

Department Chemie
der
Technischen Universität München

**Untersuchungen zum Harz des Weihrauchbaums (*Boswellia spp.*) unter
besonderer Berücksichtigung der Säurefraktion**

Jochen Helge Bergmann

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Chemie der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. W. Hiller

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. J. Jauch, Universität des Saarlandes - Saarbrücken
2. Univ.-Prof. Dr. P. Schieberle

Die Dissertation wurde am 5.5.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Chemie am 23.6.2004 angenommen.

Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde von August 2000 bis Dezember 2003 am Lehrstuhl I für Organische Chemie des Departments Chemie der Technischen Universität München durchgeführt und von Herrn Priv.-Doz. Dr. Johann Jauch betreut. Ich danke Herrn Professor Dr. Thorsten Bach, Ordinarius am oben genannten Lehrstuhl, für die Bereitstellung des Labors und insbesondere den Zugang zu den NMR-Geräten.

Diese Arbeit wurde großzügig gefördert durch den „Bund der Freunde der Technischen Universität München“ und die Technische Universität München (Promotionsstipendien von August 2000 bis Dezember 2001), die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Personal- und Sachmittel; Januar 2002-März 2004), die Dr.-Ing.-Leonhard-Lorenz-Stiftung der Technischen Universität München (Sachmittel) sowie die BASF AG und Degussa AG (Chemikalien- und Gerätespenden).

Für die Harzproben der unterschiedlichen Weihrauch-Arten möchte ich mich bei den einzelnen Spendern bedanken, insbesondere Dr. M. Al-Amri (Ministry of Agriculture, Rumais Research Station, Muscat, Oman), Professor Dr. M. Thulin (Uppsala Universität, Schweden) und Frau J. Steele (Economic Botany Collection, Kew Gardens, GB). Dr. N. Kilian und Dr. R. Vogt vom Botanischen Garten und Botanischen Museum in Berlin-Dahlem schließlich haben mir großzügigen Zugang zur dortigen Harzsammlung und der Bibliothek gewährt.

Die Aufnahme der Massenspektren verdanke ich Herrn H. Krause und die der FAME-GC-MS-Chromatogramme in Kapitel 3.2.1 Herrn Michael Lindenmeier. Bei Frau E. Kaldyk und Dr. Ulrich Reiser bedanke ich mich für die Hilfe bei den Schwierigkeiten am Anfang meiner Doktorarbeit, bei Herrn Dr. W. Eisenreich und Frau C. Schwarz für die 2D-NMR-Messungen und Herrn C. Krombach (Merck-VWR) für die Überlassung einer Chromolith-Säule für die HPLC. Frau Dr. A. Weeks (University of Texas, Austin) und Herrn Prof. Dr. M. Thulin (Uppsala Universität, Schweden) sei für die ausführlichen Erläuterungen zur Botanik der Burseraceen und der Weihrauchbäume gedankt.

Im Rahmen von Fortgeschrittenenpraktika in der Organischen Chemie wurden von den folgenden Studierenden der TU München Teilgebiete der vorliegenden Arbeit bearbeitet:

Peter Kaden, Maike Müller (Isolierung und Strukturaufklärung von Boswelliasäuren).

Josef Mitterpleininger, Christoph Rentsch, Georg Wuitschik (Methodenentwicklung bei der Partialsynthese von Boswelliasäuren).

Ihnen sei an dieser Stelle herzlich für ihre Anregungen und tatkräftige Mithilfe gedankt.

Für gelegentliche Hilfe bei der Literaturbeschaffung, kollegiale Gespräche und gründliches Korrekturlesen bedanke ich mich bei Patrick Gruber, Claudia Kahle, Birgit Kindermann, Michael Lindenmeier, Dr. Anja Setrdle und Dr. Carsten Wallner.

Schließlich möchte ich mich herzlich bei meinem Betreuer, Herrn Prof. Dr. Johann Jauch, für eine Betreuung und eine Arbeitsatmosphäre bedanken, wie ich sie mir nicht besser hätte wünschen können.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungen und Symbole.....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	IX
1 Einleitung.....	1
1.1 Pflanzliche Harze.....	1
1.1.1 Harzliefernde Pflanzen der <i>Burseraceae</i> -Familie.....	2
1.1.2 Weihrauchharz.....	3
1.1.2.1 Chemie des Weihrauchharzes, insbesondere der sauren Bestandteile.....	6
1.1.2.2 Medizinische Verwendung von Weihrauch.....	12
1.1.2.3 Pharmakologische Wirkung von Weihrauchinhaltsstoffen.....	14
1.2 Identifizierung der verschiedenen Weihrauch-Arten.....	16
1.3 Identifizierung unerwünschter Beimischungen im Weihrauchharz.....	20
1.4 Die Verwendung von Ionenaustauschern bei der Isolierung von Naturstoffen.....	20
1.5 Isolierung und Partialsynthese von Boswelliasäuren und deren Derivaten.....	22
1.6 Analytische Aspekte der Weihrauchchemie.....	24
1.6.1 Dünnschicht-Chromatographie.....	24
1.6.2 Hochleistungsflüssig-Chromatographie an monolithischer stationärer Phase.....	25
1.6.3 NMR-Spektroskopie.....	25
1.6.4 FAME-GC-MS zur Analytik organischer Säuren.....	25
2 Fragestellung.....	27
3 Ergebnisse und Diskussion.....	28
3.1 Identifizierung der Weihrauch-Art bei unbekanntem Proben.....	28
3.1.1 Unterscheidung anhand Geruch, Extrakt- und Säureanteil.....	28
3.1.2 Unterscheidung der <i>Boswellia</i> -Spezies mittels Dünnschicht-Chromatographie der Säurefraktion.....	38
3.1.3 Unterscheidung der <i>Boswellia</i> -Spezies mittels HPLC der Säurefraktion.....	43
3.1.4 Unterscheidung der <i>Boswellia</i> -Spezies durch Kombination verschiedener Methoden.....	51
3.1.5 HPLC-Übersichtschromatogramm der Säurefraktion auf monolithischer stationärer RP-18-Phase.....	57
3.2 Identifizierung und Quantifizierung von Kolophoniumbestandteilen im Weihrauchharz.....	60
3.2.1 Isolierung von Kolophoniumbestandteilen aus Probe 1 (<i>Bser Gr1</i>).....	60
3.2.2 Quantifizierung von Kolophoniumbestandteilen in Probe 1 (<i>Bser Gr1</i>).....	65
3.2.3 Trennung von DhAbiA 38 und β -KBA 6 auf monolithischer RP-18-Phase.....	71
3.3 Isolierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz mittels Ionenaustauscher.....	72
3.4 Isolierung und Partialsynthese von Boswelliasäuren und deren Derivaten.....	86
3.4.1 Partialsynthese einzelner Boswelliasäuren aus anderen Boswelliasäuren.....	86
3.4.2 Partialsynthese einzelner Boswelliasäuren aus der gesamten Säurefraktion.....	91
3.4.3 Effiziente Gewinnung und Aufreinigung einzelner Boswelliasäuren.....	93
3.5 NMR-Spektroskopie von Boswelliasäuren und deren Derivaten.....	97
3.5.1 Strukturaufklärung der Boswelliasäuren am Beispiel von β -ABA 2	97
3.5.2 Vergleichende NMR-Spektroskopie von natürlichen und nicht-natürlichen Boswelliasäuren.....	103
3.5.3 Diskrepanzen zwischen eigenen Messungen und Literaturwerten.....	107

4	Experimenteller Teil	111
4.1	Allgemeine Angaben	111
4.2	Chemikalien	112
4.3	Material	112
4.4	Geräte	113
4.5	Arbeitsvorschriften	115
4.5.1	Identifizierung der Weihrauch-Art bei unbekanntem Proben	115
4.5.1.1	Herstellung von Weihrauch-Extrakten aus großen Probenmengen	115
4.5.1.2	Herstellung von Weihrauch-Extrakten aus kleinen Probenmengen	116
4.5.1.3	Bestimmung der Effizienz verschiedener Lösungsmittel bei der Extraktion von Weihrauchharz	116
4.5.1.4	Bestimmung des Einflusses der <i>Boswellia</i> -Spezies auf die Extraktion mit <i>iso</i> -Propanol	116
4.5.1.5	Extraktion von Weihrauchbestandteilen: Bestimmung des Einflusses der Probenbeschaffenheit	117
4.5.1.6	Auftrennung des Weihrauches-Extraktes in Säure- und Neutralfraktion ..	118
4.5.2	Identifizierung und Quantifizierung einer Kolophonium-Beimischung in Weihrauchharz	118
4.5.2.1	Isolierung von DhAbiA 38 und AbiA(-Isomeren) 39 aus dem Harz von <i>B. serrata</i> (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>)	118
4.5.2.2	Isolierung und Quantifizierung von DhAbiA 38 und AbiA(-Isomeren) 39 aus dem Harz von <i>B. serrata</i> (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>)	119
4.5.2.3	Isolierung von DhAbiA 38 und AbiA(-Isomeren) 39 aus Kolophonium ..	120
4.5.2.4	FAME-GC-MS von DhAbiA 38 und Abietinsäure(-Isomeren) 39	120
4.5.2.5	Darstellung von DhAbiA 38 aus technischer AbiA 39 mittels Pd/H	121
4.5.2.6	Quantifizierung von DhAbiA 38 mittels HPLC	122
4.5.3	Isolierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz mittels Ionenaustauscher ..	123
4.5.3.1	Bestimmung der Kapazität des Ionenaustauschers IRA-900	123
4.5.3.2	Adsorption von Harzsäuren an vakuumgetrockneten Ionenaustauscher IRA-900	123
4.5.3.3	Reinigung des Ionenaustauschers IRA-900 für die Verwendung in nichtwässrigen Lösungsmitteln (Standardvorschrift für große Ansätze) ..	123
4.5.3.4	Reinigung des Ionenaustauschers IRA-900 für die Verwendung in nichtwässrigen Lösungsmitteln (Standardvorschrift für kleine Ansätze) ..	124
4.5.3.5	Adsorption von Harzsäuren an feuchten Ionenaustauscher IRA-900 (batch-Versuche mit vorbehandeltem IE)	124
4.5.3.6	Isolierung der Harzsäuren aus Harzprobe 1 (<i>Bser Gr1</i>) mittels IRA-900 im Routinebetrieb (Ethanol/Et ₂ O als Lösungsmittel)	125
4.5.3.7	Isolierung der Harzsäuren aus dem Weihrauchextrakt mittels IRA-900 im Routinebetrieb (Methanol als Lösungsmittel)	125
4.5.3.8	Isolierung der Harzsäuren aus dem Weihrauchextrakt mittels IRA-900 unter maximaler Ausnutzung der Kapazität (MeOH/Et ₂ O als Lösungsmittel) ..	126
4.5.3.9	Isolierung der Säurefraktion aus Weihrauchextrakt mit unbekanntem Säuregehalt mittels IRA-900 (EtOH/Et ₂ O als Lösungsmittel)	126
4.5.3.10	Isolierung der Harzsäuren aus dem Weihrauchextrakt mittels IRA-900 unter maximaler Ausnutzung der Kapazität (EtOH/Et ₂ O als Lösungsmittel)	127
4.5.4	Isolierung und Partialsynthese von Boswelliasäuren und deren Derivaten	127
4.5.4.1	Isolierung von 3-OH-LupA 28 , α -BA 3 und β -BA 1 aus der deacetylierten Säurefraktion von <i>B. sacra</i> (Probe 3, <i>Bsac Om1</i>)	127
4.5.4.2	Acetylierung von α -BA 3 zu α -ABA 4	129
4.5.4.3	Acetylierung der Säurefraktion aus dem Weihrauch	130

4.5.4.4	Deacetylierung von β -ABA 2 zu β -BA 1	131
4.5.4.5	Deacetylierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz.....	131
4.5.4.6	Photooxidation von β -ABA 2 zu β -AKBA 7	131
4.5.4.7	Photooxidation der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz.....	132
4.5.4.8	Reduktion von β -KBA 6 bzw. β -AKBA 7 zu β -BA 1 bzw. β -ABA 2 mit NaBH ₄ /TFA	132
4.5.4.9	Reduktion von β -KBA 6 und β -AKBA 7 mit Et ₃ SiH/BF ₃ ·Et ₂ O.....	132
4.5.4.10	Partialsynthese von 3,24- β -Boswelliadiol 16 durch Reduktion von β -KBA 6 mit Et ₃ SiH/BF ₃ ·Et ₂ O	133
4.5.4.11	Partialsynthese von 3-EtO- β -BA 56 durch Reduktion von β -AKBA 7 mit Et ₃ SiH/BF ₃ ·Et ₂ O.....	134
4.5.4.12	Reduktion von β -KBA 6 zu β -BA 1 mit Li/HMPA/ <i>t</i> BuOH.....	134
4.5.4.13	Reduktion der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz mit Li/HMPA/ <i>tert.</i> -Butanol.....	135
4.5.4.14	Fokussierende Synthese von β -AKBA 7 ausgehend von der Säurefraktion des Weihrauchharzes	135
4.5.4.15	Fokussierende Synthese von β -BA 1 aus der Säurefraktion des Weihrauchharzes	137
4.5.4.16	Fokussierende Synthese von β -ABA 4 aus der Säurefraktion des Weihrauchharzes.....	138
4.5.4.17	Fokussierende Synthese von β -KBA 6 aus der Säurefraktion des Weihrauchharzes.....	139
5	Zusammenfassung	141
6	Literatur und Anmerkungen.....	144
Anhang A: Beschreibung der verwendeten Harzproben.....		160
Anhang B: Trennschemata zur Isolierung von DhAbiA 38 und AbiA-Isomeren 39		179
Anhang C: Vergleich der NMR-Verschiebungen ausgewählter Boswelliasäuren.....		181
Anhang D: Testergebnisse mit der monolithischen HPLC-Säule.....		183
Anhang E: FAME-GC-MS-Chromatogramme von Harzsäuren aus Kolophonium		184
Anhang F: Vergleich von DC-Systemen zur Weihrauchanalytik		187
Veröffentlichungen.....		188

Abkürzungen und Symbole

A	Bei der HPLC: Peakfläche; beim Ionenaustauscher: adsorbierte Säuren
Ac-LupA	3 α -Acetyl-lup-20(29)ensäure
ABA	3-O-Acetyl-boswelliasäure (<i>Acetyl-boswellic acid</i>)
AbiA	Abietinsäure (<i>abietic acid</i>)
Äq.	Äquivalent(e)
AKBA	3-O-Acetyl-11-keto-boswelliasäure (<i>Acetyl-11-keto-boswellic acid</i>)
AMD	Automatisierte Mehrfachentwicklung (<i>automated multiple development</i>)
AMG	Arzneimittelgesetz
ax	axial
<i>b</i>	Bei NMR-Verschiebungen und IR-Banden: Verbreiterung des folgenden Signals
BA	Boswelliasäure (<i>boswellic acid</i>)
BGBM	Botanischer Garten und Botanisches Museum (Berlin-Dahlem)
BV	Volumen des Ionenaustauscherharzes (<i>bed volume</i>)
<i>c</i>	Konzentration [$\text{mg} \times \text{ml}^{-1}$]
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
COX	Cyclooxygenase
<i>d</i>	Bei NMR-Signalen: Dublett
δ	Verschiebung bei der NMR-Spektroskopie [ppm]
Δ	Wärmezufuhr
d. Th.	der Theorie
DAD	Dioden-Array-Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie oder -chromatogramm
DDS	Wirkstoffträger (<i>drug delivery system</i>)
DhAbiA	Dehydroabietinsäure (<i>dehydroabietic acid</i>)
4-DMAP	4-Dimethylaminopyridin
eq	äquatorial (<i>equatorial</i>)
FAME-GC-MS	Fettsäuremethylester-GC-MS (<i>fatty acid methyl ester GC-MS</i>)
FC	Flash-Chromatographie
FID	Flammenionisationsdetektor
Frkt.	Fraktion(en)
GC	Gas-Chromatographie
ges.	gesättigt
H,H-COSY	H,H-korrelierte Spektroskopie (<i>H,H-correlated spectroscopy</i>)
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid (hexamethylphosphoric acid triamide)
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HMQC	<i>heteronuclear multiple quantum coherence</i>
HMQC-COSY	heteronuclear multiple quantum coherence correlation spectroscopy
HPLC	Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie (<i>high-performance liquid chromatography</i>)
HPTLC	Hochleistungs-Dünnschichtchromatographie (<i>high-performance thin layer chromatography</i>)
HRMS	Hochaufgelöste Massenspektrometrie (<i>high resolution mass spectrometry</i>)
IC ₅₀	Für 50 %ige Hemmung eines Enzyms benötigte Konzentration (<i>inhibitory concentration</i>)
ID	Innendurchmesser
IE	Ionenaustausch(er) (<i>ion exchange(er)</i>)
IR	Infrarot-Spektroskopie
KBA	11-Keto-boswelliasäure (<i>11-keto-boswellic acid</i>)

λ	Wellenlänge [nm]
LM	Lösungsmittel
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
5-LOX	5-Lipoxygenase
Lsg.	Lösung
3-OH-LupA	3 α -Hydroxy-lup-20(29)ensäure
m	Bei NMR-Signalen: Multiplett; bei IR-Banden: mittelstark
M_r	relative Molmasse [$\text{g} \times \text{mol}^{-1}$]
MS	Massenspektrometrie
MTBE	<i>tert.</i> -Butyl-Methyl-ether
NA	Beim Ionenaustauscher: nicht-adsorbierte Säuren
BS	<i>N</i> -Brom-succinimid
NEM	Nahrungsergänzungsmittel
n. b.	nicht bestimmt
n. i.	nicht identifizierbar
NMR	Kernspinresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>)
NOESY	Kern-Overhauser-Effekt-Spektroskopie (<i>nuclear overhauser effect spectroscopy</i>)
OPLC	DC unter Druck (<i>overpressured layer chromatography</i>)
PLA	Phospholipase
Py	Pyridin
q	Bei NMR-Signalen: Quartett
R	Korrelationskoeffizient
R^2	Bestimmtheitsmaß
R_f	Retentionsfaktor bei der Dünnschicht-Chromatographie
R_t	Retentionszeit bei der HPLC [min]
RDA	Retro-Diels-Alder-Reaktion
RE	Harzextrakt („Roh-Extrakt“)
Ref.	Referenz
RS	Säurefraktion aus dem Harzextrakt („Roh-Säuren“)
RP	Umkehrphase (<i>reversed phase</i>)
RT	Raumtemperatur
s	Bei NMR-Signalen: Singulett; bei IR-Banden: stark
SL	Stammlösung
Smp.	Schmelzpunkt
SV	Säulenvolumen/-volumina bei der Flash-Chromatographie
t	Bei NMR-Signalen: Triplett
T	Temperatur
TFA	Trifluoressigsäure (<i>trifluoroacetic acid</i>)
THM	Thermisch unterstützte Hydrolyse und Methylierung (<i>thermally assisted hydrolysis and methylation</i>)
TIC	Totalionenstrom (<i>total ion current</i>)
TLC	Dünnschicht-Chromatographie (<i>thin layer chromatography</i>)
TMAA	Tetramethylammoniumacetat
TMAH	Tetramethylammoniumhydroxid
TMSH	Trimethylsulfoniumhydroxid
TMSI	Trimethylsulfoniumiodid
Tr.	Tropfen
w	Bei IR-Banden: schwach

Die Kurzbezeichnung der Harzproben werden tabellarisch in Kap. 3.1 (S. 28) sowie in Anhang A ab S. 160 aufgeschlüsselt.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Triterpensäuren mit pharmakologischen Eigenschaften (Auswahl)	8
Abb. 2: Boswelliasäuren mit Oleanangerüst (α -Reihe: 3, 4, 13, 14) und Ursangerüst (β -Reihe: 1, 2, 6, 7)	9
Abb. 3: Triterpene als Minorkomponenten (oben) und Aufarbeitungsartefakte (unten) im Weihrauchharz	9
Abb. 4: Tirucallane, Dammarane und Lupane im Weihrauchharz.....	10
Abb. 5: Monoterpensäuren als Spurenkomponenten im Weihrauchharz.....	10
Abb. 6: Vergleich von Methoden zur Isolierung von Boswelliasäuren	22
Abb. 7: Ausbeuten bei der stufenweisen Extraktion von Weihrauchharz mit verschiedenen Lösungsmitteln.....	32
Abb. 8: Ausbeuten bei der stufenweisen Extraktion des Harzes verschiedener <i>Boswellia</i> - Spezies mit <i>iso</i> -Propanol.....	33
Abb. 9: Verteilung von Nichtextrahierbarem, Säurefraktion und Neutralkomponenten bei den untersuchten Harzproben (reine Harze)	36
Abb. 10: Verteilung von Nichtextrahierbarem, Säurefraktion und Neutralkomponenten bei den untersuchten Weihrauchharz-Mischungen und -Verarbeitungsprodukten.....	37
Abb. 11: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit <i>B. serrata</i> unter dem UV-Licht ($\lambda = 254$ nm)	39
Abb. 12: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit <i>B. serrata</i> nach dem Anfärben	39
Abb. 13: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit <i>B. sacra</i> unter dem UV-Licht ($\lambda = 254$ nm)	40
Abb. 14: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit <i>B. sacra</i> nach dem Anfärben	40
Abb. 15: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben verschiedener <i>Boswellia</i> -Spezies unter dem UV-Licht	41
Abb. 16: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben verschiedener <i>Boswellia</i> -Spezies nach dem Anfärben	42
Abb. 17: HPTLC-Chromatogramme von Harzproben verschiedener <i>Boswellia</i> -Spezies nach dem Anfärben.....	43
Abb. 18: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktion von Medikament H15 (Probe 21) bei $\lambda = 210$ nm (oben) und 254 nm (unten).....	44
Abb. 19: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen zweier Proben von <i>B. serrata</i> (H15, Probe 21, <i>Bser H15-1</i> (oben), Sallaki, Probe 22, <i>Bser Sal-1</i> (unten)) bei $\lambda = 210$ nm	45
Abb. 20: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus zwei Proben von <i>B. serrata</i> (Probe 1, <i>Bser Gr1</i> (oben), H15 (Probe 21, <i>Bser H15-1</i> (unten)) bei $\lambda = 210$ nm	46
Abb. 21: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus <i>B. serrata</i> (Medikament H15, Probe 21 (oben)) und <i>B. sacra</i> (Probe 3, unten) bei $\lambda = 210$ nm.....	47
Abb. 22: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus <i>B. sacra</i> (Probe 3, oben) und <i>B. carteri</i> (Probe 4, unten) bei $\lambda = 210$ nm	48
Abb. 23: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus zwei Proben von <i>B. carteri</i> (Probe 9, <i>Bcar G1</i> (oben), Probe 4, <i>Bcar T1</i> (unten)) bei $\lambda = 210$ nm	49
Abb. 24: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus <i>B. frereana</i> / <i>B. bhau-dajiana</i> (Probe 7, oben) und <i>B. carteri</i> (Probe 4, unten) bei $\lambda = 210$ nm	50
Abb. 25: HPTLC-Chromatogramme von Harzproben verschiedener <i>Boswellia</i> -Spezies nach dem Anfärben.....	56
Abb. 26: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus <i>B. serrata</i> (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>) auf einer herkömmlichen stationären Phase.....	58

Abb. 27: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus <i>B. serrata</i> (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>) auf monolithischer Phase.	59
Abb. 28: 3 α -Hydroxy-lup-20(29)ensäure (3-OH-LupA) 28 , die erste aus dem Weihrauch isolierte Triterpensäure mit Lupangerüst.	60
Abb. 29: Umsetzung von Abietinsäure(-Isomeren) 39 zu Dehydroabietinsäure 38	61
Abb. 30: Diterpensäuren als Hauptbestandteile im Kolophonium.....	62
Abb. 31: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren 39 aus Weihrauchharz (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>), Lauf 3	63
Abb. 32: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von <i>B. serrata</i> (Probe 2) mit Methanol in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm).....	66
Abb. 33: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus Kolophonium mit Methanol in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm).....	66
Abb. 34: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von <i>B. serrata</i> (Probe 1) mit Methanol in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm).....	67
Abb. 35: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von <i>B. serrata</i> (Probe 2) mit MeCN:MeOH-Mischung in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm)	67
Abb. 36: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus Kolophonium mit MeCN:MeOH-Mischung in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm).....	68
Abb. 37: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von <i>B. serrata</i> (Probe 1) mit MeCN:MeOH-Mischung in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm)	68
Abb. 38: HPLC-Chromatogramm der Mischung von Säurefraktion aus <i>B. serrata</i> (Probe 2) und Kolophonium ($\lambda = 210$ nm; mobile Phase: MeCN:MeOH 1:1 v/v).....	69
Abb. 39: Kalibriergerade und Messwerte für die Quantifizierung von DhAbiA 38 mittels HPLC	69
Abb. 40: Trennung von DhAbiA 38 und β -KBA 6 auf monolithischer stationärer HPLC-Phase.....	71
Abb. 41: Schematische Vorgehensweise zur Bestimmung der Lösungsmittelabhängigkeit bei der Adsorption von Harzsäuren an IRA-900.	73
Abb. 42: Entstehung von Acetamid aus Acetonitril an der OH-Form des Ionenaustauschers IRA-900.	74
Abb. 43: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in <i>iso</i> -Propanol.	74
Abb. 44: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Methanol.	75
Abb. 45: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Tetrahydrofuran.	76
Abb. 46: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Diethylether.....	76
Abb. 47: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in MTBE.	77
Abb. 48: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Dichlormethan.....	77
Abb. 49: Lösungsmittelabhängige Adsorption von Harzsäuren an IRA-900 bei minimaler Desorptionszeit (ca. 5 min).	78
Abb. 50: Lösungsmittelabhängige Adsorption von Harzsäuren an IRA-900 bei 1 h Desorptionszeit.....	79
Abb. 51: Lösungsmittelabhängige Adsorption von Harzsäuren an IRA-900 bei Desorption nach 1 h in 10 % HOAc in MTBE.	80
Abb. 52: Vergleich der HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus klassischer Isolierung (oben) und IE-Verfahren (unten).	82
Abb. 53: Vergleich der Säurefraktionen aus klassischer Isolierung (oben) und IE-Verfahren mit anschließender HCl-Behandlung (unten).....	83
Abb. 54: Übersicht über die Gewinnung von Boswelliasäuren aus dem Weihrauchharz.....	84
Abb. 55: (De-)Acetylierung der Boswelliasäuren am Beispiel von β -(A)BA 1 (2).	86
Abb. 56: Sterische Hinderung bei der Reduktion von β -(A)KBA 6 (7) durch die Methylgruppen C-26 und C-27	87

Abb. 57: α,β -ungesättigte Ketone, deren Ketogruppe mit NaBH_4/TFA zur Methylengruppe reduziert wird.	87
Abb. 58: Gegenseitige Umwandlung von β -Boswelliasäuren.	90
Abb. 59: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus <i>B. sacra</i> (Probe 3, <i>Bsac Om1</i>).	91
Abb. 60: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus <i>B. sacra</i> (Probe 3, <i>Bsac Om1</i>) nach Acetylierung.	92
Abb. 61: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus <i>B. sacra</i> (Probe 3, <i>Bsac Om1</i>) nach Acetylierung und Photooxidation.	92
Abb. 62: Schematischer Vergleich verschiedener Syntheseansätze für Naturstoff(derivat)e..	93
Abb. 63: β -ABA 2 mit Teilspinsystemen und in perspektivischer Darstellung.	98
Abb. 64: ^{13}C -NMR-Spektrum (90,55 MHz) von β -ABA 2 (Übersicht).	98
Abb. 65: ^{13}C -NMR-Spektrum (90,55 MHz) von β -ABA 2 (Alkylbereich).	99
Abb. 66: ^1H -NMR-Spektrum (500,13 MHz) von β -ABA 2 (Übersicht).	99
Abb. 67: ^1H -NMR-Spektrum (500,13 MHz) von β -ABA 2 (Alkylbereich).	100
Abb. 68: Für die Strukturaufklärung relevante Kopplungen bei β -ABA 2 (Ringe A, B, C).	101
Abb. 69: Für die Strukturaufklärung relevante Kopplungen bei β -ABA 2 (Ringe C, D, E)..	102
Abb. 70: Für die Strukturaufklärung relevante NOESY-Kopplungen bei β -ABA 2 (Ringe A, B, C)	103
Abb. 71: Für die Strukturaufklärung relevante NOESY-Kopplungen bei β -ABA 2 (Ringe C, D, E)	103
Abb. 72: NOESY-Spektrum (Ausschnitt) des Ringes A von 3,24- β -Boswelliadiol 16	106
Abb. 73 Energetisch günstigste Anordnung der Ringe A+B von 3,24- β -Boswelliadiol 16 ..	107
Abb. 74: H,H-COSY-Spektrum (Ausschnitt) von β -ABA 2 zur Zuordnung der ^1H -NMR-Signale an C-11	108
Abb. 75: HMQC-COSY-Spektrum (Ausschnitt) von β -ABA 2 zur Zuordnung der ^1H -NMR-Signale an C-11.	108
Abb. 76: HMQC-COSY-Spektrum (Ausschnitt) von β -ABA 2 zur Zuordnung der ^1H -NMR-Signale an C-11.	109
Abb. 77: HMQC (Ausschnitt) von β -ABA 2 zur Zuordnung von H-19.	109
Abb. 78: Vergleich klassischer und moderner Methoden zur Speziesidentifizierung und Erkennung von Verunreinigungen beim Weihrauchharz.	142
Abb. 79: Effiziente Gewinnung definierter Boswelliasäuren mit Hilfe eines Ionenaustauschers und fokussierender Synthese.	143
Abb. 80: Fließschema zur Isolierung von DhAbiA 38 und AbiA-Isomeren 39 aus der Säurefraktion von <i>B. serrata</i> (Harzprobe1, <i>Bser Gr1</i>).	179
Abb. 81: Fließschema zur Isolierung von DhAbiA 38 und AbiA-Isomeren 39 aus Kolophonium	180
Abb. 82: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren 39 aus Weihrauchharz (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>), Lauf 3.	184
Abb. 83: GC-MS-Chromatogramm des Methylesters von DhAbiA 38 aus Weihrauchharz (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>), Lauf 4.	185
Abb. 84: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren 39 aus Kolophonium (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>), Lauf 5.	185
Abb. 85: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren 39 aus Weihrauchharz (Probe 1, <i>Bser Gr1</i>), Lauf 6.	186
Abb. 86: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von technischer AbiA 41 , Lauf 7.	186

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Auswahl wichtiger pflanzlicher Harze.....	2
Tab. 2: Wichtiger Vertreter der Familie <i>Burseraceae</i> und genutzte Pflanzenteile.....	3
Tab. 3: Die wichtigsten <i>Boswellia</i> -Spezies nach geografischer Verbreitung.....	5
Tab. 4: Anteil der Komponenten des Weihrauchharzes nach verschiedenen Autoren.....	11
Tab. 5: Historische und moderne medizinische Verwendung von Teilen des Weihrauchbaumes.....	13
Tab. 6: Probleme bei der Identifizierung der Weihrauchspezies anhand des Harzes.....	16
Tab. 7: Identifizierung und Qualitätsbeurteilung von Weihrauchharz (meist historisch).....	18
Tab. 8: Übersicht über Einsatzgebiete von Ionenaustauschern.....	21
Tab. 9: Harzproben, sortiert nach Art, Alter und Sicherheit der Speziesbezeichnung.....	28
Tab. 10: Übersicht über die verwendeten Harze und Harzverarbeitungsprodukte.....	29
Tab. 11: Charakteristische Elemente bei der DC-Analyse der Säurefraktion aus verschiedenen Weihrauch-Spezies.....	43
Tab. 12: Charakteristische Merkmale der wichtigsten Weihrauch-Arten.....	51
Tab. 13: Vergleich der ¹³ C-NMR-Daten von isolierter und partialsynthetisch hergestellter DhAbiA 38 mit Literaturwerten für DhAbiA 38 und Callitrisinsäure 40	61
Tab. 14: Vergleich der DhAbiA 38 -Anteile gemäß HPLC und FC.....	70
Tab. 15: Adsorption von Harzsäuren an den Ionenaustauscher IRA-900 in organischen Lösungsmitteln.....	72
Tab. 16: Literaturbeispiele und eigene Ansätze für die Reduktion α,β -ungesättigter Ketone mit TFA/NaBH ₄	88
Tab. 17: Ausbeuten bei der Reduktion von β -AKBA 7 mit Et ₃ SiH/BF ₃ Et ₂ O.....	89
Tab. 18: Ausbeuten bei der Reduktion von β -KBA 6 mit Et ₃ SiH/BF ₃ Et ₂ O.....	90
Tab. 19: Aufreinigungseffekt durch Umkristallisation aus Methanol bei β -ABA 2	95
Tab. 20: ¹ H- und ¹³ C-NMR-Verschiebungen der vier wichtigsten β -Boswelliasäuren.....	104
Tab. 21: ¹ H- und ¹³ C-NMR-Verschiebungen von α -ABA 4 , α -BA 3 , 3,24- β -Boswelliadiol 16 und dem nicht-natürlichen Derivat 3 α -Ethoxy- β -BA 56	105
Tab. 22: Ausbeuten bei der Extraktion von Probe 4 (<i>B. carteri</i> , <i>Bcar T1</i>) in Abhängigkeit der Probenbeschaffenheit.....	117
Tab. 23: GC-MS-Läufe mit Dehydroabietinsäure 38 und Abietinsäure(-Isomeren) 39 aus Weihrauchharz <i>Bser Gr1</i> , Kolophonium und technischer Abietinsäure.....	120
Tab. 24: Pipettierschema für die Quantifizierung von DhAbiA 38 mittels HPLC.....	122
Tab. 25: Messwerte bei der Quantifizierung von DhAbiA 38 mittels HPLC.....	122
Tab. 26: Kapazitätsbestimmung des Ionenaustauschers IRA-900.....	123
Tab. 27: Vergleich der ¹³ C- und ¹ H-NMR-Verschiebungen von 3-Ac-LupA 29 mit Literaturangaben.....	128
Tab. 28: Vergleich der ¹³ C-NMR-Verschiebungen von β -ABA 2 mit Literaturangaben zu dieser Verbindung und dem Strukturanalogon 3-Oxo- β -BA-Me 57	181
Tab. 29: Vergleich der ¹ H-NMR-Verschiebungen von β -ABA 2 mit Literaturangaben zu dieser Verbindung und dem Strukturanalogon 3-Oxo- β -BA-Me 57	182
Tab. 30: Vergleich der Drücke bei Chromolith- und herkömmlichem RP-Material.....	183
Tab. 31: Vergleich der HPLC-Übersichtschromatogramme auf Chromolith-Material.....	183
Tab. 32: Vergleich von DC-Systemen zur Weihrauchanalytik.....	187

1 Einleitung

1.1 Pflanzliche Harze

Pflanzliche Harze sind Produkte des sekundären Stoffwechsels, d. h. sie dienen weder dem Wachstum noch dem Energiestoffwechsel der Pflanze. Es handelt sich bei ihnen um Mischungen mit äußerst unterschiedlicher Zusammensetzung und Eigenschaften.

