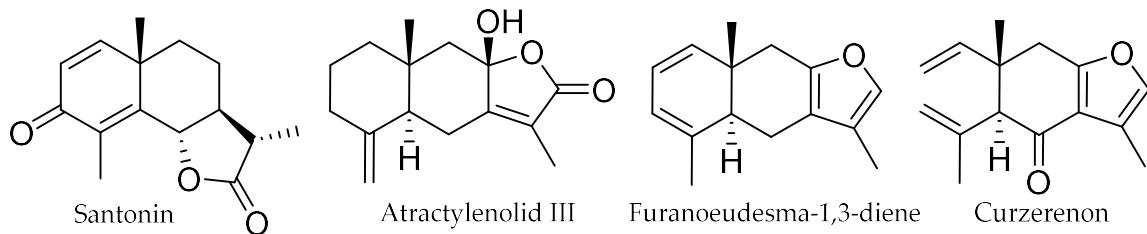


Abbildung 118. Strukturen von Santonin, Atractylenolid III, Furanoeudesma-1,3-dien und Curzerenon.

Die isolierten Verbindungen (**Abbildung 119**) unterscheiden sich in ihrem Substitutionsmuster nur wenig von den Germacrancen. Sie weisen ebenfalls ein 2-Methyl-2-butenolid oder einen Furanring sowie Methoxygruppen an Pos. 2 und zusätzliche Carbonylgruppen auf. Lediglich die Hydroxylierung an Pos. 8 tritt bei den isolierten Germacrancen nicht auf. Grundsätzlich unterscheiden sie sich die meisten Eudesmane von

den Germacranen in der Lage ihrer Doppelbindungen, die aufgrund des Ringschlusses zu den Positionen 1(2) und 3(4) bzw. 4(15) verschoben sind.

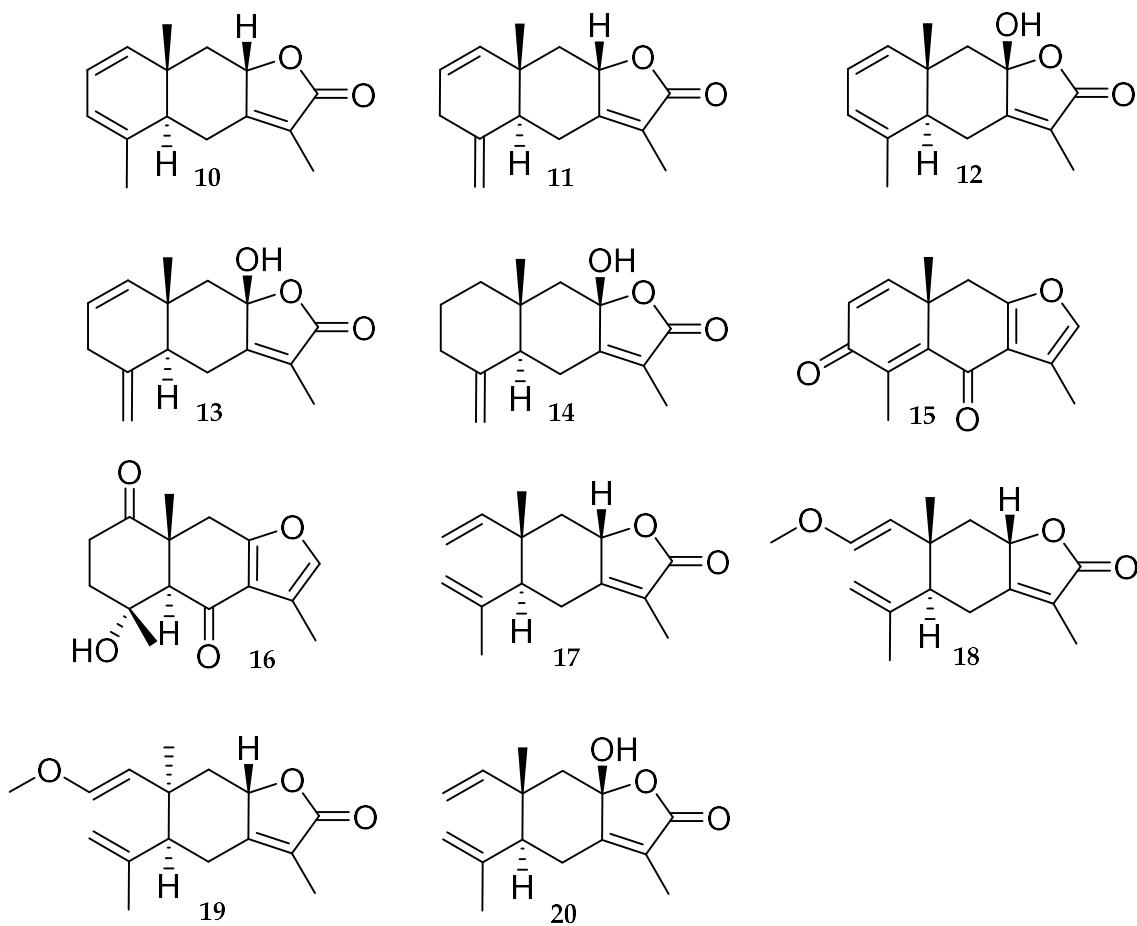


Abbildung 119. Übersicht aller isolierter Sesquiterpene vom Eudesman- (10-16) und Eleman-Typ (17-20).

Die biosynthetische Herkunft der Elemane wird im Allgemeinen auf die Eudesmane zurückgeführt [18]. Es gibt aber auch Anzeichen dafür, dass Verbindungen wie 17-20 aus Germacranen durch Cope-Umlagerung entstehen können (**Abbildung 120**). Ob dies im Rahmen der Biosynthese geschieht oder eine Form der Artefaktbildung darstellt, ist nicht abschließend geklärt [159–161]. Die Reaktion scheint allerdings nicht ohne weiteres spontan abzulaufen, da sowohl die isolierten Germacrane als auch Elemane zumindest soweit stabil sind, dass sie den Isolierungsprozess überstanden haben und auch Monate nach den Arbeiten noch als Reinstoffe vorliegen.

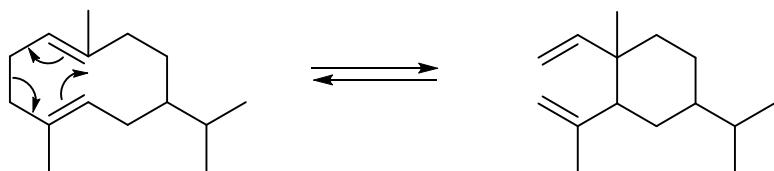


Abbildung 120. Beispiel für eine Cope-Umlagerung, die ein Gleichgewicht zwischen Germacranen und Elemanen herstellt.

3.4.5. Cadinane

Cadinane leiten sich formal von den Germacranen ab, wobei es zu einer zusätzlichen Bindung zwischen Pos. 1 und 6 kommt (**Abbildung 113**). Das Cadinan-Grundgerüst ist bizyklisch wie das der Eudesmane (**Abbildung 121, a**), unterscheidet sich aber in der Lage Methyl- und Isopropylgruppen. Auch hier kann durch Oxidationen ein zusätzlicher Lactonring und damit ein trizyklisches System entstehen, wie es bei **21** der Fall ist (**Abbildung 121, b**).

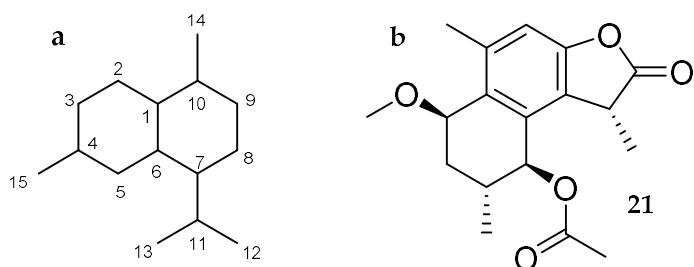


Abbildung 121. Cadinan Grundgerüst (a) und Struktur von **21**, der einzigen isolierten Verbindung dieses Strukturtyps (b).

Auch der Cadinan-Grundkörper ist im Pflanzenreich weit verbreitet. Sogar unter den Koniferen finden sich einige Pflanzen die Cadinan-Sesquiterpene bilden, obwohl bei Nadelhölzern die Bildung von Mono- und Diterpenen begünstigt ist [162,163]. So kommen zum Beispiel in den Gattungen *Juniperus* [164] und *Pinus* [165] Cadinane vor.

Auch Artemisinin, eines der an besten untersuchten Sesquiterpene und potentes Antimalariamittel zählt im weitesten Sinne zu den Cadinanen. Es besitzt einem 4,5-Seco-cadinan-Grundkörper und wurde mehrfach oxidiert. Außerdem trägt es eine Endoperoxidstruktur [18,161] (**Abbildung 122**).

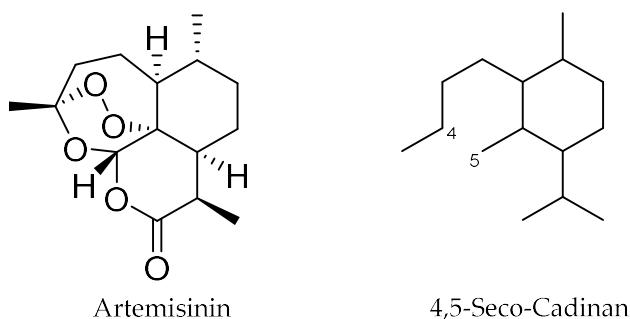


Abbildung 122. Struktur von Artemisinin und dem zugrundeliegenden Kohlenstoffskelett 4,5-Seco-cadinan.

Cadinane von der Art der isolierten Struktur **21** finden sich vor allem bei *Chloranthus* [122], sind auch für die Gattung *Commiphora* bekannt [27].

3.4.6. Guajane

Guajane entstehen biosynthetisch aus Germacranen, wobei in den Cyclodecanring eine zusätzliche Bindung zwischen Pos. 1 und 5 eingefügt wird (**Abbildung 113**). Anders als bei den Eudesmanen und Cadinane entstehen dadurch hier keine annellierten Cyclohexanringe, sondern ein Cyclopentan und -heptan (**Abbildung 123, a**). Durch Oxidationen kann, wie bei anderen Sesquiterpenen auch hier eine Lactonisierung stattfinden, dies ist allerdings bei den hier isolierten Verbindungen nicht der Fall und die Isopropylstruktur nur bis zum Alkohol oxidiert (**Abbildung 123, b**).

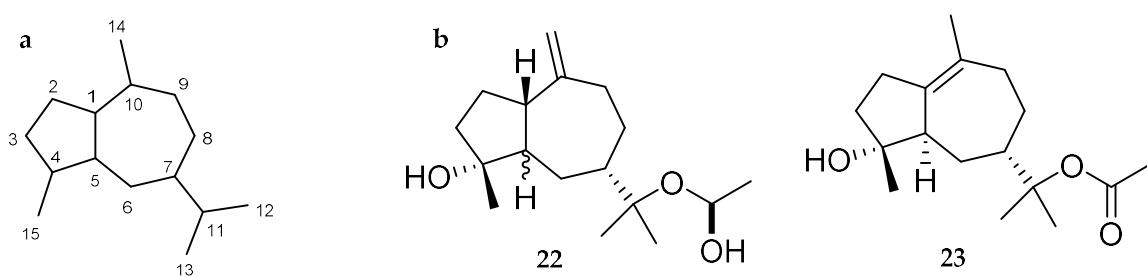


Abbildung 123. Guajan Grundgerüst (a) und Strukturen der beiden isolierten Verbindungen dieses Strukturtyps 22 und 23 (b).

Unter den Guajanen befinden sich viele prominente Verbindungen, von denen hier nur einige wenige genannt werden sollen. Auch diese Strukturklasse ist vor allem unter den Asteraceen weit verbreitet. Das Matricin (**Abbildung 124**) aus *Matricaria recutita* ist ein Beispiel für ein Guajanolid, das sehr labil ist und sich beispielsweise unter Hitzeeinwirkung schnell zersetzt. Bei dieser Reaktion bildet es unter Abspaltung von Wasser, Essigsäure und CO₂ das blau gefärbte Chamazulen, weshalb Matricin als Proazulen bezeichnet wird [18]. Nicht alle Guajanolate sind zu dieser Reaktion befähigt. So sind die isolierten Verbindungen nicht proazulen, da die entscheidenden Oxidationen an den Pos. 6, 8 und 13 fehlen und auch an 2(3) keine Doppelbindung vorhanden ist. Allerdings konnte bei der Fraktion F7C6P3 beobachtet werden, dass nach wenigen Stunden in CDCl₃ eine Blaufärbung eintrat, was auf eine ähnliche Reaktion hindeutet.

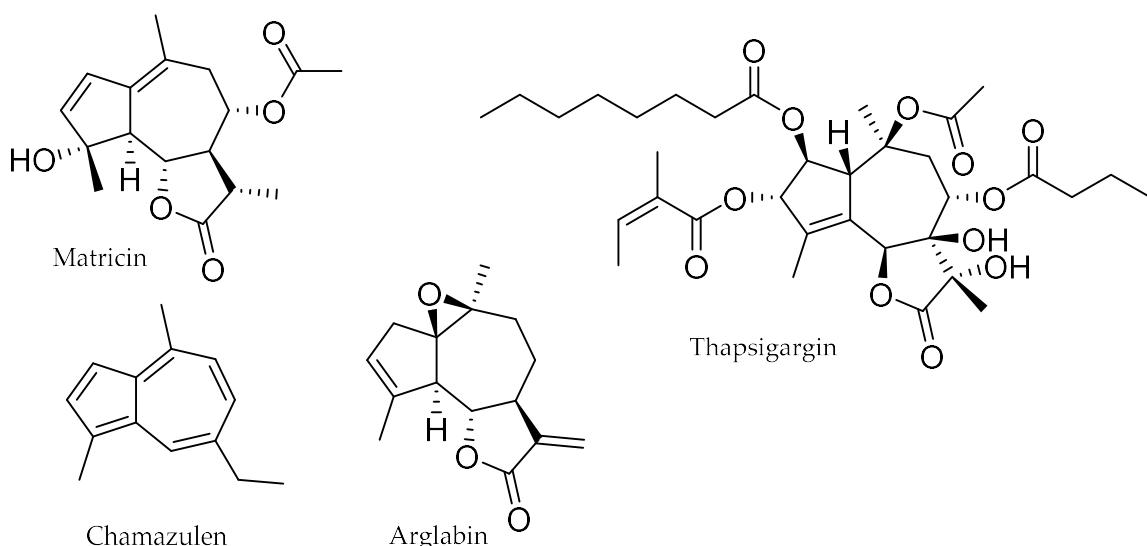


Abbildung 124. Strukturen von Matricin, Chamazulen, Arglabin und Thapsigargin.

Pharmakologisch gut untersuchte Guajanolate sind zum Beispiel Arglabin und Thapsigargin (**Abbildung 124**). Arglabin ist eine Verbindung aus *Artemisia glabella*, die von Adekenov et al. isoliert wurde [166]. Sie ist *in vitro* besonders aktiv gegen bestimmte Tumorzelllinien und wirkt anders als andere Sesquiterpenlacone über eine Hemmung der Farnesyltransferase [147,167]. Die Anwendung von Zubereitungen mit Arglabin oder seinen Derivaten bei Tumorerkrankungen wurde in den USA patentiert [168] und die Verbindung Dimethylaminoarglabin wurde bereits in klinischen Studien der Phase I und II bei Lungen-, Leber- und Ovarialkarzinomen untersucht [167]. Auch ein Prodrug des Thapsigargin (**Abbildung 124**) das Mipsagargin wurde bereits in einer klinischen Phase II Studie gegen Leberzellkarzinome getestet [169]. Die Ausgangsverbindung Thapsigargin stammt ursprünglich von *Thapsia gargarica* [170]. Der anti-tumorale Wirkmechanismus beruht vermutlich auf seiner Fähigkeit eine Calcium-ATPase am Sarco-endoplasmatische Retikulum (SERCA) zu inhibieren. Auch eine virusstatische Wirkung gegen Influenza A und SARS-CoV-2 konnte gezeigt werden [171].

In *C. myrrha* sind Guajane vorzugsweise unter den Minorkomponenten vertreten und kommen in der Regel nicht als Lactone vor [5], wobei auch Ausnahmen bekannt sind [172]. Myrrhe enthält außerdem Gujan-Derivate, welche zusätzliche C-C-Bindungen besitzen. So kommen hier beispielsweise Abkömlinge des Aromadendrins (6,11-Cyloguajane) und Cubebans (1,6-Cycloguajane) vor [22,173] (**Abbildung 125**).

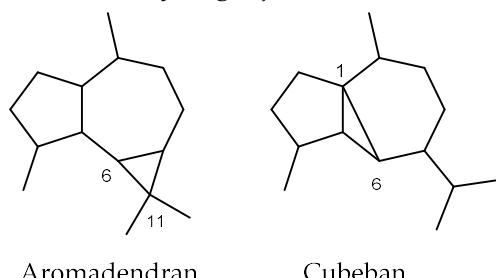


Abbildung 125. Kohlenstoffskelett des Aromadendrins (6,11-Cyloguajan) und Cubebans (1,6-Cycloguajan).

3.4.7. Seco-Verbindungen

Bei einigen Sesquiterpenen kommt es während der Biosynthese zur Spaltung von C-C-Bindungen, wodurch sogenannte Seco-Verbindungen entstehen. So sind beispielsweise die Elemane Abkömmlinge der Eudesmanen, die sich durch eine Bindungsspaltung zwischen Pos. 2 und 3 auszeichnen. Vereinzelt wurden auch andere Seco-Sesquiterpenolide isoliert, die von Eudesmanen [20-22], Cadinanen [23], Germacranen [23] oder Guajanen [24-26] abstammen. Eine Übersicht über einige bekannt Grundstrukturen von Seco-Eudesmanoliden und -Guajanoliden ist in **Abbildung 126** dargestellt.

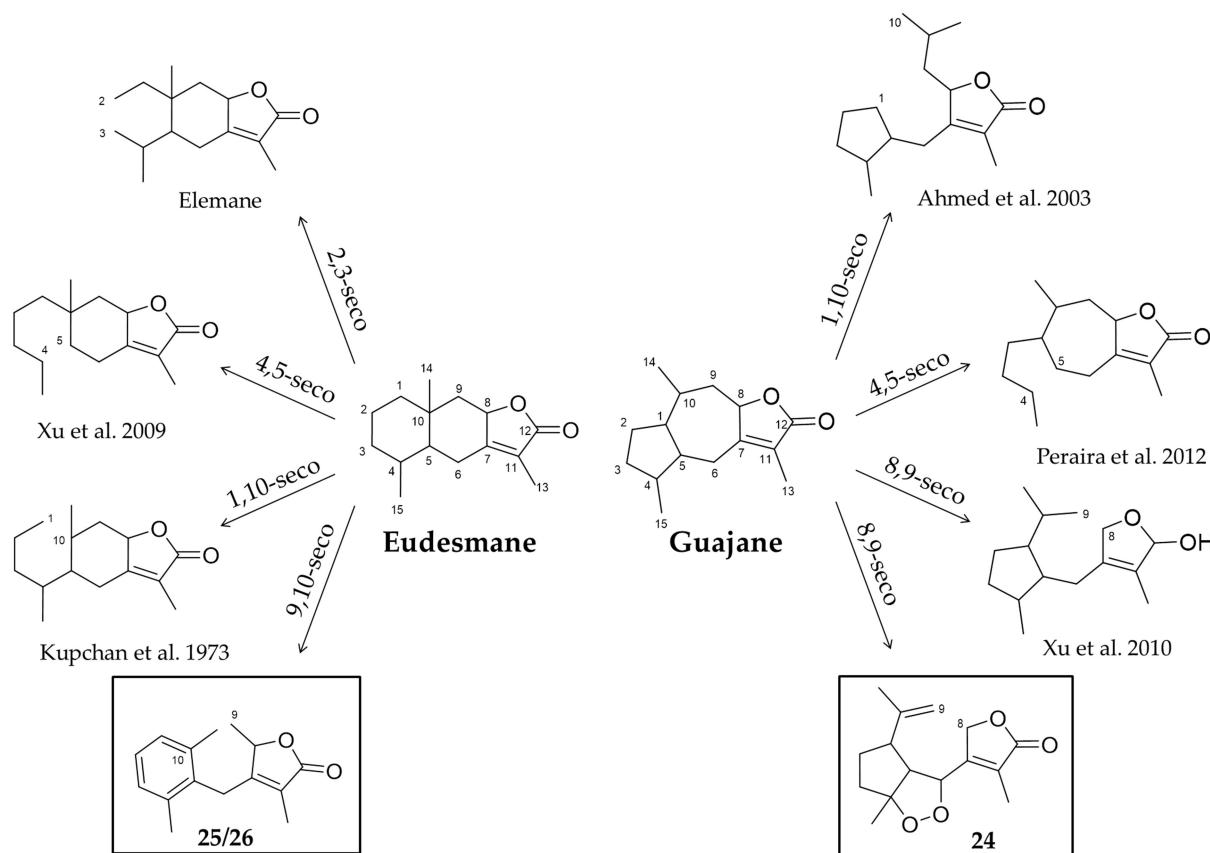


Abbildung 126. Übersicht von Grundstrukturen einiger bekannter Seco-Verbindungen, die auf Sesquiterpenlactone vom Eudesman (links) oder Guajan-Typ (rechts) zurückgehen. Bei den Eudesmanen sind die Elemane, die am häufigsten vorkommende Seco-Form, es sind aber auch 4,5- und 9,10-Seco-Eudesmane bekannt [174,175]. In dieser Arbeit werden außerdem 9,10-Seco-Verbindungen vorgestellt (Kasten links unten). Vom Guajanolid sind die 1,10- [124], 4,5- [129], und 8,9-Seco-Form [175] bekannt, zu der auch die in dieser Arbeit präsentierte Struktur zählt (Kasten rechts unten).

Wie **Abbildung 126** zu entnehmen ist, sind bereits verschiedene Strukturvarianten der Seco-Guajane bekannt. Diese kommen vor allem in verschiedenen Asteraceen, wie zum Beispiel *Tanacetum* und *Artemisia* vor. Bei **24** (**Abbildung 127**) handelt es sich um ein 8,9-Seco-Guajan, das große Ähnlichkeit zu Verbindungen zeigt, die von Xu et al. aus *Chloranthus anhuiensis* isoliert wurden [131] (**Abbildung 91**). Die Endoperoxid-Struktur der

Verbindung ist ebenfalls ungewöhnlich, kommt aber auch bei anderen Sesquiterpenen wie im Artemisinin (**Abbildung 122**) vor. **24** ist die erste in Myrrhe nachgewiesene Verbindung, die eine Peroxo-Partialstruktur trägt.

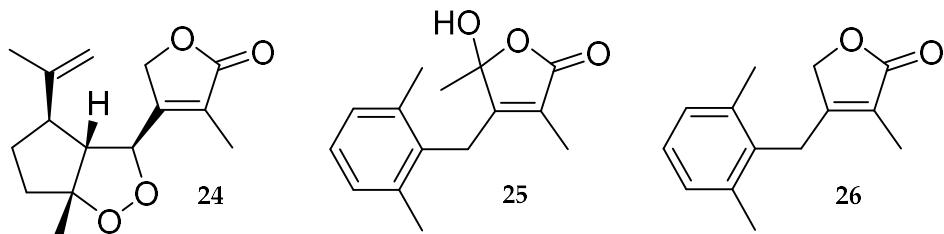


Abbildung 127. Übersicht isolierter Seco-Sesquiterpene (24-26).

Bei **25** und **26** (**Abbildung 127**) handelt es sich um 9,10-Seco-Eudesmane. Dieses Kohlenstoffgerüst wurde hier zum ersten Mal nachgewiesen und war zuvor als Naturstoff nicht bekannt

Abgesehen von den eben genannten Substanzen finden sich in *C. myrrha* Seco-Verbindungen von Cadinan-Typ. So konnten beispielsweise die 7-8-Seco-Cadinane Myrracalamen A-C und Myrrhacadinol B und C in einem ethanolischen Extrakt des Gummiharzes nachgewiesen werden [176]. Die Verbindung Myrracalamen A sei in **Abbildung 128** beispielhaft dargestellt.

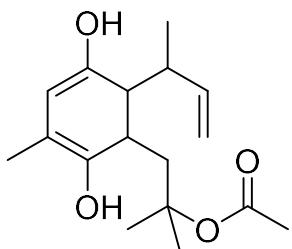


Abbildung 128. Struktur von Myrracalamen A.

3.4.8. Triterpene

Da in dieser Arbeit mehrere Verbindungen isoliert wurden, die an der Schwelle zwischen Triterpenen und Steroiden stehen, soll an dieser Stelle kurz auf die Biosynthese dieser Stoffklassen eingegangen werden.

Beide Stoffgruppen stammen aus dem Terpen-Stoffwechsel und leiten sich von der Schlüsselverbindung Squalen ab (**Abbildung 129**), welche aus sechs Isopreneinheiten besteht. Im epoxidierten Zustand (Squalen-2,3-epoxid) kann dieses zu tetracyclischen Triterpen-Kationen zyklisieren, die sich in ihrer Konfiguration unterscheiden. Aus dem Dammaran-Kation entstehen anschließend verschiedene Triterpen-Typen (Dammaran, Oleanan, Ursan, Lupan u.a.) [18]. Für diese Arbeit ist vor allem der Dammaran-Typ von Bedeutung, von dem zwei Vertreter isoliert werden konnten (37, 38).

Beim Protosterol-Kation wird die positive Ladung durch einen CH₃-Shift von Pos. 8 nach 13 abgebaut. Dadurch entsteht zwischen Pos. 8 und 9 eine Doppelbindung oder es bildet sich ein Cyclopropan-Ring. Im Falle des Cyclopropan-Rings entstehen Cycloartane, aus denen durch weitere Substitutionen verschiedene Triterpene gebildet werden können (siehe 29-33). Cycloartan ist bei Pflanzen die Mutterverbindung aller Steroide, welche durch oxidative Abspaltung von drei Methylgruppen an Pos. 4 und 14 entstehen. Pflanzliche Steroide besitzen meist eine erweiterte Seitenkette und werden dann als Phytosterole bezeichnet [177-179]. Es kommen aber auch Steroide ohne erweiterte Seitenkette wie Cholesterin in Pflanzen vor [180].

Wird die positive Ladung im Protosterol-Kation durch eine Doppelbindung abgebaut, entsteht Lanosterol. Diese Verbindung ist aus dem Primärstoffwechsel von Pilzen und Tieren bekannt und stellt dort die Ausgangssubstanz für die Steroidsynthese dar. Lanosterol kann aber auch im pflanzlichen Stoffwechsel entstehen [181]. Die hier beschriebenen ungewöhnlichen Triterpene mit einem 4-Demethyllanosterol-Grundgerüst (34-36) könnten aus Lanosterol durch eine Abspaltung einer Methylgruppe an Pos. 4 entstanden sein. Die Reaktion könnte damit analog zur Demethylierung von Cycloartan ablaufen, die während der Steroidbiosynthese in Pflanzen stattfindet.

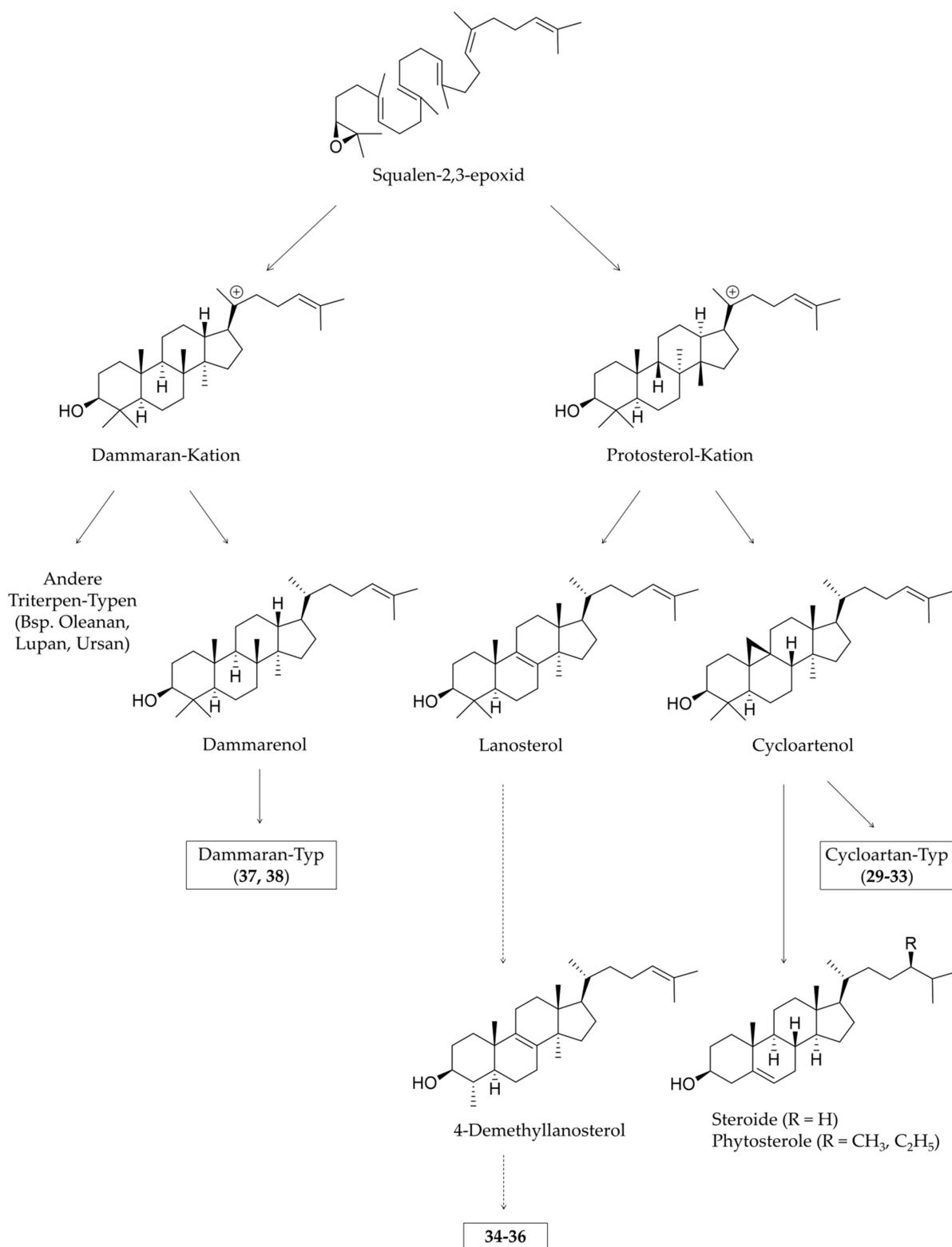


Abbildung 129. Übersicht über die Biosynthese verschiedener Triterpene und Steroide ausgehend von Squalen-2,3-epoxid. Während die isolierten Verbindungen vom Dammaran-Typ (37, 38) auf den linken Ast zurückgehen, entstehen der Cyloartan-Typ (29-33) und die Steroide/Phytosterole aus dem rechten Ast. Substanzen von 4-Demethyldolanosterol-Typ (34-36) gehen vermutlich auf das Lanosterol zurück und entstehen ähnlich wie die Steroide durch oxidative Demethylierung (gestrichelte Pfeile). Grafik angelehnt an [18].

Dass die Abspaltung von Methylgruppen in der Steroidsynthese auch nur teilweise erfolgen kann, zeigen sogenannte 4-Methyl-Sterole. Mit diesem Begriff werden Verbindungen wie Granisterol oder Carpesterol zusammengefasst, bei denen die Abspaltung von C-28 und C-30 bereits erfolgt ist, die an Pos. 4 aber noch eine Methylgruppe tragen (**Abbildung 130**).

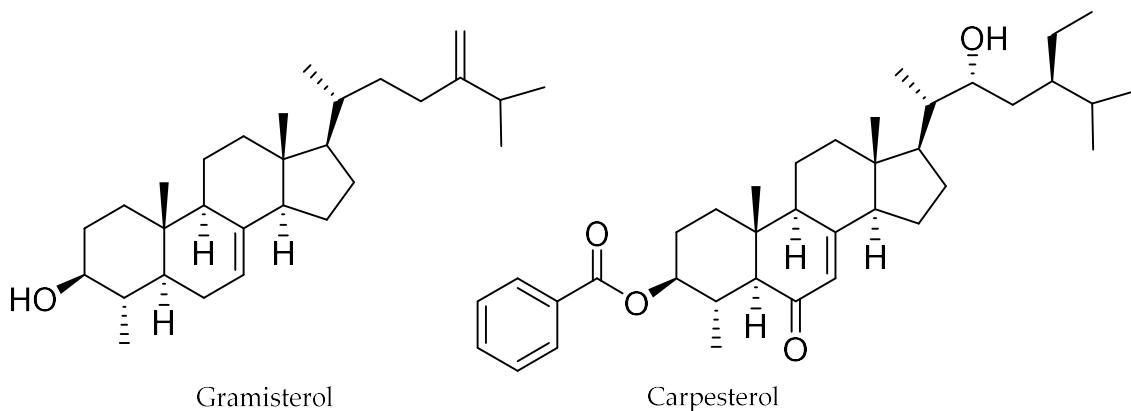


Abbildung 130. Struktur von Grami- und Carpesterol, zwei Beispiele für 4-Methyl-Sterole.

Die isolierten Triterpene sind in **Abbildung 131** noch einmal zusammengefasst. Während sich die Grundkörper der Substanzen, wie zuvor beschrieben, unterscheiden, zeigen sich in Substitutionsmuster einige Gemeinsamkeiten. So sind alle Verbindungen außer den Dammaranen (37, 38) am A-Ring hydroxyliert. Zusätzliche Hydroxy-Funktionen finden sich an den Positionen 1 und 2 und können auch mit Acetyl- oder Isovaleryl-Substituenten verestert sein. Bei 36 sind die Hydroxy-Gruppen durch ein Epoxid zwischen Position 1 und 2 ersetzt. Weiterhin besitzen die isolierten Dammarane Hydroxylierungen an der Seitenkette sowie weitere Oxidationen in Form von Keto-Funktionen an Pos. 3 und 16 (37, 38).

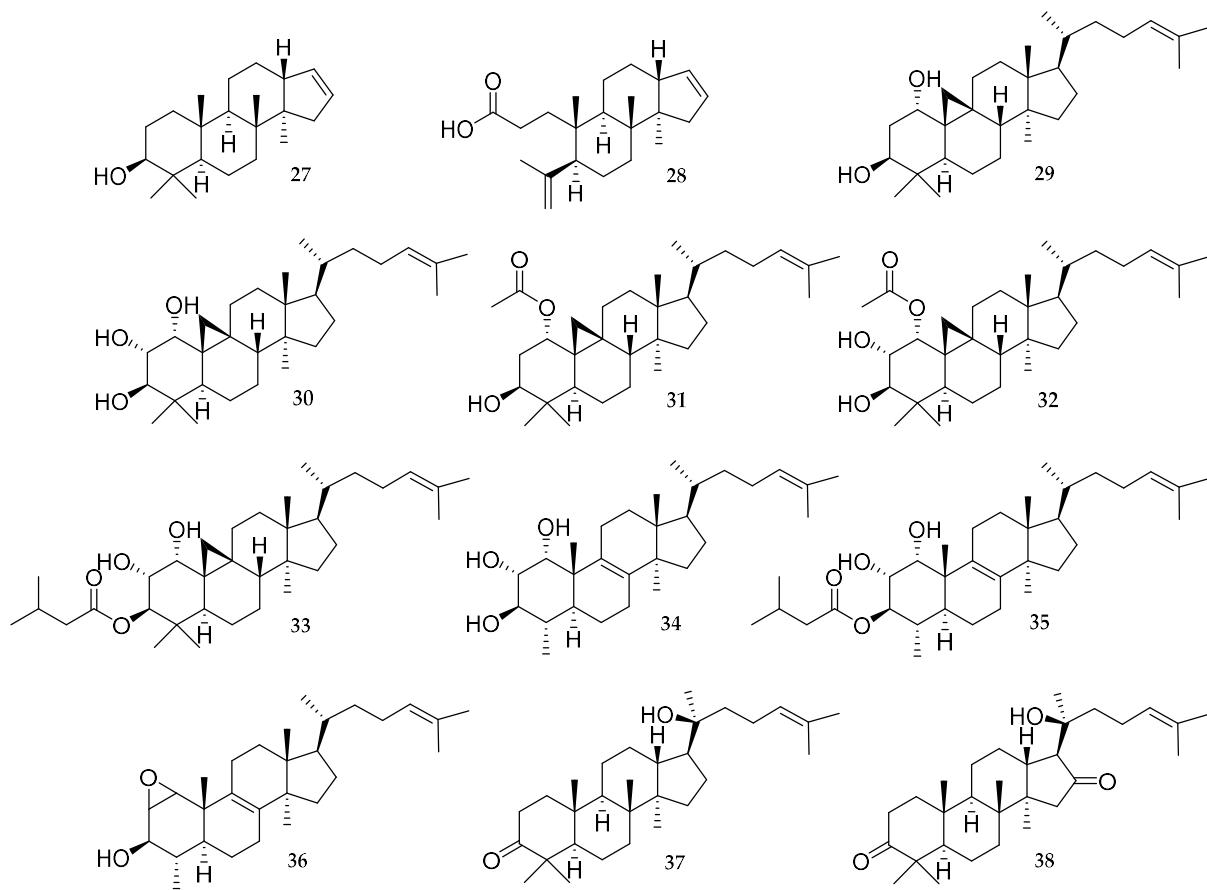


Abbildung 131. Übersicht aller isolierter Triterpene mit verkürzter Seitenkette (30, 31), vom Cycloartan- (29-33), Dammaran- (34-36) und 4-Demethyllumosterol-Typ (37, 38).

Bei 27 und 28 handelt es sich um verkürzte Triterpene, denen die Seitenkette an Pos. 17 fehlt. Ähnliche Verbindungen aus der Familie der Burseraceen sind schon länger bekannt. Diese Substanzen werden als Mansumbinane bezeichnet, besitzen ein Kohlenstoffgerüst aus 22 C-Atomen und kommen oft zusammen mit Triterpenen vom Dammaran-Typ vor. Das legt nahe, dass diese Verbindungen aus Dammaranen durch C-C-Spaltung entstehen [36]. Als Mechanismus wäre eine Stabilisierung des Dammaran-Kations durch Abspaltung eines Protons an Pos. 16 und damit die Bildung einer Doppelbindung (Pos. 16(17)) denkbar (**Abbildung 132**).

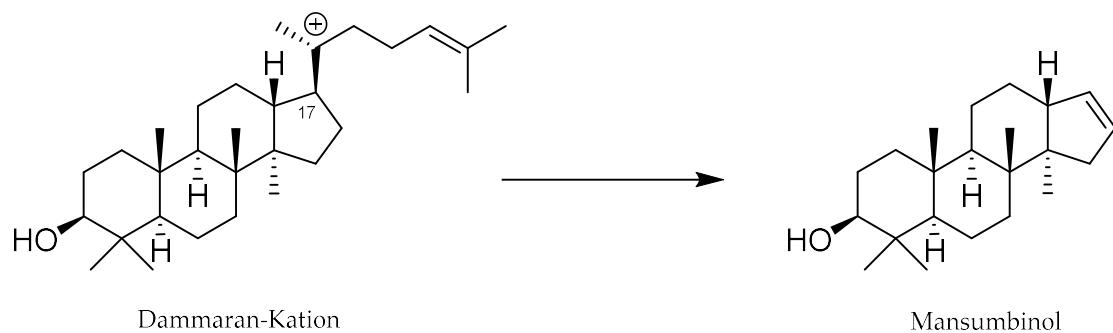


Abbildung 132. Biosynthetischer Ursprung der Mansumbinane (z.B. Mansumbinol) aus Triterpenen von Dammaran-Typ.

4. PHARMAKOLOGISCHER TEIL

4.1. Material und Methoden

Zur Erhebung und Auswertung der pharmakologischen Daten kamen eine Reihe von Geräten, Software, Kulturmedien, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien zum Einsatz. Diese sind in **Tabelle 78** und **Tabelle 79** zusammengefasst.

4.1.1. Geräte und Software

Tabelle 78. Verwendete Geräte und Software.

Bezeichnung	Spezifikation / Model	Hersteller
Analysenwaage	R 160 P	Sartorius, Göttingen, Deutschland
Autoklav, Stand-	VE-120	Systec, Kinden, Deutschland
Autoklav, Tisch-	Melag Autoklav 23	Melag Medizintechnik, Berlin, Deutschland
FACS (Fraktionen)	Facscalibur™ FASCDiva (Software)	BD, Lakes, USA
FACS (Isolate)	FACSCanto II WinMDI 2.9 (Software)	BD, Lakes, USA entwickelt von Joe Trotter
Gefrierbehälter	XC 47/11-6	Chart Industries, Burnsville, USA
Gefrierschrank (-80 °C)	Ultratiefkühlschrank, Modell 995	Thermo Scientific, Langenselbold, Deutschland
Inkubator	AutoFlow IR Direct Heat, NU-5500 E T = 37 °C, CO ₂ = 5 %, rel. Luftfeuchtigkeit = 90%	Integra Biosciences, Fernwald, Deutschland
Magnetrührer	Combimag Reo Drezahl Electronic	IKA, Staufen im Breisgau, Deutschland
Mikroskop	Olympus CKX41	Olympus, Tokio, Japan
Objektive	UPIanFLN 4x/0.13/PhP ∞/-/FN22	
	CAchN 10x/0.25/PhP ∞/-/FN22	
	LCAchN 20x/0.40/PhP ∞/-/FN22	Olympus, Tokio, Japan
	LCAchN 40x/0.55/PhP ∞/-/FN22	
Pipetten	2,5 Reference (0,1-2,5 µl)	
	10 Reference (2,5-10 µl)	
	100 Research (10-100 µl)	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
	1000 Research (100-1000 µl)	
	100 Research, 12-Kanal (10-100 µl)	
Pipettierhelfer	Accu-jet® pro	Brand, Wertheim, Deutschland

Fortsetzung Tabelle 78

Plattenlesegerät	Spectra FluorPlus Xfluor4 V 4.40 (Software)	Tecan, Crailsheim, Deutschland
Reinstwasseranlage	Astacus LS	MembraPure, Berlin, Deutschland
Software zur Erhebung biostatistischer Daten	Microsoft Excel 2010 SPSS 26 GraphPad Prism 8.0.0	Microsoft Corporation, Redmond, USA IBM, Armonk, USA GraphPad Software, San Diego, USA
Trockenschrank	771 364	Memmert, Schwabach, Deutschland
Ultraschallbad	Ultrasonic cleaner	VWR, Darmstadt, Deutschland
Vakuumpumpe	N 811 KT.18	KNF Neuberger, Freiburg im Breisgau, Deutschland
Vortexer	VF2 Laborschüttler D 365 DL	Janke & Kunkel IKA Labortechnik, Staufen, Deutschland
Wasserbad	WB 22	Memmert, Schwabach, Deutschland
Werkbank, steril	HeraSafe KS	Thermo Scientific, Langenselbold, Deutschland
Zentrifuge	Heraeus Megafuge 1.0 R Sepatech	Thermo Scientific, Langenselbold, Deutschland

4.1.2. Kulturmedien, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien

Tabelle 79. Verwendete Kulturmedien, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien.

Bezeichnung	Spezifikation / Model	Hersteller
Antikörper	FITC-markierter monoklonaler Mausantikörper gegen CD54 (ICAM-1), MCA1615F	Bio-Rad, Feldkirchen, Deutschland
BSA	Bovines Serum Albumin Fraktion V	PAA Laboratories, Linz, Österreich
Curzerenon	92%	PhytoLab, Vestenbergsgreuth, Deutschland
DMSO	Dimethylsulfoxid, ≥ 99,5 % für Molekularbiologie	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Einmalspritzen, steril	Norm-Ject, Tuberculin, 1 ml	Henke Sass Wolf, Tuttlingen, Deutschland
FACS-Röhrchen	Polystyren Round Bottom Tube, 5 ml	Becton Dickinson, Franklin, USA

Fortsetzung Tabelle 79

Bezeichnung	Spezifikation / Model	Hersteller
FACS-Trägerflüssigkeiten	BD FACSFlow™ BD FACSRinse™ BD FACSTM Shutdown	BD, Lakes, USA
Falcon-Tubes	15 und 50 ml, steril für die Zellkultur	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
FKS	Fetales Kälberserum Superior	Biochrom, Berlin, Deutschland
Formaldehydlösung	10%ige Formaldehydlösung, phosphatgepuffert	AppliChem, Darmstadt, Deutschland
Furanoeudesma-1,3-dien	96%	PhytoLab, Vestenbergsgreuth, Deutschland
Kryovials	Cryo.STM Vials, 2 ml	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
Kulturflaschen	75 cm ² 150 cm ²	Greiner Bio-One, Frickenhausen, , Deutschland TPP, Trasadingen, Schweiz
Kulturmedium	EASY Endothelial Cell Growth Medium	PeloBiotech, Planegg, Deutschland
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid, ~98 %	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Parthenolid	≥ 97 %	Calbiochem, Bad Soden, Deutschland
Pasteurpipetten	230 mm	VWR, Darmstadt, Deutschland
PBS	Dulbecco's phosphate buffer saline	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Pipetten, serologisch	5, 10 und 25 ml, steril	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
Pipettenspitzen	0,1 - 10 µl 200 µl 100 - 1250 µl	Eppendorf, Hamburg, Deutschland Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland VWR, Darmstadt, , Deutschland
Reaktionsgefäße	0,5 ml 1,5 ml	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland VWR, Darmstadt, Deutschland
SDS	Natriumdodecylsulfat, 92,5 - 100,5%	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Spritzenvorsatzfilter	Perfect-Flow RC membrane (0,2 µm)	Wicom, Heppenheim, Deutschland
Supplement-Mix	Easy Supplement-Mix	PeloBiotech, Planegg, Deutschland
Trypsin/EDTA	Trypsin/EDTA Lösung, x10, 0,5%/0,2%	Biochrom, Berlin, Deutschland

Fortsetzung Tabelle 79

Bezeichnung	Spezifikation / Modell	Hersteller
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor- α , $\geq 97\%$, rekombinant, human, <i>E. coli</i>	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Zellkulturtestplatte	24-Well Platte	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
	96-Well Platte	TPP Techno Plastic Products, Trasadingen, Schweiz
Zählkammer	Hemocytometer disposable Neubauer improved	NanoEnTek, Pleasanton, USA

4.1.3. HMEC-1 Zellen

Für die pharmakologischen Testungen wurden HMEC-1 Zellen (Human Microvaskular Endothelial Cells) verwendet. Diese Zelllinie wurde von Ades et al. 1992 durch Transfektion humaner mikrovaskulärer Zellen (PBR-322-Plasmid, Simian-Virus 40 A) gewonnen und so immortalisiert. Es handelt sich um eine adhärent wachsende Zelllinie, die ähnliche Eigenschaften wie ein mikrovaskuläres Endothel aufweist [182]. Für die Bereitstellung der Zellen sei Dr. E. Ades und F. J. Candel (CDC, Atlanta, USA) sowie Dr. T. Lawley (Emory University, Atlanta, USA) herzlichst gedankt. Die Zellen wurden vor Gebrauch durch PCR negativ auf Mycoplasmen-Kontamination getestet (GATC Biotech AG, Konstanz, Deutschland). Für die Tests wurden sie zwischen Passage drei und zwölf verwendet.

4.1.4. Vorbereiten und Aliquotieren von Medium und Stammlösungen

Um ein Reibungsloses Arbeiten unter Zellkulturbedingungen zu gewährleisten wurden einige Lösungen im Vorhinein vorbereitet und teilweise aliquotiert, um die thermische Belastung durch wiederholtes Auftauen und wieder Einfrieren zu verringern.

4.1.4.1. FKS (hitzeinaktiviert)

FKS (Fetales Kälberserum Superior, Biochrom, Berlin, Deutschland) wurde vor Gebrauch bei 56 °C über 30 min im Wasserbad hitzeinaktiviert. Die abgekühlte Lösung wurde zu 50 ml in Falcon-Tubes aliquotiert und bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C gelagert.

4.1.4.2. Kulturmedium

EASY Endothelial Cell Growth Medium (PeloBiotech, Planegg, Deutschland) wurde durch Zugabe von 50 ml FKS und des EASY-Supplement-Mix (PeloBiotech) hergestellt. Das fertige Medium enthält also 10% FKS, 50 ng/ml Amphotericin B und 50 ng/ml Gentamicin. Es wurde bis zur weiteren Verwendung bei 6 °C gelagert.

4.1.4.3. Trypsin/EDTA

5 ml Trypsin/EDTA Lösung (10x, 0,5%/0,2% (m/V), Biochrom, Berlin, Deutschland) wurden mit 45 ml PBS in einem Falcon-Tube verdünnt und bei 6 °C gelagert.

4.1.4.4. Stammlösungen der Testfraktionen/-substanzen

Eine definierte Menge einer Fraktion bzw. Reinsubstanz wurde in ein Reaktionsgefäß (0,5 ml) überführt und zu 50 mg/ml bzw. 70 mM in DMSO gelöst. Diese Stammlösungen wurden bis zum weiteren Gebrauch bei -20 °C gelagert. Zur Verwendung in den Assays wurden sie mit Medium weiterverdünnt.

4.1.4.5. MTT Stammlösung

60 mg MTT (~98 %, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) wurde in ein Falcon-Tube (15 ml) abgewogen, mit 15 ml PBS versetzt und im Utraschallbad gelöst. Die Lösung mit der Konzentration 4 mg/ml wurden bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C gelagert. Zur Verwendung im MTT-Assay wurde sie 1:10 mit Medium auf eine Endkonzentration von 0,4 mg/ml verdünnt.

4.1.4.6. SDS Lösung

10 g SDS (92,5 - 100,5%, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) wurden in eine Schottflasche (1 l) gewogen und mit 1 l Reinstwasser versetzt. Unter Rühren (Magnetrührer) wurde das SDS vollständig gelöst und die 10%ige (m/V) Lösung bei Raumtemperatur gelagert.

4.1.4.7. TNF- α Stammlösung

Reaktionsgefäße (0,5 ml) wurden mit einer BSA-Lösung (0,1% (m/V) in PBS, sterilfiltriert) über Nacht bei 6 °C gecoatet. Dann wurden 10 µg TNF- α (\geq 97 %, rekombinant, human, *E. coli* (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) in 588 µl derselben BSA-Lösung gelöst und in Aliquots von 10 µl in die entleerten Reaktionsgefäße überführt. Die Stammlösung der Konzentration 17 µg/ml (entspricht 1 µM) wurde bei -80 °C gelagert. Für die Verwendung im ICAM-1-Assay wurde sie 1:10 mit Medium verdünnt und davon je 5 µl in jedes Well gegeben (Endkonzentration 10 ng/ml).

4.1.4.8. Parthenolid Stammlösung

Parthenolid (\geq 97 %, Calbiochem, Bad Soden, Deutschland) wurde in DMSO zu 100 mM gelöst. Aliquote von 10 µl wurden in Reaktionsgefäßen (1,5 ml) bei -80 °C gelagert. Für die Verwendung im ICAM-1-Assay wurde die Stammlösung erst 1:100 dann 1:2 mit Medium verdünnt und je 5 µl pro Well zugegeben (Endkonzentration 5 µM).

4.1.5. Allgemeine Operationen/Zellkultivierung

Falls nicht ausdrücklich anders erwähnt, wurden alle Arbeiten unter einer Sterilwerkbank ausgeführt. Verwendete Verbrauchsmaterialien wurden zuvor entweder im Autoklav dampfsterilisiert (121 °C, 1 bar, 120 min) oder in einem Trockenschrank hitzesterilisiert (180 °C, 3 h). Alle Medien und sonstige Lösungen, außer der Trypsin/EDTA-Lösung, wurden vor ihrer Verwendung im Wasserbad auf 37 °C temperiert. Zellen wurden, wenn nicht ausdrücklich anders beschrieben, bei einer Temperatur von 37 °C, CO₂-Level von 5 %, und rel. Luftfeuchtigkeit von 90% inkubiert. Der Zustand der Zellen und ihr Wachstum wurden regelmäßig mikroskopisch kontrolliert.

4.1.5.1. Auftauen, Einfrieren und Kryokonservierung von Zellen

Zur langfristigen Lagerung wurden Zellen unter Flüssigstickstoff bei -196 °C eingefroren. Da sowohl durch das Einfrieren als auch das Auftauen Schädigungen hervorgerufen werden können, sollte der Zellsuspension ein Kryoprotektivum zugefügt werden. Hier wurde DMSO in einer Konzentration von 8% (V/V) verwendet. DMSO dringt während des Einfriervorgangs in die Zelle und kann so ein übermäßiges Schrumpfen verhindern. Da DMSO bei Raumtemperatur zytotoxisch ist, muss es nach dem Auftauen schnell wieder entfernt werden [183].

Zellen wurden in Kryovials unter Flüssigstickstoff bei -196 °C gelagert (1,5 ml, 50% FKS, 42% Medium, 8% DMSO, V/V). Um sie wieder in Kultur zu nehmen, wurden sie zügig aufgetaut (37°C) und der Inhalt der Kryovials mit 15 ml Medium versetzt. Nach Zentrifugation (1000 UpM, 3 min) wurde der Überstand entfernt und das Zellpellet in Medium resuspendiert. Die Zellen wurden in eine 75 cm² Kulturflasche überführt und mit 20 ml Medium inkubiert. Nach 24 h wurde mikroskopisch kontrolliert, ob die Zellen am Flaschengrund angewachsen waren. Anschließend wurde durch Waschen mit 10 ml PBS und einem Mediumwechsel letzte Spuren von DMSO und abgestorbene Zellen entfernt.

Um Zellen wieder einzufrieren, wurden sie in einer 150 cm² Kulturflasche bis zur Bildung eines Monolayers kultiviert. Das Medium wurde entfernt, die Zellen zweimal mit 10 ml PBS gewaschen und 3-5 min mit 5 ml Trypsin/EDTA-Lösung bis zum Ablösen der Zellen inkubiert. Die Enzymreaktion wurde durch Zugabe von 10 ml Medium unterbrochen und die Suspension bei 1000 UpM 3 min zentrifugiert. Nach Abnehmen des Überstandes wurde das Zellpellet in 6 ml „Einfriermedium“ gelöst (50% FKS, 42% Medium, 8% DMSO, V/V) und auf vier Aliquots in Kryovials verteilt. Diese wurden in einer Styroporbox langsam auf -80 °C gekühlt und nach 24 h unter Flüssigstickstoff bei -196 °C gelagert.

4.1.5.2. Passagieren und Kultivieren

Eine konfluent bewachsene Kulturflasche (75 cm²) wurde durch Entfernen des Mediums und Waschen der Zellen mit 10 ml PBS auf das Passagieren vorbereitet. Es wurden 3 ml Trypsin/EDTA-Lösung zugegeben und 3-5 min inkubiert bis sich die Zellen leicht ablösten.

Die Reaktion wurde durch Zugabe von 10 ml Medium unterbrochen und die Suspension bei 1000 UpM 3 min zentrifugiert. Nach Abnehmen des Überstandes wurde das Zellpellet in 5 ml Medium suspendiert und je nach Bedarf 1,0-2,5 ml dieser Lösung in eine neue Kulturflasche mit 20 ml Medium überführt (1 : 5-2 gesplittet). Dieser Prozess wurde alle 2-5 Tage wiederholt. Wurden für MTT-Tests große Zellzahlen benötigt, wurden 150 cm² Kulturflaschen verwendet und der Prozess analog mit doppelten Volumina durchgeführt.

4.1.5.3. Bestimmung der Zellzahl

Für den MTT-Assay war es nötig die Zellzahl exakt zu bestimmen, um ein gleichmäßiges Aussähen der Zellen zu gewährleisten. Hierfür wurde eine konfluent gewachsene Kulturflasche wie unter 4.1.5.2 beschrieben vorbereitet, 10 µl Zellsuspension abgenommen und 1:4 mit Medium verdünnt. Dann wurden 10 µl dieser Lösung in eine Zählkammer gegeben (Hemocytometer disposable Neubauer improved NanoEnTek, Pleasonton, USA). Es wurden unter dem Mikroskop vier Großquadrate ausgezählt und die Zellzahl/ml gemäß folgender Formel berechnet:

Formel 4. Berechnung der Zellzahl. Im Falle einer 1:4 Verdünnung beträgt der Verdünnungsfaktor 4.

$$\text{Zellzahl [Zellen/ml]} = \frac{\text{Zellen der vier Großquadrate}}{4} \cdot 10\,000 \cdot \text{Verdünnungsfaktor}$$

4.1.6. MTT Assay

Um auszuschließen, dass die getesteten Fraktionen oder Substanzen einen zytotoxischen Effekt auf HMEC-1 Zellen haben, wurde ein MTT-Assay durchgeführt. Dieser Test beruht auf dem gelb gefärbten Tetrazoliumsalz 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) welches durch Dehydrogenasen in den Mitochondrien vitaler Zellen in sein violett gefärbtes Formazan ((E,Z)-5-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan) umgewandelt wird (**Abbildung 133**). Durch diese Reaktion kann die metabolische Aktivität der Zellen (Viabilität) nach Inkubation mit den Testsubstanzen gemessen werden [183]. Eine verringerte oder auch erhöhte Viabilitätsrate kann ein Hinweis auf einen zytotoxischen Effekt einer Testsubstanz sein, welche hier ausgeschlossen werden soll. Die Durchführung des MTT-Assays entspricht einer modifizierten Vorgehensweise nach Mosmann [184] (**Abbildung 133**).

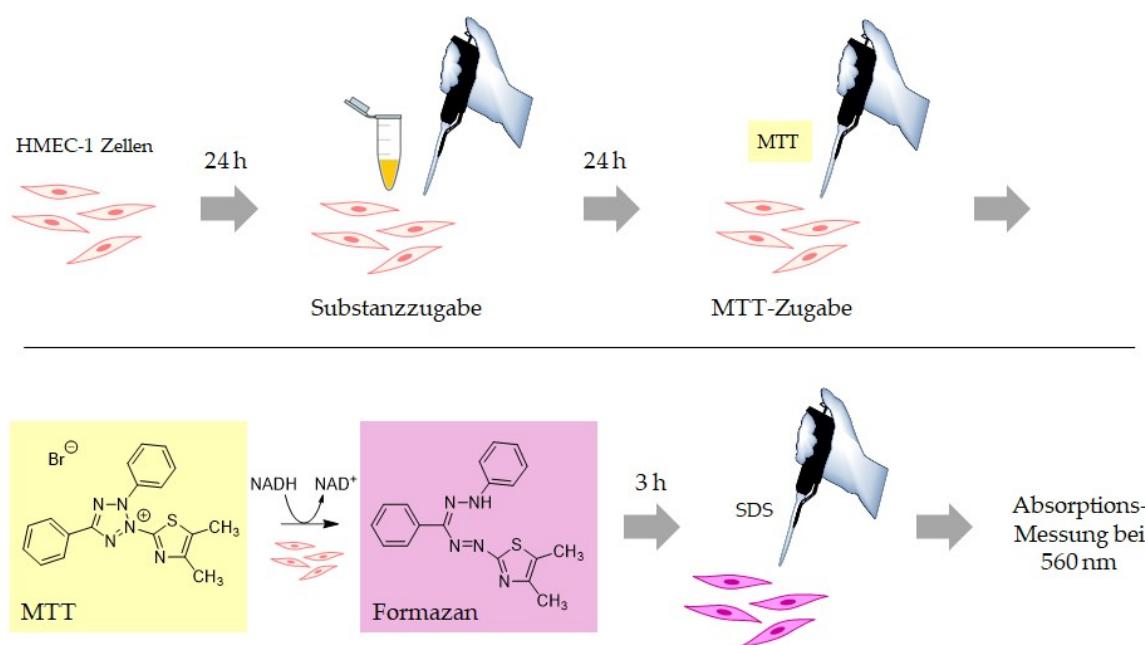


Abbildung 133. Schematische Darstellung des MTT-Assays.

Für diesen Test wurden konfluent gewachsene HMEC-1 Zellen wie unter 4.1.5.2 beschrieben mit PBS gewaschen, mit Trypsin/EDTA abgelöst und zentrifugiert. Das Zellpellet wurde in 5 ml Medium suspendiert und die Zellzahl bestimmt (4.1.5.3). Die Suspension wurde auf eine Konzentration von 90 000 Zellen/ml verdünnt und zu 9 000 Zellen pro Well (100 µl) auf eine 96-Well Platte ausgesät. Am äußeren Rand der Platte wurden statt der Zellsuspension 100 µl PBS aufgetragen, um Randeffekte auszuschließen. Die Platte wurde anschließend über 24 h inkubiert.

Aus einer Stammlösung der Testsubstanzen in DMSO wurden durch Verdünnen mit Medium Lösungen im Konzentrationsbereich von 6-50 µg/ml bzw. 13-100 µM hergestellt. Die DMSO-Endkonzentration lag dabei stets unter 0,15% (V/V). Das Medium in den 96-Well Platten wurde anschließend durch die Substanzlösungen (100 µl) ersetzt, die in Hexaplikaten aufgetragen wurden. Zusätzlich wurden auch Zellen nur mit Medium (Negativkontrolle, NK) oder der höchsten verwendeten DMSO-Konzentration (Lösemittelkontrolle, LM, 0,15%, V/V) behandelt. Ein Pipettierschema ist in **Abbildung 134** dargestellt.

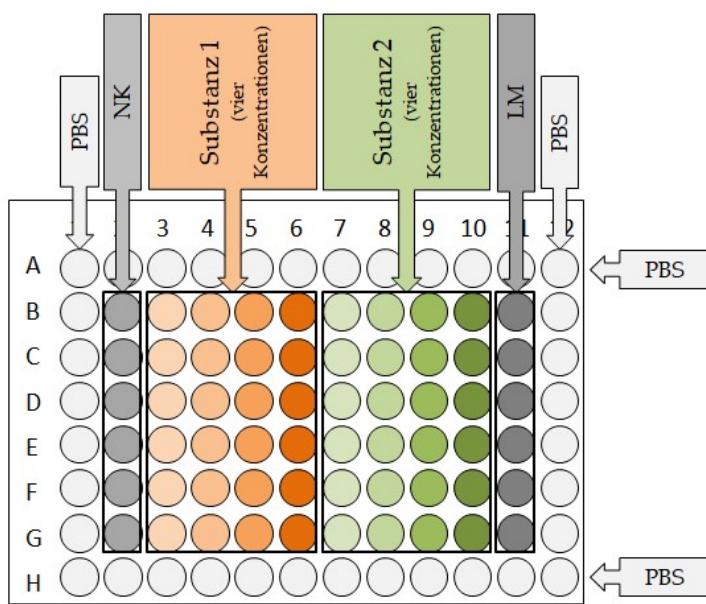


Abbildung 134. Pipettierschema des MTT-Assays auf einer 96-Well Platte. In den äußeren Wells befand sich nur PBS. Der Assay war in Hexaplikaten angelegt und enthielt pro Test zusätzlich eine Negativ- (NK, Medium) und eine Lösemittelkontrolle (LM, 0,15% DMSO).