Die Definition und Nomenklatur zu Harzen ist aus historischen Gründen und aufgrund der Variationsbreite dieser Naturprodukte uneinheitlich. Sehr allgemein kann unter einem natürlichen Harz eine Mischung organischer Verbindungen von amorpher Form verstanden werden, die in kaltem Zustand zähflüssig bis glasartig fest ist, sich beim Erwärmen verflüssigt, beim Erkalten ohne Kristallisation erstarrt und gegenüber Witterung und chemischen Einflüssen beständig ist.^[1] Langenheim^[2] definiert pflanzliche Harze unter Berücksichtigung chemischer und botanischer Gegebenheiten als lipophile Mischung von flüchtigen und nichtflüchtigen Terpenoiden sowie phenolischen Verbindungen des Sekundärstoffwechsels, die üblicherweise in speziellen Geweben gebildet werden und möglicherweise bei Wechselwirkungen zwischen Pflanze und Umgebung eine Rolle spielen.

Von pflanzlichen Produkten mit ähnlichen Eigenschaften wie Gummen, Schleimen, Ölen, Fetten, Wachsen und Latex unterscheiden sich Harze durch ihre Hauptbestandteile (Terpene und phenolische Verbindungen), physikochemischen Eigenschaften (in Lösungsmitteln, nicht aber in Wasser löslich) und teilweise durch die Gewebe, in denen sie gebildet werden. Auffällig ist der intensive Geruch vieler bekannter Harze wie Benzoe, Elemi, Weihrauch, Myrrhe oder Stinkasant, den jedoch nicht alle Harze zeigen.

Die historische und z. T. heute noch verwendete Unterteilung von Harzen in physiologische und pathologische Harze hat bereits Tschirch^[3] als nicht eindeutig möglich bezeichnet und ist nicht zweckmäßig. Auch die Unterscheidung der Harze in Balsame, Hartharze und Gummi- bzw. Schleimharze^[4] geht von gleichbleibenden charakteristischen Harzeigenschaften aus. Das Exsudat einer Spezies kann aber je nach Pflanzenalter, Erntezeitpunkt, Lagerzeit und anderen Faktoren als Balsam, Hartharz oder Gummiharz bezeichnet werden. Zur Abgrenzung von anderen pflanzlichen Aussonderungen ist damit die Bezeichnung „Harz“ am geeignetsten; andere Definitionen und Klassifikationen pflanzlicher Harze sind in der Literatur^[5-8] ausführlich beschrieben.

Harze werden von einer Vielzahl von Pflanzen produziert, von denen heute nur noch wenige überregionale wirtschaftliche Bedeutung besitzen. Sie verteilen sich über mehr als ein Dutzend Pflanzenfamilien, die ansonsten wenig Gemeinsamkeiten aufweisen. In Tab. 1 sind die wichtigsten Harze mit ihren Ursprungspflanzen aufgeführt. Natürliche Harze waren bis zur industriellen Herstellung konkurrenzfähiger synthetischer Materialien wichtige technische Produkte in Elektronik (Isoliermaterial), Medizin (Pflaster), Kunst (Kleber), Papierherstellung (Oberflächenleimung) und vielen anderen Industriezweigen. Unter den natürlichen Harzen spielt Kolophonium heute mengenmäßig die wichtigste Rolle,^[9] für Spezialanwendungen

(Handwerk, Kunst) und den Einsatz im Lebensmittel- und Kosmetikbereich (Parfüm, Aromazusatz) jedoch sind viele andere Harze weiterhin unersetzlich.

Tab. 1: Auswahl wichtiger pflanzlicher Harze.

Harz	Ursprungspflanze (Familie)	Bemerkung	Verwendung
Bernstein	<i>Pinites succinifera</i> und andere <i>Pinus</i> -Arten (<i>Pinaceae</i>)	Fossiles Harz	Schmuck
Kolophonium	zahlreiche <i>Pinus</i> -Arten (<i>Pinaceae</i>)	Mengenmäßig bedeutendstes Harz (Weltproduktion >500.000 t/a)	u. a. Lacke, Papier- zusatz, Geigenharz
Canadabalsam	<i>Abies balsamea</i> (<i>Pinaceae</i>)		Einbettung mikro- skopischer Objekte
Tolubalsam Perubalsam	<i>Myroxylon balsamum</i> <i>M. balsamum</i> var. <i>pereira</i> (<i>Fabaceae</i>)		Medizin (historisch), Parfümerie, Kosmetik
Mastix	<i>Pistacia lentiscus</i> (<i>Anacardiaceae</i>)		Kosmetik, Parfüme- rie, Räucherwaren, Handwerk/Kunst
Kopal	<i>Agathis australis</i> (Kaurik.) <i>Agathis philippinensis</i> (Manilakopal) <i>Copaifera</i> -Arten und weitere Pflanzen (<i>Araucariaceae</i>)	Sammelbezeichnung für eine Vielzahl von z. T. fossilen Harzen	Lacke
Drachenblut	<i>Dracaena draco</i> (<i>Dracaenaceae</i>)		Holzfärbung, Lacke, Überzüge

Eine besondere Bedeutung hat das Räuchern, d. h. die mehr oder weniger milde Pyrolyse von Harzen während religiöser, spiritueller oder weltlicher Zeremonien. Dazu werden dem Harz oft andere Harze, Essenzen oder Teile anderer Pflanzen sowie Farb- und Aromastoffe zugesetzt.

1.1.1 Harzliefernde Pflanzen der *Burseraceae*-Familie

Die Familie der Balsambaumgewächse (*Burseraceae*, Ordnung: *Sapindales*) gliedert sich in 18 Gattungen mit etwa 700 Arten. Es handelt sich dabei durchweg um Bäume oder buschartige Gewächse, die in den trockenen, (sub-)tropischen Gebieten Amerikas und Nordost-Afrikas beheimatet sind. Alle *Burseraceae* bilden Harze, die sich in Geruch, Konsistenz, Gummianteil und Farbe deutlich von anderen pflanzlichen Harzen wie Kolophonium, Peru- und Tolubalsam oder Mastix unterscheiden. Gemeinsam ist ihnen der intensive Geruch, die z. T. hoch substituierten und oft speziestypischen Triterpenoide und die Tatsache, dass die meisten als rezente (nicht fossile) Harze zu den erneuerbaren Rohstoffen gehören.

Von den Burseraceen sind nur wenige Spezies von wirtschaftlicher Bedeutung, wie Tab. 2 zeigt. In jedem der drei Familienzweige (*Canarieae*, *Protieae*, *Bursereae*) ist ein Kosmopolit zu finden (im Falle der *Bursereae* die Gattung *Commiphora*), andere Gattungen sind oft lokal begrenzt verbreitet.

Tab. 2: Wichtiger Vertreter der Familie *Burseraceae* und genutzte Pflanzenteile.^[10-13]

Gattung	Arten	Verwendete Pflanzenteile
<i>Aucoumea</i>	<i>A. klaineana</i>	Holz
<i>Boswellia</i>	<i>B. frereana</i> <i>B. serrata</i> <i>B. sacra</i> und weitere (ca. 18, s. Tab. 3 auf S. 5)	Weihrauchharz, z. T. Holz und elemiartiges Harz
<i>Bursera</i>	<i>B. aloexylon</i> <i>B. penicillata</i> <i>B. simaruba</i> und weitere (ca. 100)	Elemiartiges Harz, Kopale, etherische Öle
<i>Canarium</i>	<i>C. album</i> <i>C. luzonicum</i> <i>C. strictum</i> <i>C. schweinfurthii</i> und weitere (ca. 105)	Holz, elemiartiges Harz, Früchte, etherische Öle
<i>Commiphora</i>	<i>C. africana</i> <i>C. mukul</i> <i>C. myrrha</i> <i>C. opobalsamum</i> und weitere (ca. 190)	Myrrhe-/Bdelliumharze, elemiartige Harze, ganze Pflanzen als „lebende Zäune“
<i>Garuga</i>	<i>G. pinnata</i>	Früchte, Holz
<i>Protium</i>	<i>P. serratum</i> <i>P. copal</i> <i>P. cubense</i> <i>P. heptaphyllum</i> und weitere (ca. 150)	Elemiartige Harze, Kopale, Holz

1.1.2 Weihrauchharz

Dem durchschnittlichen Europäer ruft der Begriff „Weihrauch“ oft ein wenig angenehmes Gerucherlebnis in religiösem Rahmen ins Gedächtnis. Apotheker und Ärzte kennen Weihrauchharz („Olibanum“) als eher historischen Bestandteil von Pflastern und neuerdings wieder als Heilmittel. Weihrauchextrakte sind auch als aromagebende Komponenten in der Parfümerie weit verbreitet,^[14] werden aber vom Verbraucher nur selten wahrgenommen. Der direkte Verzehr von Weihrauchharz dürfte sich auf das Harz von *B. frereana* beschränken, das in Somalia (als *maydi*) und anderen Ursprungsländern des Weihrauch wie Kaugummi verwendet wird.

Weihrauchharz wird ausschließlich von den Vertretern der Gattung *Boswellia* gebildet; ihre Heimat sind Indien, die südliche arabische Halbinsel (Oman, Yemen), einige Länder Afrikas (v. a. Somalia, Äthiopien, Kenia) sowie einige geografisch eng umrissene Gebiete

(Madagaskar, Socotra). Alle *Boswellia*-Arten zeichnen sich durch buschartigen bis baumähnlichen Wuchs aus, Blattwerk und Höhe der meist 3-5 m hohen Bäume variieren je nach Standort und Spezies. Weihrauchharz tritt selten spontan aus; in der Regel wird das Austreten durch Einschnitte ausgelöst. Im Falle des Weihrauchs wird die Rinde der Bäume vorsichtig angeschnitten, sodass eine zähe, balsamartige Masse austritt und an der Luft zu Tränen oder zu stalaktitenartigen Formen erstarrt. Nach mehreren Wochen wird das erstarrte Harz mithilfe des traditionellen Schabemessers (*manghaf*) von der Rinde abgekratzt. Zu tiefe Schnitte oder zu häufige Ernten beeinträchtigen die Erntemengen und können zum Absterben der Bäume führen. Infolge Wildfraß und übermäßiger Nutzung als Harz- und Holzlieferant sind viele Weihrauchvorkommen in ihrem Bestand gefährdet.^[15]

Die bedeutendsten Weihrauchharz liefernden Länder befinden sich am Horn von Afrika und auf der südlichen arabischen Halbinsel. Indisches Weihrauchharz ist in der Parfümerie und für Räucherzwecke von geringer Bedeutung, aber für medizinische Anwendungen gefragt. Verlässliche Zahlen über die Jahresproduktion, das Marktvolumen und die anteilmäßige Verwendung von Weihrauchharz in den verschiedenen Bereichen liegen nicht vor. Allein für Somalia als einem der Hauptexportländer wurde Ende der 1980er Jahre eine Jahresproduktion von 1.500-2.000 t geschätzt, wobei zusätzlich etwa die gleiche Menge illegal außer Landes geschuggelt wurde.^[7] Europaweit werden derzeit etwa 700-1.000 t pro Jahr verkauft,^[16] wovon der weitaus größte Teil in der Parfümerie und für Räucherungen verwendet wird.

Über die genaue Anzahl der *Boswellia*-Arten gibt es unterschiedliche Angaben;^[1, 7, 13, 17-20] in Tab. 3 sind alle bekannten Arten einschließlich wichtiger Synonyme aufgelistet. Eine systematische Erfassung aller *Boswellia*-Spezies mit Hilfe molekularbiologischer Methoden ist derzeit in Arbeit.^[21]

Abzugrenzen vom echten Weihrauch ist von botanischer Seite der „Weihrauch“, der in Europa als Balkon-, Hänge- und Beetpflanze verwendet wird und mit dem echten Weihrauch nur eine entfernte geruchliche und keine botanische Verwandtschaft hat. Es handelt sich dabei um den „Harfenstrauch“ (*Plectranthus forsteri* BENTH. syn. *P. coleoides*), einen Vertreter der Lamiaceen.

Vom Weihrauchharz selbst (*Olibanum*, *Thus*, engl. *incense*, in den USA meist *frankincense*) müssen Verfälschungs-, Verarbeitungs- und Veredelungsprodukte abgegrenzt werden: Der sog. „falsche Weihrauch“ ist ein Harz von weihrauchähnlichem Geruch, das aus minderwertigen Harzen (i. d. R. Fichtenharzen) durch Lagerung in Ameisenhaufen entsteht. Bei den Räuchermischungen, die in der Liturgie verschiedener Religionsgemeinschaften eingesetzt werden, handelt es sich entweder um Mischungen verschiedener Weihrauchharze mit Sortencharakter und -bezeichnung (z. B. „Aden“) oder um Weihrauchharz, das mit färbenden und parfümierenden Zusätzen versehen ist (z. B. „Balthasar“, „Palästina“, „Ascensio“). Zu Verwechslungen kann weiterhin die traditionelle indische Bezeichnung *guggul(u)* für das Harz von *B. serrata* führen, da sie auch für das Harz von *Commiphora mukul* verwendet wird.^[17] Die Bezeichnung „Elephantenbaum“ wird hingegen für *B. papyrifera*, aber auch für *Bursera*

microphylla, *Pachycormus discolor* und andere Pflanzen verwendet. Daher ist es verständlich, dass mit der Bezeichnung „Weihrauch“ ein ganzes Spektrum unterschiedlichster Produkte in Verbindung gebracht wird, das vom kulturellen Kontext abhängt. Eine widersprüchliche Benennung der Pflanzen mit botanischen, lokalen oder Trivialnamen erschweren auch heute noch die Identifizierung der einzelnen Spezies.

Tab. 3: Die wichtigsten *Boswellia*-Spezies nach geografischer Verbreitung.^{[2, 7, 11, 22-27][28]} Bei mehreren botanischen Bezeichnungen ist die jeweils erste die akzeptierte.

<i>Boswellia</i>-Spezies und Synonyme	Verbreitung	Bemerkung
<i>B. serrata</i> ROXB. <i>B. serrata</i> STACHH. <i>B. serrata</i> ROXB. <i>B. thurifera</i> COLEBR. <i>B. glabra</i> ROXB. <i>Canarium balsamiferum</i> und viele weitere	N- und Zentralindien	Wichtiger Harzliefere- rant; bei medizinischen Behandlungen vorherr- schend, für Räucherun- gen weniger verbreitet
<i>B. ovalifoliata</i> BAL.& HENRY	S-Indien	
<i>B. ameero</i> BALF. F.	Socotra	
<i>B. bullata</i> THULIN		
<i>B. dioscoridis</i> THULIN		
<i>B. elongata</i> BALF. F.		
<i>B. popoviana</i> HEPPER		
<i>B. socotrana</i> BALF. F.		
<i>B. sacra</i> FLÜCK. <i>B. carteri</i> BIRDW. <i>B. bhau-dajiana</i> BIRDW.	N-Somalia, S-Oman (Dhofar), S-Yemen (Hadramaut)	Wichtiger Harzlieferant
<i>B. frereana</i> BIRDW.	N-Somalia	Wichtiger Harzlieferant
<i>B. papyrifera</i> (DEL.) HOCHST. <i>B. floribunda</i> ROYLE <i>B. odorata</i> HUTCH. <i>B. microphylla</i> CHIOV.	Nigeria, Äthiopien, Kamerun, Zentralafri- kanische Republik, NO-Uganda, Tschad, Eritrea	Wichtiger Harzlieferant
<i>B. dalzielli</i> HUTCH.	Burkina Faso, Zentral- afrikanische Republik, N-Nigeria, Kamerun	
<i>B. neglecta</i> S. MOORE	O-Äthiopien, Somalia, NO-Tansania, Kenia, NO-Uganda	
<i>B. ogadensis</i> VOLLESEN	O-Äthiopien	
<i>B. pirottae</i> CHIOV.	Äthiopien	
<i>B. rivae</i> ENGL.	O-Äthiopien, Somalia, NO-Kenia	
<i>B. madagascariensis</i> CAPURON	N-Madagaskar	
<i>B. nana</i> HEPPER	Socotra	Status als eigenständige Spezies unklar

Eine Sonderstellung unter den Weihrauchprodukten nehmen der „griechische“ Weihrauch („byzantinischer Weihrauch“) und Kyphi ein. „Griechischer Weihrauch“ wurde ursprünglich nur in der Region um den Berg Athos hergestellt und ist inzwischen in ganz Griechenland erhältlich: Durch Vermischen gemahlener Weihrauchharze mit farb- und aromagebenden Zusätzen (etherische Öle), Auswalzen der Mischung und Zuschneiden der Masse auf Erbsengröße entsteht ein intensiv riechendes Produkt. Es hat in Farbe und Geruch kaum noch Ähnlichkeit mit dem Ausgangsharz, das hier vorwiegend als Trägermaterial zur Aufnahme und Fixierung von Duftstoffen dient.

Kyphi ist ein Räuchermittel, das bereits in altägyptischen Schriften erwähnt wird und als älteste tradierte Räuchermischung gelten kann. Es wird in einer langwierigen und aufwändigen Prozedur auf Basis von Wein und Honig mit aromatischen Harzen (u. a. Weihrauch, Mastix, Myrrhe) und weiteren pflanzlichen Bestandteilen wie Zypergras, Calmuswurzel und Wacholderbeeren hergestellt.^[29] Diesen Aufwand mit oft mehr als einem Dutzend teurer Bestandteile betreiben heute nur noch wenige Händler, weswegen die meisten im Handel erhältlichen Kyphi-Mischungen wenig mit dem historischen Original zu tun haben.

Natürlich gibt es abgesehen von diesen zwei traditionellen Verarbeitungsprodukten zahllose Produkte mit Weihrauch als Bestandteil, sei dieser nun als Harz, etherisches Öl oder als andere Zubereitung enthalten. „Weihrauch“ bezeichnet im Falle der Verarbeitungsprodukte daher oft ein Verarbeitungsprodukt des Harzes und nicht der Pflanze. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird zur Vermeidung von Missverständnissen immer explizit vom „Weihrauchharz“ oder „Olibanum“ als dem unveränderten Harz einer *Boswellia*-Spezies gesprochen, während mit „Weihrauch“ immer die Pflanze an sich oder eine *Boswellia*-Art gemeint ist.

1.1.2.1 Chemie des Weihrauchharzes, insbesondere der sauren Bestandteile

Pflanzliche Harze und damit auch Weihrauchharz werden bereits seit mehreren Jahrtausenden gesammelt, verarbeitet, gehandelt und mannigfaltig verwendet. Untersuchungen zu ihrer Chemie gehen bis in die Anfänge der wissenschaftlichen Chemie zurück (siehe Tschirch^[3], Tschirch und Halbey^[30] und darin zitierte Literatur) und haben aufgrund der Komplexität des Untersuchungsgegenstandes erst in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts an Intensität zugenommen.

Die ersten grundlegenden Untersuchungen von Weihrauchharz und Harzen anderer Pflanzen sind untrennbar mit dem Namen Alexander Tschirchs (1865-1939) verbunden, der mit seinen Mitarbeitern eine Reihe von Untersuchungen zu pflanzlichen Harzen durchführte. Dabei sind diejenigen im Rahmen der Serie „Untersuchungen über die Sekrete“ im „Archiv der Pharmazie“ (1892-1899^[31]) und das Werk „Die Harze und die Harzbehälter“^[3] (mehrere Auflagen ab 1900) als die bedeutendsten zu nennen.

Die erste systematische Arbeit zu sauren Komponenten im Weihrauch erschien 1898: Halbey erhielt durch alkoholisches Extrahieren von Weihrauchharz, Isolieren der Säurefraktion durch Ausschütteln der etherischen Lösung mit Sodalösung und wiederholtes Umfällen des isolierten Rohproduktes „Boswellinsäure“.^[30, 32] Die so gewonnene Verbindung schmolz

bei 142-150 °C und wurde von den Autoren als einbasige Säure der Summenformel $C_{32}H_{52}O_4$ ohne freie Hydroxylgruppe charakterisiert.^[33] Winterstein und Stein^[34] isolierten aus der nach Halbey gewonnenen „Boswellinsäure“ erstmals β -Boswelliasäure (β -BA) **1**, 3-O-Acetyl- β -boswelliasäure (β -ABA) **2** und deren Isomere α -Boswelliasäure (α -BA) **3** und 3-O-Acetyl- α -boswelliasäure (α -ABA) **4** als Reinsubstanzen. Neben Schmelzpunkt und Drehvermögen bestimmten die beiden Autoren auch die korrekte Summenformel mit $C_{32}H_{50}O_4$.

Simpson^[35] ordnete „Boswellinsäure“ (= β -Boswelliasäure **1**) in die Reihe der β -Hydroxy-Säuren ein, da die freie Säure bei der Oxidation mit Chrom(VI)oxid ein Monoketon, der Methylester hingegen den Ketoester liefert. Der Nachweis der Boswelliasäuren als Derivate des α - und β -Amyrins^[36, 37] vereinfachte die systematische Untersuchung der Triterpene und die Übertragung von Ergebnissen der Amyrinderivate auf diejenigen der Boswelliasäuren. Barton *et al.*^[38] ermittelten in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts die Konfiguration der OH-Gruppe (α) und der Säurefunktion (β). Auch die widersprüchlichen Angaben zum optischen Drehvermögen der β -Boswelliasäure **1** wurde von diesen Autoren geklärt: Sie zeigten, dass im etherischen Weihrauchextrakt der Vorläufer einer stark rechtsdrehenden Verbindung vorliegt, die je nach Art der Behandlung (Wärmezufuhr, Säurezusatz, Reaktionsdauer) des Weihrauchharzes in unterschiedlichem Maße entsteht. Diese Verbindung, die 3-Acetyl-9,11-Dehydro- β -boswelliasäure **5**, ist identisch mit der zuvor von Trost^[39] gefundenen „ γ -Boswelliasäure“.

Die Strukturaufklärung wurde in den darauffolgenden Jahren durch die Einführung der Massenspektrometrie erheblich beschleunigt. So veröffentlichten Budzikiewicz *et al.*^[40] im Jahr 1963 massenspektrometrische Daten zu einer Reihe von Amyrinderivaten. Darunter befand sich zwar nur ein einziges (nicht natürliches) Boswelliasäurederivat, aber die von den Autoren systematisch untersuchten Fragmentierungsreaktionen zeigten je nach Lage der Doppelbindung(en) und Substituierung der Ringe charakteristische Muster. Diese werden auch heute noch bei der Zuordnung des Stammgerüsts unbekannter Triterpene herangezogen. Die erste massenspektrometrische Untersuchung zu Boswelliasäuren stammt von Pardhy und Bhattacharyya,^[41] Hairfield *et al.*^[42] unterschieden mit dieser Technik zwischen verschiedenen *Boswellia*-Spezies (s. Kap.1.2).

In den 1960er und 1970er Jahren wurde die Gruppe der bekannten Boswelliasäuren durch Corsano und Iavarone,^[43] Savoie *et al.*^[44-46] und Pardhy und Bhattacharyya^[41] um die beiden Boswelliasäuren mit einer 11-Keto-Funktion (11-Keto- β -boswelliasäure (β -KBA) **6** und 3-Acetyl-11-keto- β -boswelliasäure (β -AKBA) **7**) erweitert und einige charakteristische 1H - und ^{13}C -NMR-Verschiebungen veröffentlicht. In den 1990er Jahren konnte in der Arbeitsgruppe um Ammon der Mechanismus der Bildung der 3-Acetyl-9,11-Dehydro- β -boswelliasäure **5** aufgeklärt werden, die zu den oben beschriebenen Diskrepanzen in der Literatur geführt hatte.^[47]

Die Strukturaufklärung wurde einerseits durch die Veröffentlichungen der Röntgenstrukturen von β -AKBA **7**^[48] und β -ABA **2**^[49] und andererseits durch die Veröffentlichung der NMR-Verschiebungen komplettiert. Nachdem über 20 Jahre nur die Verschiebungen von H-3 und H-12 gesichert waren, veröffentlichten Culioli *et al.*^[50] vor kurzem den ersten kompletten

Datensatz für ^1H - und ^{13}C -NMR-Verschiebungen von α - und β -Boswelliasäure **1+3**, und kurz darauf folgte der erste NMR-Datensatz von 3-Acetyl- β -boswelliasäure **2** und 3-Acetyl-11-keto- β -boswelliasäure **7** von Belsner *et al.*^[51]

Die Boswelliasäuren gehören zur umfangreichen Gruppe der Triterpenoide. Triterpensäuren kommen frei oder als Saponine mit glykosidisch gebundenen Zuckern in einer Vielzahl von Pflanzen vor,^[52-56] wobei sie durch die Mannigfaltigkeit der Gerüste^[57] und die variable und z. T. hohe Funktionalisierung eine große Bandbreite chemischer Eigenschaften aufweisen. Ebenso wie Triterpene allgemein pharmakologische Wirkungen zeigen (Entzündungshemmung,^[58-70] Arthritis (im Tiermodell),^[71-75] antivirale Wirkung^[76] und Schmerzlinderung^[64, 77-82]), werden diese pharmakologischen Wirkungen auch bei den Triterpensäuren und ihren Derivaten beobachtet, von denen eine Auswahl in Abb. 1 gezeigt wird. Triterpensäuren können wie ihre Alkohole ubiquitär (α -/ β -Amyrin, Lupeol) oder nur in einem kleinen Ausschnitt der Pflanzenwelt vorkommen.

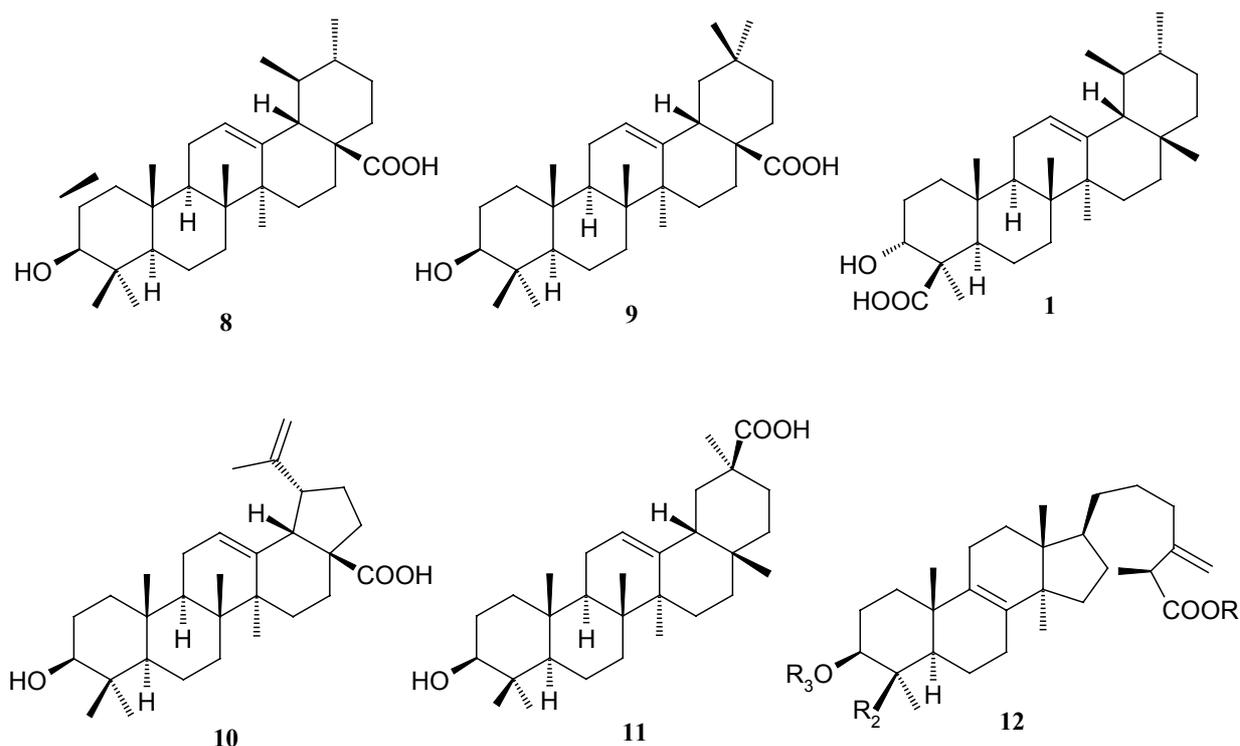


Abb. 1: Triterpensäuren mit pharmakologischen Eigenschaften (Auswahl). Ursolsäure **8**,^[83-86] Oleanolsäure **9**,^[87] β -Boswelliasäure **1**, Betulinsäure **10**,^[76, 88-90] 18 β -Glycyrrhetinsäure **11**^[91] und Polyporensäure **12** (verschiedene Reste R₁, R₂, R₃).

Boswelliasäuren mit einem Oleanan- bzw. Ursangerüst (α - bzw. β -Boswelliasäuren, Abb. 2) und ihre Derivate (Abb. 3) sind bislang ausschließlich aus dem Harz von Vertretern der Gattung *Boswellia* isoliert worden. Sie nehmen damit eine ähnlich gattungsspezifische Stellung ein wie die Commisäuren in Myrrhearten (*Commiphora* spp.), die sich von den Boswelliasäuren durch zusätzliche Hydroxygruppen am Ring A unterscheiden.

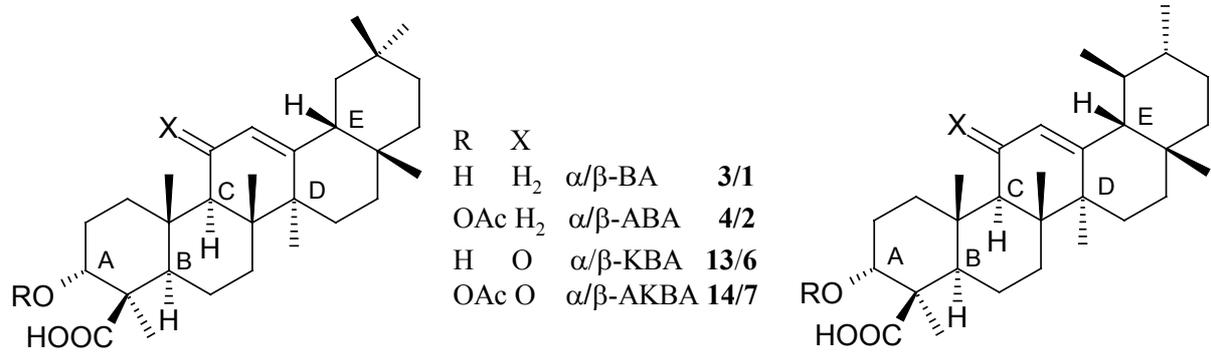


Abb. 2: Boswelliasäuren mit Oleanangerüst (α -Reihe: **3**, **4**, **13**, **14**) und Ursangerüst (β -Reihe: **1**, **2**, **6**, **7**), Hauptkomponenten der Säurefraktion im Weihrauchharz.

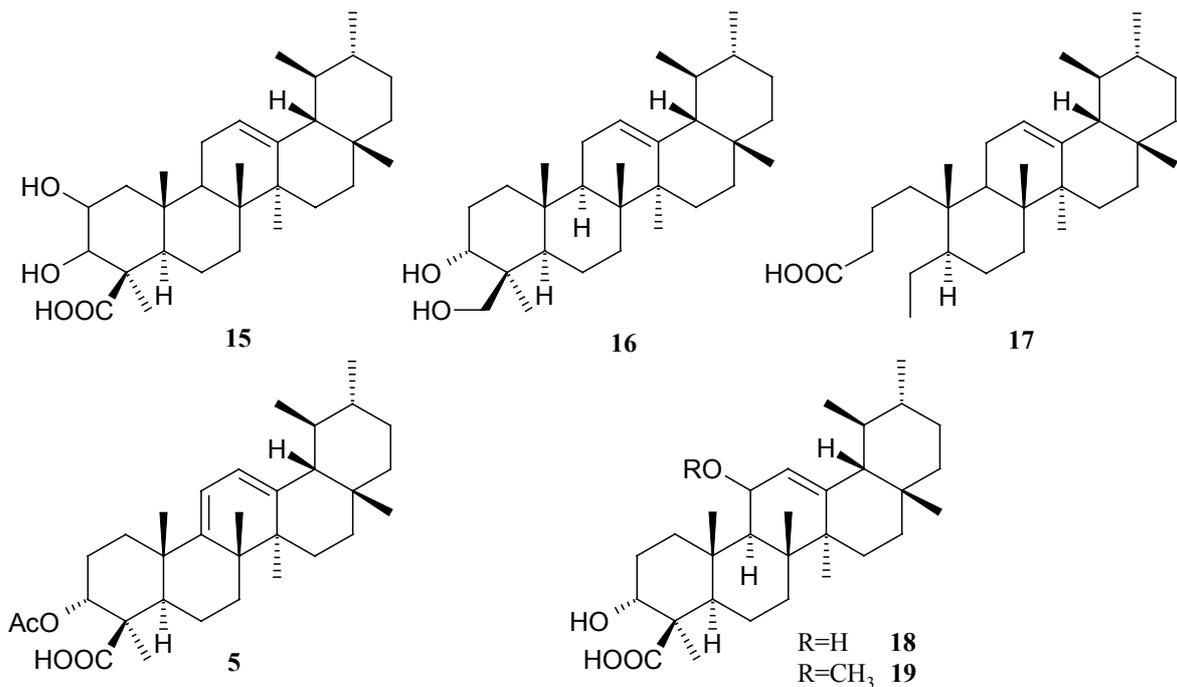


Abb. 3: Triterpene als Minorkomponenten (oben) und Aufarbeitungsartefakte (unten) im Weihrauchharz. 2-Hydroxy- β -boswelliasäure **15**, 3 α ,24-Boswelliadiol **16**, 3,24-Dihydrorobursäure **17**, 3 α -Acetyl-9,11-dehydro- β -boswelliasäure **5**, 11-Hydroxy- β -boswelliasäure **18**, 11-Methoxy- β -boswelliasäure **19**.

Neben den gattungsspezifischen Boswelliasäuren wurden in den vergangenen dreißig Jahren auch Säuren mit Tirucallan-,^[92-95] Lupan-^[50, 51, 96] und Dammarangerüst^[97] isoliert, wie sie in Abb. 4 dargestellt sind. Insgesamt machen die Triterpensäuren ca. 25-35 Gew.-% des Harzes aus.^[98, 99]

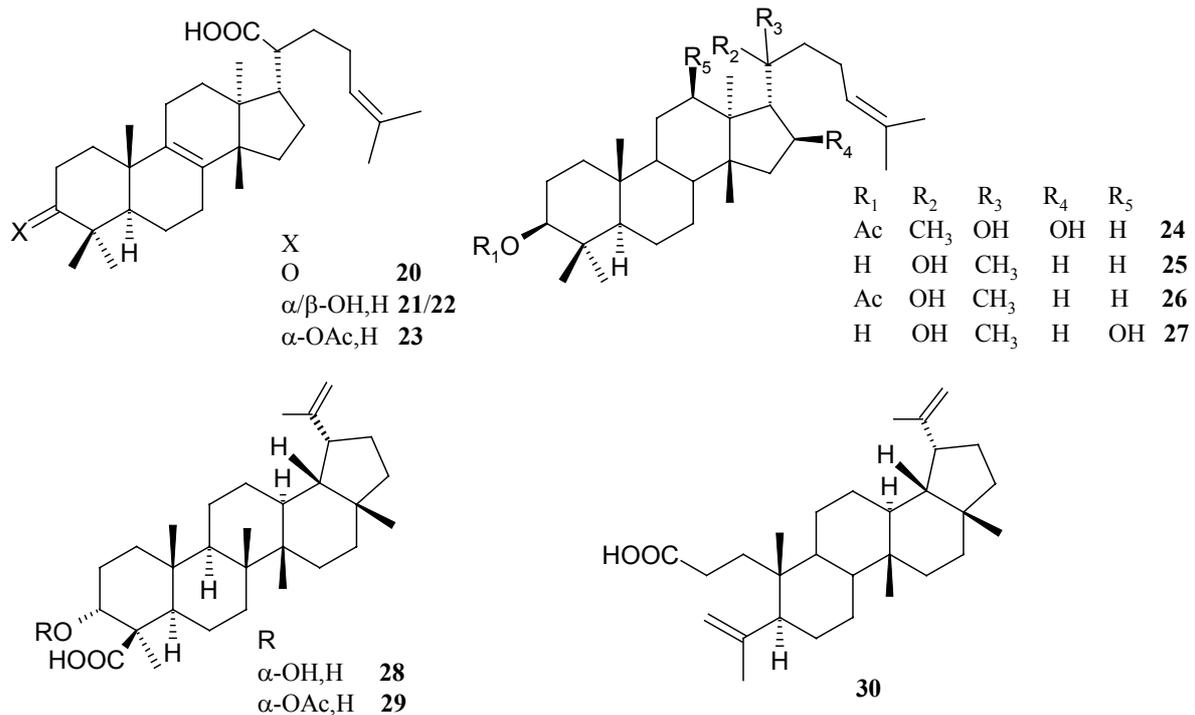


Abb. 4: Tirucallane, Dammarane und Lupane im Weihrauchharz. Oben: 3-Oxo-tirucallensäure **20**, 3α/β-Hydroxy-tirucallensäure **21/22**, 3α-Acetyl-tirucallensäure **23**, 3β-Acetyl-16,20-dihydroxydammaran **24**, 3,20-Dihydroxydammaran **25**, 3β-Acetyl-20-hydroxydammaran **26**, 20-Protopanaxadiol **27**. Unten: 3α-Hydroxy-lup-20(29)ensäure **28**, 3α-Acetyl-lup-20(29)ensäure **29**, Canariensäure^[100] **30**.

Spuren von Monoterpensäuren (Abb. 5) wurden bereits in den 1970er Jahren mittels Gas-Chromatographie (GC) identifiziert,^[101, 102] sind aber aufgrund des geringen Anteils und der geringen pharmakologischen Wirksamkeit von untergeordneter Bedeutung.

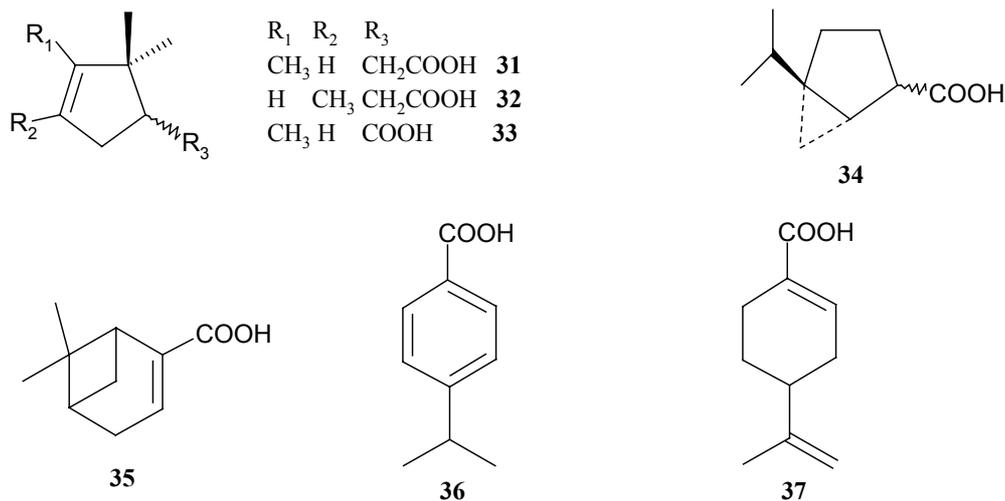


Abb. 5: Monoterpensäuren als Spurenkomponenten im Weihrauchharz. Oben: α-Campholensäure **31**, γ-Campholensäure **32**, α-Campholytsäure **33**, Thujan-10-säure **34**. Unten: Myrtensäure **35**, Cumin-säure **36**, Perillasäure **37**.

Nach derzeitigem Wissen stellen Boswelliasäuren den größten Teil der Säurefraktion im Weihrauchharz. Ein geringer Prozentsatz verteilt sich auf Derivate der Boswelliasäure wie die

Dihydrorobursäure^[103] und die im vorangegangenen Abschnitt erwähnten Säuren mit anderen Terpengerüsten. Während der flüchtige und neutrale Anteil des Weihrauchharzes verschiedenste Grundgerüste von Mono-, Sesqui-, Di- und Triterpenen aufweisen,^[104-107] sind demnach alle Säuren bis auf Spuren von Monoterpensäuren Vertreter der Triterpenreihe. Die weiteren Bestandteile des Harzes sind im Rahmen der vorliegenden Arbeit von untergeordneter Bedeutung und sollen nur vereinzelt behandelt werden. Die Verteilung der Komponenten im Weihrauchharz wird in der Literatur uneinheitlich angegeben, wie die Zusammenstellung in Tab. 4 zeigt.

Tab. 4: Anteil der Komponenten des Weihrauchharzes nach verschiedenen Autoren. *) erwähnt, aber keine quantitativen Angabe; **) +1,5 % Ester; k. A.: keine Angabe.

Quelle	ethanollöslicher Teil				ethanolunlöslicher Teil		
	saure Komponenten	nichtsaure Komponenten	etherisches Öl	Bitterstoff	Gummi	Bassorin	Pflanzenreste
Henkel ^[108] 1867	k. A.				k. A.		
	50-56 % „Harz“		4-8 %	k. A.	30-40 %	6 %	k. A.
Möller ^[4] 1889	k. A.				k. A.		
	„größere Hälfte amorphes Harz“		≤7 %	*	33 %	k. A.	k. A.
Tschirch und Halbey 1898 ^[30]	72 %						
	33 %**)	33 %	4-7 %	0,5 %	20 %	6-8 %	2-4 %
Pfaff ^[109]	k. A.				k. A.		
	56 % „Harz“		k. A.	k. A.	47 %	k. A.	k. A.
Braconnot ^[110]	k. A.				k. A.		
	56 % „Harz“		5 %	k. A.	30 % Acacin	6 %	k. A.
Kurbatoff ^[111]	k. A.				k. A.		
	72 % „Harz“		7 %	k. A.	27 %	k. A.	k. A.
Karsten und Weber ^[112] 1946	k. A.				k. A.		
	Boswellinsäure*	30 % Olibanoresen	*	*	20 % Arabin	7 %	k. A.
Manjunath ^[17] 1946	k. A., aber: 10-11 % Feuchtigkeit				4-5 % „unlöslicher Anteil“		
	55-57 % „Harz“ (<i>rosin</i>)		8-9 %	k. A.	20-23 %	k. A.	k. A.
Hagers Handbuch 1972 ^[113]	k. A.				k. A.		
	60-66% „Harz“		5-9 %	6-8 % plus 12 % „Schleim“		k. A.	
Pernet ^[18] 1972	k. A.				k. A.		
	60-65% „Harz“		5-10 %	20 %	5-8 %	k. A.	
Tücker ^[14] 1986	k. A.				k. A.		
	65-85 % „Harz“		5-9 %	k. A.	6-31 %	k. A.	k. A.

Diese Verteilung ist im Rahmen der Speziesbestimmung von Bedeutung. Daher wird auf den Umstand hingewiesen, dass es bis auf diese z. T. sehr alten Literaturquellen kaum neuere Angaben zu Anteilen von Harzbestandteilen gibt; Autoren neuerer Werke^[113-116] berufen sich auf diese älteren Arbeiten. Angesichts der natürlichen Schwankungsbreite von Naturprodukten scheint es unwahrscheinlich, dass Weihrauchharz derart konstante Werte aufweist. Eine Bestimmung dieser natürlichen Schwankungen und die Bestimmung von Durchschnittswerten für verschiedene Weihrauch-Spezies ist in der Literatur bisher nicht beschrieben.

1.1.2.2 Medizinische Verwendung von Weihrauch

Weihrauchharz und daraus hergestellte Zubereitungen werden in der traditionellen Medizin vieler Länder gegen eine Reihe von Erkrankungen eingesetzt. Die Palette der behandelten Krankheiten ist dabei äußerst breit: Tab. 5 zeigt, dass viele Teile des Weihrauchbaumes in unterschiedlicher Zubereitung eingesetzt wurden und auch heute noch Verwendung finden.

Obwohl ein Teil dieser Anwendungen eher religiösen Ursprungs ist (Opfern des wertvollen Harzes, Vertreibung von „bösen Geistern“) oder eine frühe Art der Aromatherapie darstellt, dürfte es sich bei einigen Anwendungen schon um frühe Beispiele einer rationalen Pharmakotherapie gehandelt haben: Beispielsweise wurden ethanolische Weihrauchharzlösungen zur Wundbehandlung verwendet, was durch das Verschließen der Wunde und der bakteriziden Wirkung der Monoterpene nachvollziehbar ist.

Bei der Verwendung von Weihrauchharz zu medizinischen Zwecken kann im Europa des 21. Jahrhunderts von einer Renaissance gesprochen werden. Während Olibanum bereits im 16. Jahrhundert in deutschen Apotheken zu finden^[117] und noch bis weit ins 20. Jahrhundert in vielen europäischen Pharmakopöen verzeichnet war,^[113, 118] verschwand es nach und nach aus diesen Werken.^[119] Die im nächsten Abschnitt geschilderten Studien und ein allgemein gestiegenes Interesse an pflanzlichen Heilmitteln haben zu einem erneuten Interesse am Weihrauch geführt. Dennoch ist derzeit in keinem Land der Europäischen Union ein Medikament auf Weihrauchbasis zugelassen. Für die Exportvariante des indischen Medikaments H15 (Gufic Ltd., Bombay/Indien) liegt zwar die Zulassung für einen Kanton in der Schweiz vor, die aber von den deutschen Behörden nicht als Voraussetzung für eine Einfuhr gemäß § 73 Arzneimittelgesetz (AMG) akzeptiert wird.^[120]

Ebenfalls als Wiederentdeckung kann die Verwendung von Weihrauchextrakten in kosmetischen Zubereitungen gelten. Welchen Anteil der Weihrauchextrakt jedoch an der Gesamtwirkung des Kosmetikums hat, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden.

Neueren Datums ist in Europa die Verwendung des Weihrauchs als Lebensmittel, wobei dieser Einsatz aus lebensmittelrechtlicher und pharmakologischer Sicht als fragwürdig angesehen wird. Viele Produkte mit Weihrauchanteil werden als Nahrungsergänzungsmittel (NEM) verwendet und fallen damit unter das Lebensmittelrecht. Ein Genussaspekt des Harzes ist nach § 1 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) aufgrund der sandartigen und eher unangenehmen Konsistenz vieler Weihrauchharze als nicht vorhanden zu werten.^[121] Weihrauchextrakte, die als Bestandteile von Nahrungsergänzungsmitteln eingesetzt werden, sind auch keine nennenswerten Lieferanten von Mineralstoffen, Vitaminen oder anderen Nährstoffen, sodass auch der Ernährungsaspekt nach § 1 LMBG entfällt. Die Anpreisung und

Aufmachung der betreffenden Produkte in Ratgebern^[122-124] und durch die Vertreiber^[125] verstärken den Eindruck, dass diese Weihrauchprodukte vorwiegend als gesundheitsfördernd bzw. krankheitsbekämpfend vermarktet und auch vom Laien so eingeschätzt werden. Lebensmittel mit Weihrauch(extrakten) als hauptsächlicher und nicht nur aromagebender Komponente sind daher vom Verwendungszweck her eindeutig als Arzneimittel und die betreffenden Produkte als Arzneimittel ohne Zulassung zu bewerten.

Tab. 5: Historische und moderne medizinische Verwendung von Teilen des Weihrauchbaumes.^[126]

<i>Boswellia</i>-Spezies	Pflanzenteil	Verwendung
verschiedene	Harz	Viele Länder: Räucherung, ^[4, 108, 115, 116] Asthma, Uterusleiden, in Pflastern und Salben; ^[113] Haut- und Blutkrankheiten, Fieber, Schlangenbisse, Krämpfe, und viele weitere Krankheiten(>30); ^[19] Katarrh, Ausschlag; ^[127] Pflasterherstellung ^[4, 108, 112, 115, 127]
	Rinde	Indien: Asthma, Dysenterie, Geschwüre, Hautkrankheiten, „zur Blutreinigung“ ^[19]
	Früchte, Blüten	Leukodermie, Hämorrhoiden ^[19]
<i>B. serrata</i>	Harz	Indien: Rheuma, ^[17] „Nervenleiden“; ^[17] Diabetes; ^[128] Magenbeschwerden, Haut-, Lungen- und weitere Krankheiten (>10); ^[128] Durchfall, Dysenterie, Lungen- und Hauterkrankungen, Fieber, Geschwüre und weitere Krankheiten (>10) ^[26]
	Rinde	Indien: Epilepsie, Leukodermie, Rippenfellentzündung, Schlangenbisse, Wundbehandlung, Erkältungen, weitere (>10) Krankheiten; ^[128] Durchfall, Hauterkrankungen ^[26]
	Blätter	Indien: Wundbehandlung, Augenkrankheiten ^[128]
	Samen	Indien: Schlangenbisse, Haarwuchsmittel ^[128]
	Ganze Pflanze	Indien: Antiseptikum ^[128]
<i>B. sacra</i>	Harz	Afrika: Husten, als Diuretikum, verräuchert als Expektorans; ^[129] als Diuretikum, Bilharziose, Syphilis, Magenschmerzen ^[18]
<i>B. dalzielli</i>	Ganze Pflanze	Afrika: Wundbehandlung ^[129]
	Blätter, Wurzelrinde	Afrika: Irrsinn ^[129]
	Rinde	Afrika: Windpocken, Schlangenbisse, Magen-Darm-Beschwerden, Fieber, Rheuma, Schmerzen, Schwindel; ^[129] Dysenterie ^[18]
	Wurzel	Afrika: Syphilis ^[129]
	Wurzel, Rinde	Afrika: Gegenmittel bei Pfeilgiften, Emetikum ^[129]
	Harz	Afrika: als Antiseptikum ^[18]
<i>B. microphylla</i> ^[130]	Wurzel	Somalia: Durchfall ^[131]
<i>B. neglecta</i>	Wurzel	Gonorrhö, als Diuretikum ^[129]
<i>B. ovalifoliolata</i>	Stamm(rinde)	Indien: Hydrozele, Entzündungen, Schwellungen, Magengeschwüre ^[26]

Obwohl das Räuchern zu zeremoniellen Zwecken in Europa eher im religiösen Rahmen zu finden war, findet auch die Verräucherung von Weihrauch zu anderen Zwecken wieder Interesse (mit fließendem Übergang zur Aromatherapie).^[132]

1.1.2.3 Pharmakologische Wirkung von Weihrauchinhaltsstoffen

Die Triterpene sind eine umfangreiche Familie von Naturstoffen; ihre mehr als 4.000 Vertreter weisen bis auf gemeinsame Biosynthesewege kaum Ähnlichkeiten auf. Grundgerüst, Grad und Art der Funktionalisierung und damit die chemischen Eigenschaften unterscheiden sich beträchtlich und so auch ihre pharmakologischen Wirkungen wie Entzündungshemmung^[67, 68, 87, 133] oder Leberschutz^[87, 134, 135] bei geringer oder fehlender Toxizität. Die Forschungen der letzten zwei Jahrzehnte haben zu einer Fülle von Erkenntnissen über die Wirkung und die klinische Anwendung von Weihrauchextrakten geführt. Besonderer Augenmerk galt dabei den Boswelliasäuren als den gattungsbestimmenden Inhaltsstoffen.

Die Inhibierung der 5-Lipoxygenase (5-LOX) war die erste veröffentlichte, pharmakologisch bedeutsame Wirkung der Boswelliasäuren,^[136, 137] ausgehend von dieser Entdeckung klärten Ammon und Mitarbeiter unter anderem den Wirkmechanismus der 5-LOX-Inhibierung und die strukturellen Voraussetzungen für eine effektive Inhibierung auf.^[138-141]

Die 5-Lipoxygenase ist ein Schlüsselenzym beim Entzündungsgeschehen. Auf chemische oder physikalische Schädigung reagiert das betroffene Gewebe mit den für Entzündungen charakteristischen Symptomen, d. h. es rötet und erwärmt sich (*rubor, calor*), es schwillt an (*tumor*), schmerzt (*dolor*) und ist in seiner Funktion eingeschränkt (*functio laesa*). Als Auslöser und bei der Erhaltung von Entzündungen als körpereigene Abwehrreaktion spielen Gewebshormone, sog. Lipid-Mediatoren, eine entscheidende Rolle.^[142-144] Sie werden aus Arachidonsäure gebildet, die in biologischen Membranen verestert vorliegt und auf einen Entzündungsreiz hin von Phospholipasen freigesetzt wird. Die freie Säure wird dann zu Lipid-Mediatoren umgesetzt: Cyclooxygenasen (COX) liefern Prostaglandine und Thromboxane, während die 5-Lipoxygenase (5-LOX) Leukotriene produziert. Die vier wichtigsten β -Boswelliasäuren **1,2,6,7** hemmen die 5-Lipoxygenase mit IC_{50} -Konzentrationen von 1,5-7 μM ^[137] und zählen zu den spezifischen Nicht-Redox-Inhibitoren.^[136, 145, 146] Die für die anti-inflammatorische Wirkung notwendigen Strukturelemente (lipophile Gruppe an C-4, 11-Keto-Funktion, freie Säure) und der genaue Mechanismus^[139, 147] sind ebenso geklärt wie die Wirkung im Tier;^[148] β -AKBA **7** zeigt die stärkste 5-LOX-Inhibierung der vier β -Boswelliasäuren. Grundsätzlich wird die 5-Lipoxygenase als lohnendes Ziel für die Entzündungshemmung angesehen, zumal Patienten bei vielen Krankheiten erhöhte Leukotrienspiegel zeigen.^[142, 149] Reine 5-LOX-Inhibitoren wurden aber bislang nur mit mäßigem Erfolg entwickelt;^[150-152] erst duale 5-LOX/COX-Inhibitoren scheinen die entzündungshemmende Wirkung bei gleichzeitig guter Verträglichkeit zu gewährleisten.^[153-155]

Neueren Datums ist die Entdeckung der Inhibierung der Topoisomerasen I und IIa durch die Boswelliasäuren^[156, 157] und deren Beeinflussung des MAP-Kinase-Signalweges.^[158] Weitere Effekte der Boswelliasäuren mit potenzieller medizinischer Bedeutung sind ihre anti-

tumor- und antikarzinogene Wirkung,^[159] die antiproliferative Wirkung bei einigen Krebszelllinien,^[99, 160-167] die Verhinderung der Abstoßung von Implantaten^[168] sowie die Hemmung der Elastase in menschlichen Leukozyten.^[169-171]

Die im vorhergehenden Abschnitt genannten pharmakologischen Wirkungen der Boswelliasäuren lassen prinzipiell an eine breite praktische Anwendung von Weihrauchextrakten denken, und in präklinischen Studien haben sie keine nennenswerten Nebenwirkungen gezeigt; jedoch ist der Forschungsstand auf dem klinischen Gebiet lückenhaft und hat z. T. die Erwartungen nicht erfüllt.

Das am eingehendsten erforschte Gebiet ist das der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. Beide Krankheiten sind durch unklare Krankheitsentstehung und chronischen Verlauf mit wechselhafter Schwere gekennzeichnet.^[172-176] Die Komplikationen und derzeit unbefriedigenden Therapiemöglichkeiten sind Anlass, nach Erweiterungen der derzeitigen Therapie zu suchen.^[177, 178] Die klinischen Studien zur Anwendung von Weihrauchharz-Extrakten bei Colitis ulcerosa sind von unterschiedlicher Qualität^[179, 180] und bedürfen einer weiteren Klärung. Zum Einsatz von Weihrauchpräparaten bei Morbus Crohn liegen dagegen Ergebnisse zur direkten Wirkung^[181, 182] und Lebensqualität^[183] vor und konstatieren bei beiden Aspekten eine Verbesserung.

Bei der klinischen Untersuchung anderer Krankheiten liegen meist wenige (Pilot-)Studien mit positivem (Bronchialasthma^[184], Palliativtherapie bei Gehirntumoren^[185]) oder gar negativem Ausgang (Polyarthrit^[186]) vor. Eine Studie zur Osteoarthritis^[187] kann nicht zur Bewertung herangezogen werden, da eine Mischung von Teilen verschiedener Pflanzen, Zink und dem Stamm von *B. serrata* zum Einsatz kamen.^[188]

Viele (prä)klinische Untersuchungen wurden mit dem in Kap. 1.1.2.2 erwähnten Präparat H15 durchgeführt, das aus dem Harz des indischen Weihrauchbaumes (*B. serrata*) hergestellt wird. Andere Forschergruppen verwendeten reine Boswelliasäuren, grob aufgereinigte Boswelliasäuren (z. B. BC-4),^[163, 167] selbst hergestellte Weihrauchextrakte oder homöopathische Medikamente.^[168] Angaben zur Weihrauchspezies fehlen häufig und sind nicht gesichert. Die Uneinheitlichkeit der verwendeten Weihrauchzubereitungen verhindert die Vergleichbarkeit der Studien.

H15 (auf herstellereigenen Plantagen von *B. serrata* gewonnen) scheint nach Untersuchungen von Ennet *et al.*^[98] gewissermaßen „von Natur aus standardisiert“ zu sein. HPLC- und Dünnschicht-Chromatogramme zeigen weitgehend konstante Boswelliasäure-Gehalte über viele Chargen hinweg, sodass bei *B. serrata* (und möglicherweise auch den anderen Arten) von einem konstanten Wirkstoffgehalt ausgegangen werden kann. Dennoch ist weitgehend ungeklärt, ob dieses Präparat, der Gesamtextrakt oder diese Spezies das Wirkoptimum liefert. Darüber hinaus erschwert die unterschiedliche Wirksamkeit der Säuren eine klare Aussage. So sinkt beispielsweise die Hemmwirkung auf 5-Lipoxygenase in der Reihe β -AKBA **7** > β -KBA **6** > β -BA **1**,^[139] jedoch hemmt β -ABA **2** hemmt die menschlichen Topoisomerasen I und IIa stärker als β -AKBA **7**.^[157] Ein Hemmschuh bei der intensiveren Erforschung des Wirkprofils der Boswelliasäuren ist die bis vor wenigen Jahren mangelnde Verfügbarkeit großer Mengen von Boswelliasäure-Referenzsubstanzen bzw. heute der hohe Preis dieser Verbindungen.