Nach einer Inkubationszeit von 24 h wurden alle Überstände entfernt und durch 100 µl einer 1:10 mit Medium verdünnte MTT-Stammlösung (0,4 mg/ml, siehe auch 4.1.4.5) ersetzt. Nach weiteren 3 h Inkubation wurde die MTT-Lösung vorsichtig abgesaugt und 100 µl SDS Lösung (10% (m/V), siehe 4.1.4.6) zugegeben. Die Platte wurde über Nacht bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gelagert, wobei sich die Formazan-Kristalle komplett auflösten. Anschließend wurde an einem Plattenlesegerät (Spectra FluorPlus, Tecan, Crailsheim, Deutschland) bei 560 nm die Absorption jedes Wells ermittelt.

Die Absorptionen der Hexaplikate wurden gemittelt und auf die Neaktivkontrolle bezogen, die definitionsgemäß 100% entspricht. Standardabweichungen wurden per Excel zwischen unabhängig durchgeführten Test berechnet.

4.1.7. ICAM-1 Assay

Dieser Assay wurde verwendet, um den Einfluss der Testsubstanzen auf das Adhäsionsmolekül ICAM-1 zu evaluieren (siehe dazu auch 2.6). Dessen Bildung wird durch Stimulierung von HMEC-1 Zellen mit dem pro-inflammatorischen Zytokin TNF-α erreicht, welches über eine Aktivierung des nukleären Transkriptionsfaktors NF-κB zur Proteinbiosynthese von ICAM-1 führt. Über einen Zeitraum von 24 h wird das Adhäsionsmolekül an der Zelloberfläche exprimiert. Nach einer Fixierung der Zellen mit Formalin kann ICAM-1 mit einem fluoreszenzmarkierten Antikörper gebunden und die so präparierten Zellen durchfluszytometrisch vermessen werden. Durch dieses Verfahren kann die Größe (Vorwärtsstreuulicht, FSC) und Granularität (Seitenstreuulicht, SSC) der Zellen ermittelt und so nur intakte Exemplare in die Messung mit eingeschlossen werden. Die

mittlere Fluoreszenz dieser Zellen ist ein Maß für deren ICAM-Expression, die auf diesem Wege berechnet werden kann.

Der Assay wurde ähnlich wie bei Freischmidt et al. durchgeführt [185]. Eine schematische Darstellung der wichtigsten Arbeitsschritte ist in **Abbildung 135** aufgeführt.

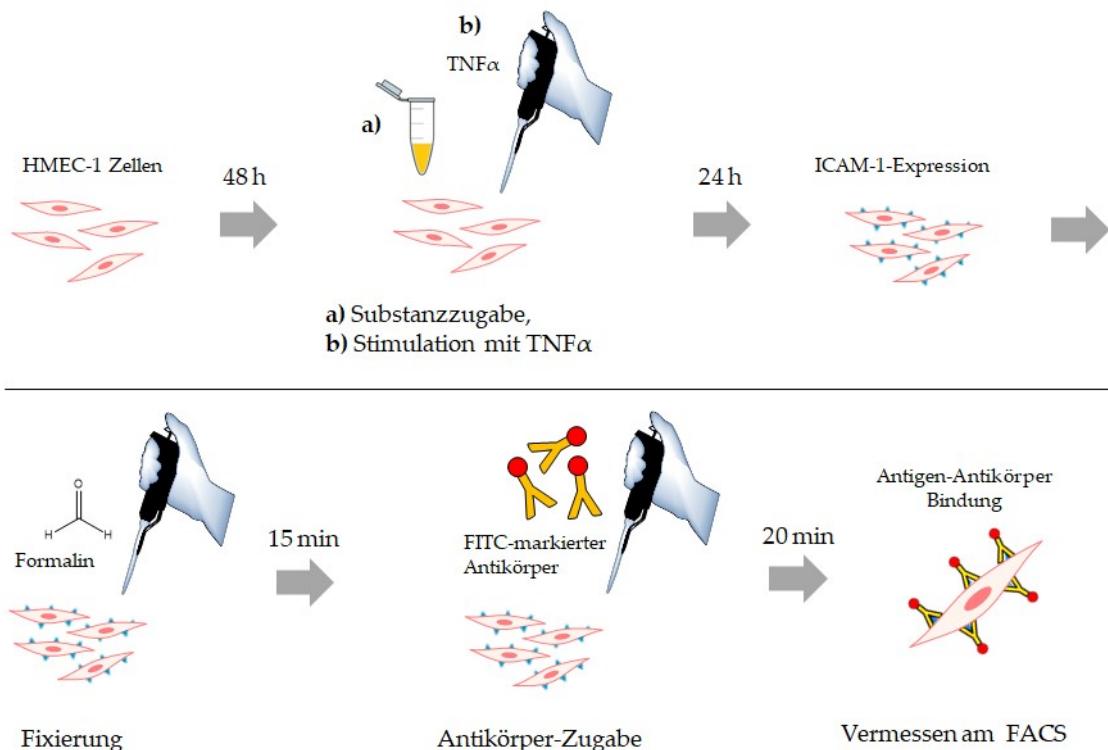


Abbildung 135. Schematische Darstellung des ICAM-1 Assays.

Eine mit HMEC-1 konfluent bewachsene 75 cm^2 Kulturflasche wurde wie unter 4.1.5.2 beschrieben mit PBS gewaschen, mit Trypsin/EDTA abgelöst und zentrifugiert. Das Zellpellet wurde in 9 ml Medium suspendiert und davon 3 ml erneut mit 10 ml verdünnt. Von dieser Lösung wurden in eine 24-Well Platte 500 μl pro Well ausgesät und über 48 h inkubiert.

Anschließend wurde der Überstand entfernt und durch Substanzverdünnungen (500 μl) ersetzt. Diese entstanden aus Stammlösungen der Testsubstanzen in DMSO, die mit Medium auf Konzentrationen zwischen 6-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ bzw. 6-100 μM verdünnt wurden. Die DMSO-Endkonzentration lag dabei stets unter 0,15% (V/V). Jeweils zwei Wells wurden mit der höchsten verwendeten DMSO-Konzentration (unbehandelte Kontrolle, UK, 0,15%, V/V), nur mit Medium (Negativkontrolle, NK) oder mit einer Parthenolid-Lösung (Positivkontrolle, PK, 5 μM , siehe 4.1.4.8) gefüllt. Nach einer Inkubationszeit von 30 min erfolgte die Stimulation mit TNF- α (Endkonzentration 10 ng/ml , siehe 4.1.4.7) in allen Wells außer der unbehandelten Kontrolle. Ein Pipettierschma ist in **Abbildung 136** dargestellt.

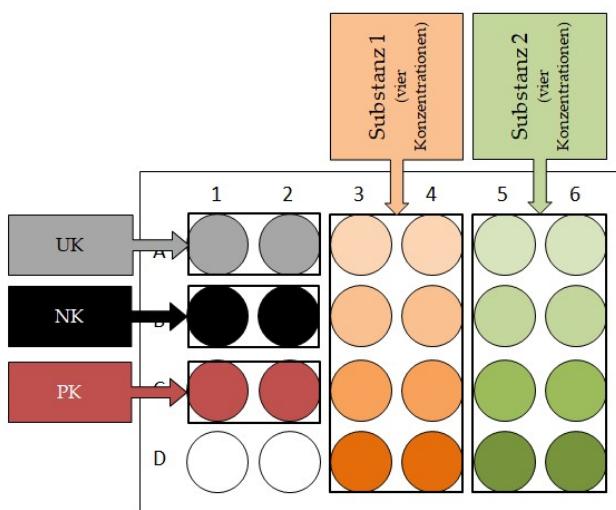


Abbildung 136. Pipettierschema des ICAM-1-Assays in einer 24-Well Platte. Der Assay war in Duplikaten angelegt und enthielt pro Test zusätzlich eine unbehandelte Kontrolle (UK, 0,15% DMSO), eine Neaktiv- (NK, TNF- α , 10 ng/ml) und eine Positivkontrolle (PK, Parthenolid, 5 μ M).

Die Platte wurde weitere 24 h inkubiert, der Überstand entfernt, die Zellen mit PBS gewaschen und pro Well 200 μ l Trypsin-EDTA zugegeben. Nach 3-5 min Inkubation wurden die Zellen durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren abgelöst und in FACS-Röhrchen mit 100 μ l Formaldehydlösung-Lösung überführt und gevortext. Ab jetzt wurde nicht mehr unter sterilen Bedingungen gearbeitet. Nach 15 min Inkubation bei Raumtemperatur wurde das überschüssige Formaldehyd durch Zugabe von 1 ml PBS, Zentrifugieren (5 min, 1200 UpM) und Verwerfen des Überstandes entfernt.

Zum Sediment wurden 5 μ l eines FITC-markierten monoklonaler Mausantikörpers gegen CD54 (ICAM-1) (MCA1615F, Bio-Rad, Feldkirchen, Deutschland) gegeben und 20 min bei Raumtemperatur und unter Lichtauschluss inkubiert. Überschüssiger Antikörper wurde erneut durch Zugabe von 1 ml PBS, Zentrifugieren (5 min, 1200 UpM) und Verwerfen des Überstandes beseitigt. Für die FACS-Analyse wurden die Zellen anschließend in 400 μ l PBS suspendiert.

Die Proben wurden im Falle der Fraktions-Testung an einem Facscalibur™, im Falle der Isolate an einem FACSCanto II analysiert (beides BD, Lakes, USA). Es wurden pro Röhrchen 5000 Zellen vermessen. Die Messparameter sind in **Tabelle 80** aufgeführt.

Tabelle 80. Messparameter am Facscalibur™ und FACSCanto II.

Parameter	Facscalibur™	FACSCanto II
Fluss	60 μ l/min	60 μ l/min
Anregungswellenlänge	495 nm	495 nm
Emissionswellenlänge	519 nm	519 nm
Vorwärtsstreulicht (FSC)	0,1 V	1 V
Seitenstreulicht (SSC)	320 V	320 V
Spannung FL 1 / FITC	500 V	320 V

Es wurde eine Population von Zellen definierter Größe und Granularität ausgewählt und deren mittlere Fluoreszenz bestimmt. Aus den Duplikaten wurde der Mittelwert gebildet und dieser auf die Negativkontrolle bezogen, die definitionsgemäß 100% entspricht. Standardabweichungen wurden per Excel zwischen unabhängigen Tests berechnet.

4.1.8. Statistische Auswertung

Während zur Berechnung einfacher Mittelwerte und Standardabweichungen Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) verwendet wurde, wurden Signifikanzlevels durch eine einfaktorielle Anova gefolgt von einem Tukey-HSD Post-hoc-Test in SPSS 26 (IBM, Armonk, USA) ermittelt. Die Berechnung und graphischen Darstellung von IC₅₀-Werten erfolgte durch eine nicht-lineare Regression mit GraphPad Prism 8.0.0 (GraphPad Software, San Diego, USA).

4.2. Ergebnisse und Auswertung

MTT- und ICAM-1 Assays wurden zum einen verwendet, um Fraktionen im Rahmen einer bioaktivitätsgeleiteten Isolierung zu untersuchen. Zum anderen sollten auch isolierte Reinsubstanzen getestet werden.

In einem ersten Schritt wurde jeweils ein MTT-Assay durchgeführt, um sicherzustellen, dass die Substanzen in den verwendeten Konzentrationen keine zytotoxischen Effekte zeigen. Dieser Assay enthielt auch immer eine Lösemittelkontrolle mit der höchsten verwendeten DMSO-Konzentration. So konnte ausgeschlossen werden, dass ein beobachteter Effekt rein auf DMSO zurückzuführen ist. Als toxisch wurden generell Viabilitäten unter 90% oder über 110% definiert.

Nichttoxische Substanz-Konzentrationen wurden dann in einem zweiten Schritt in einem ICAM-1 Assay untersucht. Um die Ergebnisse dieses Tests besser bewerten zu können, enthielt dieser drei Kontrollen. Zum einen sollte durch eine unbehandelte Kontrolle (UK) mit 0,15% DMSO ein Effekt des Lösemittels auf die ICAM-1 Expression ausgeschlossen werden. Diese Zellen wurden nicht mit TNF-α stimuliert und spiegeln damit auch die natürliche ICAM-1 Expression von HMEC-1 wieder. Mit einer Negativkontrolle (NK, nur TNF-α) konnte die maximal mögliche Expressionsrate unter diesen Testbedingungen ermittelt werden. Sie wird zur Auswertung der Ergebnisse gleich 100% gesetzt. Außerdem wurde durch eine Positivkontrolle (PK, Parthenolid 5 µM) die Funktionalität des Tests sichergestellt und falsch negative Ergebnisse ausgeschlossen.

Generell wurden innerhalb der bioaktivitätsgeleiteten Isolierung Experimente meist n=2 durchgeführt. Dies war ausreichend, um eine Einschätzung der Aktivität der Fraktionen zu gewinnen und durch die einmalige Wiederholung konnten zufällige Fehler ausgeschlossen werden. Auch Reinsubstanzen, die keinerlei Aktivität zeigten wurden nur n=2 getestet, um Ressourcen zu schonen. Aktive Substanzen hingegen wurden in drei unabhängigen Tests

(n=3) untersucht und der Konzentrationsbereich auf sechs Messpunkte erweitert, um eine präzisere Berechnung der IC₅₀-Werte zu ermöglichen.

4.2.1. Testung im Rahmen der bioaktivitätsgeleiteten Isolierung

Um Reinsubstanzen mit potentiell ICAM-1 hemmender Wirkung zu gewinnen, wurde eine bioaktivitätsgeleitete Isolierung durchgeführt. Das heißt Fraktionen aus dem präparativ-analytischen Teil wurden in einem ICAM-1 Assay getestet und aktive Fraktionen bevorzugt weiterbearbeitet. Diese Testungen fanden auf der Fraktions-Ebene der flüssig-flüssig-Verteilung, der ersten Kieselgel-Flash und teilweise der CPC statt. Um die Zytotoxizität der Fraktionen auszuschließen, wurde vor der Testung in Bezug auf ICAM-1 Hemmung ein MTT-Assay durchgeführt. Dies führte dazu, dass an einigen Stellen die verwendeten Konzentrationen im ICAM-1 Assay angepasst werden mussten.

4.2.1.1. MTT Assay

Weder der ethanolische Gesamtextrakt noch die HEP- oder MeOH-Fraktion zeigten in einem Konzentrationsbereich bis 50 µM einen Einfluss auf die Zellviabilität (**Abbildung 137**). Die beobachteten Abweichungen waren nur geringfügig und nicht statistisch signifikant.

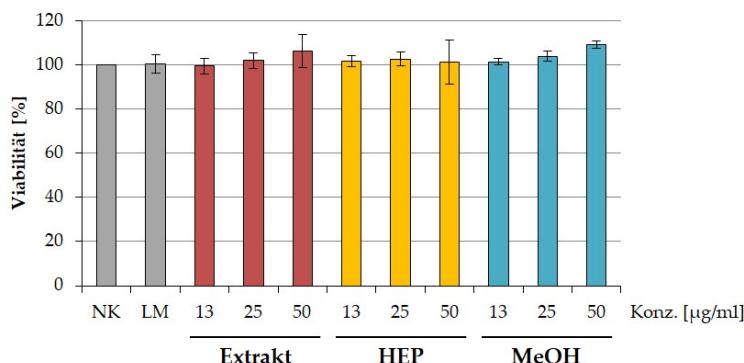


Abbildung 137. Einfluss des Extraktes, der n-Heptan- (HEP) und der Methanol-Fraktion (MeOH) auf die Zellviabilität. Getestet wurden neben einer Negativkontrolle (NK, Medium) und einer Lösemittelkontrolle (LM, DMSO 0,1%) je drei Substanz-Konzentrationen (13, 25 und 50 µg/ml). Alle Tests wurden in Hexaplikaten (n=3) durchgeführt und sind als MW±SD präsentiert. Es war keine signifikante Abweichung (p < 0,05) zu beobachten.

Die aus HEP entstandenen Flash-Fraktionen F1-10 wurden im selben Konzentrationsbereich getestet wie die Ursprungsfraktion. Hier zeigte sich bei einigen Fraktionen eine Abweichung der Viabilität bei 50 µM, welche teilweise signifikant unter (F1 81,7 ± 11,9%; F2 82,1 ± 50,9%) oder über 100% (F9 144,1 ± 12,5%; F10 120,5 ± 6,1%) lagen (**Abbildung 138**). Die im ICAM-1 Assay verwendeten Konzentrationen wurden deshalb auf 6-25 µM angepasst. Die besonders ausgeprägten zytotoxischen Effekte der Fraktion F9

konnten in weiteren Verlauf auf die hier enthaltenen Triterpene, wie **30** und **34**, zurückgeführt werden, die als Reinsubstanzen ebenfalls die Viabilität senkten (4.2.3).

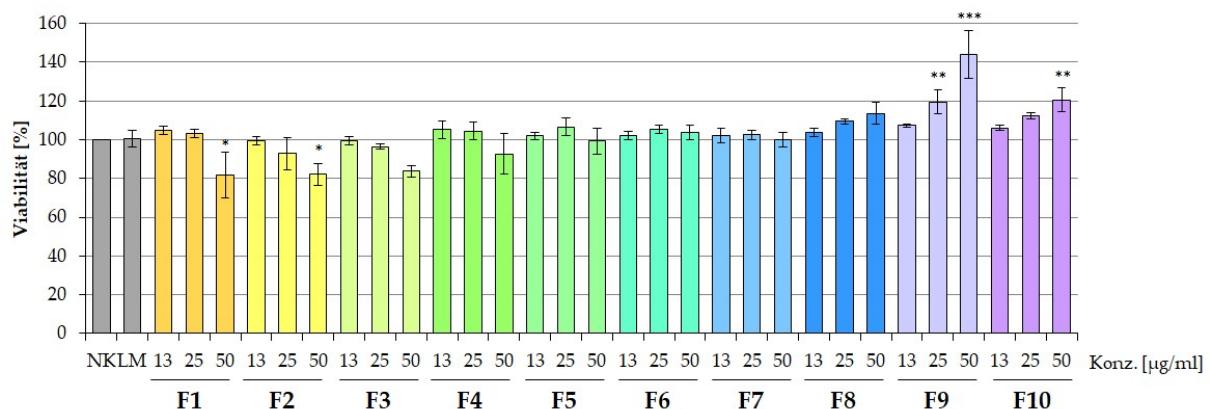


Abbildung 138. Einfluss der zehn Flash-Fraktionen (F1-10) auf die Zellviabilität. Getestet wurden neben einer Negativkontrolle (NK, Medium) und einer Lösemittelkontrolle (LM, DMSO 0,1%) je drei Substanz-Konzentrationen (13, 25 und 50 µg/ml). Alle Tests wurden in Hexaplikaten ($n=3$) durchgeführt und sind als MW±SD präsentiert. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. NK.

Die CPC-Unterfraktionen von F5 (F5C1-6) zeigten in einem Konzentrationsbereich zwischen 6 und 25 µM keine größeren Abweichungen der Viabilität. Lediglich bei F5C2 war die Viabilität konzentrationsabhängig auf bis zu $134,3 \pm 2,8\%$ bei 25 µM erhöht (**Abbildung 139**).

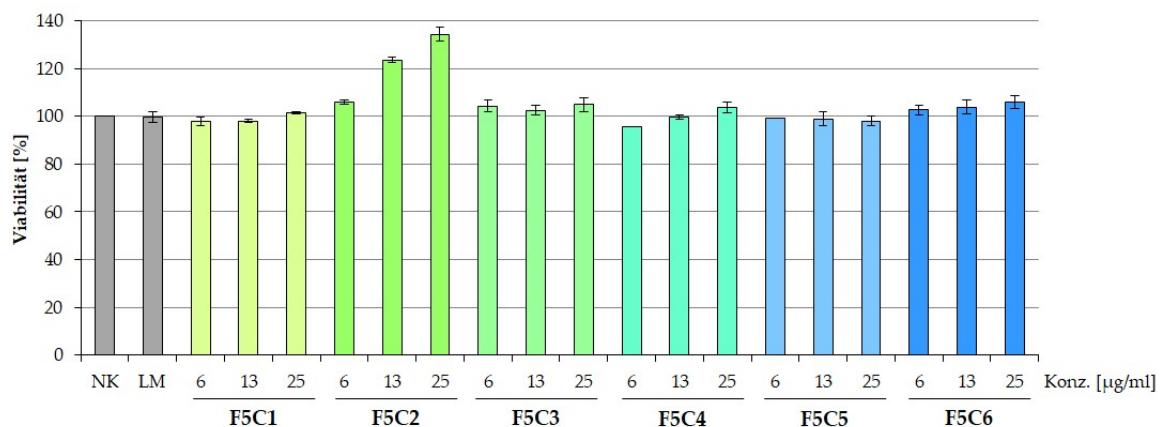


Abbildung 139. Einfluss der sechs CPC-Fraktionen (F5C1-6) auf die Zellviabilität. Getestet wurden neben einer Negativkontrolle (NK, Medium) und einer Lösemittelkontrolle (LM, DMSO 0,1%) je drei Substanz-Konzentrationen (6, 13 und 25 µg/ml). Alle Tests wurden in Hexaplikaten ($n=2$) durchgeführt und sind als MW±SD präsentiert.

4.2.1.2. ICAM-1 Assay

Bei der Testung des ethanolischen Gesamtextraktes zeigte sich eine Konzentrationsabhängige milde Senkung der ICAM-1 Expression auf bis zu $81,6 \pm 4,2\%$ ($50 \mu\text{M}$), die nicht signifikant war, aber einen deutlichen Trend erkennen ließ (**Abbildung 140**). Die beiden Unterfraktionen (HEP und MeOH), die durch eine flüssig-flüssig-Verteilung entstanden (siehe 3.2.3), wurden im selben Konzentrationsbereich getestet. Dabei zeigte sich bei der HEP-Fraktion eine deutlich stärkere Senkung ($13 \mu\text{M} 74,4 \pm 3,7\%$; $25 \mu\text{M} 60,5 \pm 0,8\%$; $50 \mu\text{M} 43,2 \pm 3,6\%$) als beim Extrakt, was darauf hinweist, dass hier aktive Substanzen angereichert werden konnten. Die Ergebnisse bezüglich der MeOH-Fraktion waren widersprüchlich und zeichneten sich vor allem durch starke Schwankungen aus.

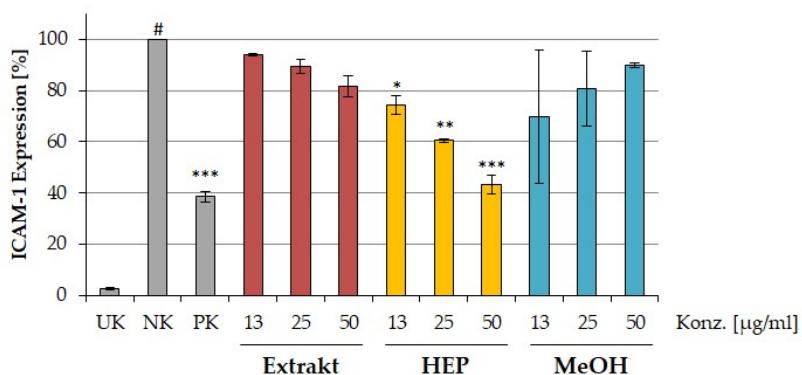


Abbildung 140. Einfluss des Extraktes, der *n*-Heptan- (HEP) und der Methanol-Fraktion (MeOH) auf die ICAM-1 Expression. Getestet wurden neben einer unbehandelten Kontrolle (UK, DMSO 0,15%), einer Negativkontrolle (NK, nur TNF- α) und einer Positivkontrolle (PK, Parthenolid 5 μM) je drei Substanz-Konzentrationen (13, 25 und 50 $\mu\text{g/ml}$). Alle Tests wurden in Duplikaten ($n=3$) durchgeführt und sind als MW \pm SD präsentiert. # $p < 0,001$ vs. UK; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. NK.

Die HEP-Fraktion wurde in einem darauffolgenden Schritt durch eine Flash-Chromatographie an Kieselgel weiter aufgetrennt, wodurch zehn Unterfraktionen F1-10 entstanden (siehe 3.2.4). Da die Ergebnisse des MTT-Assay darauf hindeuteten, dass einige Fraktionen bei höheren Konzentrationen zytotoxisch sein könnten, wurde der Konzentrationsbereich hier angepasst. Auffällig war, dass vor allem die lipophileren Fraktionen (F1-5) eine stärkere ICAM-1 Hemmung zeigten ($F1 35,6 \pm 7,8\%$; $F2 52,8 \pm 4,2\%$; $F3 49,3 \pm 8,2\%$; $F4 45,6 \pm 2,9\%$; $F5 40,6 \pm 11,7\%$; je $25 \mu\text{M}$), während die hydrophilen (F8-10) kaum einen Einfluss hatten (**Abbildung 141**). Da aber vor allem F1-4 zu Artefaktbildung neigten, konzentrierte sich der Isolierungsprozess auf die mittelpolaren Fraktionen F5-7, die durch CPC, eine weitere Kieselgel-Flash und préparative HPLC weiterbearbeitet wurden. Auch aus der wenig aktiven Fraktion F9 wurden vier Triterpene (29, 30, 32 und 34) isoliert, die allerdings durch zytotoxische Effekte auffielen. Bei der Auswahl dieser Fraktion spielten aber eher phytochemische Gesichtspunkte eine Rolle.

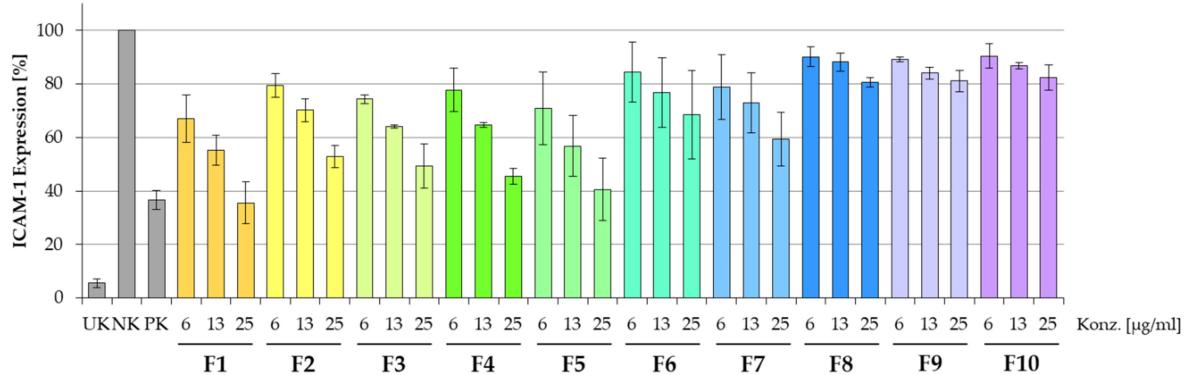


Abbildung 141. Einfluss der zehn Flash-Fraktionen (F1-10) auf die ICAM-1 Expression. Getestet wurden neben einer unbehandelten Kontrolle (UK, DMSO 0,15%), einer Negativkontrolle (NK, nur TNF- α) und einer Positivkontrolle (PK, Parthenolid 5 μ M) je drei Substanz-Konzentrationen (6, 13 und 25 μ g/ml). Alle Tests wurden in Duplikaten ($n=2$) durchgeführt und sind als MW \pm SD präsentiert.

Die Fraktionen F5-7 wurden anschließend durch eine CPC weiter aufgetrennt (siehe 3.2.5). Wegen gerätespezifischer Probleme mit dem Durchflusszytometer Facscalibur™ konnten nur die Unterfraktionen F5C1-6 im ICAM-1 Assay getestet werden (**Abbildung 142**). Als aktivste Fraktion in diesen Test stellte sich F5C5 heraus, die eine ähnliche ICAM-1 Hemmung (25 μ M $40,3 \pm 6,0\%$) wie die Ursprungsfraktion F5 zeigt (25 μ M $40,6 \pm 11,7\%$). Aus dieser Fraktion konnten im Folgenden die beiden ICAM-1 Inhibitoren **10** und **11** isoliert werden. Andere Fraktionen zeigten eine schwächer ausgeprägte Hemmung (**Abbildung 142**).

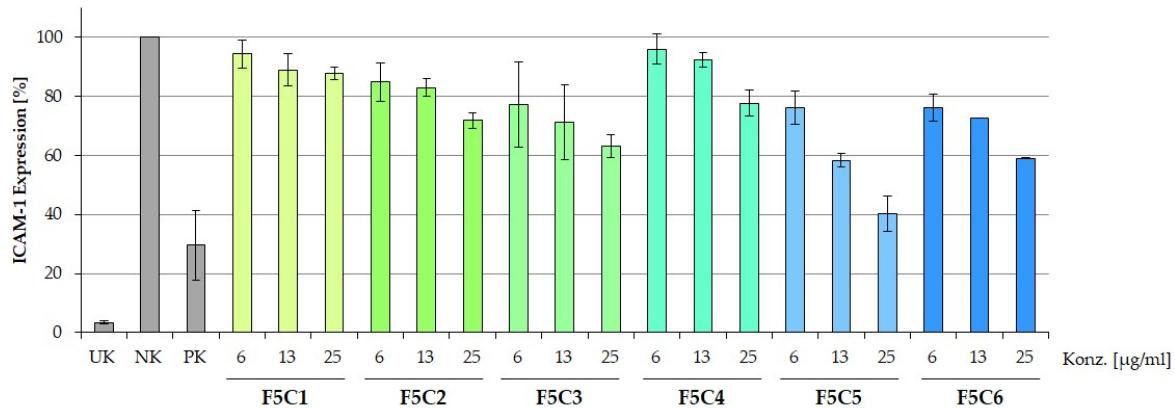


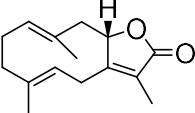
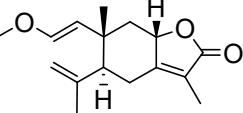
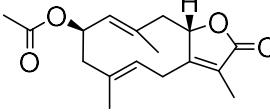
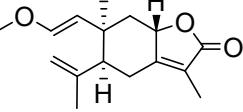
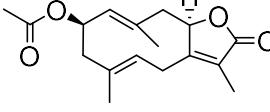
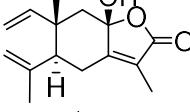
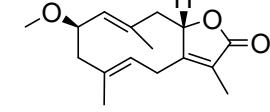
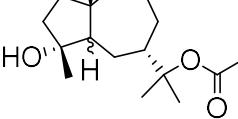
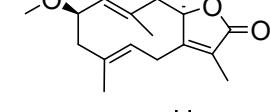
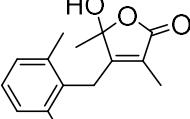
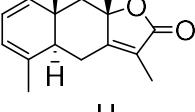
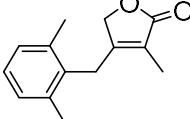
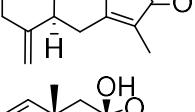
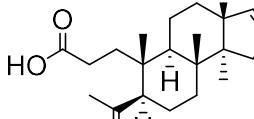
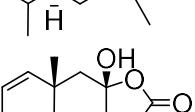
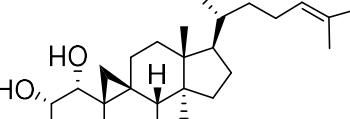
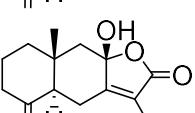
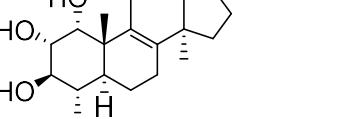
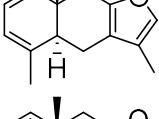
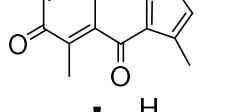
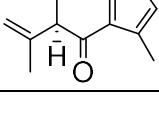
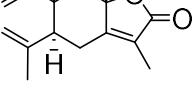
Abbildung 142. Einfluss der sechs CPC-Fraktionen (F5C1-6) auf die ICAM-1 Expression. Getestet wurden neben einer unbehandelten Kontrolle (UK, DMSO 0,15%), einer Negativkontrolle (NK, nur TNF- α) und einer Positivkontrolle (PK, Parthenolid 5 μ M) je drei Substanz-Konzentrationen (6, 13 und 25 μ g/ml). Alle Tests wurden in Duplikaten ($n=2$) durchgeführt und sind als MW \pm SD präsentiert.