Bei *in vitro*- und klinischen Untersuchungen stellt sich oft die Frage, welche Komponenten des Weihrauchextraktes für die Wirkung verantwortlich sind. Zwar sind bislang allein die Boswelliasäuren als aktive Inhaltsstoffe identifiziert worden, aber prinzipiell sind weitere aktive Inhaltsstoffe nicht auszuschließen. Auch eine gegenseitige synergistische Verstärkung der Boswelliasäuren in Mischung oder durch natürliche Begleitstoffe ist möglich und *in vitro* bereits beobachtet,^[165] aber bislang nicht eingehender beschrieben worden.

Patienten mit oben genannten Krankheiten können derzeit nur begrenzt Hoffnung in eine Therapie mit Weihrauch setzen. Selbst bei der derzeit aussichtsreichsten Indikation, den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, hat die Behandlung mit Weihrauchextrakten noch nicht Eingang in die Standardtherapie gefunden.

1.2 Identifizierung der verschiedenen Weihrauch-Arten

Wie in Kap. 1.1.2 dargelegt, ist die Frage nach der genauen Anzahl der *Boswellia*-Arten derzeit nicht abschließend beantwortet. Über Zahl und Identität der wichtigsten harzliefernden Spezies aber besteht Einigkeit: *B. serrata*, *B. sacra*, *B. papyrifera* und *B. frereana*.

Pflanzen dieser Arten können aufgrund anatomischer Unterschiede gut voneinander unterschieden werden; allerdings sind auch erhebliche Variationen innerhalb eine Spezies beobachtet worden.^[15, 23] Molekularbiologische Verfahren sind hier erheblich sicherer, und auch der Geruch der reinen Harze ist für eine Unterscheidung oft ausreichend. Allerdings geben viele Harzproben Probleme bei der Spezies-Identifizierung auf, wie sie in Tab. 6 zusammengefasst sind.

Tab. 6: Probleme bei der Identifizierung der Weihrauchspezies anhand des Harzes.

Art der Probe	Problem	Häufigkeit
Handelsprobe	Keine Angaben zur Spezies	Oft
Mischung von Weihrauchsorten	Speziesbestimmung nach Geruch nicht möglich	Oft
Mischung von Weihrauchharz mit anderen Harzen	Andere Harze bringen unspezifische Komponenten ein oder täuschen Weihrauchkomponente vor	Unbekannt (Verfälschungspotenzial)
Alte Proben	Umsetzungen, Verlust flüchtiger Verbindungen	Bei historischen Proben
Veredelungsprodukte (byzantinischer Weihrauch, Räuchermissionen)	Zugesetzte Aroma- und Farbstoffe und Pflanzenteile bringen unspezifische Komponenten ein oder täuschen Weihrauchkomponenten vor	Oft
Extrakte, Medikamente	Bestandteile anderer Pflanzen und Hilfsstoffe	Oft

Die Frage nach der genauen Anzahl der *Boswellia*-Spezies und die fehlende Angabe bzw. Absicherung der Spezies in der Fachliteratur ist in vielerlei Hinsicht von Bedeutung:

- Verbraucher können getäuscht werden, wenn ein Produkt keinen oder für den geplanten Zweck minderwertigen Weihrauch enthält. Der Wechsel der *Boswellia*-Art bei der Zubereitung von Räuchermischungen kann beispielsweise zur Unzufriedenheit bei Kunden führen.^[42]
- Händler bieten oft Weihrauchharz- oder Räuchermischungen mit Sortencharakter an. Bei Lieferengpässen müssen sie auf Weihrauchharz aus anderen Ländern ausweichen. Um dadurch den geruchlichen Charakter der Mischung nicht zu verändern, sollte dieselbe *Boswellia*-Spezies wie zuvor verwendet werden.
- Einige Lieferanten von Weihrauchharzen möchten speziesreinen Weihrauch anbieten, was aber nur bei einer eindeutigen Identifizierung möglich ist.
- Pharmazeuten und Mediziner benötigen für *in-vitro*- und klinische Untersuchungen Harze von definierter Identität und hoher Qualität. Anderenfalls ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse nicht gesichert.

Die Frage der Speziesidentifizierung hat zwei Aspekte: den botanischen und den analytischen. Wie bereits im vorhergehenden Abschnitt dargelegt, besteht zumindest über die Zahl der wichtigen *Boswellia*-Arten Einigkeit. Sicher kann die Gesamtzahl der *Boswellia*-Spezies (Tab. 3) durch molekulargenetische Untersuchungen ermittelt werden; erste derartige Untersuchungen zu Burseraceen^[13] liegen bereits vor, und weitere zur Gattung *Boswellia* sind derzeit im Gange.^[189] Derartige Untersuchungen sind jedoch häufig mangels DNA-Material in der vorliegenden Harzprobe nicht durchführbar und in den meisten Situationen außerhalb der analytischen Möglichkeiten. Daher wird seit dem Beginn der wissenschaftlichen Erforschung des Weihrauchs nach chemisch-analytischen Methoden zur Spezies- und Qualitätsbestimmung gesucht.

Alte Arzneibücher und Lehrbücher charakterisieren das Weihrauchharz durch Farbe, Form, Verhalten gegenüber Lösungsmitteln und ähnlichen physikochemischen Methoden, von denen einige in Tab. 7 aufgeführt sind. Zwar sind die einzelnen Ergebnisse nicht spezifisch für Weihrauchharz und treffen oft auf andere Harze zu; in der Summe ergeben sie jedoch ein charakteristisches Muster und haben sich somit bis heute erhalten. Spezielle rechtliche Vorgaben für Weihrauchharz gibt es nicht, und auch der Handel ordnet Weihrauchharz nach historischen Kategorien wie Geruch, Größe, Farbe und Verunreinigungen. Analytisch-chemische Untersuchungen sind für den Handel zwar prinzipiell möglich, aber derzeit zu aufwändig.^[190]

Bis ins 20. Jahrhundert hinein war allerdings nur „afrikanischer“, „arabischer“ oder „indischer“ Weihrauch bekannt, wobei die Speziesfrage noch völlig unerforscht war. Angaben aus alten Werken können also nur mit Einschränkungen zur Beurteilung moderner Harzproben herangezogen werden. Winterstein und Stein, Tschirch und andere Autoren bis in die Gegenwart verwenden fast durchweg Handelsproben, zu deren botanischen Ursprung entweder keine oder nur unsichere Angaben vorlagen.

Tab. 7: Identifizierung und Qualitätsbeurteilung von Weihrauchharz (meist historisch). *) mehrere Angaben nach Arzneibüchern verschiedener Länder.

Prüfung	Ergebnis	Unterscheidung von...
Erhitzen	Olibanum schmilzt unter Geruchs- und Blasenbildung ^[108, 127]	Fichtenharz (keine Blasenbildung) ^[108]
Farbe	Farbtöne von hellgelb über rötlich bis braun ^[4, 191]	—
Zugabe von Wasser	Milchige Emulsion ^[4, 108, 113, 127, 191] ; Weihrauch wird zu einer „weißen zuckerigen Masse“ ^[127]	Fichtenharz (zeigt glänzend gelbe Körner)
gepulverter Weihrauch	Beinahe weiß ^[108, 191]	—
Form	Vielfältig, bei guten Qualitäten meist große Stücke	—
Geruch beim Erwärmen	Balsamig, charakteristisch ^[4, 108, 112, 127, 192] „guter Geruch“ ^[19] aber: „ähneln Kolophonium“ ^[17]	—
Geschmack	Bitter, scharf, adstringierend, aromatisch, ^[4, 108, 112, 115, 127, 191, 192] Ausnahmen: „geschmacklos“ ^[17] „schlechter Geschmack“ ^[19]	—
Löslichkeit in...	...Ethanol: mit geringem Rückstand; ^[108] ...verschiedenen Lösungsmittel: nur teilweise ^[113, 115, 127]	Fichtenharz (löst sich vollständig) ^[108]
Anteil etherischer Öle	S. Tab. 4	
Farbreaktionen	Liebermann-Burchard-Reagenz; ^[193] Hesse'sche Reaktion ^[30]	—
Konsistenz	Wachsartig/fest ^[108, 127, 191]	Fichtenharz (führt zu klebrigem Harz) ^[108]
Unlöslicher Anteil	Ethanolunlöslicher Anteil nicht mehr als 35 % ^[127] bzw. 30 % ^{[192] [113]}	—
Asche	Spuren; ^[127] $\leq 3\%$; ^[192] 2 bis $\leq 4\%*$; ^[113] säureunlösliche Asche $\leq 0,1\%$ ^[113]	—
Sonstiges	Beim Kauen entsteht milchige Emulsion, ^[108] u. U. klebrig; ^[112, 115, 127, 192] Säurezahl 30-35 bzw. 42-52*, Verseifungszahl 75-85; ^[113] Säure- und Esterzahl (o. weitere Ang.); ^[192] Pflanzenteile „nur in ganz geringer Menge“ ^[113]	Mastix, Sandarak: erhöhte Esterzahl; Kolophonium: Säurezahl >35 ^[192]

Mit der fortschreitenden Entwicklung analytisch-chemischer Methoden wurden diese auf die Frage nach Qualität und Herkunft von Weihrauchharz angewendet.

Prinzipiell ist es möglich, Weihrauchsorten anhand von speziestypischen Verbindungen zu identifizieren. So ist Incensol bislang nur aus dem Harz von *B. sacra*^[194, 195] (aber möglicherweise auch *B. frereana*, s. folgenden Absatz) und Canariensäure **30** nur aus *B. neglecta* isoliert worden.^[100] Es ist aber weder geklärt, ob diese beiden Verbindungen tatsächlich nicht in den Harzen anderer Arten vorkommen, noch sind entsprechende Verbindungen in anderen Spezies identifiziert worden. Statt dessen wird bei den bis dato veröffentlichten Ansätzen ein chromatographischer Fingerabdruck mit u. U. unbekanntem Substanzen erstellt oder das Ver-

teilungsmuster ausgewählter bekannter Substanzen erhoben. Beides hat Vor- und Nachteile: Die Analyse des Fingerabdruckes ist robust, setzt aber die Kenntnis eines typischen Fingerabdruckes und überhaupt einen konstanten Fingerabdruck des Weihrauchharzes voraus. Eine Bestimmung speziescharakteristischer Verbindungen ist sehr spezifisch, setzt aber Referenzsubstanzen und eine gute Abtrennung von unspezifischen Komponenten voraus.

Aufgrund des charakteristischen Geruchs einiger Weihrauchharze war der erste und naheliegende Ansatz, den flüchtigen Anteil zur Analyse heranzuziehen. Obermann^[196] fand das bereits von anderen Arbeitsgruppen beschriebene Incensol^[107, 197] im Weihrauchharz der Sorte „Eritrea“, aber nicht in der Sorte „Aden“. Die Zuordnung zu einer botanischen Spezies war mangels Referenz nicht möglich, aber infolge späterer Veröffentlichungen^[195, 198] ist davon auszugehen, dass es sich bei dem incensolhaltigen Harz um jenes von *B. frereana* handelt.

Ein weiterer Ansatz bei der Untersuchung besteht in der Quantifizierung charakteristischer flüchtiger Komponenten: Beim etherischen Öl der bereits oben erwähnte Harzsorte „Aden“ dominiert gaschromatographischen Untersuchungen zufolge α -Pinen (43 %) neben wenig Octylacetat (1,5 %). Beim Harz „Eritrea“ hingegen überwiegt Octylacetat (52 %) und α -Pinen kommt nur in geringer Menge vor (5 %).^[196] Strappaghetti *et al.*^[198] fanden im etherischen Öl aus dem Harz von *B. frereana* neben mehreren Monoterpenen (darunter α -Pinen) als Hauptkomponente p-Cymol. Auch die Hauptkomponenten der afrikanischen Sorten *B. neglecta* (19,2 % α -Thujen, 16,7 % α -Pinen, 12,5 % Terpinen-4-ol), *B. rivae* (14,8 % Limonen) und *B. pirottae* (15,5 % trans-Verbenol) sind bekannt.^[199]

Andere gaschromatographische Methoden verwenden das ganze Harz, um Weihrauchharz vom Harz anderer Pflanzen zu unterscheiden. Mit dieser Methode wurden bereits eine Reihe interessanter Fragestellungen bei der Untersuchung von archäologischen Proben und Kunstgegenständen beantwortet.^[200, 201] Eine Unterscheidung zwischen den einzelnen *Boswellia*-Arten wurde nicht unternommen; gleiches gilt für Untersuchungen mittels IR-^[202] und Raman-Spektroskopie.^[203, 204]

Hairfield *et al.*^[42] und später Hahn-Deinstrop und Koch^[205] identifizierten Harzproben von *B. serrata*, *B. sacra* und *B. papyrifera* über DC-Fingerabdrücke und später über GC-MS der Boswelliasäure-Methylester;^[206] Chiavari *et al.*^[207] unterschieden mit Hilfe von GC-MS Harz von *B. sacra* von demjenigen von *B. frereana*.

Die beschriebenen Ansätze unterliegen den üblichen Einschränkungen der jeweiligen Methoden und wurden bislang nur auf eine geringe Anzahl von *Boswellia*-Arten angewendet. Es besteht daher weiterhin Bedarf an einer schnellen, robusten, einfachen, billigen und trotzdem sicheren Methode zur Speziesidentifizierung, die auf reine Harze, Harzmischungen, Räuchermischungen, Medikamente und andere Verarbeitungsprodukte anwendbar ist.

Da die Pflanzen der verschiedenen *Boswellia*-Arten zwar z. T. leicht voneinander zu unterscheiden sind, die Sammler aber i. d. R. keine Bestimmung der Ursprungspflanze vornehmen und das gesammelte Harz vieler Bäume mischen, muss eine solche Identifizierung grundsätzlich aus dem Harz erfolgen, das meist nicht genügend Pflanzenmaterial (z. B. Blätter) für andere Arten der Identifizierung enthält.

1.3 Identifizierung unerwünschter Beimischungen im Weihrauchharz

Das Problem der Verunreinigungen ist eng mit der Unterscheidung verschiedener *Boswellia*-Spezies verbunden, denn die Identifizierung einer Beimischung ohne genaue Kenntnis über alle natürlichen Inhaltsstoffe ist prinzipiell schwierig.

Angaben zu Verfälschungen von Weihrauch mit anderen Harzen oder Pflanzenbestandteilen sind sowohl in der klassischen als auch in der modernen Literatur spärlich. „Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis“^[113] erwähnt Kolophonium und Martinetz *et al.*^[7] zusätzlich Terpentin als wichtigste unerwünschte Beimischungen des Weihrauchharzes. Zörnig^[127] nennt Tannenharz, Kolophonium, Mastix und Sandarak als mögliche Verunreinigungen. Henkel^[108] zufolge erkennt man eine Fichtenharzbeimischung „an der klebrigen Beschaffenheit und dem völligen Schmelzen ohne Aufblähen“ beim Erwärmen. Nach Wasicky^[192] weist eine Säurezahl von mehr als 35 auf eine Kolophoniumbeimengung und eine erhöhte Esterzahl auf Sandarakzusatz hin; ein allgemeiner Test auf die Authentizität des Weihrauchharzes sei der Anteil des in Weingeist unlöslichen Harzes (max. 30 %). „Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis“^[113] gibt als einzige Quelle zwei qualitative chemische Tests auf Verfälschungen an: „Wilder Weihrauch“ (*Olibanum silvestre*, Fichtenharz) wird anhand einer Rotfärbung erkannt, die bei der Zugabe konzentrierter Schwefelsäure zu einer Lösung von Harz in Essigsäure auftritt. Zur Identifizierung einer Kolophonium-Beimischung wird die Harzprobe mehrmals mit Petrolether extrahiert und der Rückstand nach Verdampfen des Extraktionsmittels in wenig Aceton gelöst. Kolophonium zeigt sich durch Auskristallisieren von Abietinsäure und deren Derivaten. Der Test auf Kolophonium beruht auf der Tendenz von Abietinsäure und ihren Isomeren, aus Aceton auszukristallisieren. Allerdings kann dieses Kristallisieren je nach Vorbehandlung des Kolophonium verzögert auftreten oder gänzlich ausbleiben.^[6] Zur Aussagekraft dieses Tests bei Verarbeitungsprodukten des Weihrauchharzes ist nichts bekannt.

Weitere Versuche zur Identifizierung oder gar zur Quantifizierung von Weihrauchbeimischungen sind in der Literatur nicht beschrieben. Auch die Frage, wie verbreitet derartige Verunreinigungen sind, ist derzeit nicht beantwortet.

1.4 Die Verwendung von Ionenaustauschern bei der Isolierung von Naturstoffen

Das Phänomen des Ionenaustausches, d. h. des Austausches von gelösten Molekülen gleicher Ladung bei Kontakt mit einer festen Matrix, ist bereits seit dem 19. Jahrhundert eingehend untersucht und wahrscheinlich bereits viel früher beobachtet worden.^[208] Die Verwendung von Ionenaustauschern zu analytischen und präparativen Zwecken wurde durch die Einführung von Phenol/Formaldehyd-Harzen mit schwach basischer Ionenaustauschfähigkeit intensiviert.^[209] Es folgten die Entwicklung Polystyrol-basierter, makroporöser („makroretikulärer“)^[210] und Polyacryl-basierter Harze, wodurch sich die routinemäßige Anwendung von Ionenaustauschern kontinuierlich ausgeweitet hat.^[211, 212] Der Einsatz anorganischer Austauscher (Silikate, Zeolithe) ist von weitaus geringerer Bedeutung. Die Wasserbehandlung, vorwiegend die Entsalzung, ist nach wie vor Anwendungsgebiet für etwa 75 % aller Ionenaustausch-Harze.^[212] Aber auch zahlreiche andere Anwendungen basieren

heute auf dem routinemäßigen Einsatz von Ionenaustauschern (siehe Tab. 8). Das Verstopfen durch unspezifische Adsorption organischer Verbindungen (*fouling*) und die kurze Lebensdauer stellen häufig ein Problem dar; sie können aber durch geeignete Regenerierungsmaßnahmen wirksam rückgängig gemacht werden.^[213]

Tab. 8: Übersicht über Einsatzgebiete von Ionenaustauschern.

Einsatzgebiet	Anwendungsbeispiele
Verschiedene Industriezweige	Wasseraufbereitung, Entsalzung, Abwasseraufbereitung, ^[214] Herstellung ultrareinen Wassers (weitaus größtes Einsatzgebiet)
Pharmazie	Ionenaustauscher als Wirkstoffträger ^[215, 216]
Lebensmitteltechnologie	Weinbehandlung ^[217]
Analytische Chemie	Ionenchromatographie zur Quantifizierung von organischen und anorganischen Ionen in Wein ^[218] und Industrieabwässern; ^[219] Süßstoffen, Konservierungsmitteln und Methylxanthenen; ^[220] Sorbin- und Benzoesäure in verschiedenen Lebensmitteln ^[221] und Farbstoffen in Getränken; ^[222] Phytinsäure in Getreide-, Öl- und anderen Saaten; ^[223] Aryl-/Alkylaminen und Chinolinen; ^[224] heterozyklischen aromatischen Aminen in gebratenem Fleisch ^[225]
Synthesechemie	Naturstoffisolierung, ^[226] Gewinnung von reinem Ethylacetat ^[227] und Metallen, ^[228] reaktive Destillation, ^[229-233] Ionenaustauscher als Katalysatoren ^[234, 235]

Durch den geringen Grad der Quervernetzung in gelartigen Ionenaustauschern kommt es bei pH-Wert- oder Lösungsmittelwechseln zur Schrumpfung oder Quellung, während makroporöse Austauscherharze^[210] eine stärkere Quervernetzung und dadurch ein Minimum an Volumenänderung zeigen. Der damit verbundene ungehinderte Zugang zu aktiven Stellen, die mechanische Stabilität und größere Beständigkeit bei langem Kontakt mit organischem Material haben zu einer Zunahme der Anwendungsmöglichkeiten für Ionenaustauscher geführt. Während gelartige Austauscherharze (entwickelt in den 1930er Jahren) weiterhin bei der Wasserenthärtung vorherrschen, sind ihre 20 Jahre jüngeren makroporösen Gegenspieler bei der säurekatalysierten MTBE-Synthese oder der Entfärbung von Zuckersirup im Einsatz. Bei Anwendungen in der Halbleiterherstellung und Pharmazie variiert der Ionenaustauschertyp entsprechend den speziellen Anforderungen des Prozesses.

Auch in der analytischen Chemie, speziell auf dem Lebensmittel- oder pharmazeutischen Sektor, wird weithin Gebrauch von der Ionenaustauschertechnik gemacht. Mit der Anwendung bei der Entwicklung moderner Systeme zur Verabreichung von Medikamenten (*drug-delivery systems*, DDSs) schließt sich der Kreis der Anwendungen: Pharmazeutische Wirkstoffe können so kontrolliert und zielgerichtet freigesetzt oder der unangenehme Eigengeschmack von Medikamenten maskiert werden.^[236, 237]

Ionenaustauscher haben bei der Isolierung von Naturstoffen bereits breite Anwendung gefunden.^[226] Die Verwendung eines Ionenaustauschers bietet sich als Alternative zur klassischen Flüssig-Flüssig-Extraktion mit organischen Lösungsmitteln und wässriger Alkalilauge an, da sie schnell und in beinahe beliebig großem Maßstab durchgeführt werden kann. Die Verwendung von Ionenaustauschern in nicht-wässrigen Medien ist wenig verbreitet, in

ihren Grundzügen jedoch seit geraumer Zeit bekannt: Korkisch und Urubay^[238] entwickelten bereits 1964 eine Methode, um Uran in Mischungen organischer Säuren und aliphatischer Alkohole, Aceton oder Dioxan von anderen Metallen zu trennen. Pietrzyk^[239-241] untersuchte die Tauglichkeit verschiedener Lösungsmittelmischungen mit und ohne Wasserzusatz und zeigte die Überlegenheit makroporöser gegenüber gelartigen Austauscherharze; Thomas^[242] demonstrierte anhand der Trennung von Chlorphenolen und Rohölkomponenten, dass Ionenaustauscher in organischen Lösungsmitteln für analytische Zwecke ausreichend stabil sind.

1.5 Isolierung und Partialsynthese von Boswelliasäuren und deren Derivaten

Die Isolierung und Aufreinigung natürlicher Boswelliasäuren hat sich bis heute kaum von der klassischen Methode von Winterstein und Stein^[34] entfernt: Letztere reinigten Acetyl-boswelliasäure als Mischung der α - und β -Isomere über den Weg des Bariumsalzes und des gemischten Anhydrids mit Essigsäure auf. Die Methode wird schematisch in Abb. 6 dargestellt und mit derjenige von Shao *et al.*^[99] verglichen, die eine schnellere Methode zur Isolierung der Boswelliasäuren entwickelt haben. Andere Autoren^[243, 244] haben meist die von Beton *et al.*^[38] modifizierte Variante der Isolierung nach Winterstein und Stein^[34] angewandt oder die Säuren aus dem unbehandelten Rohextrakt gewonnen.^[99] In neueren Arbeiten schließen die Isolierungen in der Regel mit einer präparativen HPLC ab.^[157] Erst Shao *et al.*^[99] verwendeten 1998 die Säurefraktion und nicht den gesamten Harzextrakt als Ausgangsmaterial für die Isolierung einzelner Boswelliasäuren, s. Abb. 6.

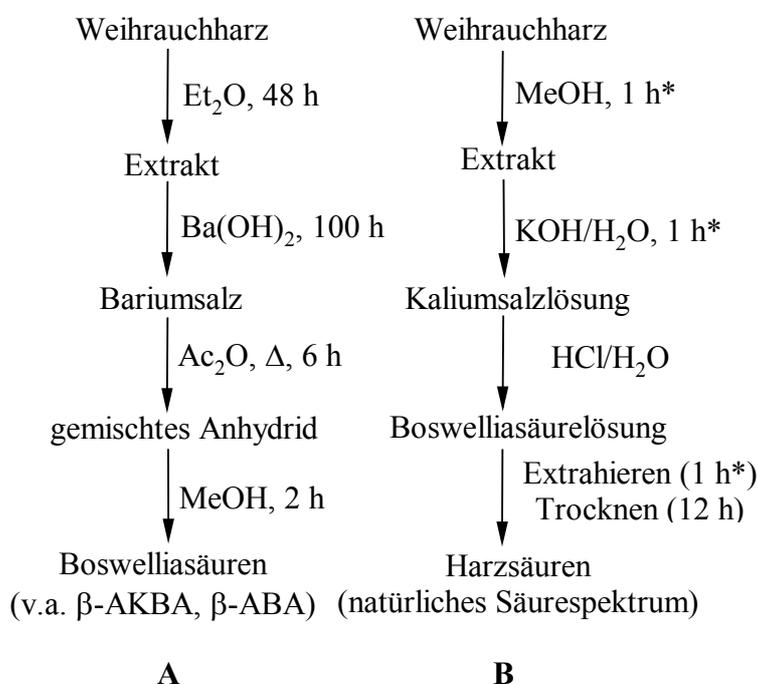


Abb. 6: Vergleich von Methoden zur Isolierung von Boswelliasäuren. A: Methode nach Winterstein und Stein;^[34] B: Methode nach Shao *et al.*^[99] (*: Zeitbedarf geschätzt). Alle Zeitangaben sind zuzüglich etwaiger Aufarbeitungsschritte wie z. B. Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer zu verstehen.

Weihrauchextrakte stellen ein schwieriges Ausgangsmaterial für die Isolierung reiner Substanzen dar. Mehrere Dutzend z. T. schwer voneinander trennbare Inhaltsstoffe sind als charakteristische oder uncharakteristische Bestandteile bekannt, und zu diesen gibt es nur wenige und teilweise widersprüchliche quantitative Angaben.^[98, 99]

In der Literatur werden abgesehen von der „einfachen“ Aufreinigung (d. h. Isolierung aus dem unveränderten Extrakt) eine Reihe von Aufkonzentrierungsmaßnahmen beschrieben. Schon Winterstein und Stein^[34] trennten die in Diethylether schwerlöslichen Harzsalze selektiv von nichtsauren Komponenten und anschließend, durch Bereitung des gemischten Anhydrids mit Essigsäure, die Boswelliasäuren von anderen Harzsäuren. Die Ausbeute an „Boswellinsäure“ betrug bei diesem Verfahren etwa 5 Prozent.

Beton und Mitarbeiter^[38] variierten die Methode von Winterstein und Stein leicht und erhielten Material in nur unwesentlich höherer Menge und Reinheit. Sie geben als erste eine schlüssige Erklärung für das in Kap. 1.1.2.1 dargestellte Phänomen der unterschiedlichen Drehwerte und führten es auf die 3-O-Acetyl-9,11-Dehydro-Boswelliasäure **5** zurück. Obwohl die genannten Autoren auch einen Weg zur Minimierung dieses Aufbereitungsartefaktes zeigen, bleibt das Problem der Dien-Bildung prinzipiell bestehen. Durch den raschen Fortschritt der chromatographischen Trennmethode in den 1970er Jahren wird lange Zeit kein neuer Ansatz mehr zur Anreicherung der Boswelliasäuren vor abschließender Aufreinigung vorgestellt, sondern die geringe Ausbeute durch hohen Materialeinsatz und extensive Chromatographie ausgeglichen.

Erst Schweizer führt Mitte der 1990er Jahre wieder Versuche zur Anreicherung der Boswellate im Extrakt des Weihrauchharzes durch, um das effektive, aber problematische Bariumsalz zu ersetzen. Er verwendet Magnesiumhydroxid zur Fällung der Harzsäuren und gibt dabei Konzentrierungsfaktoren gegenüber dem Harz von 5-5,5 an.^[245, 246]

Diese kleine Übersicht zeigt, dass die bisherigen Methoden zur Isolierung und Aufreinigung reiner Boswelliasäuren durch hohen Material- und/oder Arbeitsaufwand gekennzeichnet sind; die Entwicklung einer effizienteren Methode bietet sich demnach an. Eine Synthese, die große Mengen sauberer Boswelliasäuren zum Ziel hat, muss demnach die zuvor skizzierten Probleme lösen. Dazu können diese wie folgt angegangen und damit jede der vier Boswelliasäuren einzeln und in hoher Reinheit dargestellt werden:

- Als Ausgangsmaterial wird ein Harz mit großem Säuregehalt, speziell an Boswelliasäuren, verwendet.
- Der Weihrauchextrakt wird mit einfachen Methoden von Verbindungen befreit, die nicht durch einfache Reaktionen in die gewünschte Boswelliasäure umgewandelt werden können.
- Vor dem Aufreinigungsschritt wird der Anteil der zu isolierenden Säure durch geeignete Umsetzungen erhöht.

Zur „Vereinfachung“ des Ausgangsmaterials (= Beseitigung von Verbindungen, die nicht zur gewünschten Säure umgewandelt werden können) dient in der Literatur eine Extraktion (i. d. R. nach Soxhlet), da der hierbei als unlöslich zurückbleibende Gummianteil in den meisten im weiteren Verlauf der Isolierung verwendeten Lösungsmitteln unlöslich ist. Der so

hergestellte Extrakt kann zusätzlich durch klassisches Verteilen zwischen Diethylether und wässriger Kali- oder Natronlauge einfach, effektiv und ohne Verlust der relevanten Ausgangsverbindungen aufkonzentriert werden; allein durch diese beiden ersten Schritte werden je nach Harz 50-75 % als nichtextrahierbare bzw. nichtsaure Harzkomponenten entfernt.

Bei den Boswelliasäuren unterscheiden sich die vier Hauptvertreter β -BA **1**, β -ABA **2**, β -KBA **6** und β -AKBA **7** nur durch die Hydroxygruppe an C-3 (die bei β -ABA **2** und β -AKBA **7** acetyliert ist) und durch die Methylengruppe an C-11, die bei β -KBA **6** und β -AKBA **7** als Ketogruppe vorliegt. Die Partialsynthese von AKBA **7** beispielsweise kann sich prinzipiell aus einer Acetylierung und anschließender Oxidation einer Mischung der vier β -Boswelliasäuren zusammensetzen. Beim ersten Schritt werden sämtliche acylierbaren Strukturen in das Acetylderivat übergeführt, also unter anderem β -BA **1** in β -ABA **2** und β -KBA **6** in β -AKBA **7**. Die anschließende Oxidation überführt alle oxidierbaren Methylengruppen in das Keton, also auch β -KBA **6** in β -AKBA **7**. Die Synthese der übrigen drei Säuren ist durch entsprechende Kombination von (De)Acetylierung, Oxidation und Reduktion möglich.

1.6 Analytische Aspekte der Weihrauchchemie

Die Analyse der Weihrauchinhaltsstoffe, insbesondere der Säurefraktion, bedient sich der üblichen Methoden der Isolierung, Analytik und Strukturaufklärung. Diese sollen daher im Folgenden nur unter Berücksichtigung der noch offenen Fragen behandelt werden.

1.6.1 Dünnschicht-Chromatographie

Die Dünnschicht-Chromatographie (DC; *thin layer chromatography*, TLC) hat sich trotz Entwicklung schnellerer und auflösungsstärkerer Methoden wie GC und HPLC seit ihren Anfängen kontinuierlich fortentwickelt, wie ein Blick in die Übersichten^[247-252] zeigt. Grund dafür ist die nach wie vor unschlagbare Kombination aus Robustheit, unkritischer Probenaufbereitung, geringem Material- und Zeitbedarf und der Möglichkeit, mehrere Proben parallel zu analysieren. Neuartige und standardisierte stationäre Phasen sowie Derivatisierungsreagenzien^[193, 253] für viele spezielle analytische Probleme haben diese Art der Chromatographie zur Methode der Wahl in der Ausbildung, Routineanalytik und Syntheseverfolgung gemacht.^[254, 255] Die Automatisierung (*Automated multiple development*, AMD), Entwicklung unter Druck (*overpressured layer chromatography*, OPLC^[256, 257]), gekoppelte Entwicklung und Elution,^[258] computergestützte Auswertung und Kopplung mit anderen Analysetechniken^[259] verbessern die Reproduzierbarkeit und reizen die Möglichkeiten der Methode weiter aus. Der Vorsprung einiger Neuentwicklungen wie z. B. der Adamant-Platten mit stärkerer Fluoreszenz oder der monolithischen stationären Phasen muss sich in der Praxis erst noch zeigen.

Die Chromatographie an Silbernitrat-imprägniertem Kieselgel („Argentations-Chromatographie“) ist eine etablierte Methode zur Trennung strukturell sehr nah verwandter Substanzen,^[260] insbesondere (Tri-)Terpenen. Sie wurde Anfang der 1960er-Jahre ursprünglich für die

Trennung von Monoterpenen^[261] und Lipiden^[262] entwickelt. Die Verwendung anderer Silber-salze wie Perchlorat und Periodat^[263] hat sich nicht durchgesetzt.^[260] Im Gegensatz zu vielen anderen stationären Phasen für die Flüssig- und Dünnschichtchromatographie ist auch heute noch die Herstellung eigener silberimprägnierter Phasen üblich.^[264, 265]

1.6.2 Hochleistungsflüssig-Chromatographie an monolithischer stationärer Phase

Die präparative Flüssigchromatographie wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit ebenso wie die Dünnschichtchromatographie sowohl an Kieselgel („Normalphase“) als auch an derivatisiertem Kieselgel (in diesem Fall Umkehrphase, *reversed-phase*, RP) betrieben. Die analytische Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) der Boswelliasäuren wird ausschließlich an RP-Phase durchgeführt, wie es angesichts der lipophilen Natur der untersuchten Substanzen sinnvoll ist.

Die erst vor wenigen Jahren eingeführten monolithischen Phasen^[266-270] können eine Reihe von Problemen mit herkömmlichen („partikulären“) Phasen beheben, z. B. lange Analysenzeiten bei langsam ansteigendem Gradienten und hohe Drücke bei hohem Wasseranteil in der mobilen Phase. Die neuartige Phase weist gleiche Trennleistungen und Selektivität wie eine herkömmliche HPLC-Säule mit 5 µm Teilchengröße auf, ist aber von starrer Struktur und setzt der mobilen Phase weniger Widerstand entgegen. Das Ergebnis ist ein niedriger Druck bei Flüssen von 0,5-2,0 ml x min⁻¹ und kurze Wasch- und Äquilibrierzeiten. Umgekehrt können monolithische Säulen mit hohen Flussraten betrieben werden (>10 ml x min⁻¹), die bei partikulären Phasen nicht möglich sind. In den vergangenen Jahren sind eine Reihe von praxisrelevanten Methoden mit monolithischen stationären Phasen entwickelt worden, bei denen herkömmliche partikuläre Phasen unterlegen oder nicht einsetzbar sind.^[271-273]

1.6.3 NMR-Spektroskopie

Die Kernresonanz-Spektroskopie (*nuclear resonance spectroscopy*, NMR) hat sich seit der Einführung der Technik in den 1950er Jahren als tragende Säule der Strukturaufklärung komplexer Naturstoffe etabliert. Für die Boswelliasäuren und ihre Derivate bietet sich diese Technik in besonderem Maße an, da die Massenspektrometrie und die IR- und UV-Spektroskopie an ihre Grenzen stoßen und sich nicht von allen Verbindungen Kristalle für die Röntgenstrukturanalyse herstellen lassen. Die breite Anwendung der NMR-Spektroskopie bei der Strukturaufklärung zeigt sich an den zahlreichen Veröffentlichungen zu einzelnen Verbindungen und Übersichtsartikeln zu diesem Thema^[274] sowie Fortschritten bei Pulsfolgen und Auswertungsmethoden.^[275, 276]

1.6.4 FAME-GC-MS zur Analytik organischer Säuren

Die Gaschromatographie ist die analytische Methode der Wahl bei der Identifizierung und Quantifizierung flüchtiger Verbindungen. Mit anderen chromatographischen oder spektroskopischen Methoden gekoppelt wird sie routinemäßig eingesetzt,^[277] wobei Probenvorberei-

tung und -derivatisierung auf die zu untersuchende Probe und ihre Matrix optimiert werden kann.^[278]

Die GC-(MS-)Analyse von Fetten und Fettsäuren in Form ihrer Methylester (*fatty acid methyl ester gas chromatography*, FAME-GC-(MS)) ist ein gutes Beispiel für die Vielseitigkeit gaschromatographischer Methoden: Fettsäuren kommen in vielen pflanzlichen, mikrobiellen, tierischen und menschlichen Geweben vor, wobei das Fettsäurespektrum häufig charakteristisch ist. Abweichungen erlauben Aussagen über Beimengungen, Zustand, Herkunft und andere Aspekte der Probe. Allerdings sieden Fettsäuren oft nicht unzersetzt oder liegen gebunden vor (z. B. in Wachsen oder Ölen) und sind damit einer direkten gaschromatographischen Untersuchung nicht zugänglich. Mit der Derivatisierung zu leicht flüchtigen Estern lassen sich diese Probleme beseitigen. Durch Umsetzung mit Tetramethylammoniumacetat (TMAA), Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH),^[279-281] Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH)^[282] oder anderen Derivatisierungsreagenzien werden freie Fettsäuren zu den entsprechenden Estern umgesetzt und je nach Reagenz auch aus anderen Esterverbänden umgeestert, so dass sich die entstandenen Fettsäuremethylester unzersetzt verdampfen und gaschromatographisch auftrennen lassen. Diese Methode ist als „Thermisch unterstützte Hydrolyse und Methylierung“^[277, 283-285] (THM-GC) oder „Thermochemolyse“^[286-290] bekannt. Routineanwendungen für die THM-GC sind derzeit die Untersuchung pflanzlicher Speiseöle,^[291] Alterung von Gemälden,^[292] Bestimmung ungesättigter Fettsäuren in Zooplankton^[293] und organischer Bestandteile in Meeres-Sedimenten^[288] sowie die Identifizierung natürlicher Wachse.^[284, 285] Je nach Fragestellung sind Nebenreaktionen zu beachten, die für das Methylierungsreagens oder das zu untersuchende Substrat spezifisch sein können. Die Verwendung anderer Trialkylammoniumhydroxide,^[294] die Übertragbarkeit auf die Kohlenhydrat-Analytik^[290] und die getrennte Bestimmung freier und veresterter Fettsäuren^[295] zeigen, dass die Grenzen der Methode bei weitem noch nicht erreicht sind.

Die FAME-GC-MS lässt sich auch bei Terpensäuren und damit bei Säuren aus pflanzlichen Harzen wie dem Weihrauchharz anwenden; Hairfield *et al.*^[206] identifizierten bereits 1989 Weihrauchharz verschiedener Spezies mittels der Gas-Chromatographie nach Umsetzung der Boswelliasäuren zu den Methylestern mit Diazomethan.

2 Fragestellung

Boswelliasäuren sind ausschließlich im Harz verschiedener Weihrauch-Arten zu finden und aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften potenzielle Wirkstoffe bei der Behandlung verschiedener Krankheiten. Zum Anteil der extrahierbaren Bestandteile und Harzsäuren in den verschiedenen Weihraucharten gibt es in der Literatur widersprüchliche Angaben. Möglichkeiten zur Identifizierung der *Boswellia*-Art aus dem Harz wurden bereits entwickelt, aber nur auf reine Harze und nicht auf deren Verarbeitungsprodukte angewendet. Eine Identifizierung unerwünschter Fremddharze ist bislang in der Literatur nicht beschrieben. Zu den Boswelliasäuren selbst gibt es derzeit widersprüchliche Angaben zu den chemischen Verschiebungen; eine Möglichkeit einer Herstellung dieser Naturstoffe im großen Maßstab fehlt vollständig.

Die vorliegende Arbeit geht von einer Sammlung von Proben aus, die unterschiedlichen Weihrauch-Arten und -Verarbeitungsprodukten entstammen. Von diesen Proben sollen extrahierbare Bestandteile und daraus die Säurefraktion isoliert und deren Variationsbreite innerhalb derselben und zwischen verschiedenen Spezies bestimmt werden. Zur Isolierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchextrakt soll dabei eine Methode unter Einsatz eines Ionenaustauschers entwickelt und mit der herkömmlichen Methode verglichen werden.

Anschließend sollen DC- und HPLC-Methoden entwickelt werden, um die verschiedenen *Boswellia*-Spezies anhand der Boswelliasäuren als gattungsspezifische Inhaltsstoffe zu unterscheiden. Mit Hilfe der aufgeführten Methoden soll auch eine Möglichkeit gefunden werden, Beimengungen anderer Pflanzenharze zu identifizieren und zu quantifizieren.

Ausgehend von der Mischung aller Säuren im Weihrauchharz sollen ausgewählte Boswelliasäuren und einige ihrer Derivate im großen Maßstab hergestellt und in ihrer Struktur aufgeklärt werden. Ein Vergleich der Analytik von Boswelliasäuren mittels DC, HPLC, MS und NMR soll klären, welche Kombination dieser Methoden für die Qualitätskontrolle von Weihrauchharz, dessen Verarbeitungsprodukten sowie daraus isolierten Einzelsubstanzen am geeignetsten ist.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Identifizierung der Weihrauch-Art bei unbekanntem Proben

Derzeit sind 18 verschiedene *Boswellia*-Spezies bekannt (siehe Kap. 1.1.2), von denen aber nur vier (*B. frereana*, *B. papyrifera*, *B. sacra*, *B. serrata*) größere wirtschaftliche Bedeutung besitzen. Grundsätzlich kann eine unbekannte Probe Harz von jeder Weihrauch-Art enthalten. In der Praxis besteht häufig das Problem, dass zu einer Probe keine Speziesangabe vorliegt oder diese nicht gesichert ist. Im folgenden Abschnitt wird die Möglichkeit verfolgt, die Weihrauch-Arten anhand ihres Geruches, des Extrakt- und Säureanteils sowie der Dünnschicht- und HPLC-Chromatogramme der Säurefraktion zu identifizieren.

3.1.1 Unterscheidung anhand Geruch, Extrakt- und Säureanteil

Weihrauchharz kommt in den unterschiedlichsten Qualitäten und Verarbeitungsgraden in den Handel und wird für verschiedene Zwecke genutzt. In Europa dient Weihrauchharz v. a. als Räuchermittel (im religiösen und nicht-religiösen Rahmen), zur Verbesserung der Raumluft (in Duftlampen o. ä.) und für medizinische Anwendungen. Die Verwendung in Lebensmitteln und Kosmetika spielt hierzulande im Gegensatz zu den Ursprungsländern des Weihrauchs nur eine untergeordnete Rolle. Für die vorliegende Arbeit wurden aus verschiedenen Quellen Weihrauchharzproben bezogen. Sie variieren hinsichtlich der Sicherheit der Speziesangabe, des Alters und des Verarbeitungsgrades, wie aus Tab. 9 ersichtlich ist.

Tab. 9: Harzproben, sortiert nach Art, Alter und Sicherheit der Speziesbezeichnung. Zur Einordnung der Sicherheit der Speziesangabe von 0 („nicht gegeben“) bis 3 („gesichert“) s. Anhang A ab S. 160.

Art der Probe	Sicherheit der Speziesangabe				Spezies
	0	1	2	3	
Neue Harzproben (1-10 Jahre)	11		4	9, 32	<i>B. carteri</i>
				8, 10	<i>B. frereana</i>
			7		<i>B. frereana</i> , <i>B. bhau-dajiana</i>
				31	<i>B. papyrifera</i>
			3	6, 16, 17	<i>B. sacra</i>
		12, 13	1, 2		<i>B. serrata</i>
				18, 19	<i>B. socotrana</i>
			5	33	<i>B. papyrifera</i>
Alte Proben (ca. 120 Jahre)				29, 30	<i>B. ameero</i>
		14			<i>B. serrata</i>
Räuchermischungen und sonstige Verarbeitungsprodukte		15			<i>B. sacra</i>
	20, 28				keine Angabe
Medikamente, Nahrungsergänzungsmittel		23			<i>B. sacra</i>
				21, 22	<i>B. serrata</i>
Extrakte		24-27			<i>B. serrata</i>

Die genaue Bezeichnung der 33 Harzproben mitsamt Angaben zur botanischen und geografischen Herkunft gibt Tabelle 10; ausführlich werden alle Proben in Anhang A ab S. 160 beschrieben.

Tab. 10: Übersicht über die verwendeten Harze und Harzverarbeitungsprodukte. Die Zahl in eckiger Klammer (Spalte „Spezies“) gibt die Sicherheit der Speziesangabe auf einer Skala von 0 („nicht gegeben“) bis 3 („gesichert“) an, s. Text und Anhang A, S. 160.

Nr.	Probe	Kurzbezeichnung	Spezies	Herkunft
1	„Gummi Olibanum Indisch Granen“	<i>Bser Gr1</i>	<i>B. serrata</i> [2]	Indien
2	„Gummi Olibanum Indien 1. Wahl“	<i>Bser IW1</i>	<i>B. serrata</i> [2]	Indien
3	„Gummi Olibanum Oman weiß No. 1“	<i>Bsac Om1</i>	<i>B. sacra</i> [2]	Oman
4	„Gummi Olibanum Tränen No. 1“	<i>Bcar T1</i>	<i>B. carteri</i> [2]	Somalia
5	„Gummi Olibanum Eritrea Erbsen“	<i>Bpap Er1</i>	<i>B. papyrifera</i> [2]	Eritrea
6	Weihrauchharz	<i>Bsac MA1</i>	<i>B. sacra</i> [3]	Oman
7	„Olibanum in granis“	<i>Bf-b Ca1</i>	<i>B. frereana</i> <i>B. bhau-dajiana</i> [2]	k. A.
8	Weihrauchharz	<i>Bfre G1</i>	<i>B. frereana</i> [3]	Somalia
9	Weihrauchharz	<i>Bcar G1</i>	<i>B. carteri</i> [3]	Somalia
10	Weihrauchharz	<i>Bfre MT1</i>	<i>B. frereana</i> [3]	Somalia
11	Weihrauchharz	<i>Olib PMK1</i>	k. A. [0]	Yemen
12	Weihrauchharz	<i>Bser OW1</i>	<i>B. serrata</i> [1]	Indien
13	Weihrauchharz	<i>Bthu OW1</i>	<i>B. thurifera</i> [1]	Somalia
14	Weihrauchharz	<i>Bser BGBM1</i>	<i>B. serrata</i> [1]	Indien
15	Byzantinischer Weihrauch	<i>Bsac BA1</i>	<i>B. sacra</i> [1]	Griechenland
16	Weihrauchharz	<i>Bsac YP1309</i>	<i>B. sacra</i> [3]	Yemen
17	Weihrauchharz	<i>Bsac NK6066</i>	<i>B. sacra</i> [3]	Yemen
18	Weihrauchharz	<i>Bsoc YP2583</i>	<i>B. socotrana</i> [3]	Yemen
19	Weihrauchharz	<i>Bsoc YP2312</i>	<i>B. socotrana</i> [3]	Yemen
20	„Olibanum ‚Aden‘ “	<i>Olib Adn1</i>	k. A. [0]	k. A.
21	Medikament H15 (Gufic)	<i>Bser H15-1</i>	<i>B. serrata</i> [3]	Indien
22	Medikament Sallaki (Gufic)	<i>Bser Sal-1</i>	<i>B. serrata</i> [3]	Indien
23	Nahrungsergänzungsmittel (HWS)	<i>Bsac HWS1</i>	<i>B. sacra</i> [1]	k. A.
24	Weihrauchextrakt	<i>Bser B11</i>	<i>B. serrata</i> [1]	Indien
-	(verschiedene Chargen)	bis <i>Bser B14</i>		
27				
28	Räuchermischung „Palästina“	<i>MPal JGS1</i>	k. A. [0]	k. A.
29	Weihrauchharz	<i>Bame K63482</i>	<i>B. ameero</i> [3]	Yemen
30	Weihrauchharz	<i>Bame K63154</i>	<i>B. ameero</i> [3]	Yemen
31	Weihrauchharz	<i>Bsoc K72998</i>	<i>B. sacra</i> [3]	Somalia
32	Weihrauchharz	<i>Bcar K73308</i>	<i>B. carteri</i> [3]	Somalia
33	Weihrauchharz	<i>Bpap K63171</i>	<i>B. papyrifera</i> [3]	Äthiopien

Bereits die äußere Erscheinung der Proben zeigt die natürliche Variation dieses Harzes: Die Farbe reicht von Zitronengelb (Proben 8 und 10) über gelbbraune, bernsteinfarbene (Probe 5) und rötliche Töne (Proben 3, 14, 29) bis hin zu braunen (Probe 4) und beinahe schwarzen Harzstückchen (Probe 1). Dieser aus der Literatur^[1, 2, 17, 108, 115, 127, 191, 192] bekannte Regenbogen an Weihrauchfarben wird je nach Brockengröße weiter aufgeteilt: Kleine Brocken und Splitter inhomogener Proben (z. B. Proben 18, 19 und 29) sind eher glasartig-durchscheinend, die größeren Stücke oft milchig-trüb. Frische Bruchkanten sind teils uneben und matt, teils glatt und glänzend, werden aber an der Luft rasch matt. Nur die Proben von *B. frereana* (Proben 8 und 10) zeigen durchweg hellgelbe, perlmuttartige Töne und die sehr alten Proben (14, 29, 30) einen karamellartigen Branton mit rötlichem Anteil. Letzteres könnte ein allgemeines Zeichen für alte Weihrauchharze sein, da derartige Farbnuancen bei den jüngeren Harzproben fehlen. Es bedarf aber einer Untersuchung weiterer, alter Proben, bevor es als verlässliches Zeichen gelten kann. Henkel,^[108] Howes^[1] und andere Autoren^[115, 127, 192] beschreiben derartige Farbtöne bei ihren damals frischen Proben. Es ist daher möglich, dass diese Farbtöne unabhängig vom Probenalter zum natürlichen Farbspektrum des Weihrauchharzes gehören. Neben den Farbveränderungen durch Beimischung (byzantinischer Weihrauch, Nr. 15; Räuchermischung „Palästina“, Nr. 28) ist die Unterscheidung der Weihrauchspezies aufgrund der Farbe bei reinen Harzen nicht möglich.

Der Geruch der Proben und der daraus gewonnenen etherischen Extrakte variiert sehr stark. Grundsätzlich lassen sich weihrauchtypische, würzig-aromatische, zitrusartige und an Nadelwald erinnernde Noten unterscheiden; in der Regel herrscht eine dieser Qualitäten vor. Proben von *B. serrata* riechen in der Regel charakteristisch weihrauchartig, während bei *B. frereana* und teilweise auch *B. papyrifera* zitrusartige Komponenten und bei *B. sacra* zusätzlich an Nadelwald erinnernde Noten dominieren. Bei vielen Proben ist der Geruch allein kein taugliches Mittel zur Beurteilung, da der Geruch schwach ausgeprägt ist. Ursache dafür kann eine lange Lagerung sein (so z. B. bei den alten Proben 14, 29 und 30) oder eine starke Verarbeitung des Harzes (z. B. bei der feinkörnigen Probe Nr. 1 oder den Medikamenten). Einige Proben enthalten kaum noch geruchsaktive Verbindungen (Proben 12 und 24-27), sind mit anderen Aromastoffen versetzt (byzantinischer Weihrauch, Nr. 15; Räuchermischung, Nr. 28) oder haben Fremdgerüche aufgenommen (Proben 12 und 13). Wie bei der Farbe versagt bei Weihrauchmischungen und dem byzantinischen Weihrauch eine Einordnung über den Geruch, da diesen Produkten Aromastoffe zugesetzt wurden und deren Geruch den weihrauch eigenen Geruchseindruck überlagert.

Verunreinigungen wie andere Pflanzenteile oder Rindenstücke ermöglichen ebenfalls keine Aussage über die Weihrauchspezies. Die Konsistenz der vorliegenden Proben variiert von weich und zäh (Proben 8 und 10) über sandartig und brüchig (Proben 1, 12, 13) bis sehr hart und zum Splitteln neigend (Proben 6 und 16). Nur die Proben von *B. frereana* zeichnen sich alle durch eine weiche Konsistenz aus. Da die meisten Proben sicher von irgendeiner Weihrauch-Art stammen, belegt diese Beobachtung den in Kap. 1.1 (S. 1) erwähnten Verzicht auf die Unterscheidung zwischen Balsam, Hartharz und Gummiharz. Weihrauchharz kann in jede dieser Kategorien gehören.

Aufgrund der dargestellten grundlegenden Untersuchungen (Farbe, Geruch, Konsistenz) können Regelmäßigkeiten in Bezug auf *Boswellia*-Spezies, Alter und geografische Herkunft der Proben ausgemacht werden:

- Proben von *B. frereana* erscheinen durchweg hellgelb und sind von zäher Konsistenz, bei anderen Harzsorten ist aufgrund äußerlicher Merkmale keine allgemeine Aussage möglich. Die Farbe des Harzes von *B. frereana* kann jedoch auch ein Ergebnis der Sortierung des Rohharzes darstellen und muss nicht speziestypisch sein: Das Harz wird in Somalia nach Größe, Farbe und Verunreinigung in mehrere Qualitäten sortiert.^[7] Die Farben der vorliegenden Proben des Harzes von *B. frereana* sind also möglicherweise nicht repräsentativ für das gesamte Harz dieser Spezies.
- Der Geruch kann bei reinen Harzen gute Hinweise geben, zumal in der Literatur charakteristische geruchsaktive Inhaltsstoffe für einige *Boswellia*-Spezies beschrieben sind (siehe Kap. 1.2, S. 16) Eine solche Zuordnung setzt jedoch Erfahrung und eine ausreichende Zahl an Referenzproben voraus und versagt bei Verarbeitungsprodukten oder sehr alten Proben. Der Geruch erlaubt im Idealfall eine Mutmaßung und ist im schlechtesten Fall unbrauchbar.
- Verunreinigungen lassen nur Rückschlüsse auf die Qualität des Harzes und nicht auf die *Boswellia*-Spezies zu. Prinzipiell ist es denkbar, aufgrund der anatomischen Unterschiede von Rinde o. ä. zwischen verschiedenen Spezies zu unterscheiden. Derartige Indizien sind aber nicht in allen Proben vorhanden, vor allem nicht in hochwertigen Produkten und solchen für die medizinische Anwendung. Diese Möglichkeit zur Identifizierung der Weihrauch-Art wurde daher nicht weiter verfolgt.
- Die Konsistenz der Weihrauchharzproben schwankt sehr stark. Während die meisten zäh bis glasartig-hart sind, gibt es auch solche mit weicher, kaugummiartiger Konsistenz. Vor allem unter denjenigen *Boswellia*-Arten, von denen keine Proben vorlagen, gibt es laut Literatur noch einige von eher weicher Beschaffenheit. Es ist daher sinnvoll, Weihrauchharze grob in „weihrauchartige“ (= feste bis glasartige) und „elemiartige“ (= viskose, kaugummiartige) Proben zu unterteilen.

Bei diesen Schlussfolgerungen muss die immer noch geringe Datenbasis beachtet werden, auf deren Grundlage sie gezogen wurden. Eine Speziesidentifizierung ist allein aus Farbe, Geruch und Beschaffenheit der Probe nicht möglich.

Da der Hauptaugenmerk der Untersuchung auf der Säurefraktion des Weihrauchharzes liegt, werden zunächst alle Proben einer erschöpfenden Extraktion mit einem geeigneten Lösungsmittel unterworfen. Anschließend erfolgt die Abtrennung der Harzsäuren von den übrigen Verbindungen durch Flüssig-Flüssig-Extraktion zwischen Diethylether und wässriger Kalilauge. Die Anteile an Extrahierbarem und Säurefraktion sowie das Verhältnis dieser beiden Komponenten können neben Geruch und Farbe als zusätzliche Charakteristika für Weihrauchharze angesehen werden.

Die Bereitung eines Weihrauchextraktes („Rohextrakt“) erfolgt bei größeren Ansätzen (50-1.000 g) zweckmäßig in einem Soxhlet-Extraktor mit Diethylether als Extraktionsmittel. Andere geeignete Lösungsmittel können zu einer starken thermischen Belastung der im Sumpfkolben befindlichen extrahierten Substanzen führen (Ethanol, Aceton, Methanol) oder

sind aus Umwelt-, Sicherheits- oder toxikologischen Gründen zu vermeiden (Dioxan, THF, DCM, Chloroform). Der Ablauf der Soxhlet-Extraktion ist bei allen Proben zu Beginn deutlich gelb bis braun gefärbt und zeigt eine starke Schlierenbildung. Eine Probe daraus zeigt nach Abblasen des Lösungsmittels auf einem Uhrglas einen zähen, intensiv duftenden Rückstand. Nach 10-15 Abläufen ist der Ablauf der Extraktion weitgehend farblos und schlierenfrei; zur Sicherheit werden bei allen Proben mehr als 30 Extraktionsschritte durchgeführt.

Der so erhaltene Rohextrakt ist eine gelbe bis braune, mehr oder weniger viskose und meist klare Masse, die beim Entfernen des Lösungsmittels zu einem Schaum erstarrt. Als zweckmäßig stellt sich das Abrotieren ohne Erwärmen unter Vakuum heraus. Bei einigen Proben (z. B. 4, 14, 16, 17 und 18) wird auf diese Weise ein gelbbrauner bis brauner Schaum erhalten, der sich zu einem feinen, trockenen Pulver zerreiben lässt. Bei anderen Rohextrakten hingegen verklumpt der Rohextrakt allmählich, z. B. bei den Proben Nr. 8, 13 und 15.

Da von einigen Proben nur wenige 100 mg Rohextrakt gewonnen werden, wurde in einer Messreihe die Tauglichkeit gängiger Lösungsmittel für die Extraktion von Weihrauchharz getestet. Eine solche Fragestellung ist auch für solche Situationen relevant, in denen geringer Zeitaufwand und sparsamer Materialeinsatz hohe Priorität haben. Eine genau eingewogene Menge frisch vermahlene Weihrauchharzes wird zwischen zwei Wattebäuschen in einem Glasrohr mit Glasfritte extrahiert. Dazu wird insgesamt fünfmal mit je 20 ml Lösungsmittel pro Gramm Probe extrahiert und der Rohextrakt nach jedem Durchgang gravimetrisch bestimmt, d. h. bei einer Probe von 5 g wird mit insgesamt 5 x 100 ml Lösungsmittel extrahiert. Wie Abb. 7 zeigt sind diese Mengen bei fast allen getesteten Lösungsmitteln ausreichend zur erschöpfenden Extraktion von Weihrauchharz. Zwischen der Effizienz der Lösungsmittel bestehen aber Unterschiede, die in Abb. 7 erkennbar werden:

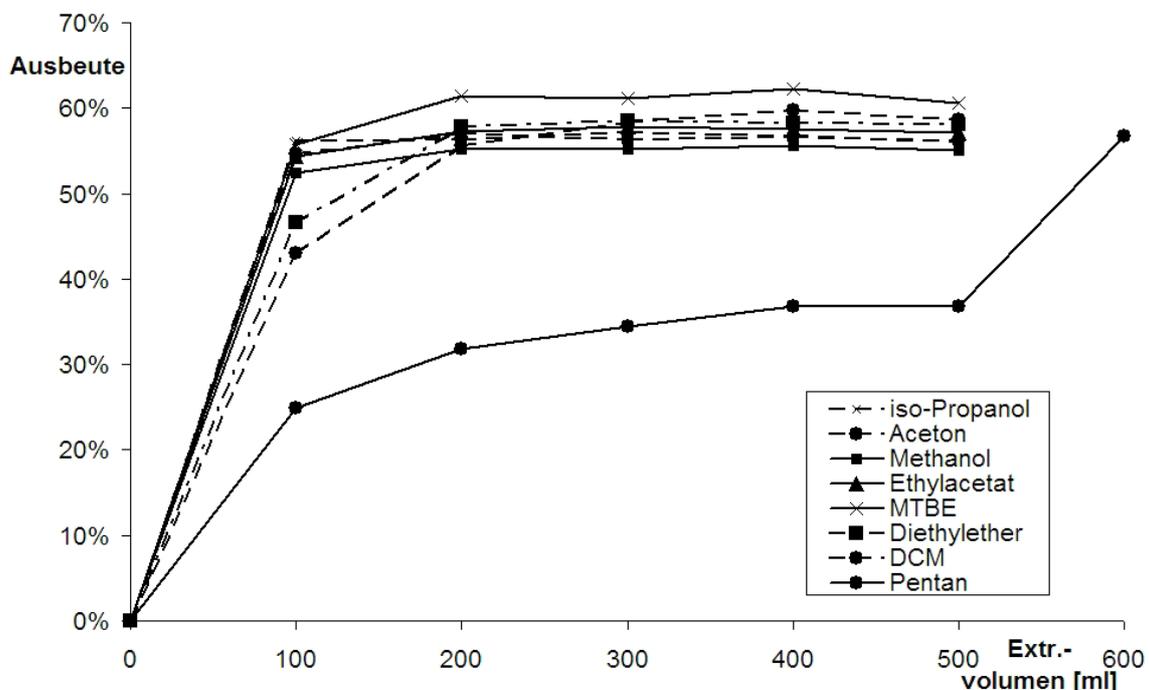


Abb. 7: Ausbeuten bei der stufenweisen Extraktion von Weihrauchharz mit verschiedenen Lösungsmitteln. Verwendet wurden jeweils 5 g Harz von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*). Bei Pentan (unterste Reihe) wird nach insgesamt 500 ml eine Extraktion mit 100 ml Methanol nachgeschaltet. Die unterschiedlichen maximalen Ausbeuten beruhen auf natürlichen Schwankungen, siehe Text.