Die bioaktivitätsgeleitete Isolierung wurde unterhalb der CPC-Fraktionen nicht mehr fortgeführt. Stattdessen wurde versucht, aus den vorhandenen Fraktionen so viele Isolate wie möglich zu generieren und der Fokus auf die Testung der Reinsubstanzen gelegt.

4.2.2. Testung der Reinsubstanzen

Eine Auswahl an Reinsubstanzen, welche in genügend großer Auswaage und Reinheit erhalten werden konnten, wurden im MTT- und ICAM-1 Assay getestet. Dabei wurde darauf geachtet, dass die ermittelte HPLC-Reinheit über 90% lag. Allerdings wurden auch zwei Substanzen mit geringerer Reinheit in die Tests mit eingeschlossen, da diese strukturelle Ähnlichkeiten zu aktiven Substanzen aufwiesen und damit von besonderem Interesse waren. Neben den Isolaten wurden auch zwei kommerziell erwerbbare Verbindungen, Furanoeudesma-1,3-dien (FUR) und Curzerenon (CUR) getestet. Sie werden vom Kommentar zum Ph. Eur. als Leitsubstanzen aus *C. myrrha* aufgeführt [72] und konnten in dieser Arbeit nicht isoliert werden, da der Fokus hier auf polarere Verbindungen gelegt wurde. Eine Übersicht aller getesteten Substanzen mit zugehörigen Reinheiten ist in **Tabelle 81** zusammengefasst.

Tabelle 81. Übersicht über alle Substanzen, inklusive HPLC-Reinheit und Struktur, welche pharmakologisch untersucht wurden.

Nr.	Struktur	Reinheit	Nr.	Struktur	Reinheit
1		97,2%	18		95,6%
2		95,4%	19		97,9%
3		92,0%	20		97,9%
4		90,9%	22		95,8%
5		96,9%	25		95,6%
10		73,3%	26		98,8%
11		97,5%	28		93,4%
12		94,9%	30		90,6%
13		98,1%	34		93,9%
14		87,5%	FUR		96% (PhytoLab)
15		94,7%	CUR		92% (PhytoLab)
17		91,0%			

4.2.3. MTT Assay

Zytotoxische Effekte der Reinsubstanzen auf HMEC-1 Zellen sollten ausgeschlossen werden, da sie die Ergebnisse des ICAM-1 Assays verfälschen könnten. Um dies zu gewährleisten, wurde ein MTT-Assay durchgeführt, bei dem die Abweichung der Viabilität im Vergleich zu unbehandelten Zellen nicht größer als 10% sein sollte. In einem Konzentrationsbereich von 13-70 μM war dies für einen Großteil der Isolate erfüllt (**Abbildung 143**).

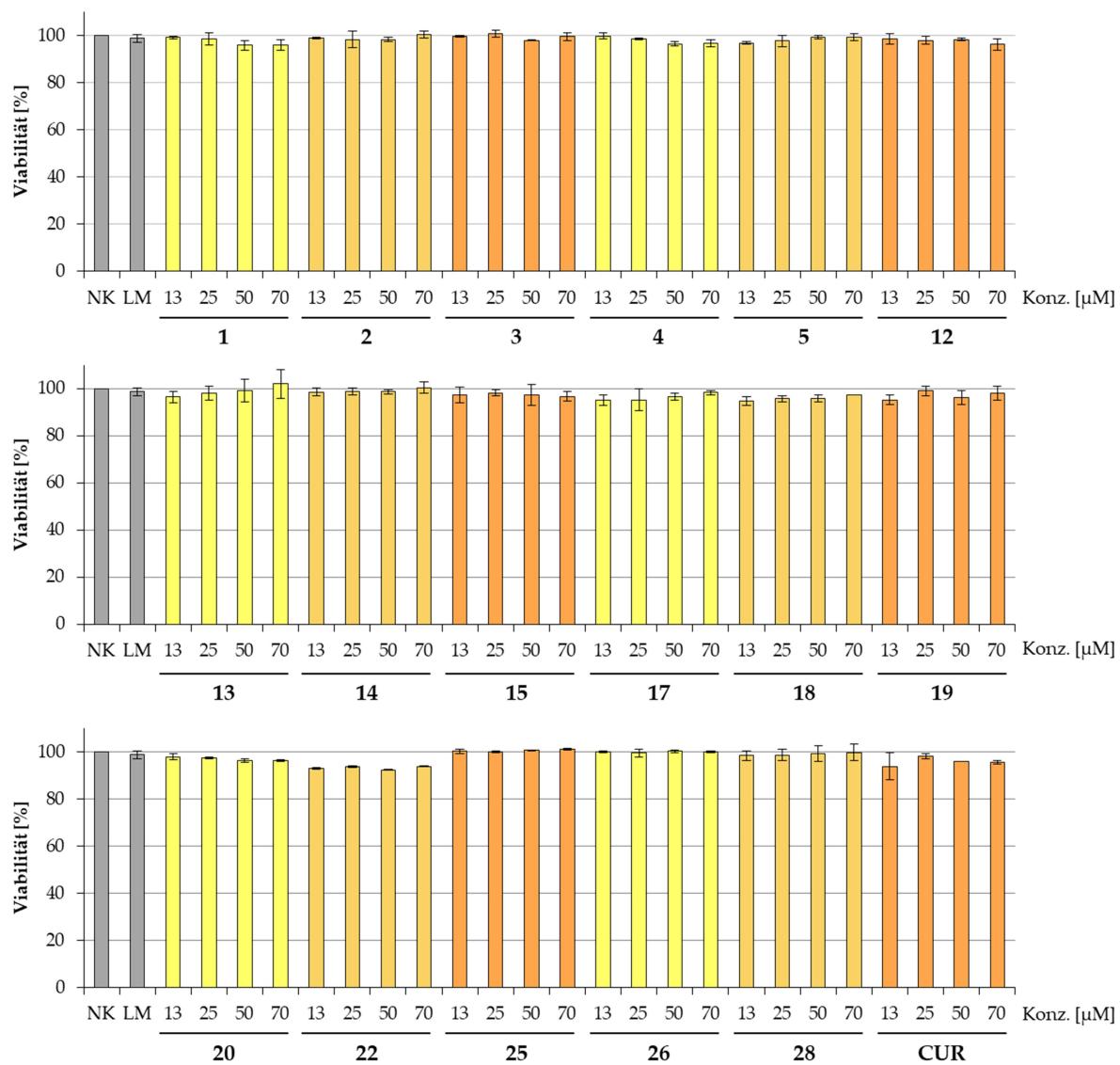


Abbildung 143. Einfluss der Reinsubstanzen auf die Zellviabilität. Getestet wurden neben einer Negativkontrolle (NK, Medium) und einer Lösemittelkontrolle (LM, DMSO 0,15%) je vier Substanz-Konzentrationen (13, 25, 50 und 70 μM). Alle Tests wurden in Hexaplikaten ($n=2$) durchgeführt und sind als MW \pm SD präsentiert.

Lediglich zwei Verbindungen zeigten starken Einfluss auf die Zellviabilität und erhöhten bereits bei einer Konzentration von 25 μM die Viabilität auf $138,9 \pm 2,9\%$ (30) bzw. $121,8 \pm 20,2\%$ (34) (**Abbildung 144**). Hierbei handelte es sich um die einzigen zwei getesteten

Triterpene. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden diese beiden Substanzen nur bis zu einer Konzentration von 13 µM im ICAM-1 Assay getestet.

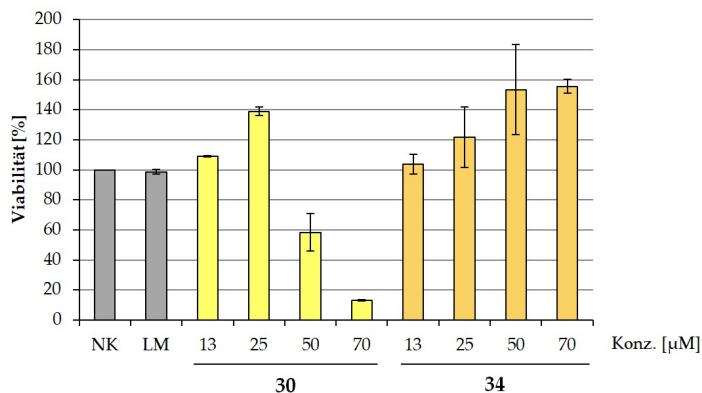


Abbildung 144. Einfluss der Verbindungen **30** und **34** auf die Zellviabilität. Getestet wurden neben einer Negativkontrolle (NK, Medium) und einer Lösemittelkontrolle (LM, DMSO 0,15%) je vier Substanz-Konzentrationen (13, 25, 50 und 70 µM). Alle Tests wurden in Hexaplikaten ($n=2$) durchgeführt und sind als MW±SD präsentiert.

Für Verbindungen, die im ICAM-1 Assay Aktivität zeigten, wurden auch höhere Konzentrationen bis 100 µM getestet und der Versuch dreimal wiederholt ($n=3$) um zufällige Fehler auszuschließen. Die Ergebnisse dieser Testung sind in **Abbildung 145** dargestellt. Allerdings konnte bei keiner der Substanzen ein signifikanter Einfluss auf die Viabilität festgestellt werden.

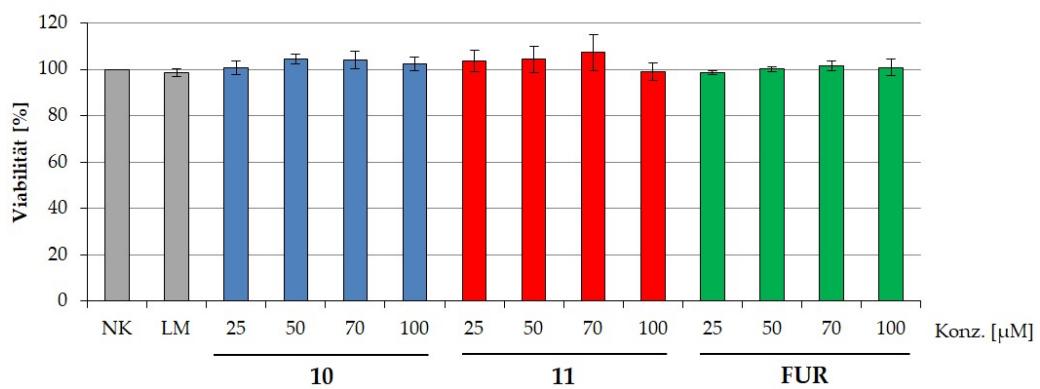


Abbildung 145. Einfluss der Verbindungen **10**, **11** und **FUR** (Furanoeudesma-1,3-dien) auf die Zellviabilität. Getestet wurden neben einer Negativkontrolle (NK, Medium) und einer Lösemittelkontrolle (LM, DMSO 0,15%) je vier Substanz-Konzentrationen (25, 50, 70 und 100 µM). Alle Tests wurden in Hexaplikaten ($n=3$) durchgeführt und sind als MW±SD präsentiert. Es konnte keine signifikante Abweichung ($p < 0,05$) festgestellt werden.

In allen durchgeführten Tests zeigte die Lösemittelkontrolle (LM) mit DMSO in einer Konzentration von 0,15% (V/V) keinen nennenswerten Effekt auf die Zellviabilität. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die verwendete DMSO-Konzentration auch im ICAM-1 Assay keinen Einfluss die Zellen hat.

4.2.4. ICAM-1 Assay

Ein Großteil der getesteten Substanzen war nicht in der Lage in einem Konzentrationsbereich von 6-50 µM eine Senkung der ICAM-1 Expression hervorzurufen. Zwar war bei einigen Substanzen der Trend zu beobachten, dass Werte mit steigender Konzentration leicht sinken, allerdings war dieser Effekt bei den meisten Substanzen sehr schwach ausgeprägt (**Abbildung 146**).

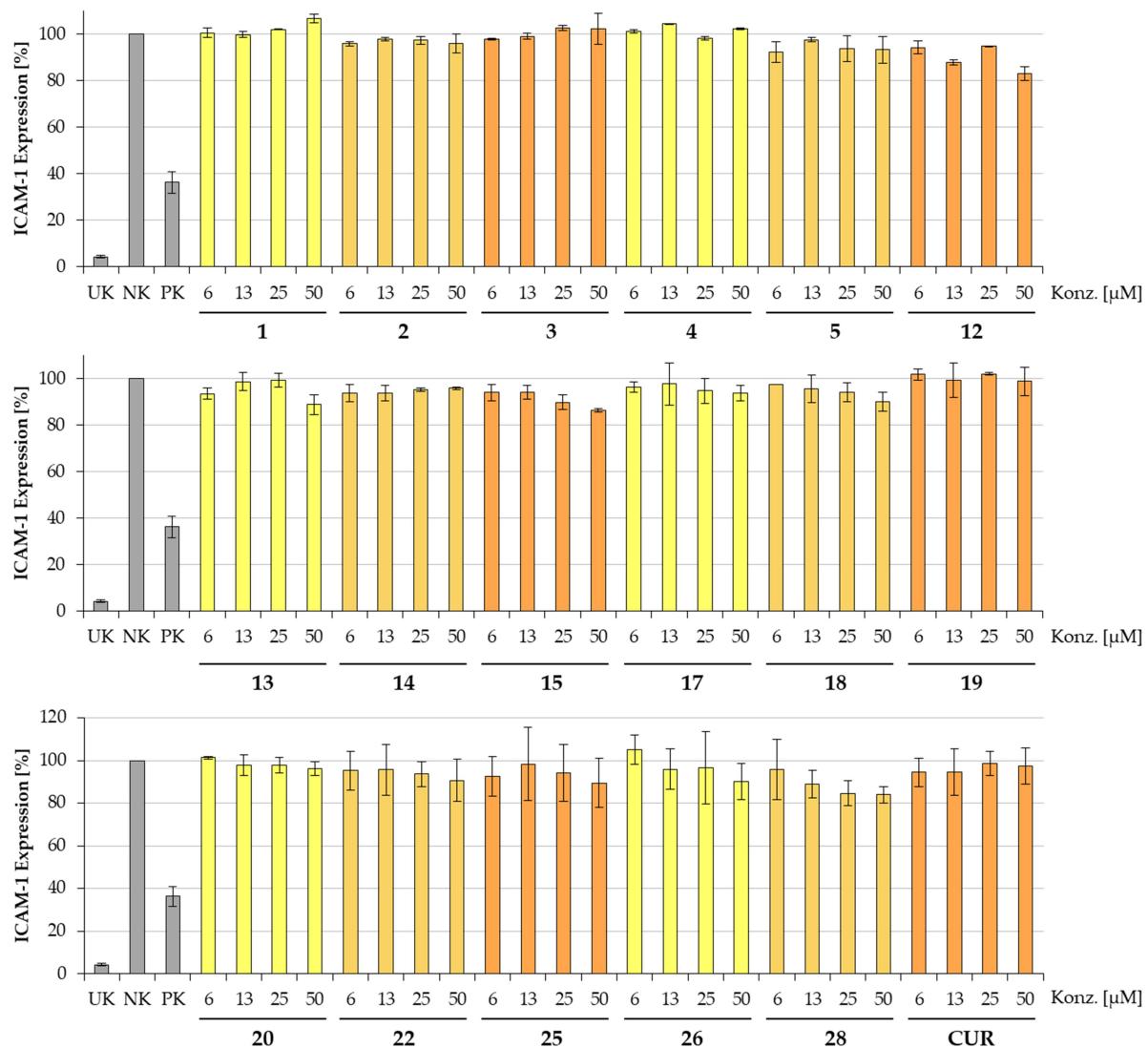


Abbildung 146. Einfluss einiger Substanzen auf die ICAM-1 Expression. Getestet wurden neben einer unbehandelten Kontrolle (UK, DMSO 0,15%), einer Negativkontrolle (NK, nur TNF- α) und einer Positivkontrolle (PK, Parthenolid 5 µM) je vier Substanz-Konzentrationen (6, 13, 25 und 50 µM). Alle Tests wurden in Duplikaten ($n=2$) durchgeführt und sind als MW±SD präsentiert.

Die beiden Triterpene, die während der MTT-Assays durch einen starken zytotoxischen Effekt auffielen, wurden nur bei geringeren Konzentrationen getestet, bei denen noch kein Einfluss auf die Viabilität zu beobachten war. Eine Hemmung von ICAM-1 konnte allerdings nicht gezeigt werden (**Abbildung 147**).

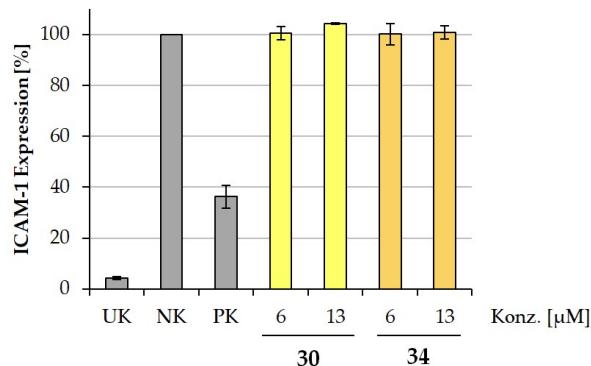


Abbildung 147. Einfluss der Verbindungen **30** und **34** auf die ICAM-1 Expression. Getestet wurden neben einer unbehandelten Kontrolle (UK, DMSO 0,15%), einer Negativkontrolle (NK, nur TNF- α) und einer Positivkontrolle (PK, Parthenolid 5 μ M) je zwei Substanz-Konzentrationen (6 und 13 μ M). Alle Tests wurden in Duplikaten ($n=2$) durchgeführt und sind als MW \pm SD präsentiert.

Eine signifikante Senkung der ICAM-1 Expression konnte nur für drei Substanzen festgestellt werden. Dabei handelte es sich um die isolierten Verbindungen **10** und **11** sowie die Referenzsubstanz Furanoeudesma-1,3-dien (FUR) (**Abbildung 148, a**). Im Falle von **10** war die Hemmung schwächer ausgeprägt als bei den anderen Substanzen, ein konzentrationsabhängiger Abfall der Expression bis auf $69,6 \pm 16,5\%$ (100 μ M) ist aber deutlich zu erkennen. Da die Reinheit von **10** mit 73,3% eher gering war und die Werte bei 70 und 100 μ M stark schwanken, wurde hier auf eine Berechnung der IC₅₀-Werte verzichtet.

Bei den beiden anderen Verbindungen war die Hemmung deutlich stärker ausgeprägt (bis $39,9 \pm 6,0\%$ (**11**, 100 μ M) und $37,2 \pm 7,5\%$ (FUR, 100 μ M)) und es war möglich die IC₅₀-Werte durch eine nicht-lineare Regression zu ermitteln (**Abbildung 148, b** und **c**). So konnten Werte von 44,8 (**11**) und 46,3 μ M (FUR) für die mittlere inhibitorische Konzentration berechnet werden.

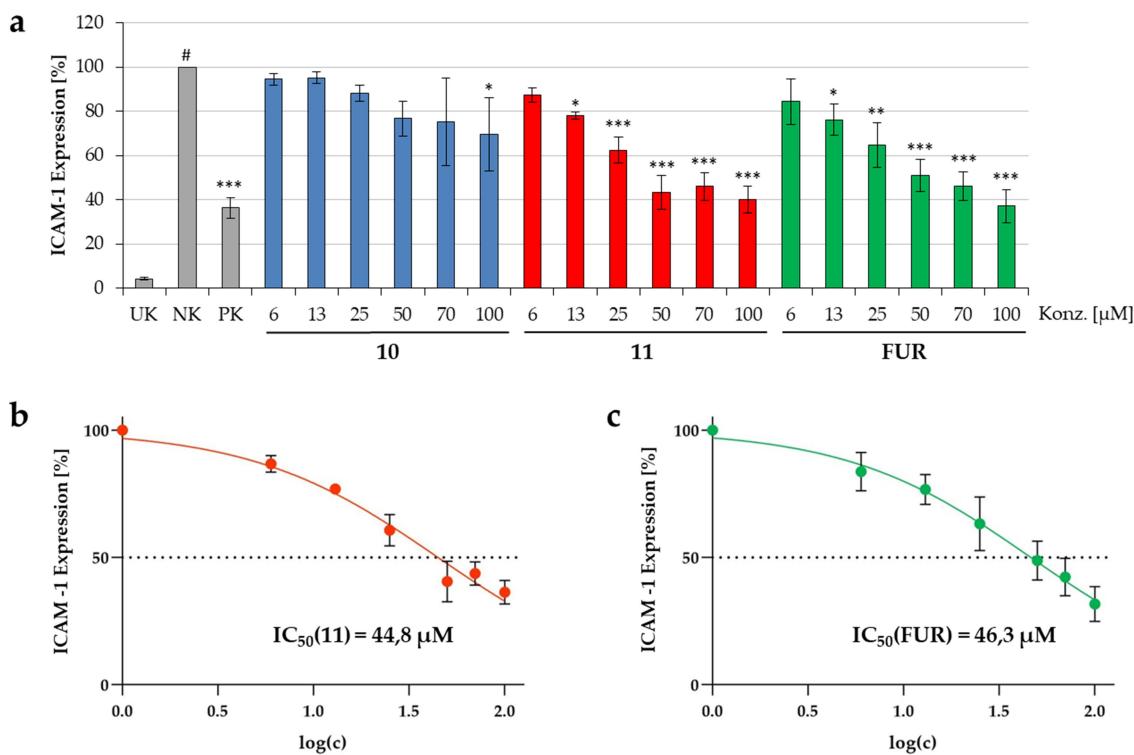


Abbildung 148. Einfluss der Verbindungen **10**, **11** und **FUR** (Furanoeudesma-1,3-dien) auf die ICAM-1 Expression. Getestet wurden neben einer unbehandelten Kontrolle (UK, DMSO 0,15%), einer Negativkontrolle (NK, nur TNF- α) und einer Positivkontrolle (PK, Parthenolid 5 μM) je sechs Substanz-Konzentrationen (6, 13, 25, 50, 70 und 100 μM). Alle Tests wurden in Duplikaten ($n=3$) durchgeführt und sind als MW \pm SD präsentiert. # $p < 0,001$ vs. UK; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs. NK (**a**). Außerdem sind nicht-lineare Regressionskurven der Verbindungen **11** (**b**) und **FUR** (**c**) abgebildet.

4.3. Zusammenfassung und Diskussion

In dieser Arbeit wurde mithilfe eines *in vitro* Assays versucht den physiologischen Vorgang der ICAM-1 Expression nachzuempfinden. Hierfür wurde mit Human Microvaskular Endothelial Cells (HMEC-1) gearbeitet, die sich als ein gutes Modell für ein mikrovaskuläres Endothel erwiesen haben [182] und durch Zugabe von TNF- α zur Expression von ICAM-1 angeregt werden. Auf diesem Wege konnte für einen ethanolischen Myrrheextrakt sowie einige Fraktionen und Reinsubstanzen eine Hemmwirkung auf die ICAM-1 Expression *in vitro* festgestellt werden.

In diesem Kapitel sollen die Ergebnisse des ICAM-1 Assays im Zuge der bioaktivitätsgeleiteten Isolierung diskutiert und die Auswahl der Fraktionen für die phytochemischen Arbeiten erläutert werden. Außerdem sollen die Ergebnisse der pharmakologischen Testung der Reinsubstanzen noch einmal zusammengefasst und einige Erkenntnisse zur Struktur-Wirkungs-Beziehung der Verbindungen im direkten Vergleich erarbeitet werden.

4.3.1. Bioaktivitätsgeleitete Fraktionierung

Die Idee der bioaktivitätsgeleiteten Fraktionierung wurde unabhängig voneinander in verschiedenen Bereichen entdeckt, sodass es schwer fällt diese Methodik auf eine Einzelperson zurückzuführen [186]. Die ersten Untersuchungen, die sich dieses Verfahrens bedienten, wurden 1974 durchgeführt und beschäftigten sich mit mutagenen Metaboliten bekannter Kanzerogene in Rattenurin [187,188]. Dieses Vorgehen konnte im Folgenden durch die Etablierung des Ames-Tests [189,190] noch weiter automatisiert werden, der bis heute ein Standardverfahren bei der Suche nach Mutagenen darstellt.

Auch in der Phytochemie wurde der bioaktivitätsgeleitete Ansatz immer wieder verwendet, um wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe in Extrakten zu identifizieren. So ist es zum Beispiel gelungen die COX-2-Hemmung eines Dichlormethan-Extraktes aus dem Färberwaid (*Isatis tinctoria*) durch LC-DAD-MS in Kombination mit einem Microtiterassay auf eine einzelne Substanz, Tryptanthrin, zurückzuführen [191]. Auch das giftige Prinzip des Pfeilgiftfrosches (*Epipedobates tricolor*) konnte durch HPLC-Fraktionierung auf den Nikotin-Rezeptor-Agonisten Epibatidin und auf eine bis dahin unbekannte Nebenverbindung zurückgeführt werden. Das sogenannte Epiquinamid konnte so zum ersten Mal isoliert und beschrieben werden [192]. Diese beiden Beispiele stellen aber eher die Ausnahme von der Regel dar, denn meistens ist es nicht möglich die Wirkung eines Extraktes auf eine einzige Verbindung zurückzuführen. Vielmehr sind oft mehrere Verbindungen oder ganze Substanzklassen an der Aktivität beteiligt oder ergänzen sich gegenseitig. So kann es auch dazu kommen, dass die Aktivität der Fraktionen mit fortschreitendem Isolierungsprozess stetig abnimmt, da der Einfluss von synergistischen Effekten zunehmend in den Hintergrund tritt [186,193,194].

In der hier vorgestellten Arbeit konnte gezeigt werden, dass vor allem die lipophileren Bestandteile der Myrrhe für den ICAM-1 hemmenden Effekt verantwortlich sind. Dies ging sowohl aus der Testung der Fraktionen aus flüssig-flüssig-Verteilung, als auch der Kieselgel-Flash hervor. Aus der relativ breiten Verteilung der Aktivität über mehrere Fraktionen lässt sich außerdem schließen, dass viele Verbindungen zur Wirkung des Gesamtextraktes *in vitro* beitragen und diese nicht nur von einer Substanz ausgeht.

Da es bei den lipophilen Fraktionen aber auch zu Abbaureaktionen und Artefaktbildung kam (siehe 3.2.8), lag der Fokus der Isolierungsarbeiten vor allem auf den mittelpolaren Fraktionen F5-7, die ebenfalls starke (F5) bis moderate (F6-7) ICAM-1 Hemmung zeigten. Aus F6 und -7 ist es nicht gelungen aktive Reinsubstanzen zu gewinnen, obwohl diese Fraktionen durchaus ICAM-1 hemmende Eigenschaften besitzen. Hier ist die Aktivität wahrscheinlich auf synergistische Effekte vieler Verbindungen zurückzuführen, die in ihrer Gesamtheit die Aktivität der Einzelkomponenten übertreffen [194].

Die Fraktion F5 wurde durch eine CPC weiter aufgetrennt und von den Unterfraktionen F5C1-6 stellte sich F5C5 als die aktivste heraus. Hieraus konnten im weiteren Verlauf die beiden ICAM-1 Hemmer **10** (F5C5P5) und **11** (F5C5P6) gewonnen werden (siehe hierzu 3.2.7.2). Mithilfe der bioaktivitätsgeleiteten Isolierung war es so möglich diese beiden aktiven Komponenten über den ganzen Isolierungsprozess hinweg zu verfolgen (**Abbildung 149**).

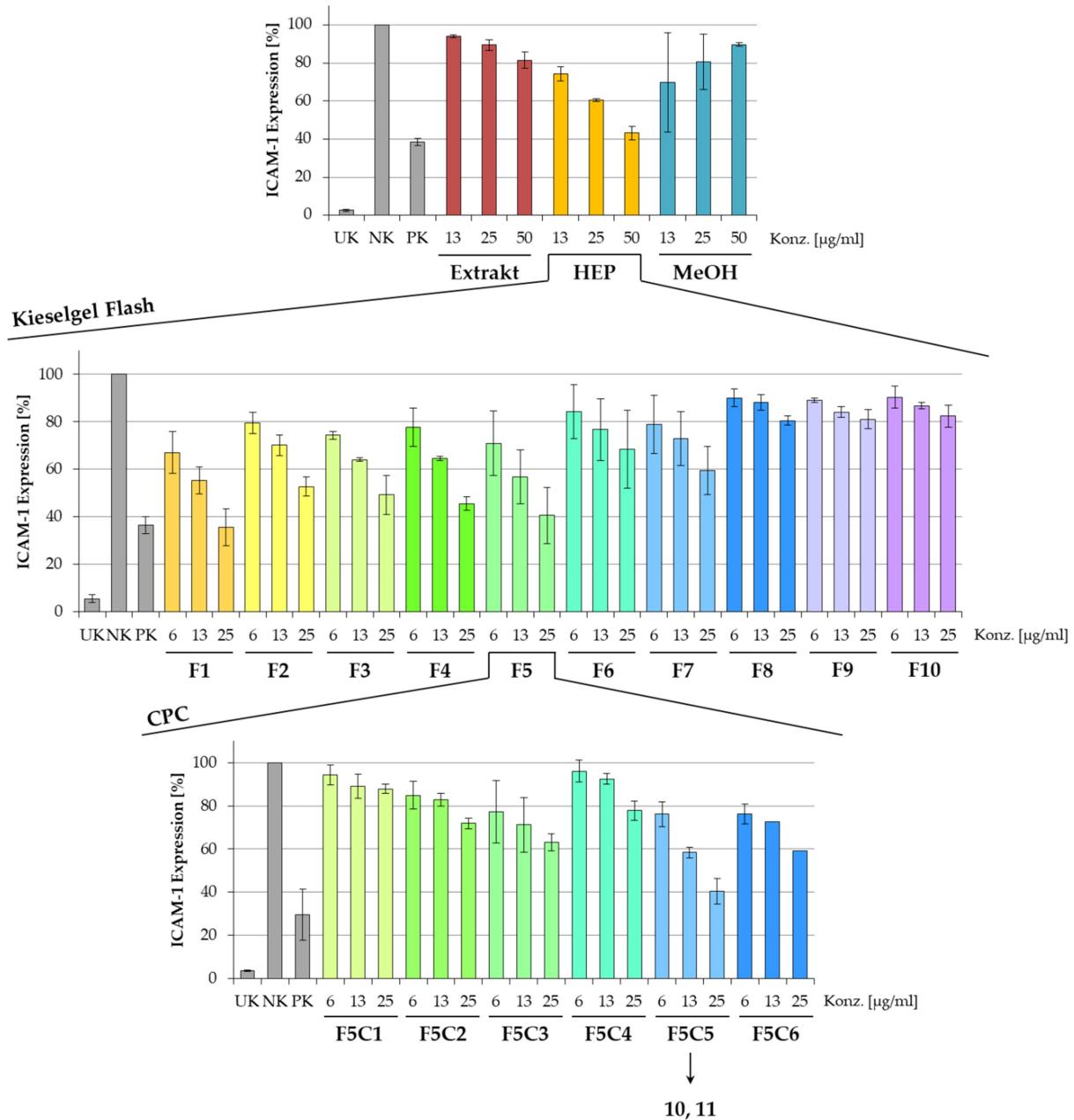


Abbildung 149. Zusammenfassung der Ergebnisse der Testung von Fraktionen im ICAM-1 Assay. UK: unbehandelten Kontrolle (DMSO 0,15%), NK: Negativkontrolle (nur TNF- α), PK: Positivkontrolle (Parthenolid 5 μ M), Substanz-Konzentrationen in μ g/ml. Alle Tests wurden in Duplikaten durchgeführt und sind als MW \pm SD präsentiert.