Bei *iso*-Propanol, Aceton, Methanol und Ethylacetat werden schon nach der ersten Extraktion mit $20 \text{ ml} \times \text{g}^{-1}$ praktisch alle extrahierbaren Bestandteile aus der Probe gelöst. Nach dem zweiten Extraktionsschritt dieser Art ist die Extraktion bei diesen Lösungsmitteln abgeschlossen und liefert Ausbeuten von 55-60 % bezogen auf das Harz. Sie liegen nur knapp unter der Ausbeute bei der Soxhlet-Extraktion mit Diethylether (65-70 %). Diethylether und Dichlormethan sind ebenfalls effiziente Lösungsmittel; allerdings werden nach umgerechnet 20 ml Lösungsmittel pro Gramm Probe erst 70-80 % und erst nach $40 \text{ ml} \times \text{g}^{-1}$ (Diethylether) bzw. $60 \text{ ml} \times \text{g}^{-1}$ (Dichlormethan) alle extrahierbaren Bestandteile gelöst. Pentan schließlich ist als Extraktionsmittel ungeeignet, da selbst mit großen Volumina nur etwa die Hälfte der extrahierbaren Bestandteile gelöst werden. Dies liegt allein am Lösungsmittel, denn eine nachgeschaltete Extraktion mit 20 ml Methanol pro Gramm Probe extrahiert die pentanunlöslichen Bestandteile und steigert die Ausbeute auf die mit den anderen Lösungsmitteln erreichbaren Werte.

Die oben genannten Ergebnisse wurden mit einer Harzprobe von *B. sacra* erhalten (Probe 3, *Bsac Om1*). Dass sie auch für die anderen *Boswellia*-Spezies gelten, zeigt Abb. 8; hierfür wurden Proben verschiedener Weihrauch-Arten nach dem o. a. Schema mit *iso*-Propanol extrahiert.

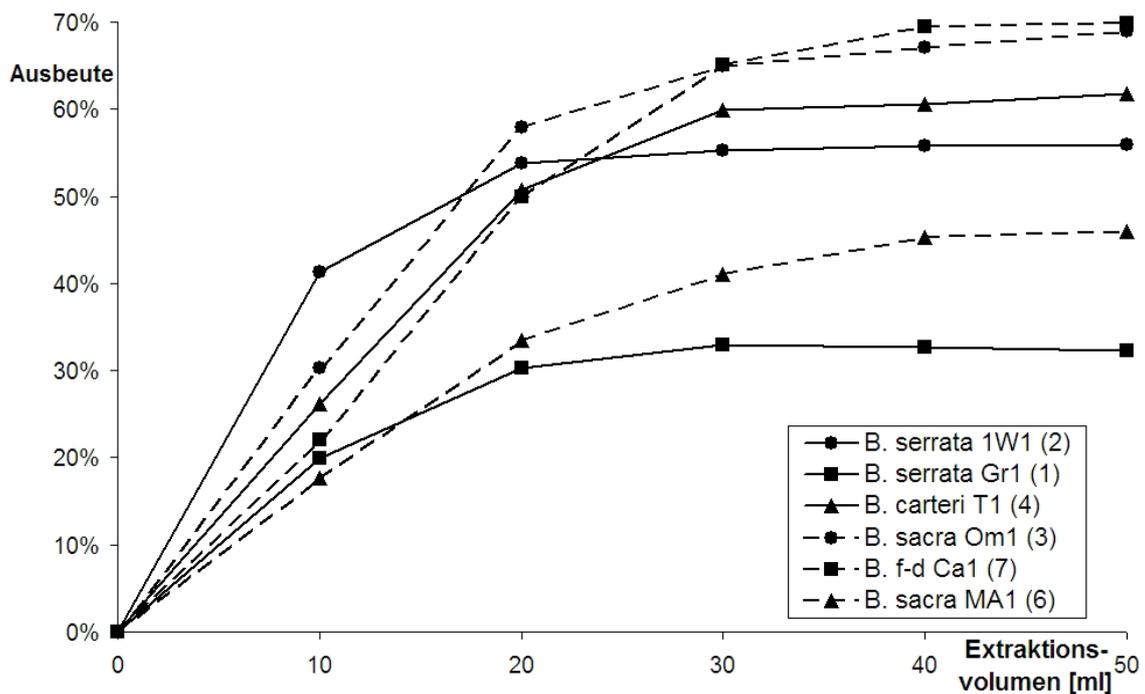


Abb. 8: Ausbeuten bei der stufenweisen Extraktion des Harzes verschiedener *Boswellia*-Spezies mit *iso*-Propanol. Die Zahlen in runden Klammern geben die Probennummer an.

Bei allen Weihraucharten werden ähnliche Kurven erhalten. Die unterschiedlichen Ausbeuten sind auf die variierenden absoluten Anteile an Extrahierbarem und Säurefraktion zurückzuführen und gleichen denen, die durch erschöpfende Soxhlet-Extraktion mit Diethylether erhalten werden (Abb. 9, S. 36).

Die Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit ähnlichen Untersuchungen von Büchle *et al.*,^[296] die im Verlauf der vorliegenden Arbeit veröffentlicht wurde: Die Autoren

bestimmen die Effizienz der Extraktion von Boswelliasäuren (nicht des Extraktes) mit verschiedenen Lösungsmitteln als Vorbereitung einer Quantifizierung dieser Substanzen. Wenn Säuren und Gesamtextrakt denselben Kurvenverlauf zeigen, können die Harzsäuren mit keinem Lösungsmittel effektiv von den Neutralkomponenten getrennt werden.

Für die Extraktion von Weihrauchharzproben können die folgenden Schlussfolgerungen gezogen werden:

- Generell sind alle oben genannten Lösungsmittel bis auf Pentan für die erschöpfende Extraktion geeignet.
- Bei thermischer Belastung im Rahmen von erschöpfenden Extraktionen wie in der Soxhlet-Apparatur sind Diethylether und Dichlormethan zu bevorzugen.
- Methanol, *iso*-Propanol, Aceton und Ethylacetat sind zu bevorzugen, wenn es auf höchste Extraktionseffizienz bzw. geringstmöglichen Lösungsmittelverbrauch ankommt.

Der angegebene Wert von $3 \times 20 \text{ ml} \times \text{g}^{-1}$ Harz ist als Richtwert zu verstehen und kann bei einigen Harzen einer Änderung bedürfen. Das verwendete Harz enthält ca. 70 % extrahierbare Bestandteile, die Spannbreite für Extrahierbares liegt aber zwischen 10 % bei einigen Fertigprodukten und praktisch 100 % bei bestimmten Weihrauchsorten. Wie die Messreihe mit verschiedenen Weihrauchsorten und *iso*-Propanol als Extraktionsmittel zeigt, ist das genannte Volumen auch für Proben mit sehr hohem Anteil an Extrahierbarem geeignet. Die Extrakte mit verschiedenen Lösungsmitteln wurden nicht weiter auf Gemeinsamkeiten oder Unterschiede untersucht; es wurde vereinfachend angenommen, dass jedes Lösungsmittel alle extrahierbaren Stoffe in gleichem Maße löst.

Die Auftrennung des Rohextraktes in saure und nichtsaure Komponenten erfolgt durch Ausschütteln einer etherischen Lösung des Rohextraktes mit wässriger Kali- oder Natronlauge. Bei einigen Proben (z. B. Nr. 4, 5, 11 und 13) bildet sich hierbei eine hartnäckige Emulsion, die sich z. T. auch nach mehr als 24 h nicht vollständig in ihre Phasen trennt. Die Variation von Temperatur (0-25 °C) und Laugenkonzentration (ca. 2-15 %, m/m) verringert die Emulsionsneigung ebenso wenig wie sanftes Schütteln oder die Verwendung von Dichlormethan als organisches Lösungsmittel. Allenfalls die Verwendung konzentrierter Kali- oder Natronlauge mindert die Emulsionsbildung ein wenig. Die vereinigten organischen Phasen des Ausschüttelns aus der alkalischen Phase werden vom Lösungsmittel befreit und ausgewogen. Anschließend werden die Harzsäuren nach Ansäuern der wässrigen Phase mit konzentrierter Salzsäure durch Extraktion mit Diethylether erhalten. Bei der derart gewonnenen Mischung von Harzsäuren handelt es sich i. d. R. um ein schmutzig-weißes bis gelbbraunes, lockeres Pulver, das geruchlos ist und auch nach längerem Stehen nicht verklumpt. Bei einigen Proben (z. B. Nr. 8, 10 und 29) liegen die Säuren als dunkelbraunes Pulver oder allmählich zusammensinternde, zähe Masse vor.

Die nichtsauren Komponenten sind fast durchweg hellgelbe bis gelbbraune Massen von zähflüssiger, honigartiger Konsistenz. Sie sind oberhalb von ca. 40 °C dünnflüssig und erstarren unterhalb von ca. 20 °C, ohne jedoch schnittfest oder brüchig zu werden. Eine Ausnahme bilden die Harzproben Nr. 8 und 10 (beide von *B. frereana*), deren Anteil saurer

Komponenten beinahe unerheblich ist und deren nichtsaure Komponenten als feines, weißes und wohlriechendes Pulver erhalten werden. Angesichts der Tatsache, dass beim Ausschütteln von etherischem Weihrauch-Extrakt mit konzentrierter Salzsäure keine basischen Verbindungen isoliert werden, können die „nichtsauen“ Weihrauchbestandteile genauer als neutrale Komponenten oder als Neutralfraktion des Weihrauchharz-Extraktes bezeichnet werden.

Die Probenbeschaffenheit kann sehr stark variieren und daher zusätzliche Probleme bereiten, insbesondere wenn nur geringe Probenmengen extrahiert und daraus die Säurefraktion bestimmt werden soll. Probe 4 (*Bcar T1*, von *B. carteri*) beispielweise besteht aus 1-20 mm langen Stücken, die alle Farbtöne von Gelb bis Braun zeigen und weich, zäh oder spröde sind. Von dieser Weihrauch-Probe wurden 19 verschiedene Teilproben genommen und daraus Rohextrakt und Säurefraktion bestimmt. Dabei wurde der Einfluss von Probenmenge, Brockengröße und Vermahlungsgrad vor Extraktion auf die Extraktionsausbeute ermittelt. Die Ergebnisse (siehe Kap. 4.5.1.5, S. 117) zeigen, dass der durchschnittliche Anteil an Extrahierbarem (65,9 %) mit dem in der Literatur (siehe Tab. 4, S. 11) übereinstimmt, aber beträchtlichen Schwankungen unterworfen ist (55,2-71,9 %, Standardabweichung 4,5 %). Auch die Säurefraktion schwankt geringer als der Extrakt, aber ebenfalls deutlich um den Mittelwert von 33,8 % (26,1-40,9 %, Standardabweichung 3,3 %); er stimmt ebenfalls mit den Angaben in der klassischen Literatur überein. Einen Zusammenhang zwischen Extrakt und Säurefraktion gibt es nicht, auch keinen gegenläufigen Effekt. Die unterschiedlichen, maximal extrahierbaren Anteile beim Test der Lösungsmittelabhängigkeit (Abb. 7, S. 32) sind damit eher auf natürliche Schwankungen denn auf Fehler bei der Versuchsdurchführung zurückzuführen. Die starke Neigung zur Emulsionsbildung beim Extrahieren der Säurefraktion mancher Proben verstärken unabhängig von der natürlichen Schwankungsbreite die Streuung der Ergebnisse und führt dazu, dass in der Säurefraktion Neutralkomponenten enthalten sind und umgekehrt. Dieser Nachteil der Flüssig-Flüssig-Extraktion motiviert zur Suche nach alternativen Möglichkeiten zur Isolierung der Säuren; die entsprechenden Arbeiten werden in Kap. 3.3 vorgestellt.

Trotz der oben genannten Einschränkungen sind die Anteile an Extrakt, Säurefraktion und Nichtextrahierbarem geeignet, Aussagen über Harze verschiedener Spezies zu treffen. Abbildung 9 zeigt die Ergebnisse bei den untersuchten Reinharzen. Anhand dieser Daten wird eine Vermutung bestätigt, die aufgrund der Geruches und der Probenbeschaffenheit gezogen wurden: Die „elemiartigen“ Proben von *B. frereana* (8 und 10) bestehen praktisch ausschließlich aus extrahierbaren Substanzen, ebenso die Proben von *B. socotrana*.

Aufgrund der Verteilung von Nichtextrahierbarem, Extrakt und Säurefraktion kann weiterhin geschlossen werden:

- *B. papyrifera*, *B. serrata* und *B. sacra* zeichnen sich durch eine gleichmäßige Verteilung von neutralen Verbindungen, Säuren und Extraktionsrückstand aus (jeweils ca. ein Drittel); eine Unterscheidung zwischen diesen Arten ist nicht möglich.
- Bei *B. frereana* und *B. socotrana* ist der Extraktanteil mit 87-94 % sehr hoch, wobei dieser wiederum zum größten Teil aus Neutralkomponenten besteht (72-79 % auf das Harz bezogen).

- Die beiden Proben von *B. ameero* (Proben 28 und 29) zeigen ähnliche Säure- aber stark unterschiedliche Neutralanteile (21 und 30 % bzw. 67 und 30 %). Möglicherweise handelt es sich um Proben verschiedener Weihrauch-Arten. Mangels Referenzmaterial ist vorläufig keine Beurteilung möglich.

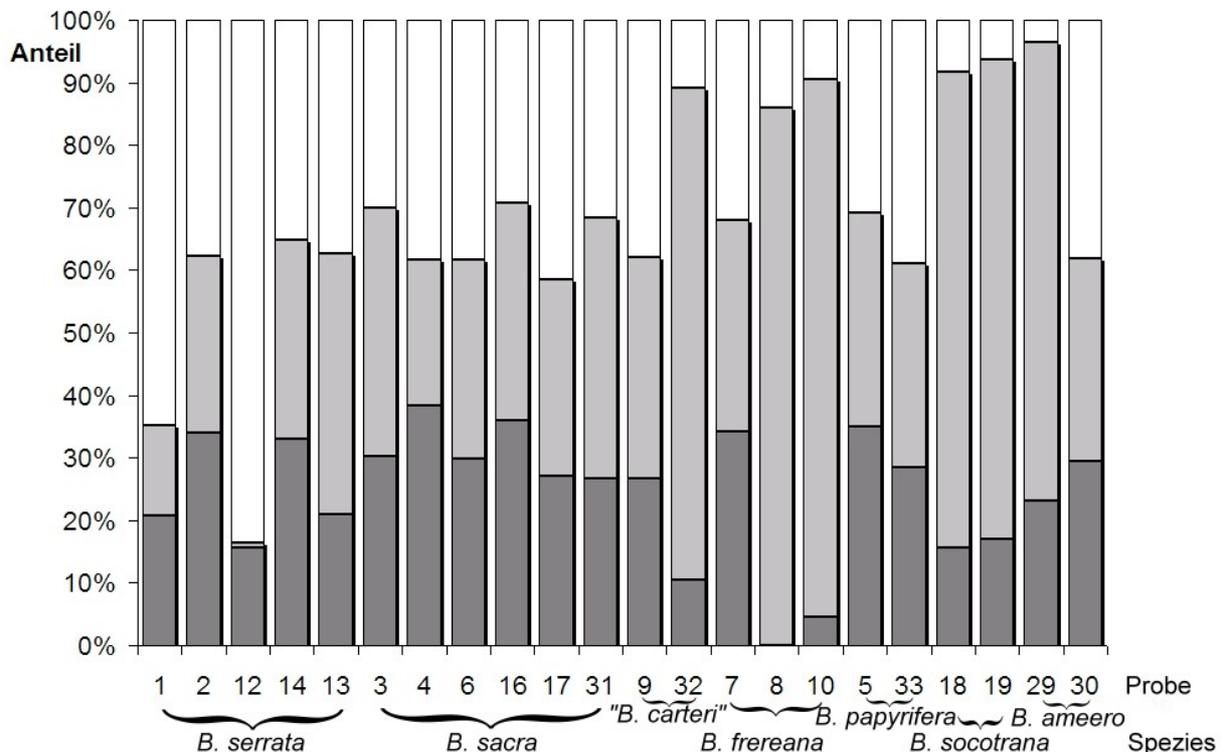


Abb. 9: Verteilung von Nichtextrahierbarem, Säurefraktion und Neutralkomponenten bei den untersuchten Harzproben (reine Harze). *Boswellia*-Spezies: *B. serrata* (Proben 1, 2, 12, 14,); *B. thurifera* (Probe 13); *B. sacra* (Proben 3, 4, 6, 16, 17, 31); *B. carteri* (Proben 9, 32); *B. frereana* (Proben 7, 8, 10); *B. papyrifera* (Proben 5, 33); *B. socotrana* (Proben 18, 19); *B. ameero* (Proben 29, 30). Probenbeschreibung in Tab. 10 (S. 29). □: Nichtextrahierbares. ▒: Neutralfraktion. ■: Säurefraktion.

Bereits anhand der Verteilung der verschiedenen Harzanteile können Aussagen über diejenigen Proben gemacht werden, deren *Boswellia*-Spezies nicht sicher angegeben ist:

- Probe 13 soll laut Etikett von „*B. thurifera*“ stammen, was ein veraltetes Synonym für *B. serrata* ist. Die Extrakt- und Säureanteile von Probe 13 und den übrigen Proben von *B. serrata* stimmen gut überein, sodass die Speziesbezeichnung bei Probe 13 wahrscheinlich korrekt ist.
- Proben 1 und 12 (beides Handelsproben von *B. serrata*) weichen deutlich von den Durchschnittswerten ab, was Anlass für eingehendere Untersuchungen ist.
- Bei Probe 7 (*Bf-b Ca1*) könnte es sich entgegen der Deklaration (Mischung von *B. frereana* und *B. sacra*) um ein reines Harz von *B. sacra*, *B. serrata* oder *B. papyrifera* handeln. Andernfalls wäre ein weit größerer Extraktanteil zu erwarten gewesen oder das Extrakt:Säure-Verhältnis wäre zugunsten des Extraktes verschoben.

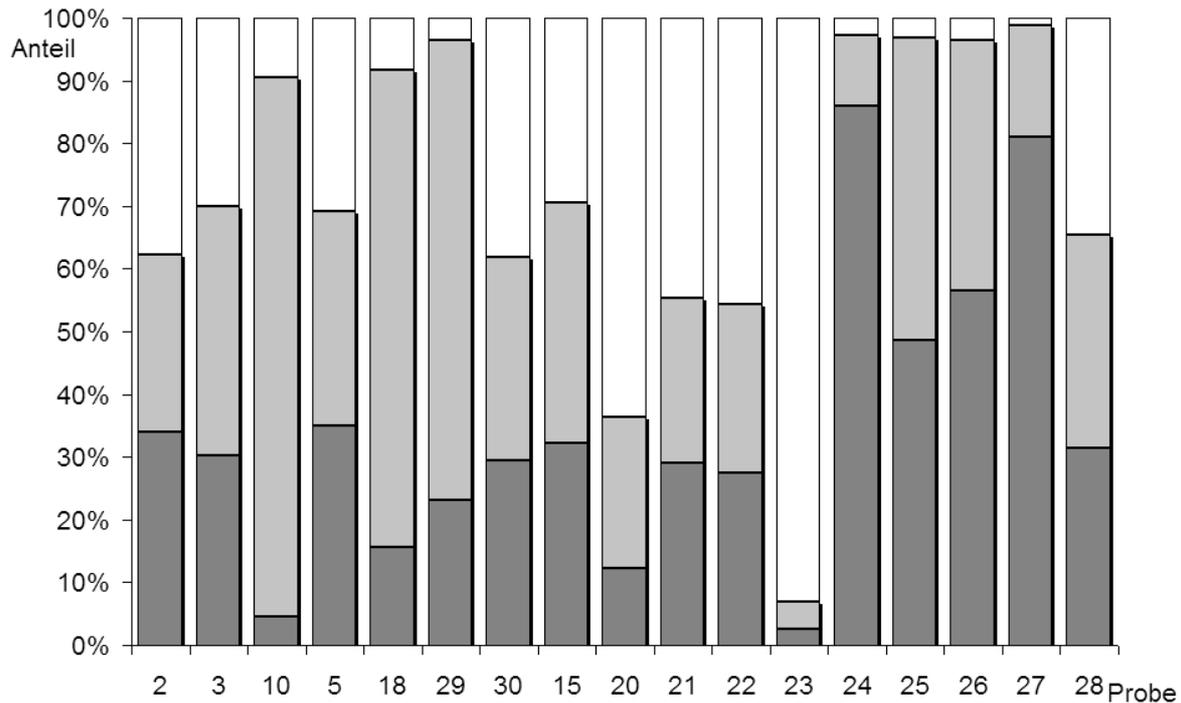


Abb. 10: Verteilung von Nichtextrahierbarem, Säurefraktion und Neutralkomponenten bei den untersuchten Weihrauchharz-Mischungen und -Verarbeitungsprodukten. Zum Vergleich: Proben 2 (*B. serrata*), 3 (*B. sacra*), 10 (*B. frereana*), 5 (*B. papyrifera*), 18 (*B. socotrana*), 29 und 30 (beide *B. ameero*). Verarbeitungsprodukte: Proben 15 (byzantinischer Weihrauch mit *B. sacra*), 20 (Räuchermischung „Ade“ ohne Speziesangabe), 21 + 22 (Medikamente H15 und Sallaki, *B. serrata*), 23 (Nahrungsergänzungsmittel mit *B. sacra*), 24-27 (Extrakte aus *B. serrata*), 28 (Räuchermischung ohne Speziesangabe). □: Nichtextrahierbares. □: Neutralfraktion. ■: Säurefraktion.

Bei den Verarbeitungsprodukten, deren Extrakt- und Säureanteile in Abb. 10 dargestellt sind, können aufgrund der Anteile an Extrahierbarem und Säurefraktion keine Aussagen über die *Boswellia*-Spezies gemacht werden, da hier andere Bestandteile mitenthalten sind und die Proben generell nicht mehr die natürlichen Anteile an Extrahierbarem und Säurefraktion enthalten. Nur aus dem Verhältnis Extrakt:Säurefraktion kann noch ein Hinweis darauf erhalten werden, ob tatsächlich die angegebene *Boswellia*-Spezies verwendet wurde. Bei den Proben 24-27, die verschiedenen Chargen desselben kommerziell erhältlichen Weihrauch-Extraktes entstammen, fällt die sehr hohe Variation der Extrakt- und Säureanteile auf.

Festzuhalten ist, dass die Extraktionsanteile ebenso wie die „nichtchemischen Parameter“ Farbe, Geruch und Probenbeschaffenheit bereits gute Hinweise darauf geben, ob eine Speziesbezeichnung korrekt ist und ob die Probe in anderer Hinsicht von den üblichen Eigenschaften abweicht. Ausgerechnet drei der vier wichtigsten *Boswellia*-Arten (*B. papyrifera*, *B. sacra* und *B. serrata*) lassen sich aber auf diese Weise nicht voneinander unterscheiden, sodass weitere analytische Methoden eingesetzt werden müssen.

3.1.2 Unterscheidung der *Boswellia*-Spezies mittels Dünnschicht-Chromatographie der Säurefraktion

Die Dünnschicht-Chromatographie wurde als erste chromatographische Methode gewählt, da sie schnell und robust ist, keine weitere Probenvorbereitung verlangt und die parallele Analyse mehrerer Proben ermöglicht. Als Probe wird immer die Säurefraktion verwendet, da diese auch bei alten und verarbeiteten Proben kaum verändert sein sollte. Von verschiedenen getesteten DC-Systemen stellen sich Methanol:Wasser-Mischungen auf RP-Kieselgel und Pentan:Diethylether-Mischungen auf Kieselgel unter Zusatz von Essigsäure als die besten Möglichkeiten heraus, eine Übersicht über die Säurefraktion zu erhalten. Sie ergänzen sich durch ihre unterschiedliche Selektivität und die dadurch stark variierende Übersicht über die Säurefraktion. Methanol:Wasser-Mischungen trennen unpolare Komponenten sehr gut voneinander, v. a. die Boswelliasäuren. Das zweite System hingegen ist erheblich schneller (ca. 15 min vs. ca. 25 min) und trennt polare Komponenten besser auf. Viele Proben weisen neben den genannten noch andere, nicht identifizierte Verbindungen auf; fast alle beinhalten aber die vier Boswelliasäuren β -BA **1**, β -ABA **2**, β -KBA **6** und β -AKBA **7**. Bei Verarbeitungsprodukten des Weihrauchs (Räuchermischungen, Medikamente) schließlich können organische Hilfs-, Aroma- und Farbstoffe zugesetzt sein, die bei der Analyse des Rohextraktes störende Komponenten einbringen können. Die flüchtigen Komponenten unterliegen starken Schwankungen durch Alterung (Sauerstoff, Licht, Wärme) und viele Neutralkomponenten kommen ohnehin in allen *Boswellia*-Spezies vor, tragen also nicht zur Differenzierung der Arten untereinander bei. Durch die Konzentrierung auf die Analyse der Säurefraktion wird also eine Fokussierung erreicht, die nur wenig Informationsverlust mit sich bringt. Die Boswelliasäuren sind bei allen Proben der gemeinsame Nenner, ausreichend stabil und können sogar in archäologischen Proben nachgewiesen werden.^[202, 297] Im Weiteren wird die Identifizierung der *Boswellia*-Spezies allein aufgrund der Verteilung der Boswelliasäuren vorgenommen.

Die Abbildungen 11 und 12 zeigen die Dünnschicht-Chromatogramme von Proben, die als *B. serrata* deklariert waren. Die Referenzproben (21, 22) zeigen im UV-Licht in etwa gleich intensive Flecken bei KBA und AKBA. BA und ABA sind wie erwartet nicht zu sehen, andere Verbindungen werden ebenfalls nicht detektiert. Bei den folgenden Ausführungen wird immer von „BA“, „ABA“ etc. gesprochen, auch wenn sich aufgrund der geringen Auflösung der Dünnschicht-Chromatographie unter den entsprechenden Flecken noch andere Substanzen befinden können.

Während Probe 14 ein ähnliches Chromatogramm zeigt (wobei der AKBA-Fleck etwas intensiver ist als der von KBA), zeigen die anderen beiden Proben (1, 12) ein anderes Bild: Probe 1 zeigt neben KBA- und AKBA weitere UV-aktive Verbindungen; Probe 12 zeigt diese ebenfalls, während KBA und AKBA nicht nachweisbar sind.

Beim Anfärben mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagens werden BA, ABA als violette und andere Substanzen ebenfalls als violette, seltener andersfarbige Flecken sichtbar gemacht. KBA und AKBA werden nur bei sehr hohen Konzentrationen als gelbbraune Flecken

detektiert und sind daher auf den Dünnschicht-Chromatogrammen nach dem Anfärben in der Regel nicht zu erkennen.

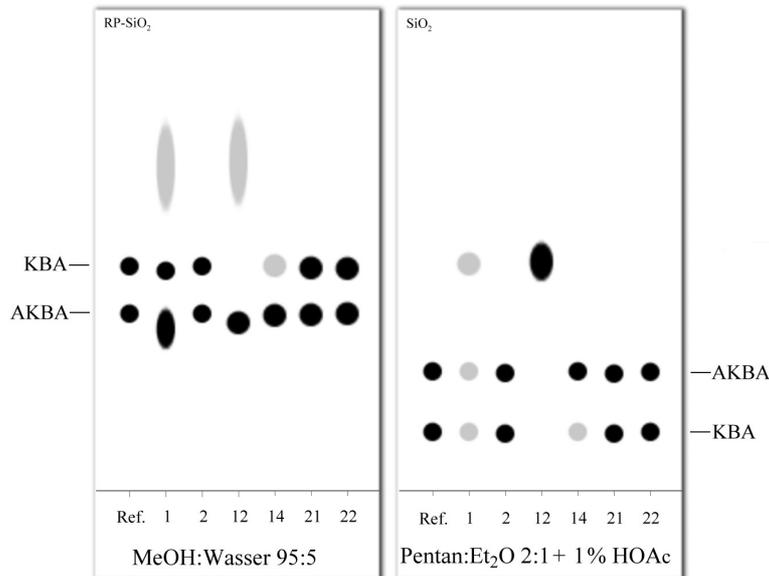


Abb. 11: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit *B. serrata* unter dem UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Ref. = Referenz-Substanzen (β -KBA **6** bei $R_f = 0,45$ (links) bzw. $0,09$ (rechts); β -AKBA **7** bei $R_f = 0,36$ bzw. $0,22$).

Wie Abbildung 12 zeigt, sind bei allen Referenzproben sowohl BA als auch ABA enthalten, wobei der BA-Fleck intensiver ist als der ABA-Fleck. Außerdem wird eine weitere, bislang nicht identifizierte Verbindung bei einem R_f -Wert von ca. $0,30$ detektiert, die nur auf RP-Kieselgel eindeutig zu sehen ist. Wie bereits unter dem UV zeigt Probe 14 auch nach Anfärbung ein ähnliches Dünnschicht-Chromatogramm wie die Referenzproben. Probe 1 zeigt zusätzliche Verbindungen und Probe 12 enthält weder BA noch ABA.

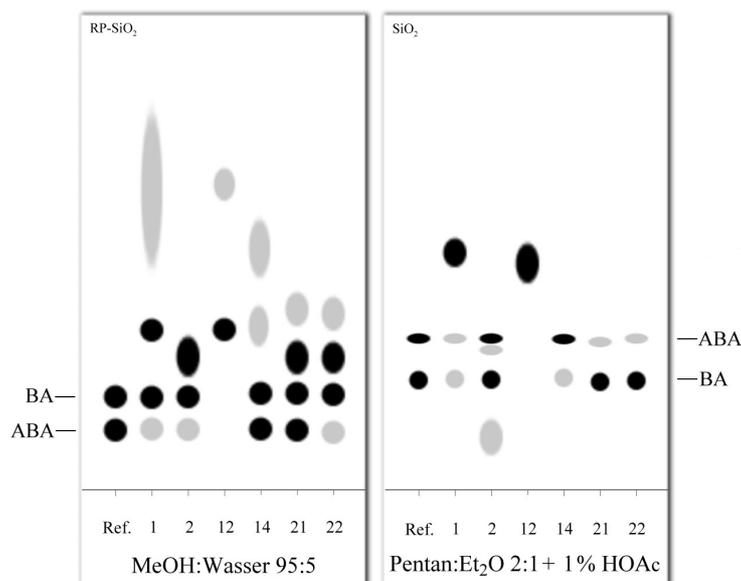


Abb. 12: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit *B. serrata* nach dem Anfärben. Ref. = Referenz-Substanzen (β -BA **21** bei $R_f = 0,21$ (links) bzw. $0,22$ (rechts); β -ABA **2** bei $R_f = 0,13$ bzw. $0,30$).

Während die Dünnschicht-Chromatogramme der Proben 1, 12 und 14 weiter unten besprochen werden, kann die Einheitlichkeit der Chromatogramme von *B. serrata*-Referenzharzen festgestellt werden. Das Säuremuster ist ein verlässlicher Fingerabdruck für diese Spezies.

Auch die Säurefraktion aus *B. sacra* zeigt weitgehend konstante Dünnschicht-Chromatogramme. Im UV (Abb. 13) dominiert AKBA neben wenig oder gänzlich fehlender KBA.

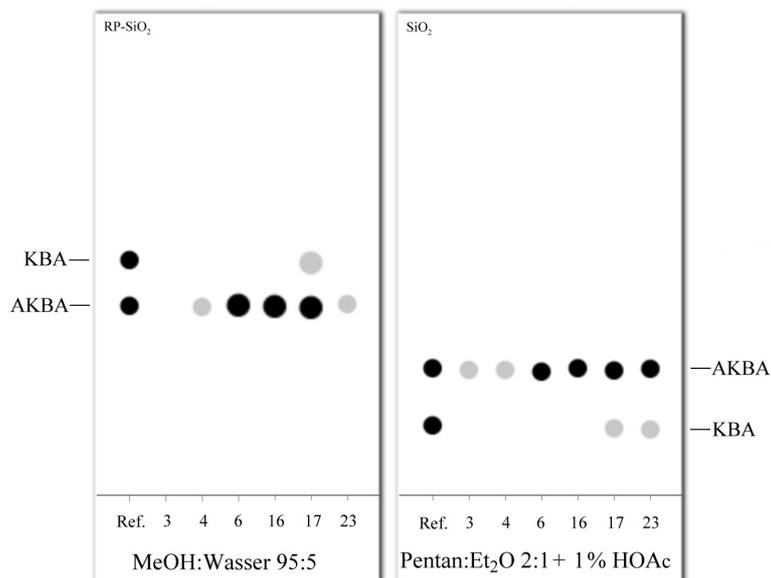


Abb. 13: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit *B. sacra* unter dem UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Ref. = Referenz-Substanzen (β -KBA **6** bei $R_f = 0,45$ (links) bzw. $0,09$ (rechts); β -AKBA **7** bei $R_f = 0,36$ bzw. $0,22$).

Nach dem Anfärben (Abb. 14) ist neben BA und ABA eine weitere Verbindung bei einem R_f -Wert von $0,37$ (RP-Kieselgel) bzw. $0,11$ (Kieselgel) zu erkennen, die bei den Referenzproben (**6**, **16**, **17**) stark, bei den übrigen Proben schwach bis sehr schwach ausgeprägt ist.

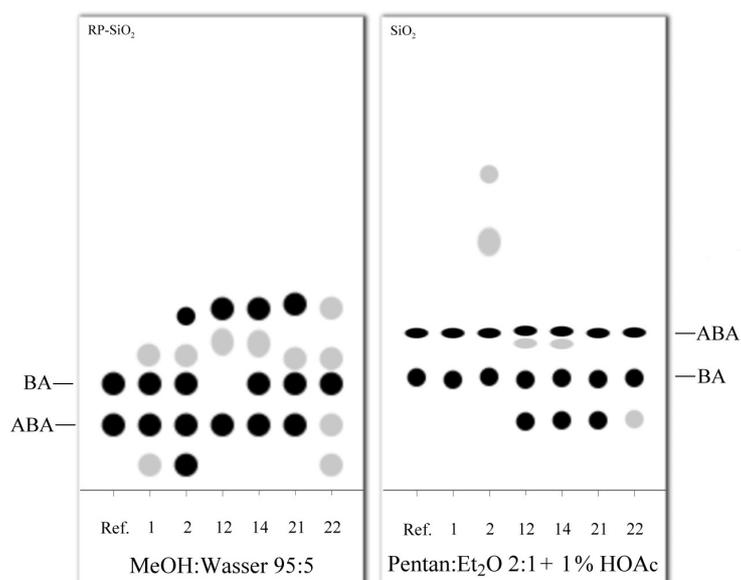


Abb. 14: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben mit *B. sacra* nach dem Anfärben. Ref. = Referenz-Substanzen (BA bei $R_f = 0,21$ (links) bzw. $0,22$ (rechts); ABA bei $R_f = 0,13$ bzw. $0,30$), Harzproben **1**, **2**, **12**, **14**, **21**, **22** (jeweils Säurefraktion).

Die Intensitäten von BA- und ABA-Flecken sind in etwa ähnlich. Probe 4 ist als *B. carteri* deklariert und sollte daher *B. sacra* enthalten. Sie enthält als einzige Probe eine Verbindung, die nur im RP-DC-System bei einem R_f -Wert von 0,07 angefärbt wird. Dieser Substanzfleck ist in den anderen Proben nicht oder nur als Schatten zu erkennen. Die Dünnschicht-Chromatogramme von *B. sacra* zeigen insgesamt ein variables Säuremuster als die von *B. serrata*, sind aber ausreichend ähnlich, um als Fingerabdruck zu dienen.

Die Abbildungen 15 und 16 zeigen die Dünnschicht-Chromatogramme von *B. papyrifera*, *B. frereana* und *B. socotrana*. Statt der Referenzprobe für *B. papyrifera* (Probe 33) wurde eine Handelsprobe verwendet (Probe 5), deren Dünnschicht-Chromatogramm aber mit dem der Referenzprobe (nicht gezeigt) übereinstimmt. Unter dem UV-Licht werden ein intensiver AKBA- und ein gerade noch wahrnehmbarer KBA-Fleck beobachtet. Nach dem Anfärben werden neben den ähnlich intensiven BA- und ABA-Flecken zwei weitere Substanzen detektiert, die R_f -Werte von 0,26 und 0,33 (RP-Kieselgel) bzw. 0,12 und 0,27 (Kieselgel) aufweisen. Die Säurefraktion aus *B. papyrifera* zeigt also ebenso wie die beiden vorherigen Spezies ein charakteristisches Dünnschicht-Chromatogramm.

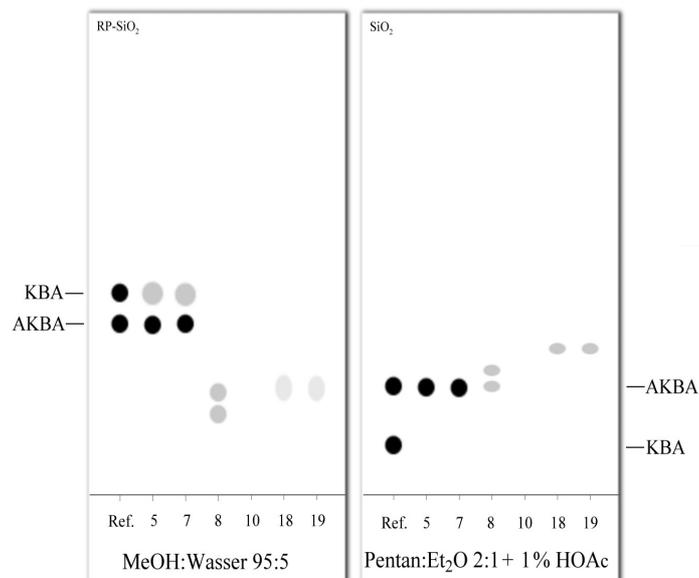


Abb. 15: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben verschiedener *Boswellia*-Spezies unter dem UV-Licht ($\lambda = 254$ nm). Ref. = Referenz-Substanzen ((β -KBA **6** bei $R_f = 0,45$ (links) bzw. 0,09 (rechts); β -AKBA **7** bei $R_f = 0,36$ bzw. 0,22).

Da die Proben von *B. frereana* (Nr. 8 und 10) kaum oder überhaupt keine Säuren enthalten, wurden als DC-Proben die Rohextrakte und nicht die Säurefraktionen verwendet; so können eventuell vorhandene saure Spurenkomponenten erfasst werden. Wie die betreffenden DC-Spuren in Abb. 15 zeigen, liefern die beiden Referenzproben von *B. frereana* identische Chromatogramme, allerdings sind keine Boswelliasäuren zu erkennen. Die Säurefraktion dieser *Boswellia*-Spezies kann also nicht zur Identifizierung herangezogen werden.

Vom Harz von *B. socotrana* lagen zwei Referenzproben vor (Proben 18 und 19). Diese zeigen ein identisches Säuremuster, das von dem der anderen Spezies deutlich abweicht. Boswelliasäuren sind wie in *B. frereana* nicht nachzuweisen. Statt dessen zeigt das Chromatogramm unter dem UV-Licht (Abb. 15) nur eine schwach absorbierende Verbindung bei einem R_f -Wert von 0,21 (RP-Kieselgel) bzw. 0,28 (Kieselgel).

Nach dem Anfärben (Abb. 16) dominiert auf der RP-Kieselgel-Platte eine einzige Verbindung mit $R_f = 0,07$ neben zwei schwachen Flecken bei $R_f = 0,67$ und $0,72$; auf der Kieselgel-Platte werden zwei schwache Flecken bei ABA und bei $R_f = 0,46$ beobachtet. Diese *Boswellia*-Spezies kann also mit den beiden verwendeten DC-Systemen eindeutig erkannt werden.

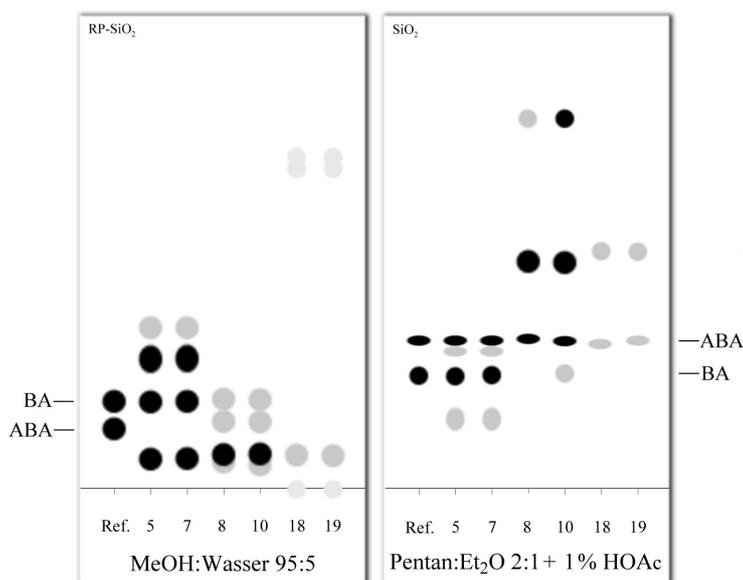


Abb. 16: Dünnschicht-Chromatogramme von Harzproben verschiedener *Boswellia*-Spezies nach dem Anfärben. Ref. = Referenz-Substanzen (β -BA 1 bei $R_f = 0,21$ (links) bzw. $0,22$ (rechts); β -ABA 2 bei $R_f = 0,13$ bzw. $0,30$).

Eine Überraschung zeigen die beiden Proben von *B. ameero* (29, 30), die beide als Referenzharze für diese Spezies dienen sollten. Unter dem UV-Licht (nicht gezeigt) werden bei Probe 29 KBA und AKBA detektiert, bei Probe 30 hingegen fehlen beide Verbindungen. Die erste Probe entspricht also eher *B. frereana*, die zweite *B. serrata*. Auch nach dem Anfärben (Abb. 17) ähnelt Probe 29 dünnschicht-chromatographisch *B. frereana* (keine Boswelliasäuren zu sehen) und Probe 30 *B. serrata* (deutliche BA- und ABA-Flecken).

Tab. 11 listet alle untersuchten *Boswellia*-Spezies mit dem typischen DC-Erkennungsmuster auf, d. h. die jeweils vorhandenen Boswelliasäuren, das Verhältnis der Säuren untereinander und – sofern vorhanden – weitere charakteristische Verbindungen.

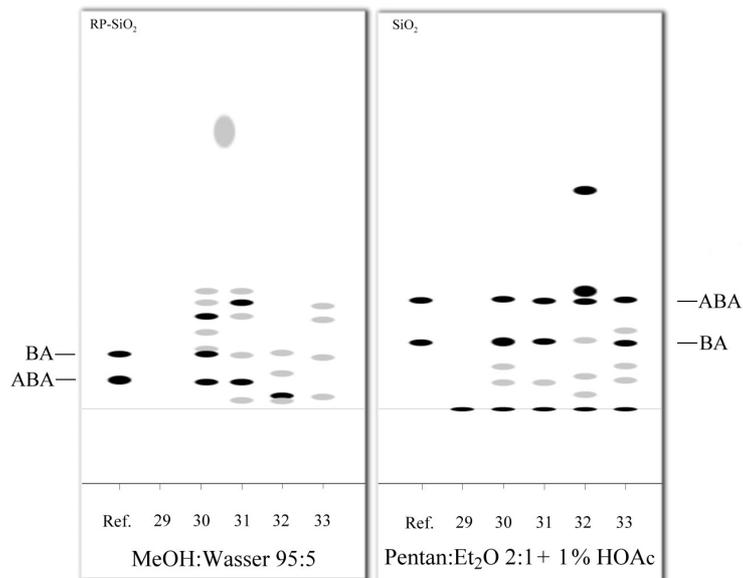


Abb. 17: HPTLC-Chromatogramme von Harzproben verschiedener *Boswellia*-Spezies nach dem Anfärben. Ref. = Referenz-Substanzen (β -BA 1: $R_f = 0,21$ (links) bzw. $0,22$ (rechts); β -ABA 2: $R_f = 0,13$ bzw. $0,30$).

Tab. 11: Charakteristische Elemente bei der DC-Analyse der Säurefraktion aus verschiedenen Weihrauch-Spezies. Aufgelistet sind nur diejenigen Proben, zu denen Referenzproben vorlagen.

Spezies	BA und ABA	KBA und AKBA	Andere charakteristische Verbindungen
<i>B. ameero</i>	Kein einheitliches Säuremuster, siehe Text		
<i>B. frereana</i>	Spezies enthält Säuren nur in Spuren, siehe Text		
<i>B. papyrifera</i>	BA vorhanden	Beide vorhanden AKBA sehr viel intensiver	VIS: 0,26, 0,33 (RP) 0,12, 0,27 (SiO ₂)
<i>B. sacra</i>	Beide vorhanden	Beide vorhanden AKBA sehr viel intensiver	VIS: 0,37 (RP); 0,11 (SiO ₂) 0,07 (VIS) in variabler Intensität (nur SiO ₂)
<i>B. serrata</i>	Beide vorhanden BA intensiver	Beide vorhanden	VIS: 0,30 (RP)
<i>B. socotrana</i>	Nur ABA vorhanden (schwach)	Fehlen	UV: 0,21 (RP), 0,28 (SiO ₂) VIS: 0,07, 0,67, 0,72 (RP) 0,43 (SiO ₂)

3.1.3 Unterscheidung der *Boswellia*-Spezies mittels HPLC der Säurefraktion

Um ein gutes HPLC-Übersichtschromatogramm über die Säurefraktion aus dem Weihrauchharz zu erhalten, wird ein HPLC-Gradient von 65-99 % Methanol mit 0,1 % TFA über 30 min bei einem Fluss von $1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ verwendet. Bei Abwesenheit von Kolophoniumanteilen (siehe Kap. 3.2) ist dies der beste Kompromiss zwischen kurzer Analysenzeit und ausreichender Auftrennung der Säuren. Der Lauf ist mit der Elution von β -ABA 2 nach

ca. 36 min beendet; mit Spülen und Äquilibration ergibt dies eine Gesamtdauer von ca. 55 min pro Probe. Typische HPLC-Chromatogramme bei Wellenlängen von 210 und 254 nm sind in Abbildung 18 gezeigt.

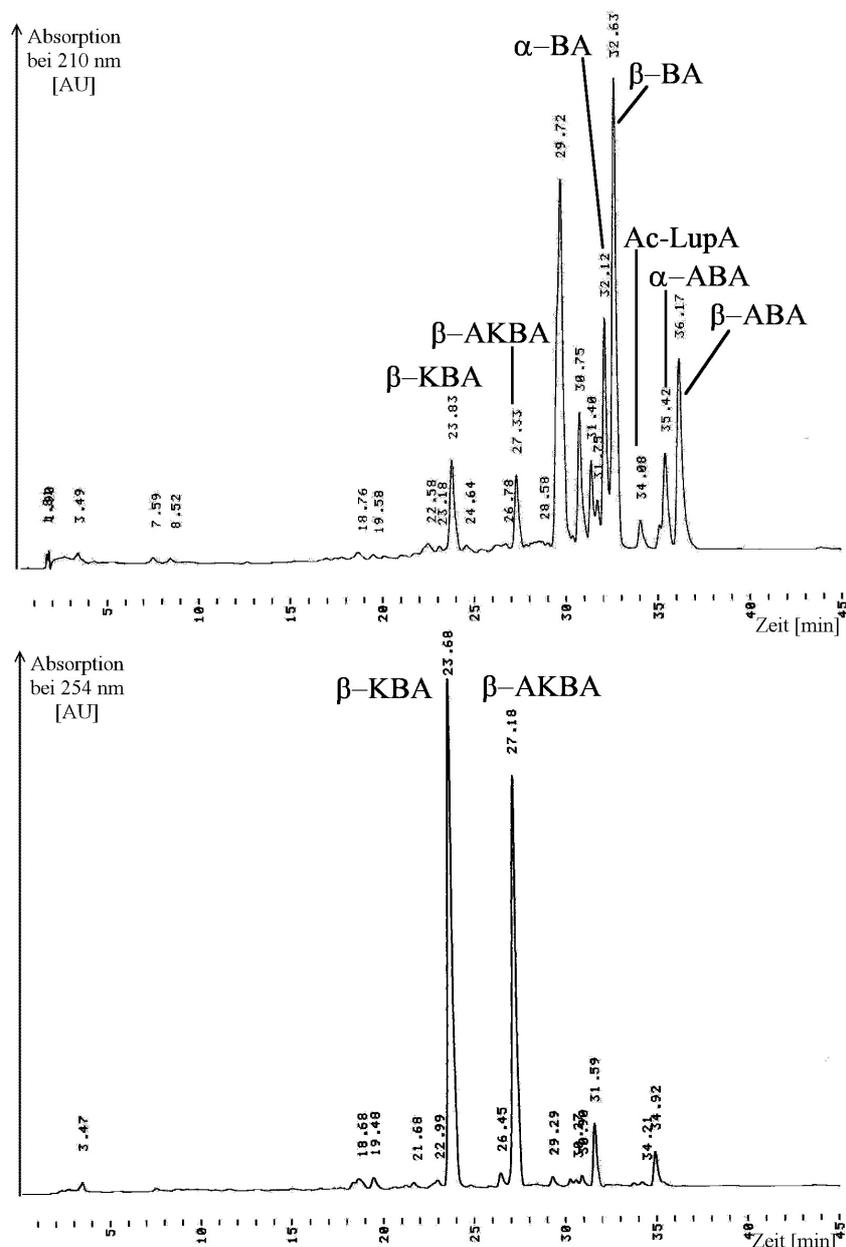


Abb. 18: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktion von Medikament H15 (Probe 21) bei $\lambda = 210$ nm (oben) und 254 nm (unten). HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 1. Probe: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Medikament H15 (*B. serrata*; Probe 21, *Bser H15-1*) in Methanol.

Bei einer Wellenlänge von 210 nm werden alle Säuren mit einer substituierten Doppelbindung erfasst, also alle bisher bekannten Triterpensäuren im Weihrauchharz. Bei 254 nm hingegen werden nur solche Verbindungen detektiert, die als Strukturelement ein α,β -unge-sättigtes Keton oder konjugierte Doppelbindungen tragen. Wie auch bei der DC-Analyse beschränkt sich die Zahl der betrachteten Einzelverbindungen auf wenige bekannte Verbindungen, in diesem Fall α/β -ABA 4/2, β -AKBA 7, α/β -BA 3/1 und β -KBA 6. Da bei einer

Wellenlänge von 254 nm nur ein geringer Teil der Verbindungen detektiert werden, sind im Folgenden immer nur die Chromatogramme bei $\lambda = 210$ nm gezeigt. Sie können grob in drei Teile gegliedert werden: Polare Säuren (Retentionszeit bis 20 min), mittelpolare Säuren ($R_t = 20$ -30 min, darunter KBA und AKBA) sowie unpolare Säuren mit einer Retentionszeit von mehr als 30 min (darunter die BA- und ABA-Isomere).^[298] Die Säurefraktion von *B. serrata* (Abb. 19) zeichnet sich demnach durch viele unpolare Säuren neben einem beträchtlichen Anteil mittelpolarer Säuren aus; polare Verbindungen sind nur in Spuren zu erkennen. Die HPLC-Chromatogramme der Medikamente H15 (Probe 21) und Sallaki (Probe 22) sind deckungsgleich, wie Abb. 19 zeigt.

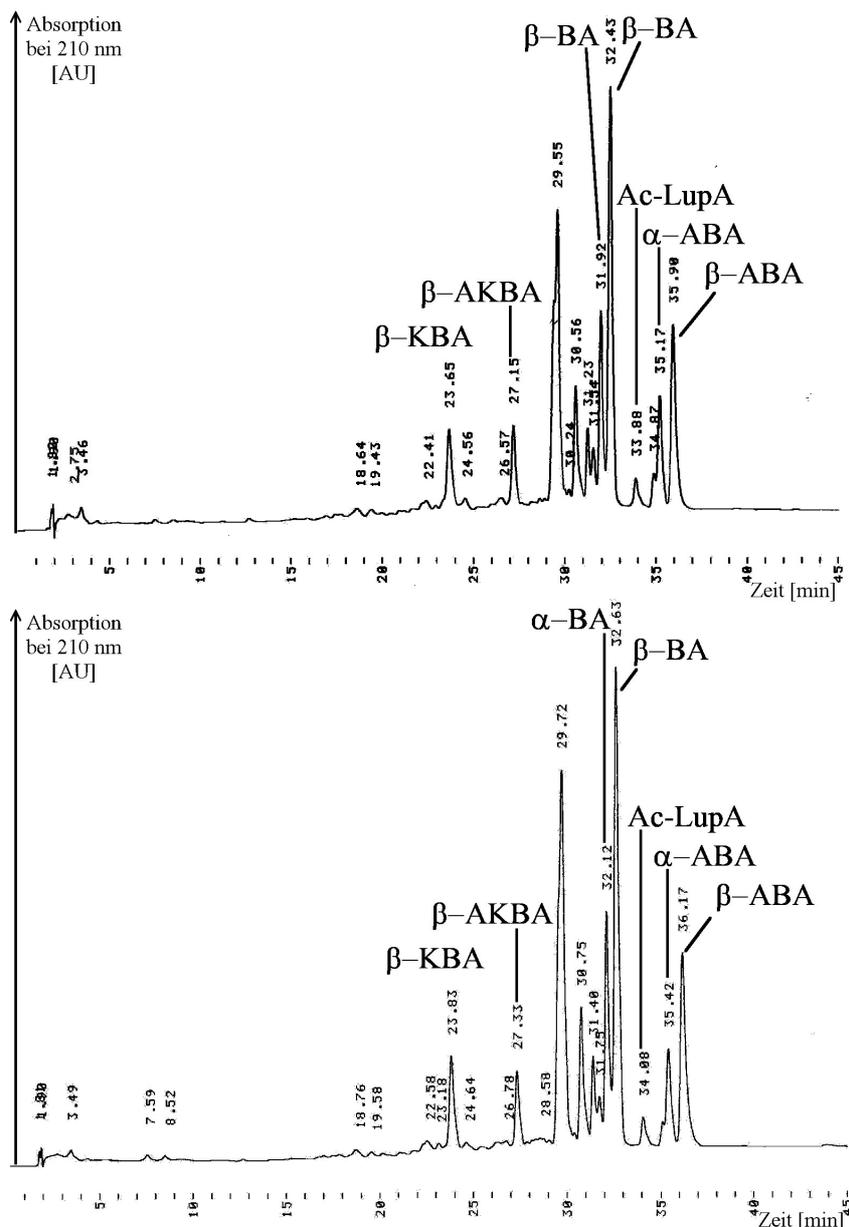


Abb. 19: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen zweier Proben von *B. serrata* (H15, Probe 21, *Bser H15-1* (oben), Sallaki, Probe 22, *Bser Sal-1* (unten)) bei $\lambda = 210$ nm. HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 1. Probe: Jeweils 20 mg \times ml⁻¹ Säurefraktion aus H15 (*B. serrata*; Probe 21, *Bser H15-1*) und Sallaki (*B. serrata*; Probe 22, *Bser Sal-1*) in Methanol.

Diese Übereinstimmung war zu erwarten, denn es handelt sich bei beiden um ein und dasselbe indische Medikament, wobei H15 nur die Exportvariante von Sallaki ist. Da das Ursprungsharz für beide Medikamente aus Plantagen mit *B. serrata* erhalten wird, können diese beiden Medikamente als Referenzproben für *B. serrata* dienen.

Die Säurefraktion einer weiteren Probe von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) unterscheidet sich deutlich von denjenigen der beiden zuvor genannten Proben. Das HPLC-Chromatogramm in Abb. 20 zeigt, dass diese Probe zwar alle typischen Boswelliasäuren enthält, aber dass das Verhältnis von mittel- zu unpolaren Verbindungen umgekehrt ist. Außerdem sind polare Säuren nicht nur in Spuren, sondern in großer Anzahl vorhanden und stellen einen großen Teil der Säurefraktion. Da dieses Harz bereits ein abweichendes Dünnschicht-Chromatogramm aufwies, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Probe entweder von einer anderen Spezies stammt oder eine Verunreinigung enthält (s. Kap. 3.2).

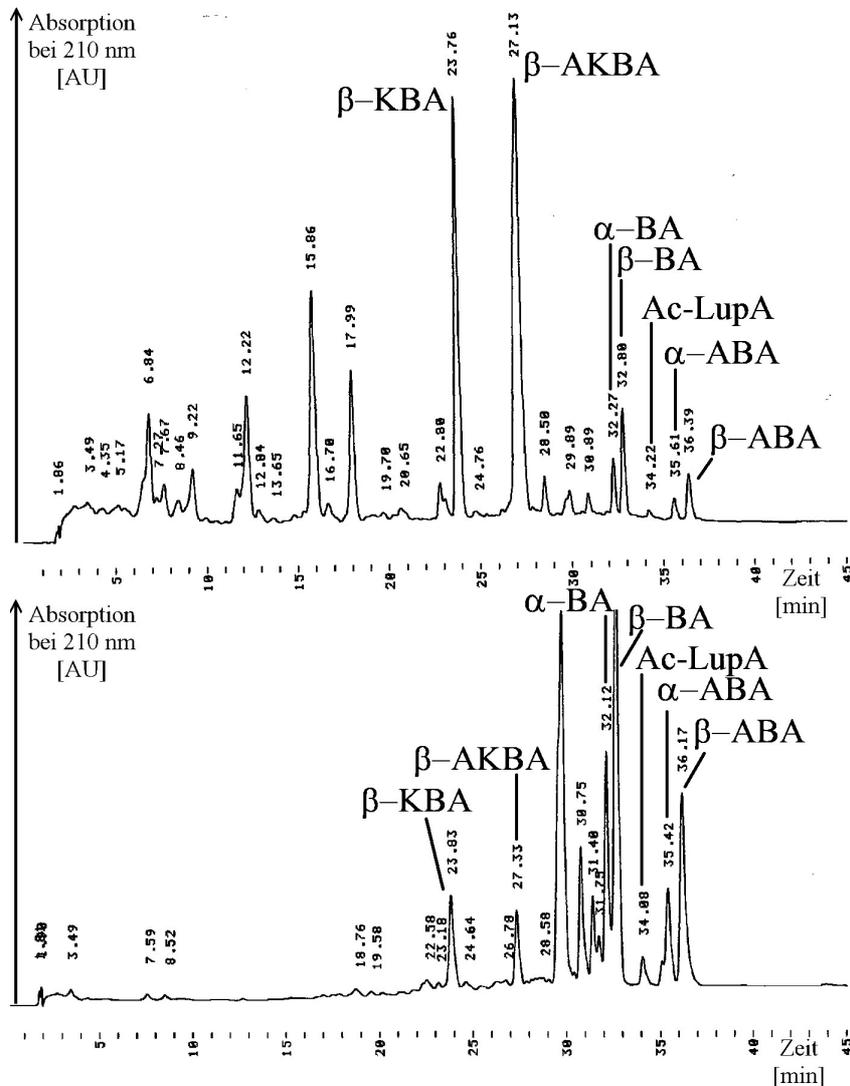


Abb. 20: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus zwei Proben von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1* (oben), H15 (Probe 21, *Bser H15-1*) (unten)) bei $\lambda = 210$ nm. HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 1. Probe: Jeweils 20 mg x ml⁻¹ Säurefraktion aus Probe 1 (*B. serrata*; *Bser Gr1*) und Medikament H15 (*B. serrata*; Probe 21, *Bser H15-1*) in Methanol.

Das HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von *B. sacra* unterscheidet sich beträchtlich von derjenigen aus *B. serrata*. Wie Abb. 21 zeigt, enthält dieses Harz überwiegend unpolare Säuren; mittelpolare Säuren sind in deutlich geringerem Maße und polare überhaupt nicht zu finden.

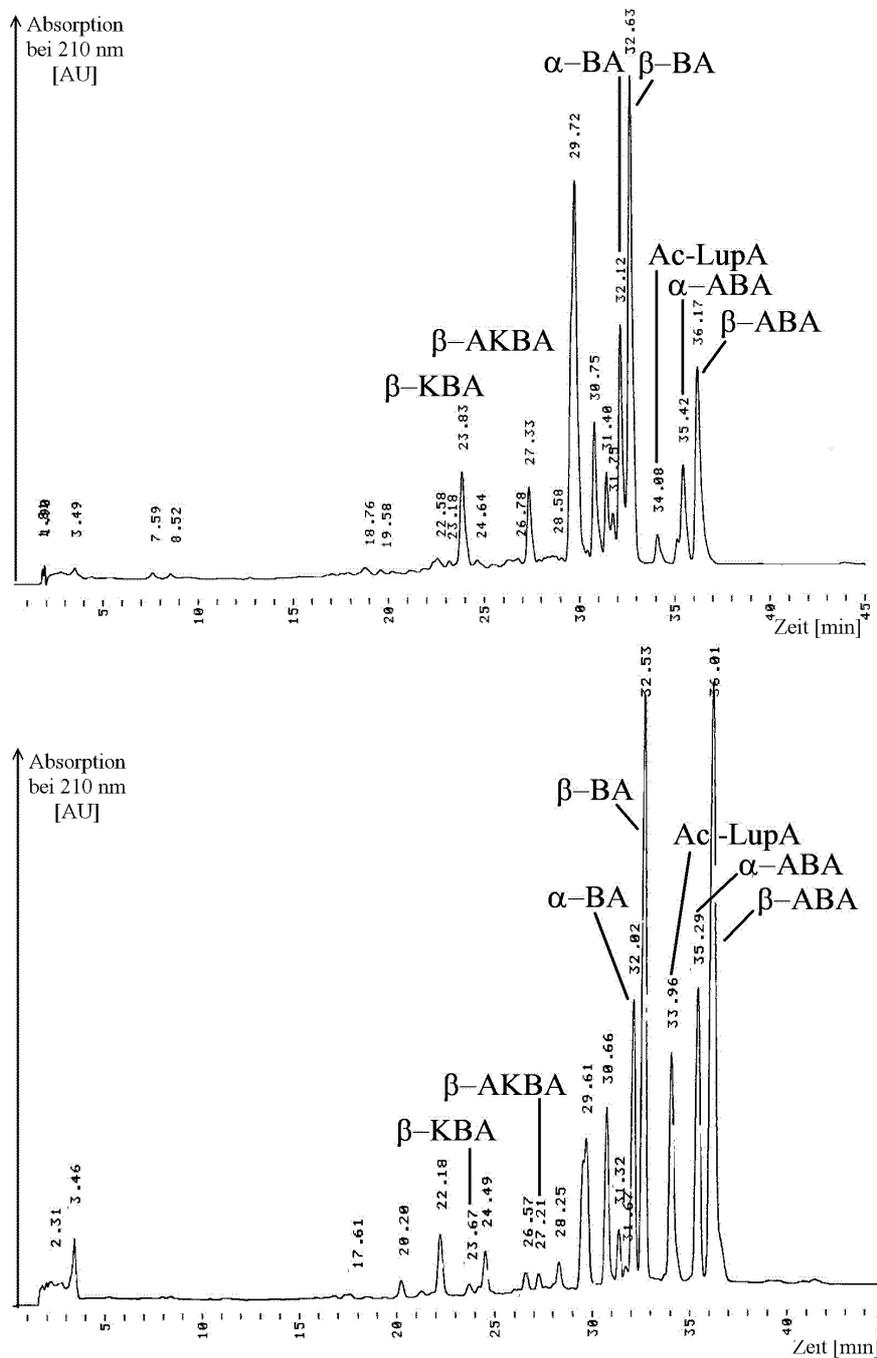


Abb. 21: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus *B. serrata* (Medikament H15, Probe 21 (oben)) und *B. sacra* (Probe 3, unten) bei $\lambda = 210$ nm. HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 1. Probe: Jeweils $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Medikament H15 (*B. serrata*; Probe 21, *Bser H15-1*) und Probe 22 (*B. sacra*, Probe 3, *Bsac Om1*) in Methanol.