Extrakte aus Myrrhe wurden auch zuvor bereits mithilfe von bioaktivitätsgeleiteter Fraktionierung untersucht. So fraktionierten Su et al. einen ethanolischen Extrakt des Gummiharzes von *C. myrrha* (85%, V/V) durch Suspendieren in Wasser und Ausschütteln mit Petrolether, Ethylacetat und n-Butanol. In diesem Zusammenhang zeigte die Petrolether-Fraktion sowohl die höchste entzündungshemmende Wirkung im Rattenpfotenödem Test, als auch den höchsten analgetischen Effekt im „Writhing“ Test [53]. Dies deckt sich mit dem hier durchgeföhrten ICAM-1 Assay, in dem ebenfalls lipophilere Fraktionen stärkere antiphlogistische Aktivitäten zeigten. Auch was die Wirkung der Myrrhe gegen Plasmodien

angeht, scheinen lipophile Komponenten den stärksten Anteil an der Aktivität zu haben. So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass ein am Soxhlet aus Gummiharz von *C. myrrha* gewonnener Dichlormethan-Extrakt deutlich aktiver gegenüber *Plasmodium falciparum* war als sukzessive entstandene Ethanol- und Wasser-Extrakte [29].

Im Gegensatz dazu war bei einer Untersuchung der indischen Myrrhe (auch Guggul, *C. mukul*) die Ethylacetat-lösliche Fraktion eines Methanol-Extraktes in einem NO-Assay aktiver als die n-Hexan-Fraktion. Diese anti-inflammatorische Wirkung konnte durch Isolierung und Testung der Reinsubstanzen hauptsächlich auf Guggulsterole zurückgeführt werden, die in der echten Myrrhe allerdings nicht vorkommen [195].

4.3.2. Reinsubstanzen

Von den getesteten Substanzen zeigten nur die Triterpene **30** und **34** einen Einfluss auf die Zellviabilität von HMEC-1 Zellen im getesteten Konzentrationsbereich (**Abbildung 144**). Bei beiden Verbindungen kommt es mit Erhöhung der Konzentration zu einem Anstieg der Metabolisierungsrate über das normale Maß hinaus. Dieser Effekt ist bekannt und kann auftreten, wenn Zellen sich „gestresst“ zeigen kurz bevor es zu einer Senkung der Viabilität kommt. So konnten Karakaş et al. bei der Testung einiger Pflanzenextrakte im MTT-Assay Viabilitäten messen, die weit über 100% lagen, während es im ATP-Assay bei gleicher Extrakt-Konzentration zu einem Abfall der Viabilität kam. Durch eine mikroskopische Untersuchung konnte bei diesen Zellen auch eine Abnahme der Zelldichte nachgewiesen werden [196]. Die zytotoxische Wirkung von vielen Triterpene ist weithin bekannt und wurde besonders in Bezug auf verschiedene Tumorzelllinien ausgiebig untersucht [110,132,134,197]. Viele dieser beobachteten Effekte sind jedoch wohl nicht auf Krebszellen beschränkt und wahrscheinlich wenig spezifisch, wie auch dieses Beispiel zeigt.

Im *in vitro* ICAM-1 Assay zeigten nur drei Testsubstanzen (**10**, **11** und FUR) eine Aktivität, während bei allen anderen Verbindungen keine nennenswerte Hemmung auftrat. Aufgrund der hohen Strukturähnlichkeit der getesteten Verbindungen, lassen sich aus diesem Datensatz mögliche Aussagen über Struktur-Wirkungs-Beziehungen treffen. Generell wird die Wirkung von Sesquiterpenlactonen meistens auf α,β -ungesättigte Carbonylstrukturen zurückgeführt, wie sie beispielsweise bei der in Assay verwendeten Positivkontrolle Parthenolid vorhanden ist. Substanzen mit diesem Strukturelement besitzen meistens eine exozyklische Methylenstruktur, die in einer Michael-Addition mit einer Thiol-Gruppe des NF- κ B reagieren kann [149–151] (**Abbildung 150**). Diese Alkylierungsreaktion verhindert die Bindung des Transkriptionsfaktors an Promotorregionen an der DNA und damit die Bildung von pro-inflammatorischen Mediatoren und Effektoren. Die Aktivierung von NF- κ B durch Entzündungsmediatoren wie TNF- α kann so beeinträchtigt sein, was zu einer verminderten Expression von pro-inflammatorischen Mediatoren und Adhäsionsmolekülen wie ICAM-1 führt.

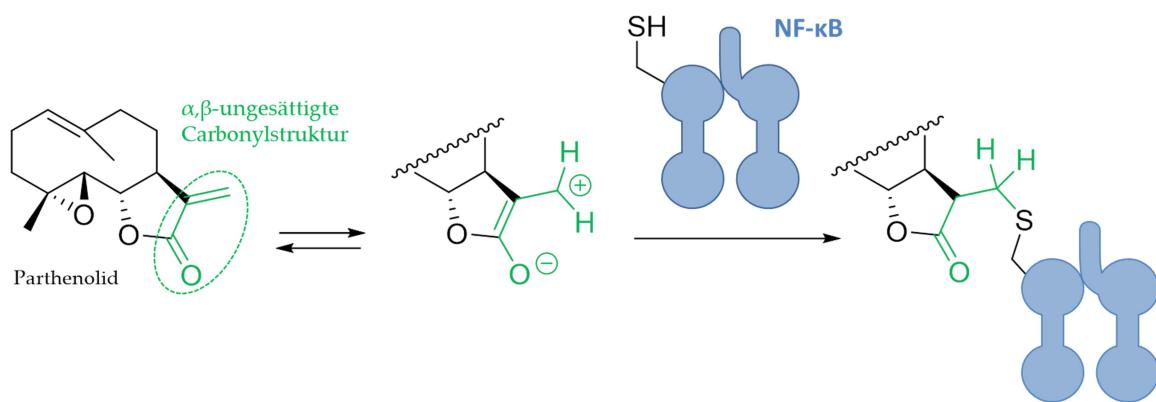


Abbildung 150. Struktur von Parthenolid mit grün markierter α,β -ungesättigter Carbonylstruktur. Diese reagiert in einer Michael-Addition mit der Thiol-Gruppe eines Cysteins des NF- κ B.

Den getesteten Substanzen ist gemeinsam, dass sie keine exozyklische Methylenstruktur besitzen. Stattdessen liegt der Lacton-Ring bei den meisten Verbindungen als α,β -ungesättigtes Cyclopentenon (z.B. **11**) vor, welches auch eine α,β -ungesättigte Carbonylstrukturen enthält und so theoretisch ebenfalls einen Michael-Akzeptor darstellt. Bei einigen Substanzen ist die Lactonstruktur während der Biosynthese zugunsten eines Furanrings verloren gegangen (z.B. FUR). Von diesem sind aufgrund des aromatischen Charakters in der Regel keine Michael-Additionen zu erwarten [198].

Einige der erhaltenen Testergebnisse widersprechen jedoch dieser Theorie. Die meisten Substanzen konnten keine ICAM-1 Hemmung zeigen, obwohl sie ein α,β -ungesättigtes Cyclopentenon enthielten. Stattdessen war FUR, welches nur über einen Furanring verfügt, in der Lage eine signifikante Senkung der ICAM-1 Expression zu verursachen (**Abbildung 151**). Es ist also fraglich, ob dieses Strukturmerkmal alleine für die Wirkung der Sesquiterpene verantwortlich ist, oder ob noch andere Mechanismen eine Rolle spielen. Der Vergleich zwischen den Verbindungen FUR und dem inaktiven CUR legt außerdem den Schluss nahe, dass von den konjugierten Doppelbindungen der Dihydrocyclohexanstruktur ein Effekt ausgehen könnte, da dieses Strukturmerkmal bei CUR fehlt.

Des Weiteren stellt man beim Vergleich der Verbindung **11** mit anderen strukturverwandten Substanzen fest, dass schon kleinste Veränderungen im Substitutionsmuster oder dem Kohlenstoffskelett zu einem Verlust der Aktivität führen können. Zum einen hat alleine schon die Isomerisierung der Doppelbindung von 4(15) nach 3(4) (Substanz **10**) eine erhebliche Senkung der ICAM-1 Hemmung zur Folge. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass bei hydroxylierten Molekülen in keinem Fall eine Aktivität vorhanden war, wie beispielsweise bei den hydroxylierten Analoga von **10** und **11** (**12** und **13**). Ähnliche Beobachtungen wurden in einer quantitativen Struktur-Wirkungsbeziehungs Studie (QSAR) zu Sesquiterpenlactonen gemacht, die zeigen konnte, dass die Anzahl der Hydroxyl-Gruppen in einem Molekül einen negativen Effekt auf seine NF- κ B hemmende Wirkung hat [199]. Ob dieser Effekt mit dem Wirkmechanismus der Sesquiterpene zusammenhängt oder lediglich über eine Veränderung der Lipophilie die Aufnahme der Substanzen in die Zellen beeinträchtigt ist unklar.

Auffällig ist außerdem, dass keines der getesteten Germacrane (z.B. **1**), trotz starker Ähnlichkeit zu **11** in Lipophilie und Struktur, eine ICAM-1 Hemmung zeigen konnte. Die Konformation und Geometrie der Substanzen scheint also auch eine wichtige Rolle für deren Aktivität zu spielen. Greve et al. machten zuvor ähnliche Beobachtungen in Bezug auf die Wirkung von Germacranen gegen Protozoen [29]. Auch, dass es auch durch die Einführung von Bindungsbrüchen (z.B. **17** und **26**) zu einem kompletten Verlust der Aktivität gegenüber ICAM-1 kommt, bekräftigt diese Tatsache (**Abbildung 151**).

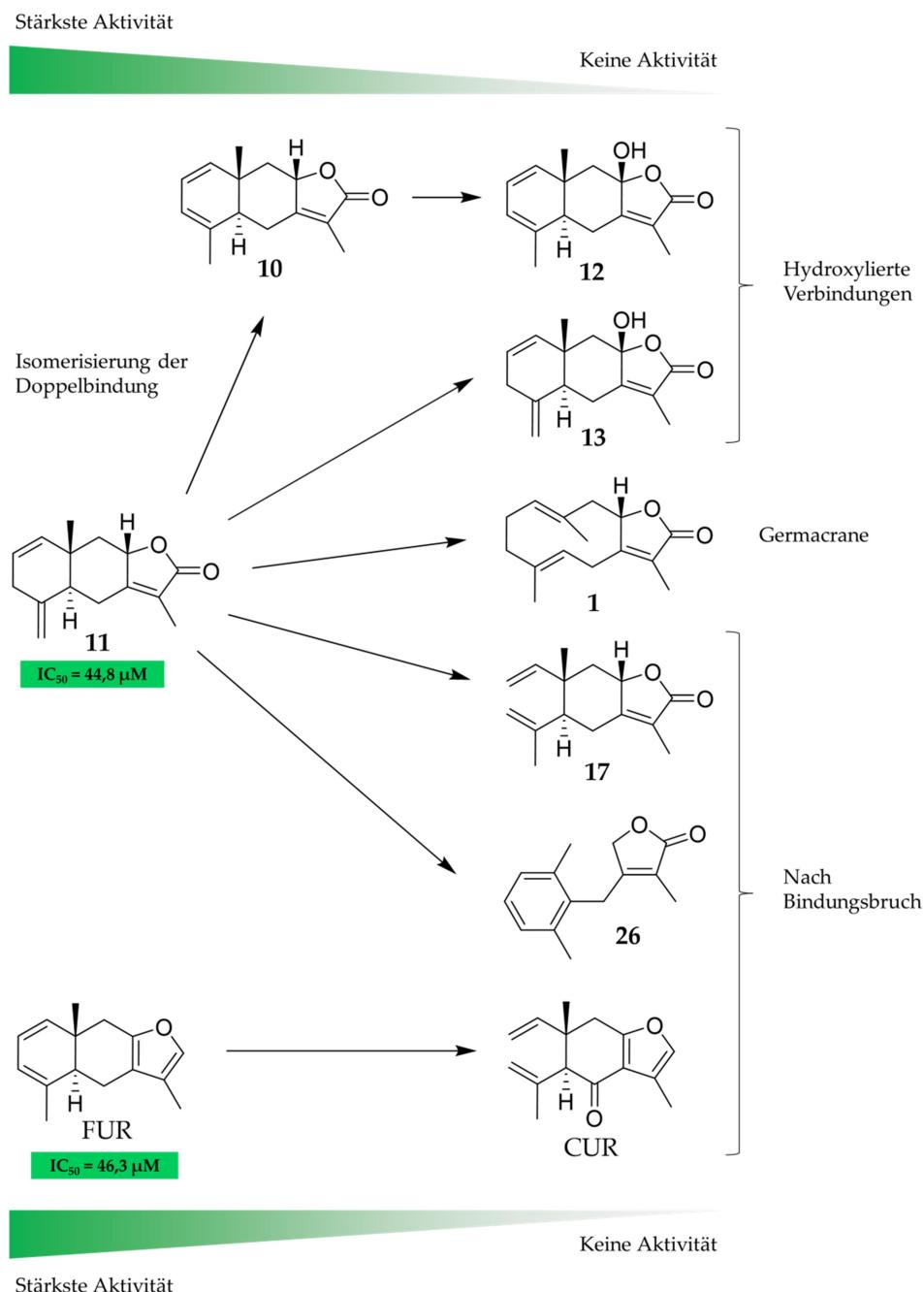


Abbildung 151. Zusammenfassung der gefundenen Struktur-Wirkungs-Beziehungen für die Hemmung der ICAM-1 Expression. Die Verbindungen sind von links nach rechts angeordnet nach ihrer Aktivität. Pfeile zwischen den aktiven Verbindungen **11**, **FUR** und **10** und einer Auswahl an Substanzen, die keinen Effekt zeigten, sollen auf Strukturverwandtschaften hinweisen.

Abschließend soll noch kurz auf die drei in dieser Studie aktiven Verbindungen **10**, **11** und FUR eingegangen werden.

Bei **10** handelt es sich um 5- α H,8- β H-Eudesma-1,3,7(11)-trien-8,12-olid, eine Substanz, die in der Literatur nur in einer Quelle als Naturstoff erwähnt wird. Sie wurde 2015 von Ayyad et al. im Rahmen einer bioaktivitätsgeleiteten Isolierung aus dem Petrolether-Extrakt von *C. myrrha* isoliert [31]. In dieser Studie wurde die Zytotoxizität von **10** gegenüber zwei Fibroblasten-Mauszelllinien KA31T und NIH3T3 evaluiert und IC₅₀-Werte von $10 \pm 0,1$ und $30 \pm 0,2 \mu\text{M}$ ermittelt. Die von Ayyad et al. beobachtete Zytotoxizität dieser Substanz konnte für HMEC-1 Zellen in dieser Arbeit nicht reproduziert werden, in der sie bis $100 \mu\text{M}$ keinen Einfluss auf die Viabilität zeigte.

Im Gegensatz dazu ist Lindestrenolid (**11**), das Isomer von **10** schon seit den 60er Jahren bekannt. Es wurde 1968 von Takeda et al. aus *Lindera strychnifolia* isoliert und beschrieben [116] und später auch in *Callitris columellaris* nachgewiesen [200]. Die einzige vorhandene pharmakologische Studie zu **11** stammt von Liu et al., die einen milden Einfluss der Substanz auf die Viabilität von HSC-T6 Zellen feststellen konnten [201]. Dieses Testsystem soll der Identifizierung von Substanzen dienen, die potentiell in der Therapie oder Prävention der Leberzirrhose eingesetzt werden könnten [202]. In Bezug auf seine anti-inflammatoryische Wirkung wurde Lindestrenolid bisher nicht untersucht.

Das Furanoeudesma-1,3-dien (FUR) wurde 1983 von Brieskorn und Noble aus *C. myrrha* isolierte und beschrieben [203]. Es ist einer der Hauptinhaltstoffe der Pflanze und hat je nach Herkunft der Droge einen Anteil von 33-39% am ätherischen Öl [21,22,24,25]. Auch in Extrakten konnte es zu einem hohen Prozentsatz nachgewiesen werden. So wurde ein FUR-Gehalt in EtOAc-Extrakten des Gummiharzes von 9-21% bestimmt [26] und in CO₂-Auszügen Anteile von 31-35% nachgewiesen [23,24]. Pharmakologische Studien zu der Substanz gibt es allerdings nur wenige und es wurden bisher keine zu ihrer anti-inflammatoryischen Wirkung durchgeführt. Allerdings scheint FUR in gewissem Ausmaß für das analgetische Potential von Myrrhe verantwortlich zu sein. So konnte die Substanz im Tierversuch die Latenzzeit auf einen Schmerzreiz, sowohl intracerebroventriculär als auch peroral verabreicht, verlängern und dieser Effekt konnte durch Naloxon aufgehoben werden [204]. Bei einem „Writhing“-Test an Mäusen wurden ähnliche Ergebnisse erzielt [51], was dafür spricht, dass die analgetische Wirkung von FUR über einen zentralen Opioidrezeptor vermittelt wird. Die Substanz zeigte außerdem antibakterielle Eigenschaften gegen einige grampositive und -negative Keime [205] und einen hautreizenden Effekt am Mausohr [206]. Auch wenn darüber hinaus keine pharmakologischen Studien zu der Verbindung vorliegen, ist davon auszugehen, dass sie alleine schon wegen ihrem hohen Gehalt in Myrrhe an den vielfältigen Wirkungen der Droge beteiligt ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Myrrhe wird seit Jahrtausenden zur Behandlung verschiedener Krankheiten verwendet. Durch moderne Studien konnte gezeigt werden, dass Myrrhe bei einer Vielzahl von Indikationen tatsächlich wirksam ist und *Commiphora myrrha* vor allem bei Colitis ulcerosa im Tiermodell und in einer klinischen Studie positive Effekte hatte. Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse, sind die vorhandenen Daten zum Wirkmechanismus und der Zusammensetzung des Myrrheharzes weiterhin unzureichend. In dieser Arbeit soll daher ein kleiner Beitrag zum Verständnis der Wirkung der Droge auf Zellebene zu geleistet werden und Teile der Wirkung eventuell sogar auf Einzelverbindungen zurückzuführen. Als Testmodell wurde hierfür das Adhäsionsmolekül ICAM-1 gewählt, welches bei der Pathogenese der Colitis ulcerosa eine Rolle spielt und in Zusammenhang mit Myrrhe bisher nicht untersucht wurde. Ziel ist es aber auch das bekannte Inhaltstoffspektrum der Myrrhe durch neue Substanzen zu erweitern.

Zu diesem Zweck wurde durch Mazeration und Perkolation ein ethanolsicher Extrakt (96%, V/V) aus dem Gummiharz von *C. myrrha* hergestellt. Durch eine Flüssig-flüssig-Verteilung konnte dieser in eine n-Heptan- (HEP) und eine Methanol-Fraktion unterteilt werden. Alle drei Fraktionen wurden anschließend in einem *in vitro* Assay getestet, in dem für den Gesamtextrakt eine milde (bis $81,6 \pm 4,2\%$, 50 µM) und für die HEP-Fraktion eine stärkere konzentrationsabhängige Senkung (bis $43,2 \pm 3,6\%$, 50 µM) der ICAM-1 Expression nachgewiesen werden konnte. In mehreren Fraktionierungsschritten erfolgte mithilfe des ICAM-1 *in vitro* Assays anschließend eine bioaktivitätsgesteuerte Isolierung aus der HEP-Fraktion, bei der verschiedene chromatographische Methoden zum Einsatz kamen. Unter anderem wurde eine Flash-Chromatographie an Kieselgel, eine Centrifugal Partition Chromatography und eine präparative HPLC an einer Biphenyl-Phase angewendet.

In der Folge wurden aus der HEP-Fraktion insgesamt 38 Reinsubstanzen isoliert und deren Strukturen über ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie sowie HRESIMS aufgeklärt. Außerdem wurden optische und spektroskopische Daten erhoben und die Reinheit der Isolate mittels HPLC-DAD bestimmt. Die isolierten Verbindungen sind entweder den Sesquiterpenen (Germacrane, Eudesmane, Elemane, Cadinane, Guajane) oder den Triterpenen (Cyloartane, Dammarane, 4-Demethyllumosterolene) zuzuordnen. Unter ihnen befinden sich fünf Verbindungen, welche erstmals für die Art *C. myrrha* beschrieben werden (29, 31-34) sowie sieben Verbindungen, die im Rahmen dieser Arbeit zum ersten Mal in der Gattung *Commiphora* nachgewiesen werden (1, 9, 11, 14, 16, 17, 37). Außerdem sind elf bisher unbekannte Verbindungen hier erstmalig beschrieben (4, 5, 21-26, 35, 36, 38). Darüber hinaus konnten Literaturangaben zu NMR- und anderen spektroskopischen Daten bekannter Substanzen an vielen Stellen ergänzt oder korrigiert werden (2, 3, 11, 18, 19, 31).

Besonders hervorgehoben werden sollen die Verbindungen 25 und 26, bei denen es sich um 9,10-Seco-Eudesmane handelt und die damit über ein bis dahin unbekanntes Kohlenstoffseklett verfügen. Mit 24 wurde außerdem eine Substanz isoliert, die sich durch eine Endoperoxidstruktur auszeichnet, welche für *Commiphora* ebenfalls neuartig ist. Durch

Vergleich mit bekannten Sesquiterpenen konnten darüber hinaus Theorien zur Biosynthese dieser neuartigen Verbindungen aufgestellt werden.

In einem nächsten Schritt wurde eine Auswahl an Substanzen auf ihren Effekt in Bezug auf ICAM-1 untersucht. Die höchste Aktivität konnte für Verbindung 11 (IC_{50} 44,8 μM) und die Referenzsubstanz Furanoeudesma-1,3-dien (IC_{50} 46,3 μM) festgestellt werden, während ein Großteil der Isolate keinen Effekt in dem gewählten Testmodell zeigten. Dies lässt vermuten, dass die Wirkung des Extraktes auf synergistische Effekte vieler Verbindungen zurückzuführen ist, die in ihrer Gesamtheit die Aktivität der Einzelkomponenten übertreffen. Weiterhin konnten durch einen Vergleich strukturell ähnlicher Verbindungen einige Theorien zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Sesquiterpene aufgestellt werden. Bemerkenswert war außerdem, dass keine der aktiven Substanzen über eine exozyklische Methylenstruktur verfügt, welche bei vielen anderen Sesquiterpenlactonen eine Interaktion mit dem Transkriptionsfaktor NF- κ B erst ermöglicht.

Der Mechanismus der Hemmung von ICAM-1 aber auch der Einfluss, den dieser Effekt auf das Krankheitsbild Colitis ulcerosa hat, bedarf weiterer Forschung, um zu verstehen, wie Patienten in Zukunft weiter von dieser alten Arzneipflanze profitieren können.

6. SUMMARY

Myrrh has been used to treat various diseases for thousands of years. Modern studies have shown that myrrh is actually effective in many indications and that the gum resin of *C. myrrha* shows positive effects, especially against ulcerative colitis, in animal models and in a clinical study. Despite these promising results, the data available on the mechanism of action and the composition of the myrrh resin are still insufficient. This work should therefore try to make a small contribution to the understanding of the drug's effect *in vitro* and possibly even attribute parts of the activity to individual compounds. The adhesion molecule ICAM-1, which plays a role in the pathogenesis of ulcerative colitis and has not yet been investigated in regard to myrrh so far, was chosen as target. The aim is also to expand the spectrum of known constituents of myrrh resin with new substances.

For this purpose, an ethanolic extract (96%, V/V) was produced from the gum resin of *C. myrrha* by maceration and percolation. By means of a liquid-liquid partition, the extract could be separated into an n-heptane (HEP) and a methanol fraction. All three fractions were then tested in an *in vitro* assay, in which a mild concentration dependent reduction of the ICAM-1 expression (up to $81.6 \pm 4.2\%$, 50 μM) could be observed for the extract, whereas the HEP fraction even had a better effect (up to $43.2 \pm 3.6\%$, 50 μM). Subsequently, a bioactivity guided isolation was carried out for the HEP fraction based on the ICAM-1 *in vitro* assay. Fractionation was performed by various chromatographic techniques including silica flash chromatography, centrifugal partition chromatography and preparative HPLC on a biphenyl phase.

As a result, a total of 38 substances were isolated from the HEP fraction and their structures elucidated using one- and two-dimensional NMR spectroscopy and HRESIMS. In addition, optical and spectroscopic data were gathered and the purity of the isolates was determined by HPLC-DAD analysis. The isolated compounds were identified as sesquiterpenes (Germacrane, Eudesmane, Elemane, Cadinane, Guaiane) or triterpenes (Cyloartane, Dammarane, 4-demethyllumosterolene). Among them are five compounds that could be described for the species *C. myrrha* for the first time (29, 31-34), as well as seven compounds that are first detected in the genus *Commiphora* (1, 9, 11, 14, 16, 17, 37). In addition, eleven previously unknown compounds are described here for the first time (4, 5, 21-26, 35, 36, 38). Furthermore, literature on NMR and other spectroscopic data of known compounds could be supplemented or corrected in many cases (2, 3, 11, 18, 19, 31).

Particular emphasis should be given to compounds 25 and 26, which were identified as 9,10-seco-eudesmanes and thus possess a previously unknown carbon skeleton. Furthermore, 24 is a substance that features an endoperoxide structure, which is also novel for the genus *Commiphora*. By comparison with known sesquiterpenes, theories on the biosynthesis of the novel compounds could be established.

In a next step, a selection of compounds was examined for their effect on ICAM-1. The highest activity could be determined for compound 11 (IC_{50} 44.8 μM) and the reference

substance furanoeudesma-1,3-dien (IC_{50} 46.3 μM), while the majority of the isolates did not show an effect in the opted test model. This suggests that the activity of the extract is due to synergistic effects of many compounds, which in total exceed the activity of the individual components. Furthermore, by comparing structurally similar compounds, some theories on structure-activity relationships of sesquiterpenes could be established. It is also noteworthy that none of the active substances has an exocyclic methylene structure which, in the case of many other sesquiterpene lactones, enables an interaction with the transcription factor NF κ B.

The mechanism of action on ICAM-1, but also the influence this effect has in ulcerative colitis, requires further research in order to understand how patients can benefit from this ancient medicinal plant.

7. LITERATUR

1. Malik, S. *Essential Oil Research. Trends in biosynthesis, analytics, industrial applications and biotechnological production*, 1st ed. 2019; Springer International Publishing: Cham, **2019**, ISBN 9783030165468.
2. Mahr, D. *Commiphora*: An introduction to the genus. *Brit. Cact. Succ. J.* **2012**, *84*, 140–154, doi:10.2985/0007-9367-84.3.140.
3. The Plant List: Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/> (accessed on 22 March 2021).
4. Monographie Myrrhe, Myrrha. *Europäisches Arzneibuch, 9. Ausgabe, Grundwerk 2017: Amtliche deutsche Ausgabe (Ph.Eur. 9.0)*, 1. Auflage; Deutscher Apotheker Verlag: Stuttgart, **2017**, ISBN 9783769266795.
5. Hanus, L.O.; Rezanka, T.; Dembitsky, V.M.; Moussaieff, A. Myrrh-*Commiphora* chemistry. *Biomed. Papers* **2005**, *149*, 3–27, doi:10.5507/bp.2005.001.
6. Alsherif, E.A. Ecological studies of *Commiphora* genus (myrrha) in Makkah region, Saudi Arabia. *Heliyon* **2019**, *5*, e01615, doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01615.
7. Tadesse, W.; Desalegn, G.; Alia, R. Natural gum and resin bearing species of Ethiopia and their potential applications. *Invest. Agrar.: Sist. Recur. For.* **2007**, *16*, 211, doi:10.5424/srf/2007163-01010.
8. Hagers *Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Drogen A - D*; Blaschek, W.; Heubl, G.; Abel, G., Eds.; Springer: Berlin, **1998**, ISBN 3540616195.
9. Mahony, D. *Trees of Somalia. A fieldguide for development workers*, Rev; Oxfam: Oxford, **1991**, ISBN 0855981091.
10. Burgess, N.D. *Terrestrial ecoregions of Africa and Madagascar. A conservation assessment*; Island Press: Washington, **2004**, ISBN 1559633646.
11. Orwa, C.; Mutua, A.; Kindt, R.; Jamnadass, R.; Anthony, S. Agroforestry database: a tree reference and selection guide. Version 4.0. http://apps.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Commiphora_myrrha.PDF (accessed on 22 March 2021).
12. Genaust, H. *Etymologisches Wörterbuch der botanischen Pflanzennamen*, 3., vollst. überarb. u. erw. Aufl.; Nikol Verlagsges.: Hamburg, **2005**, ISBN 3937872167.
13. Daly, D.C.; Harley, M.M.; Martínez-Habibe, M.C.; Weeks, A. Burseraceae. In *The Families and Genera of Vascular Plants: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae*; Kubitzki, K., Ed.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2011**; pp 76–104, ISBN 978-3-642-14396-0.
14. Wikimedia Commons, the free media repository. https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Commiphora_myrrha-_K%C3%B6hlerE80%93s_Medizinal-Pflanzen-019.jpg&oldid=509365056 (accessed on 22 March 2021).
15. Tucker, O. Francincence and myrrh. *Econ. Bot.* **1986**, *40*, 425–433.
16. Wiendl, R.M.; Müller, B.M.; Franz, G. Proteoglycans from the gum exudate of myrrh. *Carbohydr. Polym.* **1995**, *28*, 217–226, doi:10.1016/0144-8617(95)00150-6.

17. Tyler, V.E.; Brady, L.R.; Robbers, J.E. *Pharmacognosy*, 8. ed.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1981, ISBN 0812107934.
18. Sticher, O.; Heilmann, J.; Zündorf, I. *Pharmakognosie - Phytopharmazie*, 10., völlig neu bearbeitete Auflage; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart, 2015, ISBN 3804731449.
19. Abegaz, B.; Dagne, E.; Bates, C.; Waterman, P.G. Monoterpene-rich resins from two ethiopian species of *Commiphora*. *Flavour Fragr. J.* 1989, 4, 99–101, doi:10.1002/ffj.2730040303.
20. Asres, K.; Tei, A.; Moges, G.; Sporer, F.; Wink, M. Terpenoid composition of the wound-induced bark exudate of *Commiphora tenuis* from Ethiopia. *Planta Med.* 1998, 64, 473–475, doi:10.1055/s-2006-957489.
21. Dekebo, A.; Dagne, E.; Sterner, O. Furanosesquiterpenes from *Commiphora sphaerocarpa* and related adulterants of true myrrh. *Fitoterapia* 2002, 73, 48–55, doi:10.1016/S0367-326X(01)00367-7.
22. Morteza-Semnani, K.; Saeedi, M. Constituents of the essential oil of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. var. *molmol*. *J. Essent. Oil Res.* 2003, 15, 50–51, doi:10.1080/10412905.2003.9712264.
23. Madia, V.N.; Angelis, M. de; Vita, D. de; Messore, A.; Leo, A. de; Ialongo, D.; Tudino, V.; Saccoliti, F.; Chiara, G. de; Garzoli, S.; et al. Investigation of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. oil and its main components for antiviral activity. *Pharmaceuticals* 2021, 14, 243, doi:10.3390/ph14030243.
24. Marongiu, B.; Piras, A.; Porcedda, S.; Scorciapino, A. Chemical composition of the essential oil and supercritical CO₂ extract of *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. and of *Acorus calamus* L. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 7939–7943, doi:10.1021/jf051100x.
25. Nikolic, M.; Smiljkovic, M.; Markovic, T.; Cirica, A.; Glamoclija, J.; Markovic, D.; Sokovic, M. Sensitivity of clinical isolates of *Candida* to essential oils from Burseraceae family. *EXCLI J.* 2016, 15, 280–289, doi:10.17179/excli2014-621.
26. Hanuš, L.O.; Rosenthal, D.; Řezanka, T.; Dembitsky, V.M.; Moussaief, A. Fast and easy GC/MS identification of myrrh resins. *Pharm. Chem. J.* 2008, 42, 719–720, doi:10.1007/s11094-009-0209-z.
27. Xu, J.; Guo, Y.; Zhao, P.; Xie, C.; Jin, D.; Hou, W.; Zhang, T. Neuroprotective cadinane sesquiterpenes from the resinous exudates of *Commiphora myrrha*. *Fitoterapia* 2011, 82, 1198–1201, doi:10.1016/j.fitote.2011.08.001.
28. Xu, J.; Guo, Y.; Li, Y.; Zhao, P.; Liu, C.; Ma, Y.; Gao, J.; Hou, W.; Zhang, T. Sesquiterpenoids from the resinous exudates of *Commiphora myrrha* and their neuroprotective effects. *Planta Med.* 2011, 77, 2023–2028, doi:10.1055/s-0031-1280087.
29. Greve, H.L.; Kaiser, M.; Schmidt, T.J. Investigation of antiplasmodial effects of terpenoid compounds isolated from myrrh. *Planta Med.* 2020, 86, 643–654, doi:10.1055/a-1157-9463.
30. Shen, T.; Wan, W.-Z.; Wang, X.-N.; Yuan, H.-Q.; Ji, M.; Lou, H.-X. A triterpenoid and sesquiterpenoids from the resinous exudates of *Commiphora myrrha*. *Helv. Chim. Acta* 2009, 92, 645–652, doi:10.1002/hlca.200800347.

31. Ayyad, S.-E.N.; Hoye, T.R.; Alarif, W.M.; Al Ahmadi, S.M.; Basaif, S.A.; Ghandourah, M.A.; Badria, F.A. Differential cytotoxic activity of the petroleum ether extract and its furanosesquiterpenoid constituents from *Commiphora molmol* resin. *Z. Naturforsch.* **2015**, *70*, 87–92, doi:10.1515/znc-2014-4191.
32. El Ashry, E.S.H.; Rashed, N.; Salama, O.M.; Saleh, A. Components, therapeutic value and uses of myrrh. *Pharmazie* **2003**, *58*, 163–168.
33. Shen, T.; Li, G.-H.; Wang, X.-N.; Lou, H.-X. The genus *Commiphora*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *142*, 319–330, doi:10.1016/j.jep.2012.05.025.
34. Su, S.L.; Duan, J.A.; Tang, Y.P.; Zhang, X.; Yu, L.; Jiang, F.R.; Zhou, W.; Luo, D.; Ding, A.W. Isolation and biological activities of neomyrrhaol and other terpenes from the resin of *Commiphora myrrha*. *Planta Med.* **2009**, *75*, doi:10.1055/s-0028-1112214.
35. Rahman, M.M.; Garvey, M.; Piddock, L.J.; Gibbons, S. Antibacterial terpenes from the oleo-resin of *Commiphora molmol* (Engl.). *Phytother. Res.* **2008**, *22*, doi:10.1002/ptr.2501.
36. Provan, G.J.; Waterman, P.G. The mansumbinanes: Octanordammaranes from the resin of *Commiphora incisa*. *Phytochem.* **1986**, *25*, 917–922, doi:10.1016/0031-9422(86)80027-9.
37. Ranke, H. *Das Gilgamesch-Epos. Der älteste überlieferte Mythos der Geschichte*, Neu gesetzt und überarb. nach der Ausg. Hamburg, 1924; Marixverl.: Wiesbaden, **2006**, ISBN 3865390803.
38. Martinetz, D.; Lohs, K.; Janzen, J. *Weihrauch und Myrrhe. Kulturgeschichte und wirtschaftliche Bedeutung ; Botanik, Chemie, Medizin, Lizenzausg*; Wiss. Verl.-Ges: Stuttgart, **1989**, ISBN 3804710190.
39. *Die Bibel nach Martin Luthers Übersetzung. Lutherbibel : revidiert 2017*; Deutsche Bibelgesellschaft: Stuttgart, **2018**, ISBN 3438033100.
40. Langenheim, J.H. *Plant resins. Chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany*; Timber Press: Portland, Or, **2003**, ISBN 0881925748.
41. Wikimedia Commons, the free media repository. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Incense_trees_transport._Punt_relief._Mortuary_Temple_of_Hatshepsut,_Deir_el-Bahari.jpg (accessed on 15 April 2021).
42. Mayer, J. Myrrhe. *Z. Phytother.* **2015**, *36*, 103–105, doi:10.1055/s-0041-103048.
43. Dioscorides, P. *De materia medica*, Third, revised edition; Olms-Weidmann: Hildesheim, **2017**, ISBN 3487155710.
44. Deutscher Wissenschafts-Verlag (DWV) Baden-Baden. *Das Circa Instans. Die erste große Drogenkunde des Abendlandes*, 1. Aufl.; Dt. Wiss.-Verl. (DWV): Baden-Baden, **2015**, ISBN 9783868880960.
45. Hildegard von Bingen. *Das Buch von den Pflanzen. Nach den Quellen übersetzt und erläutert von Peter Riethe*; Otto Müller Verlag: Salzburg, **2007**, ISBN 9783701311309.
46. European Medicines Agency. *Myrrh. Commiphora molmol Engler, gummi-resina*; EMA: London, **2011**.

47. The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. *Myrrha - Myrrh*; ESCOP: Exeter, 2014, ISBN 978-1-901964-22-6.
48. Emad M. Abdallah; Amna S. Khalid; Nazlina Ibrahim. Antibacterial activity of oleo-gum resins of *Commiphora molmol* and *Boswellia papyrifera* against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Sci. Res. Essays* 2009, 4.
49. Paraskeva, M.P.; van Vuuren, S.F.; van Zyl, R.L.; Davids, H.; Viljoen, A.M. The *in vitro* biological activity of selected South African Commiphora species. *J. Ethnopharmacol.* 2008, 119, 673–679, doi:10.1016/j.jep.2008.06.029.
50. Mohammed S. Alhussaini; A.M. Saadabi; Mohammed I. Alghonaim; Khalid Elfakki Ibrahim. An evaluation of the antimicrobial activity of *Commiphora myrrha* Nees (Engl.) oleo-gum resins from Saudi Arabia. *J. Med. Sci.* 2015, 15, 198–203, doi:10.3923/jms.2015.198.203.
51. Dolara, P.; Luceri, C.; Ghelardini, C.; Monserrat, C.; Aiolfi, S.; Luceri, F.; Lodovici, M.; Menichetti, S.; Romanelli, M.N. Analgesic effects of myrrh. *Nature* 1996, 379, 29, doi:10.1038/379029a0.
52. Germano, A.; Occhipinti, A.; Barbero, F.; Maffei, M.E. A pilot study on bioactive constituents and analgesic effects of MyrLiq®, a *Commiphora myrrha* extract with a high furanodiene content. *BioMed Res. Int.* 2017, doi:10.1155/2017/3804356.
53. Su, S.; Wang, T.; Duan, J.-A.; Zhou, W.; Hua, Y.-Q.; Tang, Y.-P.; Yu, L.; Qian, D.-W. Anti-inflammatory and analgesic activity of different extracts of *Commiphora myrrha*. *J. Ethnopharmacol.* 2011, 134, 251–258, doi:10.1016/j.jep.2010.12.003.
54. Boffa, L.; Binello, A.; Boscaro, V.; Gallicchio, M.; Amisano, G.; Fornasero, S.; Cravotto, G. *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. extracts: evaluation of antioxidant and antiproliferative activity and their ability to reduce microbial growth on fresh-cut salad. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2016, 51, 625–632, doi:10.1111/ijfs.13018.
55. Racine, P.; Auffray, B. Quenching of singlet molecular oxygen by *Commiphora myrrha* extracts and menthofuran. *Fitoterapia* 2005, 76, 316–323, doi:10.1016/j.fitote.2005.03.017.
56. Baghdadi, H.B.; Al-Mathal, E.M. Anti-coccidial effect of *Commiphora molmol* in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus domesticus* L.). *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 2010, 40, 653–668.
57. Fathy, F.M. Effect of mirazid (*Commiphora molmol*) on experimental giardiasis. *J. Egypt Soc. Parasitol.* 2011, 41, 155–177.
58. Montesino, L.N.; Marcel, K.; Reto, B.; Thomas, S. Search for antiprotozoal activity in herbal medicinal preparations; new natural leads against neglected tropical diseases. *Molecules* 2015, 20, 14118–14138, doi:10.3390/molecules200814118.
59. Ashry, K.M.; El-Sayed, Y.S.; Khamiss, R.M.; El-Ashmawy, I.M. Oxidative stress and immunotoxic effects of lead and their amelioration with myrrh (*Commiphora molmol*) emulsion. *Food Chem. Toxicol.* 2010, 48, 236–241, doi:10.1016/j.fct.2009.10.006.
60. Kim, M.-S.; Bae, G.-S.; Park, K.-C.; Koo, B.S.; Kim, B.-J.; Lee, H.-J.; Seo, S.-W.; Shin, Y.K.; Jung, W.-S.; Cho, J.-H.; et al. Myrrh inhibits LPS-induced inflammatory response and protects from cecal ligation and puncture-induced sepsis. *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.* 2012, 1–11, doi:10.1155/2012/278718.

61. al-Harbi, M.M.; Qureshi, S.; Raza, M.; Ahmed, M.M.; Afzal, M.; Shah, A.H. Gastric antiulcer and cytoprotective effect of *Commiphora molmol* in rats. *J. Ethnopharmacol.* **1997**, *55*, 141–150, doi:10.1016/S0378-8741(96)01488-2.
62. Haffor, A.-S.A. Effect of myrrh (*Commiphora molmol*) on leukocyte levels before and during healing from gastric ulcer or skin injury. *J. Immunotoxicol.* **2010**, *7*, 68–75, doi:10.3109/15476910903409835.
63. Shoemaker, M.; Hamilton, B.; Dairkee, S.H.; Cohen, I.; Campbell, M.J. *In vitro* anticancer activity of twelve Chinese medicinal herbs. *Phytother. Res.* **2005**, *19*, 649–651, doi:10.1002/ptr.1702.
64. Tipton, D.A.; Lyle, B.; Babich, H.; Dabbous, M. *In vitro* cytotoxic and anti-inflammatory effects of myrrh oil on human gingival fibroblasts and epithelial cells. *Toxicol. In Vitro* **2003**, *17*, 301–310, doi:10.1016/S0887-2333(03)00018-3.
65. al-Harbi, M.M.; Qureshi, S.; Raza, M.; Ahmed, M.M.; Giangreco, A.B.; Shah, A.H. Anticarcinogenic effect of *Commiphora molmol* on solid tumors induced by Ehrlich carcinoma cells in mice. *Cancer Chemother.* **1994**, *40*, 337–347, doi:10.1159/000239216.
66. Abdel-Aziz, M.M.; Abbas, A.T.; Elbakry, K.A.; Toson, E.A.; El-Sherbiny, M. Immune response on mice infected with *Schistosoma mansoni* and treated with myrrh. *J. of Medical Sciences* **2006**, *6*, 858–861, doi:10.3923/jms.2006.858.861.
67. Abdul-Ghani, R.A.; Loutfy, N.; Hassan, A. Myrrh and trematodoses in Egypt: an overview of safety, efficacy and effectiveness profiles. *Parasitol. Int.* **2009**, *58*, 210–214, doi:10.1016/j.parint.2009.04.006.
68. Soliman, O.E.; El-Arman, M.; Abdul-Samie, E.R.; El-Nemr, H.I.; Massoud, A. Evaluation of myrrh (Mirazid) therapy in fascioliasis and intestinal schistosomiasis in children: immunological and parasitological study. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* **2004**, *34*, 941–966.
69. Yakoot, M. A short review of the anthelmintic role of Mirazid. *Arq. Gastroenterol.* **2010**, *47*, 393–394, doi:10.1590/s0004-28032010000400014.
70. Elbakry, K.A.; Abdelaziz, M.M. Myrrh and artesunate modulate some Th1 and Th2 cytokines secretion in *Schistosoma mansoni* infected mice. *Cent. Eur. J. Immunol.* **2016**, *41*, 138–142, doi:10.5114/ceji.2016.60986.
71. Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V. Rote Liste: MYRRHINIL-INTEST® überzogene Tabletten. <https://www.rote-liste.de/suche/praepr/5094-0/MYRRHINIL-INTEST%C2%AE%20%20%C3%BCberzogene%20Tabletten%20> (accessed on 13 April 2021).
72. Kucharzik, T.; Dignaß, A.; Siegmund, B. Aktualisierung der Colitis ulcerosa Leitlinie 2020. *Z. Gastroenterol.* **2020**, *58*, 1209–1232, doi:10.1055/a-1296-3494.
73. Vissiennon, C.; Hammoud, D.; Rodewald, S.; Fester, K.; Goos, K.H.; Nieber, K.; Arnhold, J. Chamomile flower, myrrh, and coffee charcoal, components of a traditional herbal medicinal product, diminish proinflammatory activation in human macrophages. *Planta Med.* **2017**, *83*, 846–854, doi:10.1055/s-0043-104391.
74. Weber, L.; Kuck, K.; Jürgenliemk, G.; Heilmann, J.; Lipowicz, B.; Vissiennon, C. Anti-inflammatory and barrier-stabilising effects of myrrh, coffee charcoal and chamomile

- flower extract in a co-culture cell model of the intestinal mucosa. *Biomolecules* **2020**, *10*, doi:10.3390/biom10071033.
75. Atta, A.; Alkofahi, A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *J. Ethnopharmacol.* **1998**, *60*, 117–124, doi:10.1016/S0378-8741(97)00137-2.
76. Tariq, M.; Ageel, A.M.; Al-Yahya, M.A.; Mossa, J.S.; Al-Said, M.S.; Parmar, N.S. Anti-inflammatory activity of *Commiphora molmol*. *Agents Actions* **1986**, *17*, 381–382, doi:10.1007/BF01982655.
77. Shalaby, M.A.; Hammouda, A.A.-E. Analgesic, anti-inflammatory and anti-hyperlipidemic activities of *Commiphora molmol* extract (Myrrh). *J. Intercult. Ethnopharmacol.* **2014**, *3*, 56–62, doi:10.5455/jice.20140130015014.
78. Su, S.; Duan, J.; Chen, T.; Huang, X.; Shang, E.; Yu, L.; Wei, K.; Zhu, Y.; Guo, J.; Guo, S.; et al. Frankincense and myrrh suppress inflammation via regulation of the metabolic profiling and the MAPK signaling pathway. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 13668, doi:10.1038/srep13668.
79. Fatani, A.J.; Alrojayee, F.S.; Parmar, M.Y.; Abuohashish, H.M.; Ahmed, M.M.; Al-Rejaie, S.S. Myrrh attenuates oxidative and inflammatory processes in acetic acid-induced ulcerative colitis. *Exp. Ther. Med.* **2016**, *12*, 730–738, doi:10.3892/etm.2016.3398.
80. Langhorst, J.; Varnhagen, I.; Schneider, S.B.; Albrecht, U.; Rueffer, A.; Stange, R.; Michalsen, A.; Dobos, G.J. Randomised clinical trial: a herbal preparation of myrrh, chamomile and coffee charcoal compared with mesalazine in maintaining remission in ulcerative colitis - a double-blind, double-dummy study. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2013**, *38*, 490–500, doi:10.1111/apt.12397.
81. Vissiennon, C.; Goos, K.-H.; Goos, O.; Nieber, K. Antispasmodic effects of myrrh due to calcium antagonistic effects in inflamed rat small intestinal preparations. *Planta Med.* **2015**, *81*, 116–122, doi:10.1055/s-0034-1383391.
82. Sairenji, T.; Collins, K.L.; Evans, D.V. An update on inflammatory bowel disease. *Prim. Care* **2017**, *44*, 673–692, doi:10.1016/j.pop.2017.07.010.
83. Molodecky, N.A.; Soon, I.S.; Rabi, D.M.; Ghali, W.A.; Ferris, M.; Chernoff, G.; Benchimol, E.I.; Panaccione, R.; Ghosh, S.; Barkema, H.W.; et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* **2012**, *142*, 46–54, doi:10.1053/j.gastro.2011.10.001.
84. Jones, S.C.; Banks, R.E.; Haidar, A.; Gearing, A.J.; Hemingway, I.K.; Ibbotson, S.H.; Dixon, M.F.; Axon, A.T. Adhesion molecules in inflammatory bowel disease. *Gut* **1995**, *36*, 724–730.
85. Loktionov, A. Eosinophils in the gastrointestinal tract and their role in the pathogenesis of major colorectal disorders. *World J Gastroenterol.* **2019**, *25*, 3503–3526, doi:10.3748/wjg.v25.i27.3503.
86. Xavier, R.J.; Podolsky, D.K. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* **2007**, *448*, 427–434, doi:10.1038/nature06005.
87. Zhang, Y.-Z.; Li, Y.-Y. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 91–99, doi:10.3748/wjg.v20.i1.91.

88. Andoh, A.; Yagi, Y.; Shioya, M.; Nishida, A.; Tsujikawa, T.; Fujiyama, Y. Mucosal cytokine network in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* **2008**, *14*, 5154–5161, doi:10.3748/wjg.14.5154.
89. Forbes, E.; Hulett, M.; Ahrens, R.; Wagner, N.; Smart, V.; Matthaei, K.I.; Brandt, E.B.; La Dent; Rothenberg, M.E.; Tang, M.; et al. ICAM-1-dependent pathways regulate colonic eosinophilic inflammation. *J. Leukoc. Biol.* **2006**, *80*, 330–341, doi:10.1189/jlb.1105643.
90. Hogan, S.P. Functional role of eosinophils in gastrointestinal inflammation. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* **2009**, *29*, 129-xi, doi:10.1016/j.iac.2008.10.004.
91. Hosten, T.A.; Zhao, K.; Han, H.Q.; Liu, G.; He, X.H. Alicaforsen: an emerging therapeutic agent for ulcerative colitis and refractory pouchitis. *Gastroenterology Res.* **2014**, *7*, 51–55, doi:10.14740/gr599w.
92. European Medicines Agency. Entyvio. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/entyvio> (accessed on 19 April 2021).
93. Food and Drug Administration. Drug Trials Snapshot: Entyvio (vedolizumab) to Treat Crohn's Disease. <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/drug-trials-snapshot-entyvio-vedolizumab-treat-crohns-disease> (accessed on 19 April 2021).
94. Feagan, B.G.; Rutgeerts, P.; Sands, B.E.; Hanauer, S.; Colombel, J.-F.; Sandborn, W.J.; van Assche, G.; Axler, J.; Kim, H.-J.; Danese, S.; et al. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *369*, 699–710, doi:10.1056/NEJMoa1215734.
95. Simmons, D.; Makgoba, M.W.; Seed, B. ICAM, an adhesion ligand of LFA-1, is homologous to the neural cell adhesion molecule NCAM. *Nature* **1988**, *331*, 624–627, doi:10.1038/331624a0.
96. Lawson, C.; Wolf, S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacol. Rep.* **2009**, *61*, 22–32, doi:10.1016/S1734-1140(09)70004-0.
97. Roebuck, K.A.; Finnegan, A. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J. Leukoc. Biol.* **1999**, *66*, 876–888, doi:10.1002/jlb.66.6.876.
98. Ley, K.; Laudanna, C.; Cybulsky, M.I.; Nourshargh, S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat. Rev. Immunol.* **2007**, *7*, 678–689, doi:10.1038/nri2156.
99. Harjunpää, H.; Llort, A.M.; Guenther, C.; Fagerholm, S.C. Cell adhesion molecules and their roles and regulation in the immune and tumor microenvironment. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 1–24, doi:10.3389/fimmu.2019.01078.
100. Marston, A.; Borel, C.; Hostettmann, K. Separation of natural products by centrifugal partition chromatography. *J. Chromatogr. A* **1988**, *450*, 91–99, doi:10.1016/S0021-9673(00)90718-0.
101. Vissienon, C.; Hammoud, D.; Goos, K.-H.; Nieber, K.; Arnhold, J. Synergistic interactions of chamomile flower, myrrh and coffee charcoal in inhibiting pro-inflammatory chemokine release from activated human macrophages. *Planta Med.* **2017**, *4*, 13–18, doi:10.1016/j.synres.2017.03.001.

102. Gottlieb, H.E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512–7515, doi:10.1021/jo971176v.
103. Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. 102 Tabellen*, 7., überarb. Aufl.; Thieme: Stuttgart, **2005**, ISBN 9783131935977.
104. Stahl, E.; Datta, S.N. Neue sesquiterpenoide Inhaltsstoffe der Gundelrebe (*Glechoma hederacea* L.). *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1972**, *757*, 23–32, doi:10.1002/jlac.19727570105.
105. Qu, Y.; Xu, F.; Nakamura, S.; Matsuda, H.; Pongpiriyadacha, Y.; Wu, L.; Yoshikawa, M. Sesquiterpenes from *Curcuma comosa*. *J. Nat. Med.* **2009**, *63*, 102–104, doi:10.1007/s11418-008-0282-8.
106. Chaturvedula, V.S.P.; Schilling, J.K.; Miller, J.S.; Andriantsiferana, R.; Rasamison, V.E.; Kingston, D.G.I. New cytotoxic terpenoids from the wood of *Vepis punctata* from the Madagascar rainforest. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 895–898, doi:10.1021/np0303512.
107. Shen, T.; Wan, W.-Z.; Wang, X.-N.; Sun, L.-M.; Yuan, H.-Q.; Wang, X.-L.; Ji, M.; Lou, H.-X. Sesquiterpenoids from the resinous exudates of *Commiphora opobalsamum* (Burseraceae). *Helv. Chim. Acta* **2008**, *91*, 881–887, doi:10.1002/hlca.200890092.
108. Brieskorn, C.H.; Noble, P. Drei neue Furanogermacrene aus Myrrhe. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1511–1514, doi:10.1016/S0040-4039(00)92760-6.
109. Cavanagh, I.S.; Cole, M.D.; Gibbons, S.; Gray, A.I.; Provan, G.J.; Waterman, P.G. A novel sesquiterpene, 1,2-epoxyfurano-10(15)-germacren-6-one, from the resin of *Commiphora holtziana* Engl. *Flavour Fragr. J.* **1993**, *8*, 39–41, doi:10.1002/ffj.2730080108.
110. Shen, T.; Wan, W.; Yuan, H.; Kong, F.; Guo, H.; Fan, P.; Lou, H. Secondary metabolites from *Commiphora opobalsamum* and their antiproliferative effect on human prostate cancer cells. *Phytochem.* **2007**, *68*, doi:10.1016/j.phytochem.2007.01.013.
111. Zhao, N.; Yang, G.-C.; Li, D.-H.; Li, X.-Y.; Li, Z.-L.; Bai, J.; Liu, X.-Q.; Hua, H.-M. Two new sesquiterpenes from myrrh. *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*, 1332–1336, doi:10.1002/hlca.201500094.
112. Zhu, N.; Kikuzaki, H.; Sheng, S.; Sang, S.; Rafi, M.M.; Wang, M.; Nakatani, N.; DiPaola, R.S.; Rosen, R.T.; Ho, C.T. Furanoesquiterpenoids of *Commiphora myrrha*. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1460–1462, doi:10.1021/np010072j.
113. Lange, G.L.; Lee, M. ^{13}C NMR determination of the configuration of methyl-substituted double bonds in medium- and large-ring terpenoids. *Magn. Reson. Chem.* **1986**, *24*, 656–658, doi:10.1002/mrc.1260240804.
114. Ulubelen, A.; Gören, N.; Jakupovic, J. Germacrane derivatives from the fruits of *Smyrnium creticum*. *Phytochem.* **1986**, *26*, 312–313, doi:10.1016/S0031-9422(00)81535-6.
115. Gao, J.-F.; Xie, J.-H.; Iitaka, Y.; Inayama, S. The stereostructure of wenjine and related (1S,10S),(4S,5S)-germacrone-1(10),4-diepoxide isolated from *Curcuma wenyujin*. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 233–236, doi:10.1248/cpb.37.233.
116. Takeda, K.; Horibe, I.; Minato, H. Components of the root of *Lindera strychnifolia* Vill. Part XIV. Sesquiterpene lactones from the root of *Lindera strychnifolia* Vill. *J. Chem. Soc.* **1968**, 569–572, doi:10.1039/j39680000569.

117. Endo, K.; Taguchi, T.; Taguchi, F.; Hikino, H.; Yamahara, J.; Fujimura, H. Antiinflammatory principles of *Atractylodes* rhizomes. *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, *27*, 2954–2958, doi:10.1248/cpb.27.2954.
118. Dong, L.; Luo, Q.; Cheng, L.-Z.; Yan, Y.-M.; Cheng, Y.-X.; Wang, S.-M. New terpenoids from *Resina Commiphora*. *Fitoterapia* **2017**, *117*, 147–153, doi:10.1016/j.fitote.2017.01.013.
119. Wu, B.; He, S.; Wu, X.-D.; Pan, Y.-J. New tyrosinase inhibitory sesquiterpenes from *Chloranthus henryi*. *Chem. Biodivers.* **2008**, *5*, 1298–1303, doi:10.1002/cbdv.200890116.
120. Qiu, G.; Yan, P.; Shao, W.; Zhou, J.; Lin, W.; Fang, L.; Zhao, X.; Dong, J. Two new sesquiterpenoids including a sesquiterpenoid lactam from *Curcuma wenyujin*. *Chem. Pharm. Bull.* **2013**, *61*, 983–986, doi:10.1248/cpb.c13-00405.
121. Wu, S.-L.; Li, W.-S. Chemical Constituents from the Roots of *Neolitsea hiiranensis*. *J. Chin. Chem. Soc.* **1995**, *42*, 555–560, doi:10.1002/jccs.199500073.
122. Wu, B.; He, S.; Wu, X.-D.; Wu, D.-K.; Pan, Y.-J. Cadinane and eudesmane sesquiterpenoids from *Chloranthus henryi*. *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1586–1592, doi:10.1002/hlca.200790166.
123. Pascual-T, J. de; Bellido, I.S.; González, M.S. Chenopodiaceae components: polyoxygenated sesquiterpenes from *Chenopodium botrys*. *Tetrahedron* **1980**, *36*, 371–376, doi:10.1016/0040-4020(80)87004-9.
124. Ahmed, A.A.; Gáti, T.; Hussein, T.A.; Ali, A.T.; Tzakou, O.A.; Couladis, M.A.; Mabry, T.J.; Tóth, G. Ligustolide A and B, two novel sesquiterpenes with rare skeletons and three 1,10-seco-guaianolide derivatives from *Achillea ligustica*. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 3729–3735, doi:10.1016/S0040-4020(03)00572-6.
125. Rustaiyan, A.; Zare, K.; Biniyaz, T.; Fazlalizadeh, G. A seco-guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Postia bombycina*. *Phytochem.* **1989**, *28*, 3127–3129, doi:10.1016/0031-9422(89)80291-2.
126. Bohlmann, F.; Zdero, C. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium*. *Phytochem.* **1982**, *21*, 2543–2549, doi:10.1016/0031-9422(82)85253-9.
127. Liu, L.; Dai, W.; Xiang, C.; Chi, J.; Zhang, M. 1,10-Secoguaianolides from *Artemisia austro-yunnanensis* and their anti-inflammatory effects. *Molecules* **2018**, *23*, doi:10.3390/molecules23071639.
128. Huneck, S.; Zdero, C.; Bohlmann, F. Seco-guaianolides and other constituents from *Artemisia* species. *Phytochem.* **1986**, *25*, 883–889, doi:10.1016/0031-9422(86)80021-8.
129. Pereira, M.D.P.; da Silva, T.; Lopes, L.M.X.; Krettli, A.U.; Madureira, L.S.; Zukerman-Schpector, J. 4,5-seco-guaiane and a nine-membered sesquiterpene lactone from *Holostylis reniformis*. *Molecules* **2012**, *17*, 14046–14057, doi:10.3390/molecules171214046.
130. Zhou, Q.-M.; Chen, M.-H.; Li, X.-H.; Peng, C.; Lin, D.-S.; Li, X.-N.; He, Y.; Xiong, L. Absolute configurations and bioactivities of guaiane-type sesquiterpenoids isolated from *Pogostemon cablin*. *J. Nat. Prod.* **2018**, *81*, 1919–1927, doi:10.1021/acs.jnatprod.7b00690.

131. Xu, Y.-J.; Tang, C.-P.; Tan, M.-J.; Ke, C.-Q.; Wu, T.; Ye, Y. Sesquiterpenoids and diterpenoids from *Chloranthus anhuiensis*. *Chem. Biodivers.* **2010**, *7*, 151–157, doi:10.1002/cbdv.200800300.
132. Shen, T.; Yuan, H.-Q.; Wan, W.-Z.; Wang, X.-L.; Wang, X.-N.; Ji, M.; Lou, H.-X. Cycloartane-type triterpenoids from the resinous exudates of *Commiphora opobalsamum*. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 81–86, doi:10.1021/np070442p.
133. Yang, J.-L.; Shi, Y.-P. Cycloartane-type triterpenoids and sesquiterpenoids from the resinous exudates of *Commiphora opobalsamum*. *Phytochem.* **2012**, *76*, 124–132, doi:10.1016/j.phytochem.2012.01.004.
134. Gao, W.; Su, X.; Dong, X.; Chen, Y.; Zhou, C.; Xin, P.; Yu, C.; Wei, T. Cycloartan-24-ene- $1\alpha,2\alpha,3\beta$ -triol, a cycloartane-type triterpenoid from the resinous exudates of *Commiphora myrrha*, induces apoptosis in human prostatic cancer PC-3 cells. *Oncol. Rep.* **2015**, *33*, 1107–1114, doi:10.3892/or.2015.3725.
135. Provan, G.J.; Waterman, P.G. Major triterpenes from the resins of *Commiphora incisa* and *C. kua* and their potential chemotaxonomic significance. *Phytochem.* **1988**, *27*, 3841–3843, doi:10.1016/0031-9422(88)83028-0.
136. Baser, K.H.C.; Demirci, B.; Dekebo, A.; Dagne, E. Essential oils of some *Boswellia* spp., myrrh and opopanax. *Flavour Fragr. J.* **2003**, *18*, 153–156, doi:10.1002/ffj.1166.
137. Francis, J.A.; Raja, S.N.; Nair, M.G. Bioactive terpenoids and guggulsteroids from *Commiphora mukul* gum resin of potential anti-inflammatory interest. *Chem. Biodivers.* **2004**, *1*, 1842–1853, doi:10.1002/cbdv.200490138.
138. Waterman, P.G.; Ampofo, S. Dammarane triterpenes from the stem bark of *Commiphora dalzielii*. *Phytochem.* **1985**, *24*, 2925–2928, doi:10.1016/0031-9422(85)80029-7.
139. Mills, J.S.; Werner, A.E.A. The chemistry of dammar resin. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3132, doi:10.1039/jr9550003132.
140. Asakawa, J.; Kasai, R.; Yamasaki, K.; Tanaka, O. ^{13}C NMR Study of ginseng sapogenins and their related dammarane type triterpenes. *Tetrahedron* **1977**, *33*, 1935–1939, doi:10.1016/0040-4020(77)80379-7.
141. Bohlmann, F.; Ates, N.; Grenz, M. New germacranolides from *Inula heterolepis*. *Phytochem.* **1982**, *21*, 1166–1168, doi:10.1016/S0031-9422(00)82444-9.
142. Bruno, M.; Díaz, J.G.; Herz, W. Germacranolides from *Anthemis cupaniana*. *Phytochem.* **1991**, *30*, 3458–3460, doi:10.1016/0031-9422(91)83229-E.
143. Mata, R.; Delgado, G.; Vivar, A.R. de. Sesquiterpene lactones of *Artemisia klotzchiana*. *Phytochem.* **1985**, *24*, 1515–1519, doi:10.1016/S0031-9422(00)81057-2.
144. Sanz, J.F.; Barbera, O.; Marco, J. Sesquiterpene lactones from *Artemisia hispanica*. *Phytochem.* **1989**, *28*, 2163–2167, doi:10.1016/S0031-9422(00)97936-6.
145. Souček, M.; Herout, V.; Šorm, F. On terpenes. CXVIII. Constitution of parthenolide. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1961**, *26*, 803–810, doi:10.1135/cccc19610803.
146. Freund, R.R.A.; Gobrecht, P.; Fischer, D.; Arndt, H.-D. Advances in chemistry and bioactivity of parthenolide. *Nat. Prod. Rep.* **2020**, *37*, 541–565, doi:10.1039/c9np00049f.

147. *Sesquiterpene lactones. Advances in their chemistry and biological aspects*; Sülsen, V.P.; Martino, V.S., Eds.; Springer: Cham, **2018**, ISBN 3319782738.
148. Zhang, C.; Lu, T.; Wang, G.-D.; Ma, C.; Zhou, Y.-F. Costunolide, an active sesquiterpene lactone, induced apoptosis via ROS-mediated ER stress and JNK pathway in human U2OS cells. *Biomed. Pharmacother.* **2016**, *80*, 253–259, doi:10.1016/j.biopha.2016.03.031.
149. Merfort, I. Perspectives on sesquiterpene lactones in inflammation and cancer. *Curr. Drug Targets* **2011**, *12*, 1560–1573, doi:10.2174/138945011798109437.
150. Ríos, J.L.; Recio, M.C.; Escandell, J.M.; Andújar, I. Inhibition of transcription factors by plant-derived compounds and their implications in inflammation and cancer. *Curr. Pharm. Des.* **2009**, *15*, 1212–1237, doi:10.2174/138161209787846874.
151. Tamura, R.; Chen, Y.; Shinozaki, M.; Arao, K.; Wang, L.; Tang, W.; Hirano, S.; Ogura, H.; Mitsui, T.; Taketani, S.; et al. Eudesmane-type sesquiterpene lactones inhibit multiple steps in the NF-κB signaling pathway induced by inflammatory cytokines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 207–211, doi:10.1016/j.bmcl.2011.11.029.
152. Tashkhodzhaev, B.; Abduazimov, B.K. Stereochemistry of sesquiterpenes of the germacrane type. *Chem. Nat. Compd.* **1997**, *33*, 382–388, doi:10.1007/BF02282357.
153. Minnaard, A.J. *Germacrane sesquiterpenes. Synthesis and role in biosynthesis*; Dissertation: Wageningen, Landbouwuniv., **1997**, ISBN 9054856688.
154. Marshall, J.A.; Audia, J.E.; Grote, J.; Shearer, B.G. Diels-alder cyclization of 2,8,10-undecatrienals as a route to 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalenes. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 2893–2902, doi:10.1016/S0040-4020(01)90578-2.
155. Wu, Q.-X.; Shi, Y.-P.; Jia, Z.-J. Eudesmane sesquiterpenoids from the Asteraceae family. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 699–734, doi:10.1039/b606168k.
156. al-Harbi, M.M.; Qureshi, S.; Ahmed, M.M.; Raza, M.; Miana, G.A.; Shah, A.H. Studies on the antiinflammatory, antipyretic and analgesic activities of santonin. *Jpn. J. Pharmacol.* **1994**, *64*, 135–139, doi:10.1254/jjp.64.135.
157. Yang, D.-Z.; Du, L.-D.; Lu, Y. Santonin. In *Natural Small Molecule Drugs from Plants*; Du, G.-H., Ed.; Springer Singapore: Singapore, **2018**; pp 619–624, ISBN 978-981-10-8021-0.
158. *Arzneibuch-Kommentar. Wissenschaftliche Erläuterungen zum Europäischen Arzneibuch und zum Deutschen Arzneibuch*. Band 6, Monographien I-M; Böhme, H.; Hartke, K.; Bracher, F., Eds.; Wiss. Verl.-Ges: Stuttgart, **2004**, ISBN 3804718760.
159. Takeda, K. Stereospecific cope rearrangement of the germacrene-type sesquiterpenes. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 1525–1534, doi:10.1016/S0040-4020(01)90674-X.
160. Setzer, W.N. Ab initio analysis of the Cope rearrangement of germacrane sesquiterpenoids. *J. Mol. Model.* **2008**, *14*, doi:10.1007/s00894-008-0274-3.
161. Breitmaier, E. *Terpene. Aromen, Dufte, Pharmaka, Pheromone*; Wiley-VCH: Hoboken, **2008**, ISBN 9783527314980.
162. Celedon, J.M.; Bohlmann, J. Oleoresin defenses in conifers: chemical diversity, terpene synthases and limitations of oleoresin defense under climate change. *New Phytol.* **2019**, *224*, 1444–1463, doi:10.1111/nph.15984.

163. Otto, A.; Wilde, V. Sesqui-, di-, and triterpenoids as chemosystematic markers in extant conifers—A review. *Bot. Rev.* **2001**, *67*, 141–238, doi:10.1007/bf02858076.
164. Barrero, A.F.; Sánchez, J.F.; Oltra, J.E.; Altarejos, J.; Ferrol, N.; Barragán, A. Oxygenated sesquiterpenes from the wood of *Juniperus oxycedrus*. *Phytochem.* **1991**, *30*, 1551–1554, doi:10.1016/0031-9422(91)84207-9.
165. Tsitsimpikou, C.; Petrakis, P.V.; Ortiz, A.; Harvala, C.; Roussis, V. Volatile needle terpenoids of six *Pinus* species. *J. Essent. Oil Res.* **2001**, *13*, 174–178, doi:10.1080/10412905.2001.9699652.
166. Adekenov, S.M.; Mukhametzhanov, M.N.; Kagarlitskii, A.D.; Kupriyanov, A.N. Argabin, a new sesquiterpene lactone from *Artemisia glabella*. *Chem. Nat. Compd* **1983**, 623–624.
167. Lone, S.H.; Bhat, K.A.; Khuroo, M.A. Argabin: From isolation to antitumor evaluation. *Chem.-Biol. Interact.* **2015**, *240*, 180–198, doi:10.1016/j.cbi.2015.08.015.
168. Adekenov, S.M. Pharmaceutical compositions of argabin and argabin derivatives, Google Patents 2004.
169. Mahalingam, D.; Peguero, J.; Cen, P.; Arora, S.P.; Sarantopoulos, J.; Rowe, J.; Allgood, V.; Tubb, B.; Campos, L. A Phase II, multicenter, single-arm study of mipsagargin (G-202) as a second-line therapy following sorafenib for adult patients with progressive advanced hepatocellular carcinoma. *Cancers (Basel)* **2019**, *11*, doi:10.3390/cancers11060833.
170. Rasmussen, U.; Brøgger Christensen, S.; Sandberg, F. Thapsigargine and thapsigargin, two new histamine liberators from *Thapsia garganica* L. *Acta Pharm. Suec.* **1978**, *15*, 133–140.
171. Al-Beltagi, S.; Preda, C.A.; Goulding, L.V.; James, J.; Pu, J.; Skinner, P.; Jiang, Z.; Wang, B.L.; Yang, J.; Banyard, A.C.; et al. Thapsigargin is a broad-spectrum inhibitor of major human respiratory viruses: coronavirus, respiratory syncytial virus and influenza A virus. *Viruses* **2021**, *13*, doi:10.3390/v13020234.
172. Ge, C.-Y.; Zhang, J.-L. Bioactive sesquiterpenoids and steroids from the resinous exudates of *Commiphora myrrha*. *Nat. Prod. Res.* **2019**, *33*, 309–315, doi:10.1080/14786419.2018.1448811.
173. Hashim EL-Kamali, H. Determination of volatile compounds from *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. resin marketed in central Sudan by GC/MS. *AJBIO* **2015**, *3*, 117, doi:10.11648/j.ajbio.20150304.11.
174. Xu, J.J.; Tan, N.H.; Xiong, J.; Adebayo, A.H.; Han, H.J.; Zeng, G.Z.; Ji, C.J.; Zhang, Y.M.; Zhu, M.J. Oxyphyllones A and B, novel sesquiterpenes with an unusual 4,5-secoeudesmane skeleton from *Alpinia oxyphylla*. *Chin. Chem. Lett.* **2009**, *20*, 945–948, doi:10.1016/j.cclet.2009.03.029.
175. Dong, J.-Y.; Ma, X.-Y.; Cai, X.-Q.; Yan, P.-C.; Yue, L.; Lin, C.; Shao, W.-W. Sesquiterpenoids from *Curcuma wenyujin* with anti-influenza viral activities. *Phytochemistry* **2013**, *85*, 122–128, doi:10.1016/j.phytochem.2012.09.008.
176. Ahmed, F.; Ali, M.; Singh, O. New compounds from *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. *Pharmazie* **2006**, *61*, doi:10.1002/chin.200652186.

177. Schaller, H. Sterol and steroid biosynthesis and metabolism in plants and microorganisms. In *Comprehensive natural products II: Chemistry and biology*; Mander, L., Ed.; Elsevier: Amsterdam, **2010**; pp 755–787, ISBN 9780080453828.
178. Sawai, S.; Akashi, T.; Sakurai, N.; Suzuki, H.; Shibata, D.; Ayabe, S.-I.; Aoki, T. Plant lanosterol synthase: divergence of the sterol and triterpene biosynthetic pathways in eukaryotes. *Plant Cell Physiol.* **2006**, *47*, 673–677, doi:10.1093/pcp/pcj032.
179. Darnet, S.; Schaller, H. Metabolism and biological activities of 4-methyl-sterols. *Molecules* **2019**, *24*, doi:10.3390/molecules24030451.
180. Behrman, E.J.; Gopalan, V. Cholesterol and plants. *J. Chem. Educ.* **2005**, *82*, 1791, doi:10.1021/ed082p1791.
181. Rees, H.H.; Goad, L.J.; Goodwin, T.W. Isolation of a new sterol from potato leaves. *Phytochemistry* **1968**, *7*, 1875–1877, doi:10.1016/S0031-9422(00)86663-7.
182. Ades, E.W.; Candal, F.J.; Swerlick, R.A.; George, V.G.; Summers, S.; Bosse, D.C.; Lawley, T.J. HMEC-1: establishment of an immortalized human microvascular endothelial cell line. *J. Invest. Dermatol.* **1992**, *99*, 683–690, doi:10.1111/1523-1747.ep12613748.
183. Schmitz, S. *Der Experimentator: Zellkultur*, 4. Auflage 2020; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2020**, ISBN 9783662589519.
184. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63, doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4.
185. Freischmidt, A.; Jürgenliemk, G.; Kraus, B.; Okpanyi, S.N.; Müller, J.; Kelber, O.; Weiser, D.; Heilmann, J. Contribution of flavonoids and catechol to the reduction of ICAM-1 expression in endothelial cells by a standardised willow bark extract. *Phytomedicine* **2012**, *19*, 245–252, doi:10.1016/j.phymed.2011.08.065.
186. Weller, M.G. A unifying review of bioassay-guided fractionation, effect-directed analysis and related techniques. *Sensors* **2012**, *12*, 9181–9209, doi:10.3390/s120709181.
187. Commoner, B.; Vithayathil, A.J.; Henry, J.I. Detection of metabolic carcinogen intermediates in urine of carcinogen-fed rats by means of bacterial mutagenesis. *Nature* **1974**, *249*, 850–852, doi:10.1038/249850a0.
188. Durston, W.E.; Ames, B.N. A simple method for the detection of mutagens in urine: studies with the carcinogen 2-cetylaminofluorene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, *71*, 737–741.
189. Ames, B.N.; McCann, J.; Yamasaki, E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.* **1975**, *31*, 347–363, doi:10.1016/0165-1161(75)90046-1.
190. McCann, J.; Choi, E.; Yamasaki, E.; Ames, B.N. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1975**, *72*, 5135–5139, doi:10.1073/pnas.72.12.5135.
191. Danz, H.; Stoyanova, S.; Wippich, P.; Brattström, A.; Hamburger, M. Identification and isolation of the cyclooxygenase-2 inhibitory principle in *Isatis tinctoria*. *Planta Med.* **2001**, *67*, 411–416, doi:10.1055/s-2001-15805.

192. Fitch, R.W.; Garraffo, H.M.; Spande, T.F.; Yeh, H.J.C.; Daly, J.W. Bioassay-guided isolation of epiquinamide, a novel quinolizidine alkaloid and nicotinic agonist from an Ecuadoran poison frog, *Epipedobates tricolor*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1345–1350, doi:10.1021/np030306u.
193. Potterat, O.; Hamburger, M. Natural products in drug discovery - concepts and approaches for tracking bioactivity. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 899–920, doi:10.2174/138527206776894401.
194. Williamson, E.M. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine* **2001**, *8*, 401–409, doi:10.1078/0944-7113-00060.
195. Meselhy, M. Inhibition of LPS-induced NO production by the oleogum resin of *Commiphora wightii* and its constituents. *Phytochem.* **2003**, *62*, 213–218, doi:10.1016/S0031-9422(02)00388-6.
196. Karakaş, D.; Ari, F.; Ulukaya, E. The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. *Turk. J. Biol.* **2017**, *41*, 919–925, doi:10.3906/biy-1703-104.
197. Chudzik, M.; Korzonek-Szlacheta, I.; Król, W. Triterpenes as potentially cytotoxic compounds. *Molecules* **2015**, *20*, 1610–1625, doi:10.3390/molecules20011610.
198. Amslinger, S. The tunable functionality of alpha, beta-unsaturated carbonyl compounds enables their differential application in biological systems. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 351–356, doi:10.1002/cmdc.200900499.
199. Schmidt, T.J. Structure-activity relationships of sesquiterpene lactones **2006**, Vol. 33, 309–392, doi:10.1016/S1572-5995(06)80030-X.
200. Brecknell, D.J.; Carman, R.M. Novel sesquiterpene lactones from *Callitris columellaris* Heartwood. *Aust. J. Chem.* **1979**, *32*, 2455, doi:10.1071/CH9792455.
201. Liu, Q.; Ahn, J.H.; Kim, S.B.; Lee, C.; Hwang, B.Y.; Lee, M.K. Sesquiterpene lactones from the roots of *Lindera strychnifolia*. *Phytochem.* **2013**, *87*, 112–118, doi:10.1016/j.phytochem.2012.11.004.
202. Shin, E.; Lee, C.; Sung, S.H.; Kim, Y.C.; Hwang, B.Y.; Lee, M.K. Antifibrotic activity of coumarins from *Cnidium monnieri* fruits in HSC-T6 hepatic stellate cells. *J. Nat. Med.* **2011**, *65*, 370–374, doi:10.1007/s11418-010-0485-7.
203. Brieskorn, C.H.; Noble, P. Two furanoeudesmanes from the essential oil of myrrh. *Phytochem.* **1983**, *22*, 187–189, doi:10.1016/S0031-9422(00)80085-0.
204. Dolara, P.; Moneti, G.; Pieraccini, G.; Romanelli, N. Characterization of the action on central opioid receptors of furaneudesma-1,3-diene, a sesquiterpene extracted from myrrh. *Phytother. Res.* **1996**, *1996*, 81–83.
205. Saeed, M.A.; Sabir, A.W. Antibacterial activities of some constituents from oleo-gum-resin of *Commiphora mukul*. *Fitoterapia* **2004**, *75*, 204–208, doi:10.1016/j.fitote.2003.12.003.
206. Saeed, M.A.; Sabir, A.W. Irritant potential of some constituents from oleo-gum-resin of *Commiphora myrrha*. *Fitoterapia* **2004**, *75*, 81–84, doi:10.1016/j.fitote.2003.08.010.

8. ANHANG

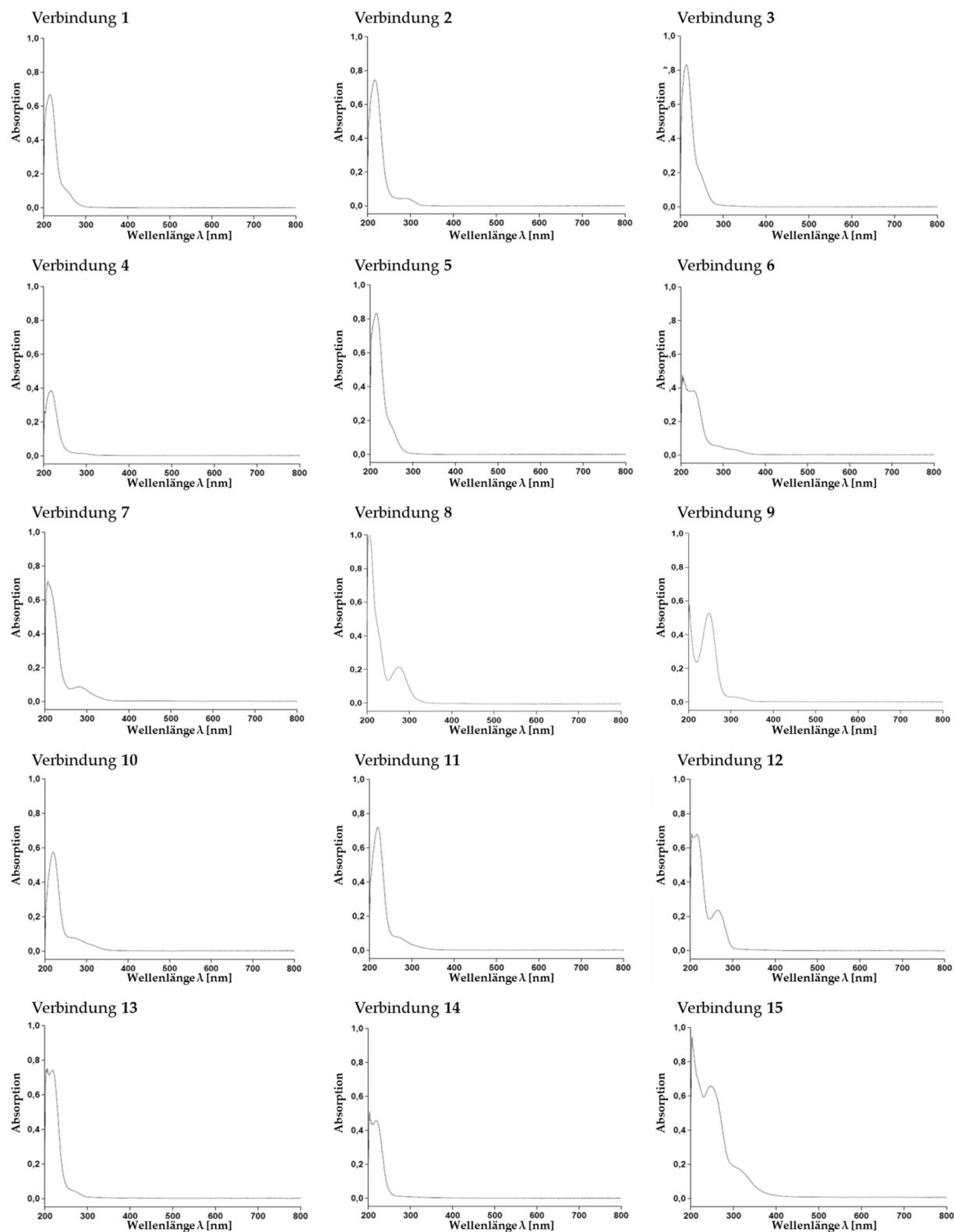
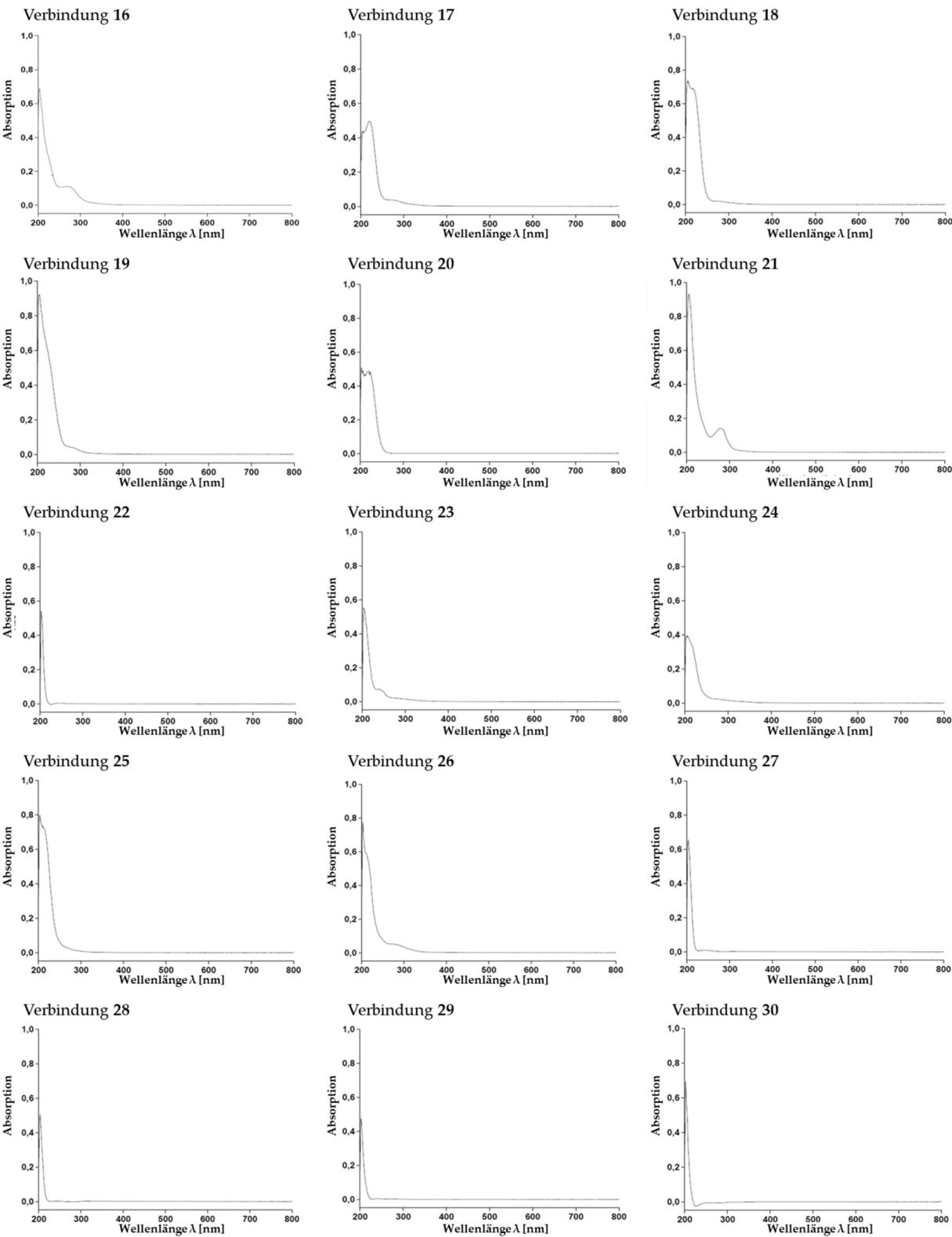
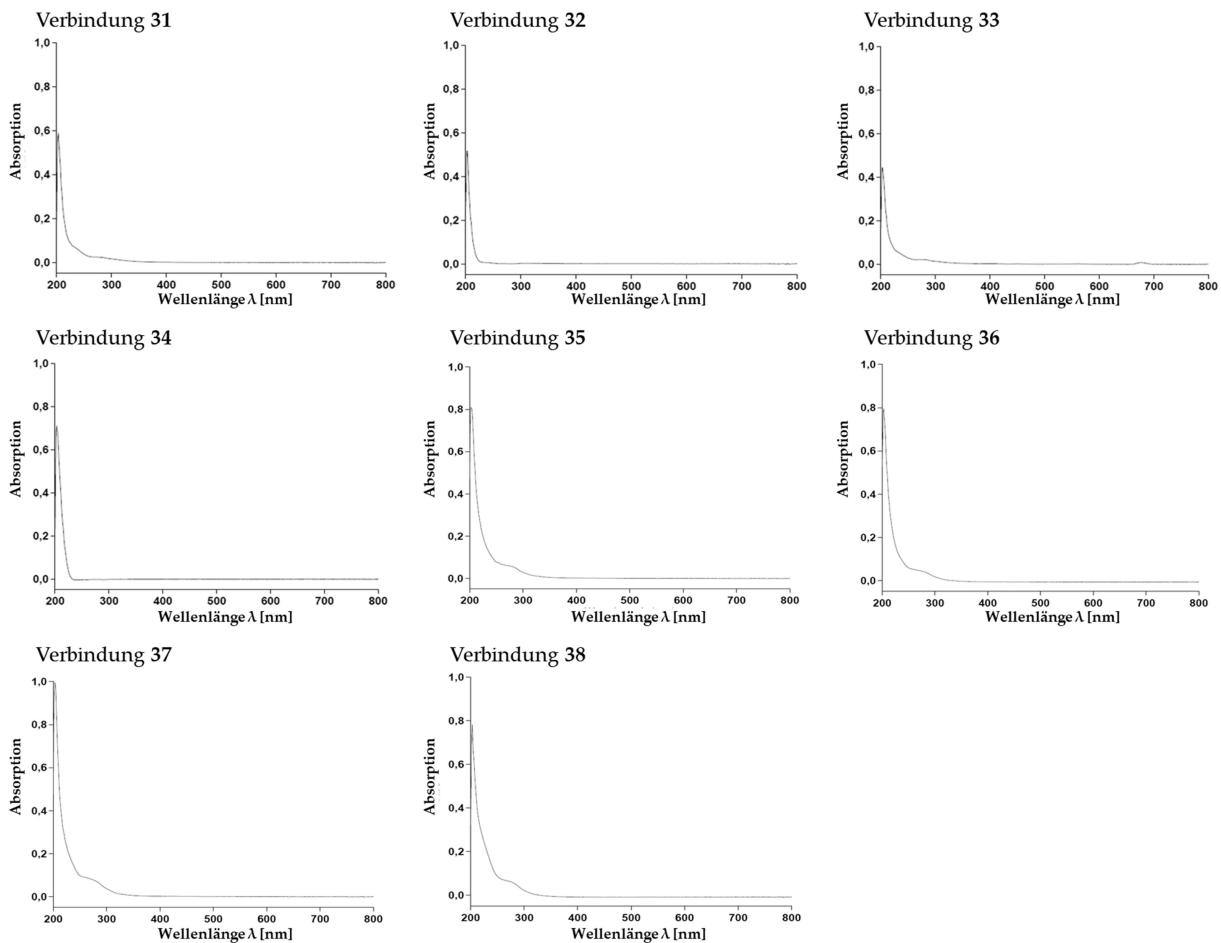


Abbildung 152. UV-Spektren aller isolierten Verbindungen.



Fortsetzung Abbildung 152



Fortsetzung Abbildung 152

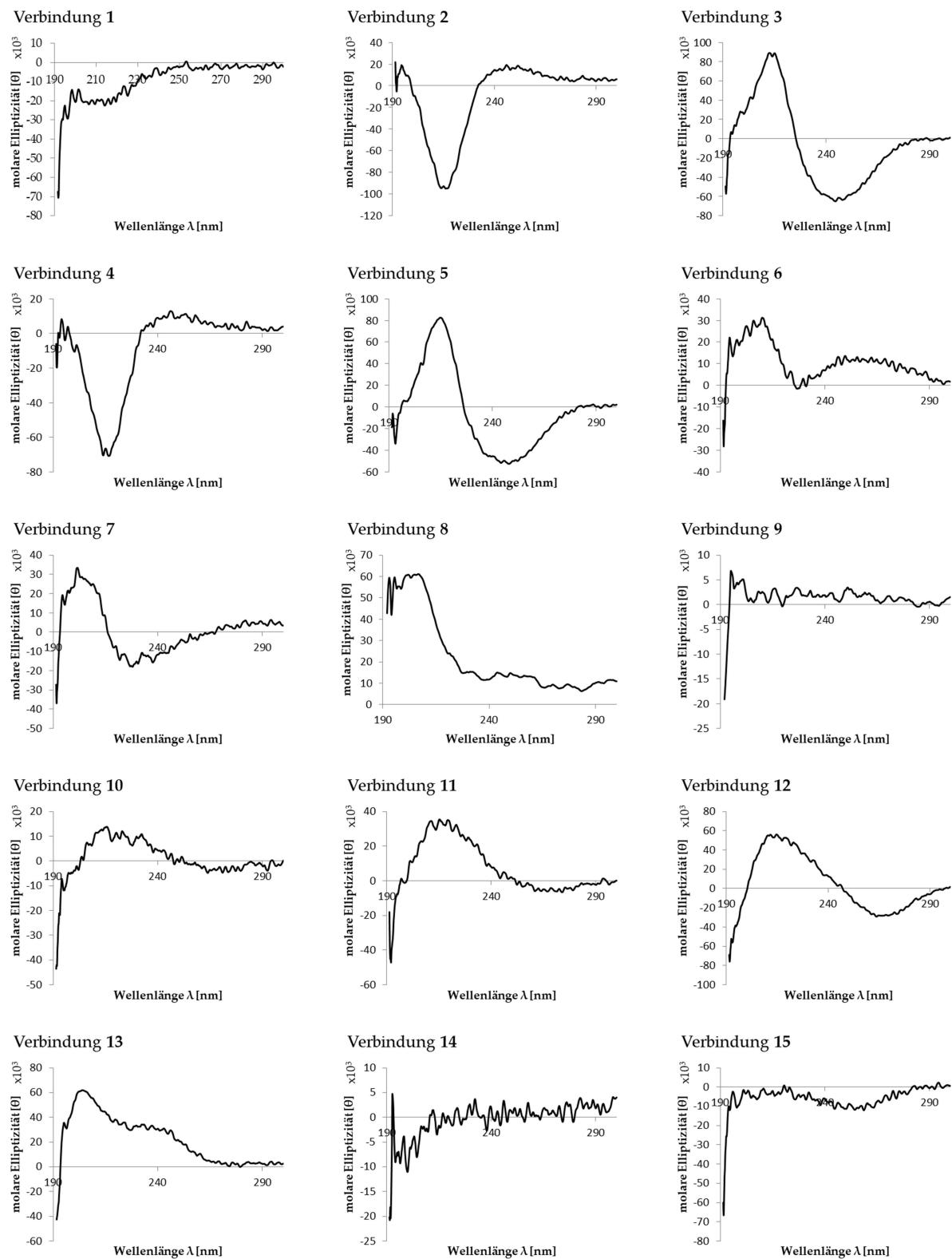
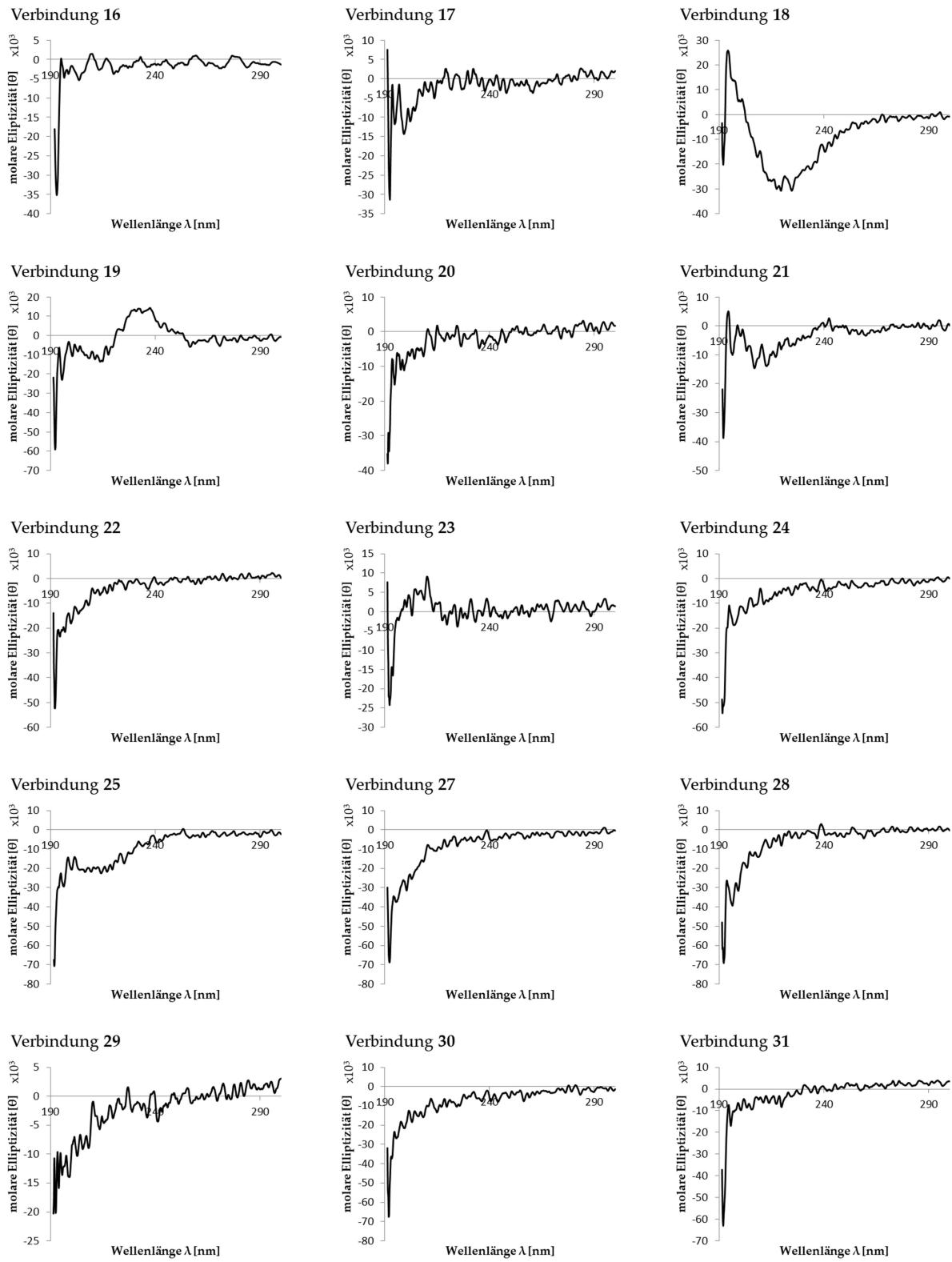
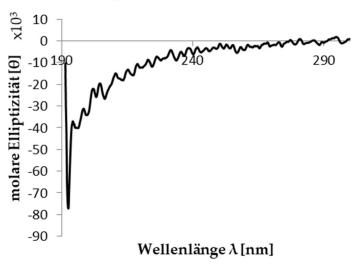


Abbildung 153. CD-Spektren aller isolierten Verbindungen (26 fehlt, da kein Stereozentrum vorhanden).

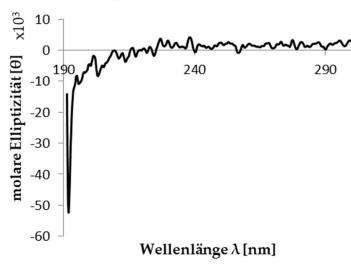


Fortsetzung Abbildung 153

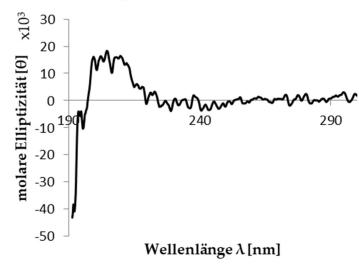
Verbindung 32



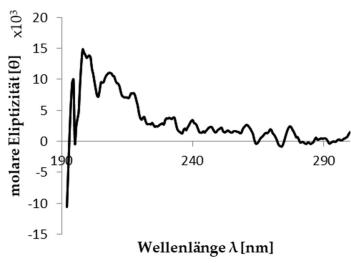
Verbindung 33



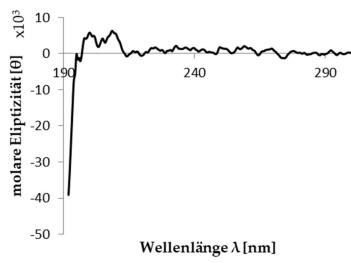
Verbindung 34



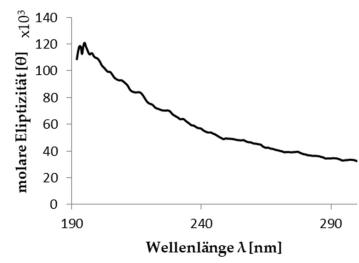
Verbindung 35



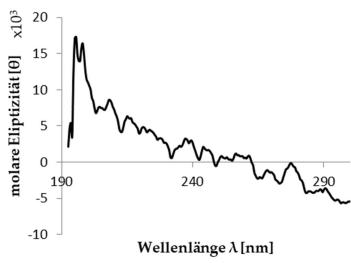
Verbindung 36



Verbindung 37



Verbindung 38



Fortsetzung Abbildung 153

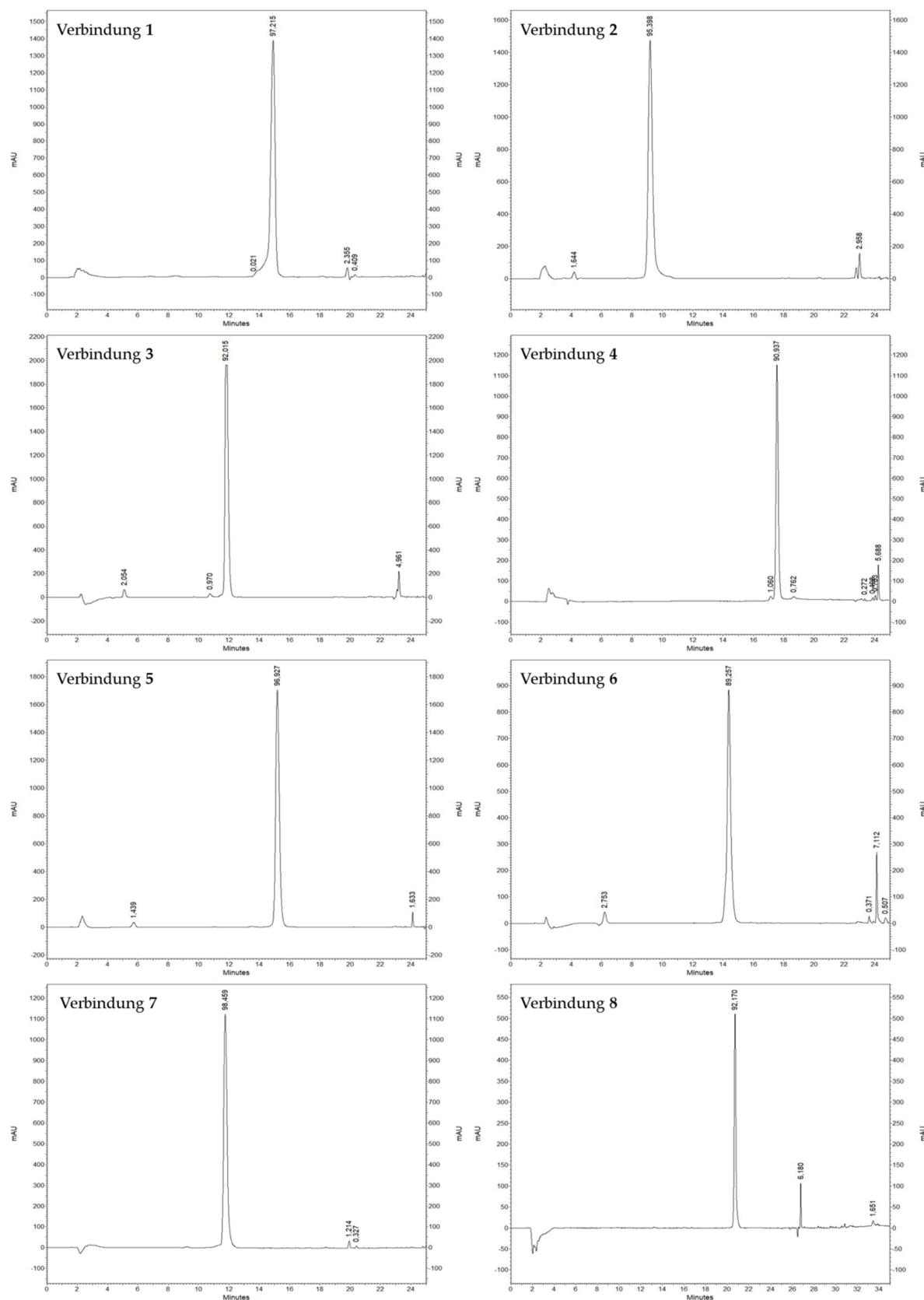
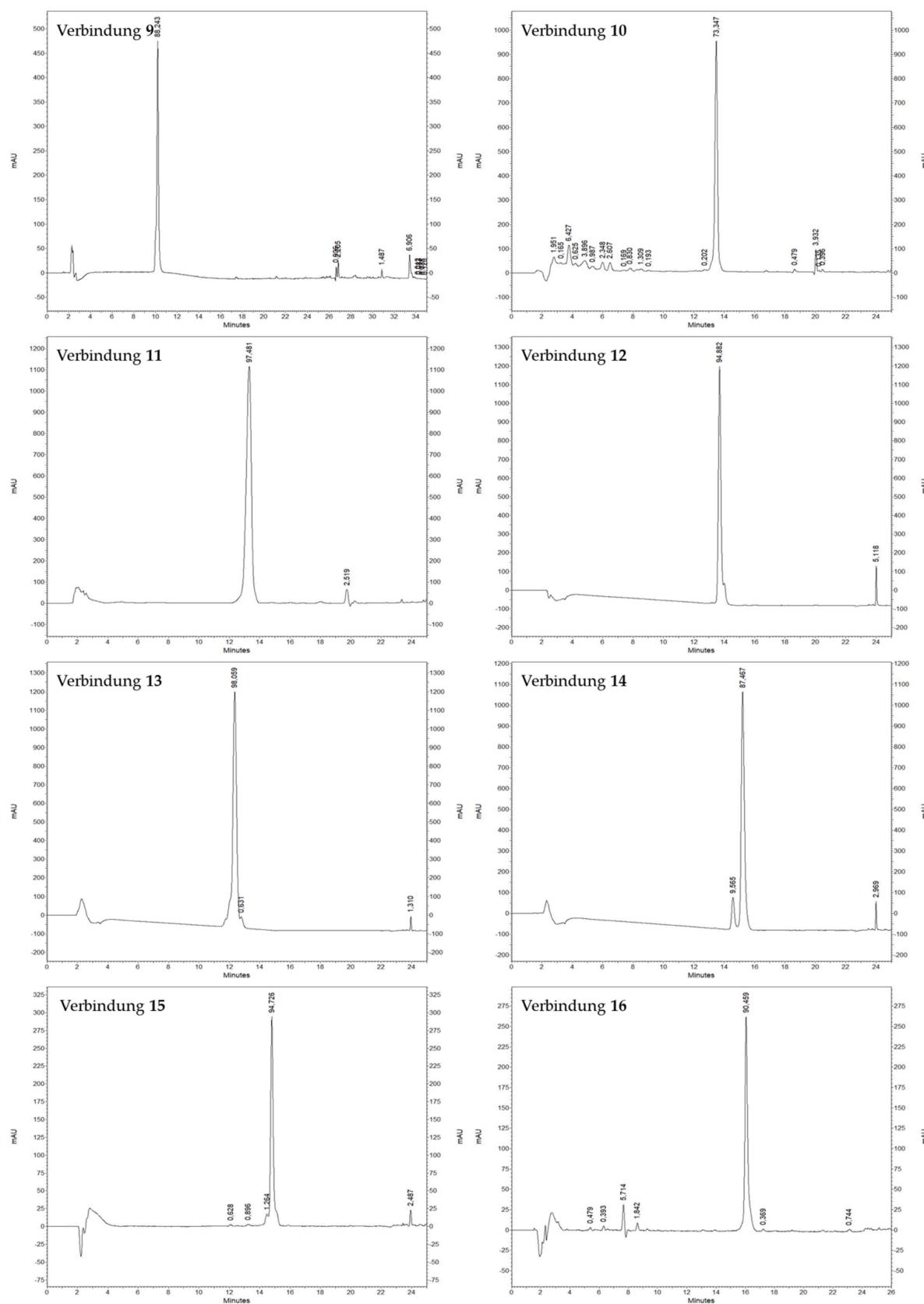
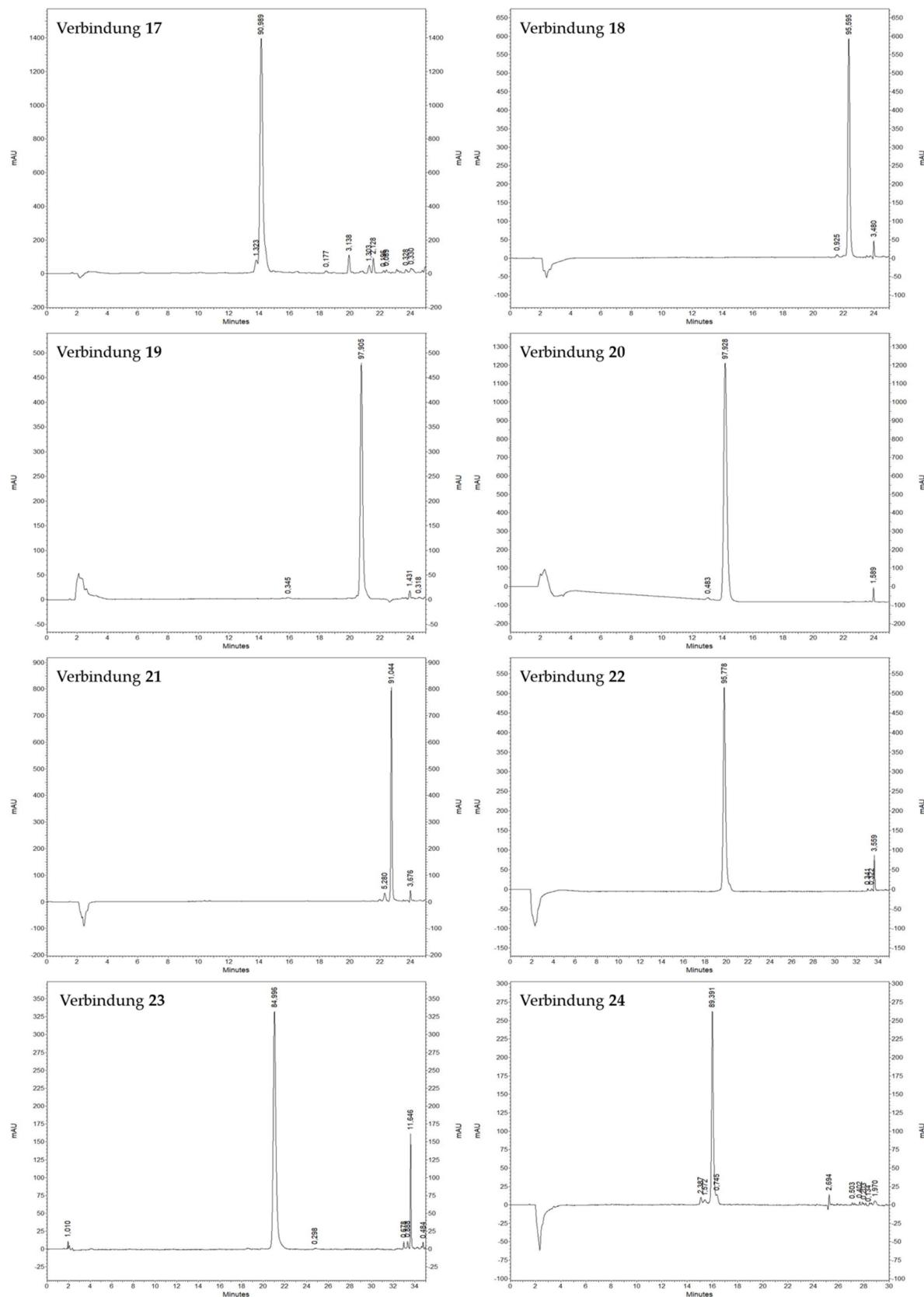


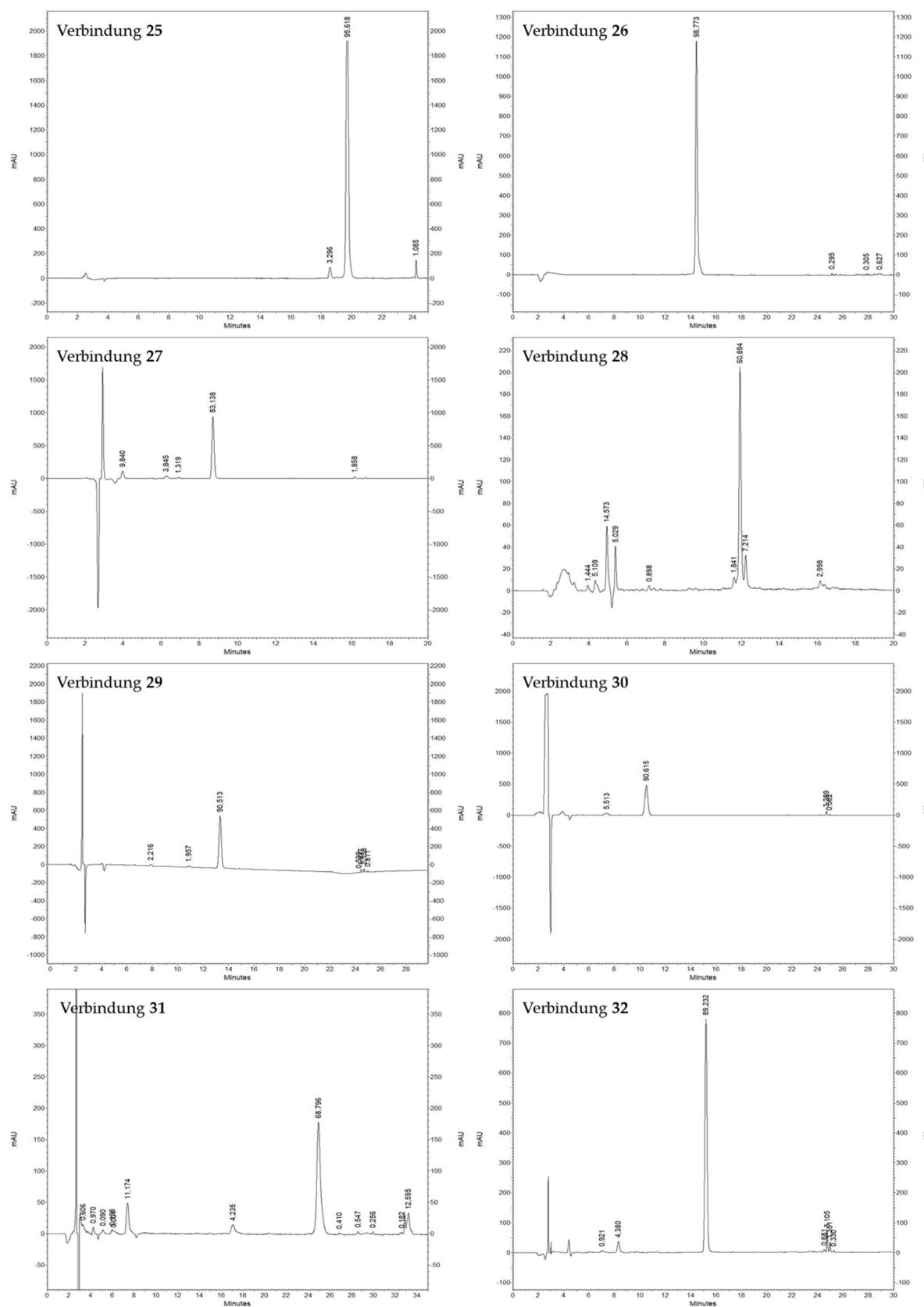
Abbildung 154. Chromatogramme der HPLC-Reinheitsbestimmung aller Isolate.



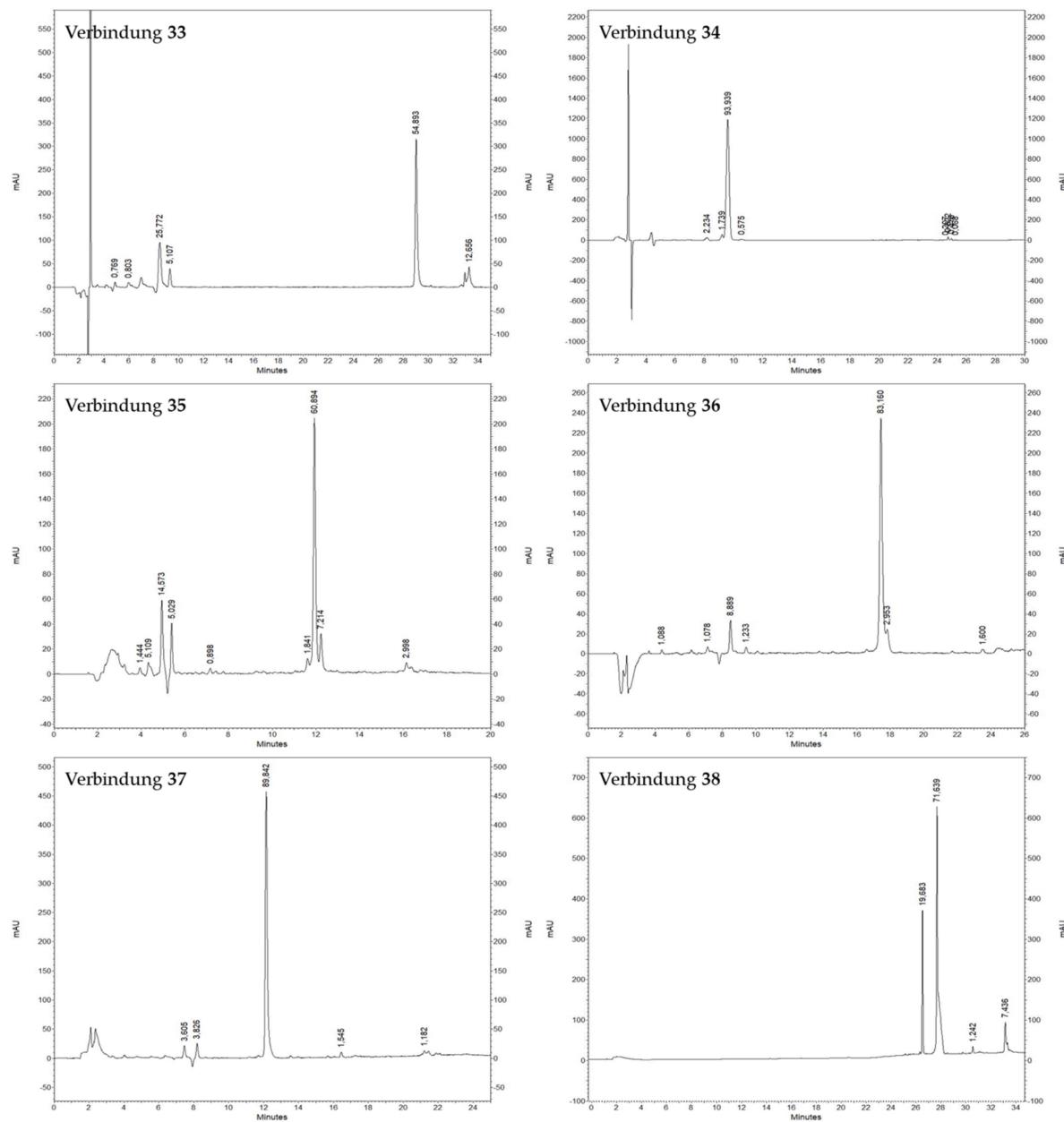
Fortsetzung Abbildung 154



Fortsetzung Abbildung 154



Fortsetzung Abbildung 154



Fortsetzung Abbildung 154

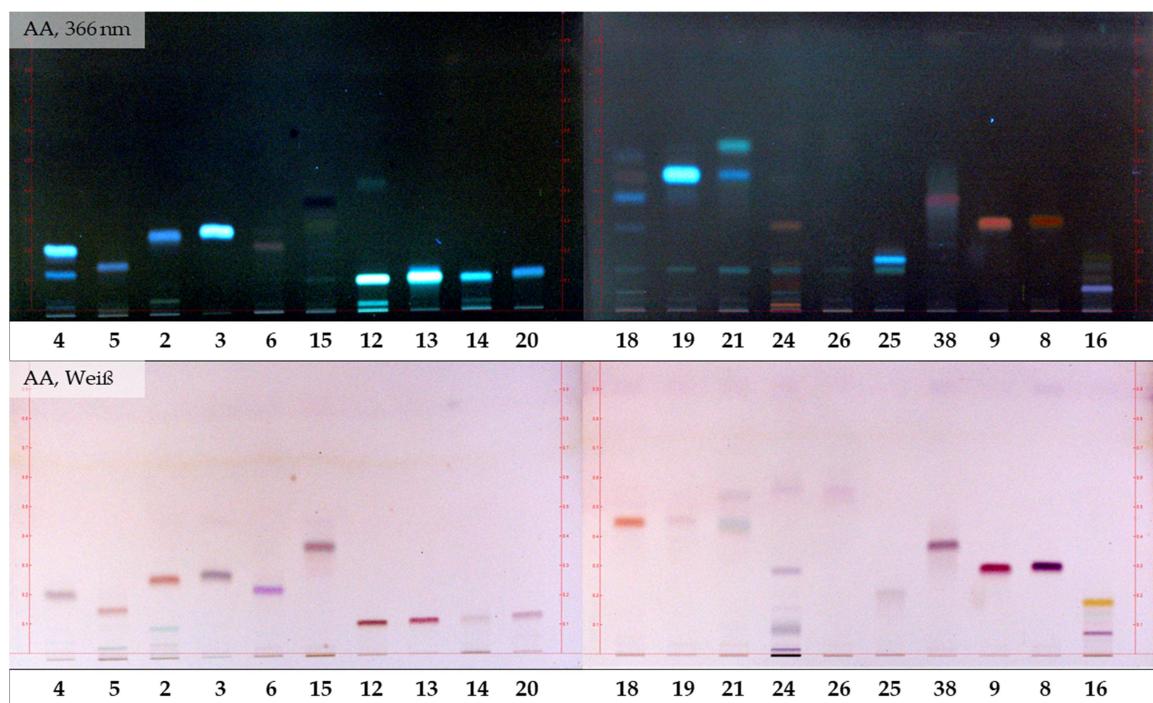
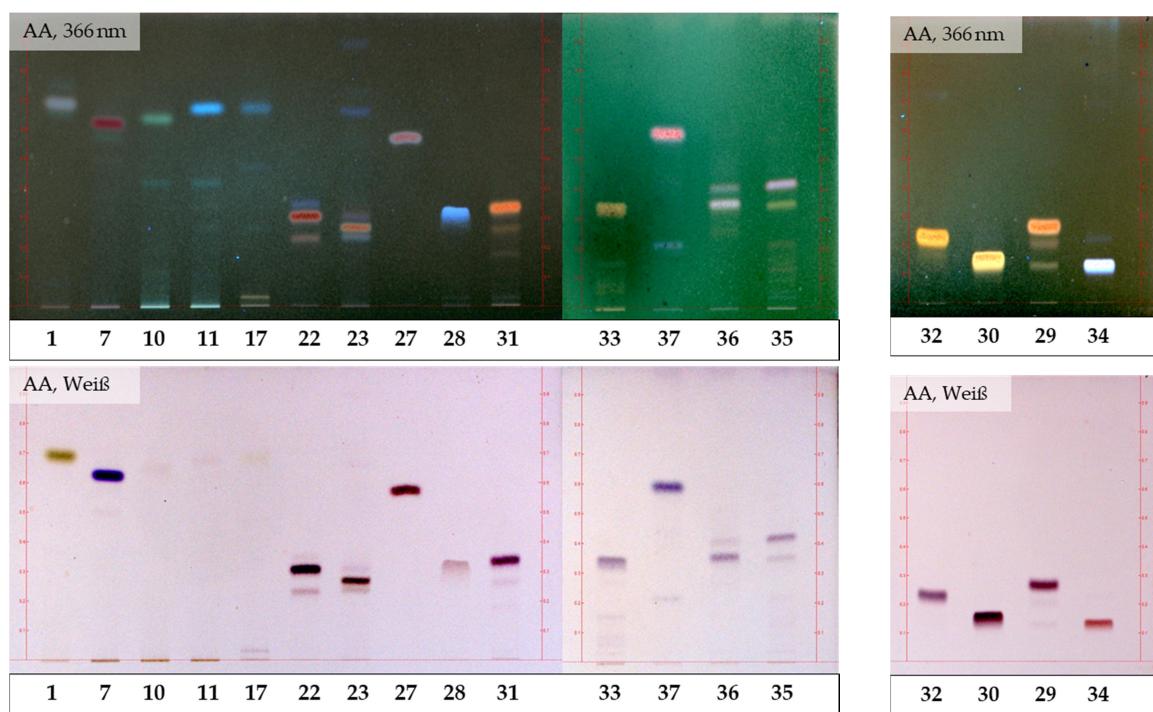
a**b****c**

Abbildung 155. DCs aller isolierten Verbindungen im Vergleich. Aufgetragen wurden 5 µl einer Lösung der Konzentration 1 mg/ml in EtOAc. Zusammenstellung **a** wurde entwickelt mit FM 5, **b** mit FM 2 und **c** mit FM 4. Die DCs sind abgebildet nach Derivatisierung mit AA bei 366 nm und im weißen Licht. Die Reihenfolge der Substanzen und die gewählten Fließmittel erschießen sich aus dem Isolierungsprozess und spiegeln nicht unbedingt die Polarität der Verbindungen wieder.

9. ERKLÄRUNG ZUR EIGENSTÄNDIGKEIT

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche gekennzeichnet.

Regensburg, den 01.07.2021

Unterschrift