Da *B. sacra* und *B. carteri* Synonyme für ein und dieselbe Spezies sind (siehe Tab. 3, S. 5), sollten die Säurefraktionen der als *B. carteri* bezeichneten Proben mit denen von Proben aus *B. sacra* übereinstimmen. Dies ist aber nicht der Fall, wie die HPLC-Chromatogramme in Abb. 21 zeigen: Zwar enthalten beide Spezies keine polaren Säuren und auch qualitativ ähneln sich die beiden Chromatogramme. Während jedoch bei *B. sacra* unpolare Säuren dominieren, ist das Verhältnis zwischen unpolaren und mittelpolaren Säuren bei *B. carteri* ausgewogener.

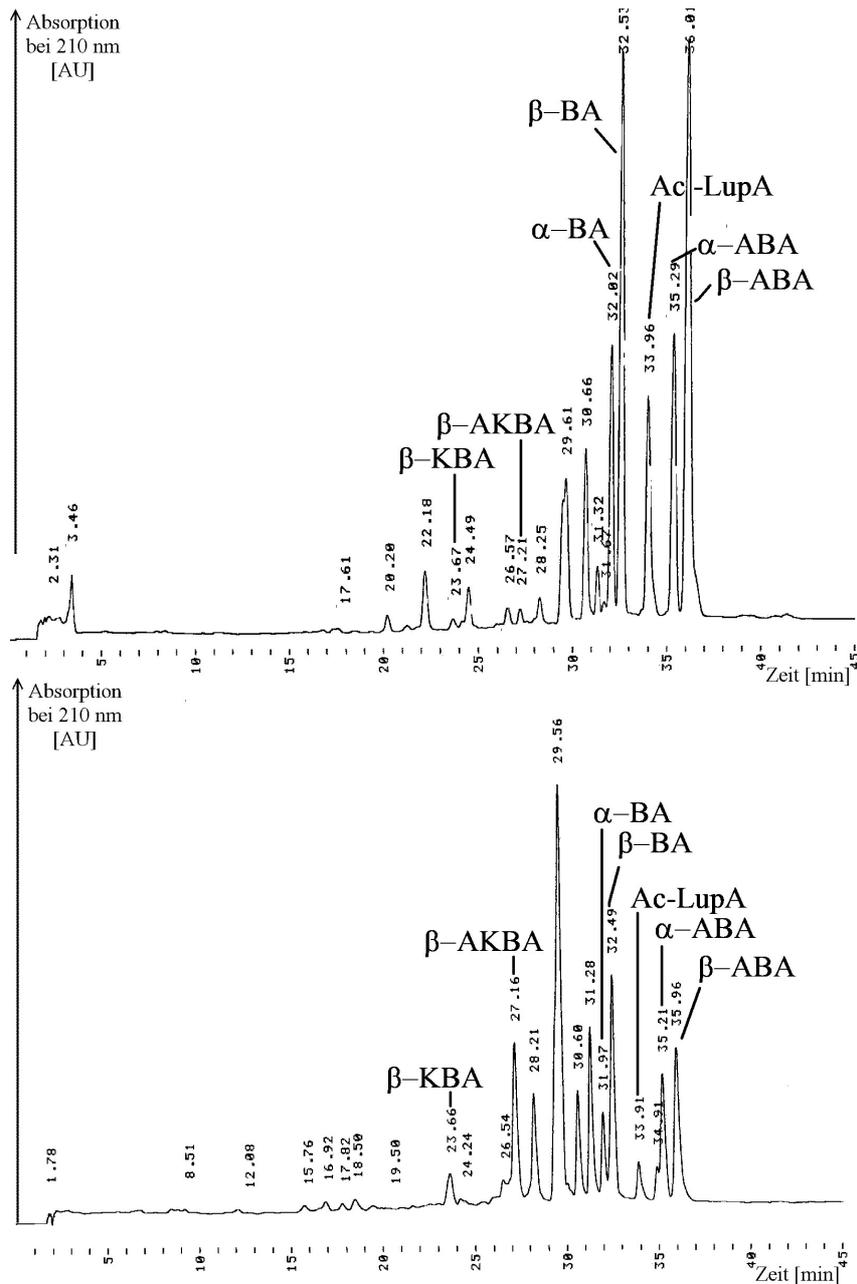


Abb. 22: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus *B. sacra* (Probe 3, oben) und *B. carteri* (Probe 4, unten) bei $\lambda = 210$ nm. HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 1. Probe: Jeweils $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Probe 3 (*B. sacra*, *Bsac Om1*) und Probe 4 (*B. carteri*, *Bcar T1*) in Methanol.

Das HPLC-Chromatogramm der Referenzprobe von *B. carteri* (Probe 9, Abb. 23) ähnelt wiederum keiner der beiden anderen Proben. Im Gegensatz zum relativ stabilen Säurespektrum aus *B. serrata* scheint dasjenige aus *B. sacra* / „*B. carteri*“ stärkeren Schwankungen unterworfen zu sein. Die HPLC-Chromatogramme fördern somit Unterschiede zutage, die bei der Dünnschicht-Chromatographie aufgrund ihrer geringen Auflösung verborgen bleiben. Sie beeinträchtigen zwar nicht die Speziesidentifizierung bei *B. sacra*, sind aber insofern von Interesse, dass diese starken Variationen bei den anderen Arten nicht beobachtet werden. Es ist derzeit unwahrscheinlich, dass die beiden Speziesbezeichnungen wieder wie früher als zwei individuelle Spezies betrachtet werden müssen. Angesichts der großen natürlichen Schwankung in Erscheinung und der geografischen Verbreitung^[23] liegt eher die Vermutung nahe, dass es sich bei den Unterschieden in der Säurefraktion ebenfalls um natürliche Schwankungen handelt.

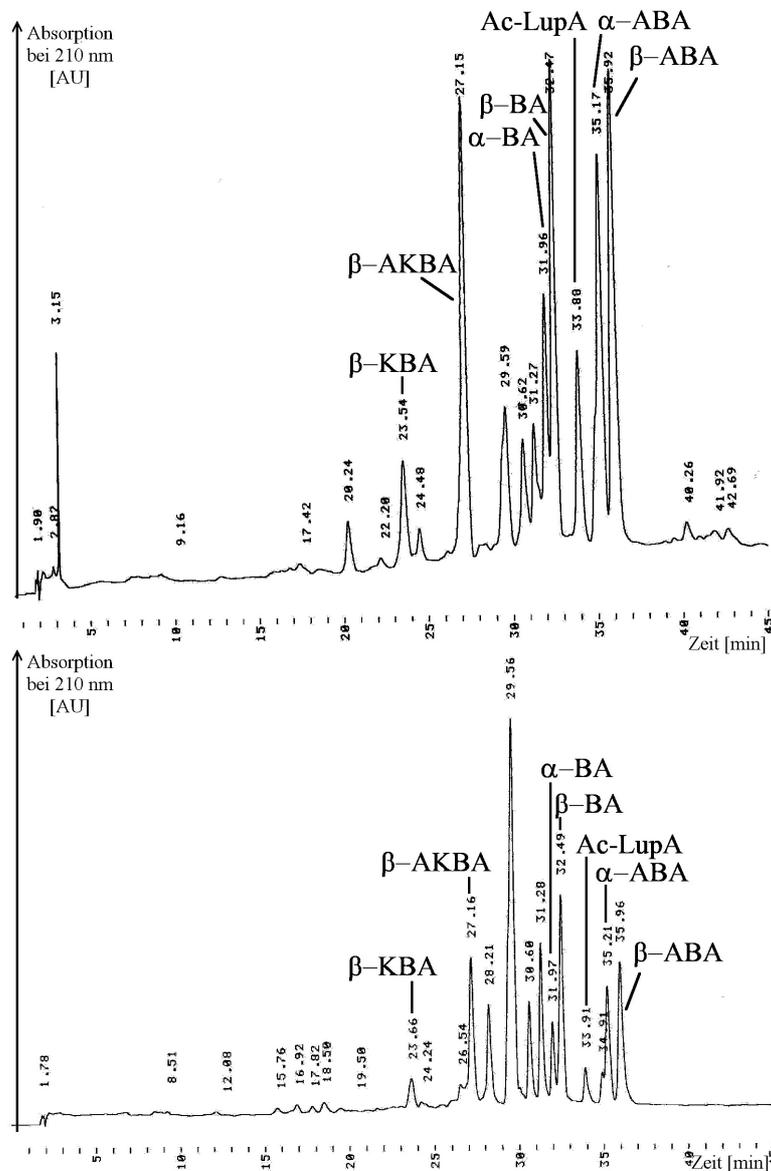


Abb. 23: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus zwei Proben von *B. carteri* (Probe 9, *Bcar G1* (oben), Probe 4, *Bcar T1* (unten)) bei $\lambda = 210$ nm. HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 1. Probe: Jeweils $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Probe 4 (*B. carteri*, *Bcar T1*) und Probe 9 (*B. carteri*, *Bcar G1*) in Methanol.

Das HPLC-Chromatogramm der Probe Nr. 7 – als Mischung aus *B. frereana* und *B. bhau-dajiana* (syn. *B. sacra*) deklariert – ist praktisch deckungsgleich mit dem der Probe 4 (*B. carteri*), wie Abb. 24 zeigt. Dies bestätigt die bereits zuvor geäußerte Vermutung (siehe S. 36), dass es sich bei dieser Probe nicht um eine Mischung der Harze zweier *Boswellia*-Arten, sondern um ein reines Harz von *B. carteri* (also *B. sacra*) handelt.

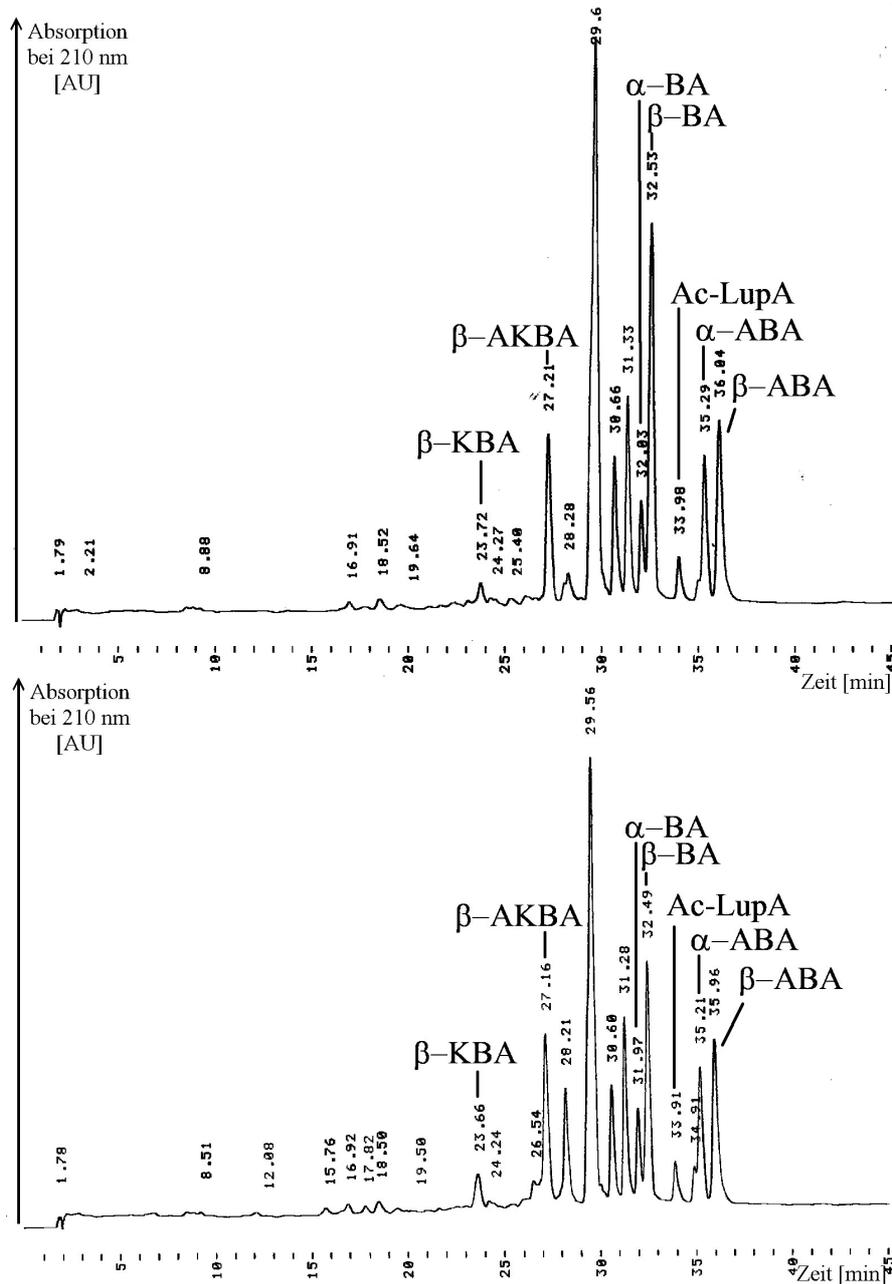


Abb. 24: HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus *B. frereana* / *B. bhau-dajiana* (Probe 7, oben) und *B. carteri* (Probe 4, unten) bei $\lambda = 210$ nm. HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 1. Probe: Jeweils $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Probe 7 (*B. frereana* / *B. bhau-dajiana*, *Bf-b Ca1*) und Probe 4 (*B. carteri*, *Bcar T1*) in Methanol.

3.1.4 Unterscheidung der *Boswellia*-Spezies durch Kombination verschiedener Methoden

Wie die Ergebnisse in den Kap. 3.1.1-3.1.3 zeigen, ist keiner der Ansätze allein bei der Speziesidentifizierung erfolgreich. Durch Kombination der verschiedenen Methoden, wie sie in Tabelle 12 aufgelistet sind, können aber die vier wichtigsten *Boswellia*-Spezies und *B. socotrana* eindeutig voneinander unterschieden werden.

Tab. 12: Charakteristische Merkmale der wichtigsten Weihrauch-Arten.

Spezies	Rohextrakt [% v. Harz]	Säurefraktion [% v. Harz]	Geruch	Charakteristisches Dünnschicht- Chromatogramm der Säurefraktion?
<i>B. serrata</i>	60-70	30-35	Typisch weihrauchartig, harzig	Ja
<i>B. sacra</i>	60-70	25-35	Aromatisch, dunkel, Nadelwald, weihrauchartig	Ja
<i>B. papyrifera</i>	60-70	25-35	Aromatisch, Zitrus (Orange/Zitrone) wenig harzartig	Ja
<i>B. frereana</i>	90	0-5	Aromatisch, frisch, Nadelwald, wenig harzartig, kaum nach Weihrauch	Nein (Säuren nicht oder nur in Spuren vorhanden)
<i>B. socotrana</i>	90-95	15	Aromatisch, holzartig, wenig nach Weihrauch	Ja

Nur die Charakterisierung von *B. ameero* (Proben 29 und 30) ist auf diese Weise nicht möglich. Beide Proben unterscheiden sich in allen Merkmalen (extrahierbarer Anteil, Säureanteil und Dünnschicht-Chromatogramm der Säurefraktion) beträchtlich, obwohl es sich um Referenzproben handelt, siehe die Beschreibung der Proben ab S. 160. Sehr wahrscheinlich liegen hier zwei Proben unterschiedlicher Spezies vor und keine natürliche Schwankung innerhalb derselben Spezies. Die Proben wurden 1880 von B. Balfour, dem Benenner der Spezies, von einer Reise nach Socotra mitgebracht. Es ist wahrscheinlich, dass Balfour die Proben nicht selbst gesammelt, sondern von dortigen Händlern erworben hat. Durch die damalige Unkenntnis der Vielfalt der *Boswellia*-Spezies (allein auf Socotra gibt es wahrscheinlich sechs verschiedene Spezies, s. Tab. 3 auf S. 5) könnten Harze mehrerer Spezies irrtümlicherweise als von einer Spezies stammend identifiziert worden sein. Die Proben 29 und 30, die sich heute in der Harzsammlung von Kew Gardens (GB) befinden, können keiner Probe im dortigen Herbarium zugeordnet werden. Damit besteht keine unabhängige Möglich-

keit zur Zuordnung der Harzproben. Mangels weiterer Referenzproben kann auch keine weitere Charakterisierung von *B. ameero* vorgenommen werden.

Mit den o. a. Charakteristiken können zu allen bislang nicht oder nicht sicher zugeordneten Proben mit fehlender oder fragwürdiger Speziesbezeichnung sichere Aussagen getroffen werden:

- Probe 1: Dieses Harz wurde als von *B. serrata* stammend deklariert. In Geruch, Anteil an Extrahierbarem und Säuren (35 bzw. 25 %) weicht es ebenso von typischen Werten für diese Spezies ab wie die DC- und HPLC-Chromatogramme. Die Möglichkeit einer Verunreinigung mit einem anderen Harz liegt nahe und wird in Kap. 3.2 behandelt.
- Probe 2-5: Diese Proben entsprechen der jeweils deklarierten Spezies (*B. serrata*, *B. sacra*, *B. carteri*, *B. papyrifera*).
- Probe 6: Diese Probe aus dem Harz von *B. sacra* stammt von einer Forschungsplantage im Sultanat Oman, auf der nur *B. sacra* angebaut wird. Sie ist in jeder Hinsicht von hervorragender Qualität, d. h. sie besteht aus großen, einwandfreien Harzbrocken, weist einen intensiven, weihrauchartigen Geruch auf und ist praktisch frei von Verunreinigungen. Sie wird im Folgenden als Referenzprobe für *B. sacra* verwendet.
- Probe 7: Diese Handelsprobe soll laut Händler eine Mischung aus *B. frereana* und *B. bhau-dajiana* (syn. *B. sacra*) sein. Da *B. frereana* praktisch nur aus Extrahierbarem besteht und kein Säurespektrum aufweist (s. Kap. 3.1.1 und 3.1.2), müsste sich eine Mischung der beiden Spezies an einer Änderung der Anteile an Extrahierbarem und dem Verhältnis Extrakt:Säurefraktion zeigen; das Dünnschicht-Chromatogramm hingegen müsste mit dem von *B. sacra* übereinstimmen. Die Anteile an Extrakt und Säurefraktion weichen mit ca. 70 % bzw. 35 % nicht von den Werten ab, wie sie bei einem reinem Harz von *B. sacra*, *B. serrata* oder *B. papyrifera* zu erwarten wären. Die Zumischung eines extraktreichen Harzes ist also unwahrscheinlich. Der Geruch und ebenso das Dünnschicht-Chromatogramm (s. Abb. 15 und 16) gleichen demjenigen von *B. papyrifera*. In der Summe lassen diese Ergebnisse den Schluss zu, dass Probe 7 nicht aus *B. frereana* und *B. sacra*, sondern ausschließlich aus *B. papyrifera* besteht.
- Probe 8: Diese Probe von *B. frereana* – eine private Spende mit gesicherter Speziesbezeichnung – stimmt in allen Charakteristika mit denen der Referenzprobe (Probe 10) überein.
- Probe 9: Diese Probe stimmt mit den Proben von *B. carteri* überein und stellt mit diesen wahrscheinlich eine Variation von *B. sacra* dar.
- Probe 10: Es handelt sich hierbei um eine Referenzprobe von *B. frereana*. Während aufgrund fehlender Säuren an der Zugehörigkeit dieser Spezies zur Gattung *Boswellia* gezweifelt wurde,^[206] kann diese Frage und damit die Existenz elemiartiger und boswelliasäurefreier Weihrauch-Arten inzwischen sicher bejaht werden.^[13]

- Probe 11: Diese Handelsprobe von einem yemenitischen Markt (ohne Speziesbezeichnung) ist von sehr guter Qualität und sollte nach Geruch und Geografie von *B. sacra* stammen. Das Dünnschicht-Chromatogramm bestätigt diesen Eindruck.
- Probe 12: Diese Handelsprobe soll laut Auszeichnung von *B. serrata* stammen. Extrakt- und Säureanteil fallen jedoch mit 18 % bzw. 15 % ungewöhnlich gering aus. Auch der Geruch (insgesamt schwach, muffig, harzartig) ist nicht typisch für diese Spezies. Die Probe scheint entweder behandelt worden zu sein oder enthält eine Verunreinigung. Insgesamt handelt es sich um eine billige Qualität, die ihren geplanten Zweck (Räucherung) nur ungenügend erfüllen wird.
- Probe 13: Diese Probe von *B. thurifera* soll aus Somalia stammen. *B. thurifera* ist ein Synonym für *B. serrata*; in einer neuen Literaturstelle^[20] wird aber auch eine somalische Weihrauchart *B. thurifera* erwähnt. Da in Somalia nach neuestem Stand aber nur *B. sacra*, *B. neglecta*, *B. papyrifera* und *B. rivae* anerkannt sind, kommen also mehrere Spezies in Frage. Ein Extraktanteil von ca. 65 % und eine Säurefraktion, die ca. 20 % des Harzes ausmachen, lassen keine Entscheidung zu; der Geruch ist eindeutig weihrauchartig. Die Dünnschicht-Chromatogramme zeigen keine UV-aktiven Verbindungen, aber nach Anfärbung intensive Flecken bei BA und ABA. Die Probe stammt daher höchstwahrscheinlich von *B. sacra*.
- Probe 14: Diese Probe stammt aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums (BGBM) in Berlin-Dahlem. Sie wurde unter vielen dort vorhandenen Proben gewählt, um den Einfluss des Alters auf die Sicherheit der Speziesidentifizierung zu bestimmen. Die 120 Jahre alte Probe, die von *B. serrata* stammen soll, weist wie erwartet einen deutlich schwächeren und anderen Geruch als die anderen Proben dieser Spezies auf. Leichte Harznoten und muffige bis holzartige Töne geben ebenso wenig wie die Anteile an Extrakt und Säurefraktion (ca. 70 % bzw. 30 %) einen Hinweis auf die Richtigkeit der Speziesbezeichnung. Die Dünnschicht-Chromatogramme der Säurefraktion stimmen mit denen der *B. serrata*-Referenzharze überein, allerdings sind die Flecken der jeweils deacetylierten Verbindung (BA vs. ABA, KBA vs. AKBA) intensiver. Dies ist wahrscheinlich ein natürlicher Vorgang und kein Grund, an der Speziesidentifizierung zu zweifeln.
- Probe 15: Bei dieser Probe handelt es sich um byzantinischen Weihrauch, d. h. einem Weihrauchharz, das mit Farb- und Aromastoffen versetzt ist. Laut einer Notiz des Käufers (Prof. Dr. W. Lack, BGBM) soll das Harz von *B. sacra* als Ausgangsmaterial verwendet worden sein. Wie erwartet lassen Geruch und Form des Produktes keine Rückschlüsse auf die Spezies zu: Es handelt sich um intensiv duftende, rote Brocken von regelmäßiger, aber eindeutig unnatürlicher Form. Extrakt- und Säureanteil (ca. 70 bzw. 30 %) stimmen gut mit den Erwartungen für *B. sacra* überein und das Dünnschicht-Chromatogramm zeigt ein für *B. sacra* charakteristisches Säuremuster. Anzumerken ist, dass die Farb- und Aromastoffe dieser Probe im Extrakt deutlich und in der Säurefraktion kaum noch wahrzunehmen sind. Sie stören die DC-Untersuchung nicht. Weiterhin ist die Verwendung dieses relativ hochwertigen Harzes für dieses Produkt überraschend, zumal es ja durch die Zusätze kaum zur Geltung

kommt. In der Regel werden für derartige Verarbeitungsprodukte billigere Harzqualitäten oder -spezies eingesetzt.

- Proben 16 und 17: Diese beiden Proben wurden im Rahmen von Exkursionen des BGBM in Yemen gesammelt. Sie stimmen wie erwartet in allen Charakteristika (Geruch, Extrakt- und Säureanteil, Dünnschicht-Chromatogramm der Säurefraktion) mit den anderen Referenzproben von *B. sacra* überein und können als Referenzproben dienen.
- Proben 18 und 19: Dies sind die einzigen Proben von *B. socotrana*. Während der Geruch keine eindeutigen Hinweise auf die Spezies gibt, zeigen sie eine charakteristische Kombination aus hohem Extrakt- und niedrigem Säureanteil sowie ein einheitliches Dünnschicht-Chromatogramm.
- Probe 20: Diese Harzmischung wurde im Fachhandel für Kirchenbedarf erworben; sie trägt die Sortenbezeichnung „Ade“ und keine Speziesbezeichnung. Weder durch den Geruch noch durch den Extrakt- oder Säureanteil ist die Zuordnung zu einer Weihrauchspezies möglich. Im Gegenteil deuten 40 % Extrakt und 10 % Säuren allgemein auf eine eher billige Qualität hin. Das Dünnschicht-Chromatogramm der Säurefraktion ist identisch mit dem aus *B. sacra*. Die Probe 20 ist demnach wahrscheinlich keine Mischung aus dem Harz verschiedener Weihrauch-Spezies, sondern reines *B. sacra*-Harz mittlerer Qualität.
- Proben 21 und 22: Diese beiden Proben entstammen den indischen Medikamenten H15 und Sallaki. Da sie aus dem Harz von firmeneigenen *B. serrata*-Plantagen gewonnen werden und identische DC- und HPLC-Chromatogramme zeigen, können sie als Referenzproben verwendet werden.
- Probe 23: Eine Tablette dieses Nahrungsergänzungsmittels beinhaltet laut Zutatenverzeichnis als aktive Komponente 100 mg „Weihrauchpulver“ von *B. sacra*. Die Anteile von Extrakt und Säurefraktion sind nicht mehr sinnvoll zu bestimmen. Der Geruch und das Dünnschicht-Chromatogramm der Säurefraktion stimmen mit dem der *B. sacra*-Referenzproben überein, sodass die *Boswellia*-Spezies bei diesem Verarbeitungsprodukt korrekt bezeichnet ist.
- Proben 24-27: Diese Proben sind laut Etikett verschiedene Chargen desselben ethanolschen Extraktes aus *B. serrata*. Weder Ethanol noch andere gute Lösungsmittel (siehe Kap. 3.1.1 ab S. 32) lösen diesen Extrakt vollständig; es verbleiben 1-3 % unlöslicher Anteil in der Extraktionshülse. Der Säureanteil der vier Chargen schwankt zwischen 45 und 80 %. Die Dünnschicht-Chromatogramme zeigen deutlich, dass die Extrakte alle von *B. serrata* stammen. Da Extrakt- und Säureanteil dieser Spezies keinen ausgeprägten natürlichen Schwankungen unterliegt, müssen diese im Fall der Proben 24-27 ihre Ursache in der Herstellung haben. Eine Rückfrage beim Importeur ergibt, dass der Extrakt durch Extraktion mit Ethylacetat und nicht mit Ethanol hergestellt wird. Dieser wird nach Entfernen des Extraktionsmittels in Methanol gelöst und zweimal mit Hexan „extrahiert“, bevor die Methanolphase gefiltert, getrocknet und vermahlen wird. Versuche, auf die beschriebene Art eine Säurefraktion zu erhalten, schlugen fehl: Methanol und Hexan ergeben kein klar getrenntes Zwei-Phasen-

gemisch. Eine effektive Trennung von Säuren und Neutralkomponenten (das Ziel dieser Maßnahme) ist auf diesem Weg nicht möglich, wie bereits zu Beginn dieses Kapitels erläutert. Stattdessen werden – wie die Analyse der Proben 24-27 zeigt – Extrakte mit stark variierenden Anteilen an Säuren und Neutralkomponenten erhalten. Die Angabe „85 %“ auf den Etiketten bleibt unklar, da sie sich weder auf Extrahierbares noch auf die Säurefraktion bezieht.

- Probe 28: Diese Räuchermischung mit der Sortenbezeichnung „Palästina“ für den Kirchengebrauch wurde im Fachhandel erworben; sie trägt keine Speziesbezeichnung. Die Anteile an Extrakt und Säurefraktion passen zu *B. serrata*, *B. sacra* oder *B. papyrifera*, d. h. der Gewichtsanteil der zugesetzten Stoffe wie Farbstoffe, Aromen, Teile anderer Pflanzen ist als gering einzuschätzen. Aufgrund der Zusätze kann nur das DC-Säuremuster zur Speziesidentifizierung herangezogen werden: Es ist identisch mit dem von *B. sacra*.
- Proben 29 und 30: Diese beiden Proben stammen aus der Harzsammlung der Royal Botanical Gardens in Kew (GB) und waren mit *B. ameero* bezeichnet. Wie bereits auf S. 51 diskutiert, deuten die beträchtlichen Unterschiede zwischen diesen Proben darauf hin, dass sie nicht von ein und derselben, sondern zwei verschiedenen Spezies stammen.
- Probe 31: Diese Probe von *B. sacra* stammt ebenfalls aus den Beständen von Kew Gardens (GB). Laut Notiz des Probennehmers könnte es sich auch um *B. frereana* handeln. Extrakt- und Säureanteil stimmen mit ca. 70 bzw. 25 % mit den Werten für *B. sacra* überein wie auch das Dünnschicht-Chromatogramm der Säurefraktion. Damit ist die Spezies dieser Probe eindeutig als *B. sacra* bestimmt.
- Probe 32: Diese Probe wurde der Harzsammlung von Kew Gardens vom Autor einer Methode zur Speziesbestimmung^[42] (Dr. L. Pentz) gestiftet; es handelt sich hierbei laut Beschreibung um *B. carteri*. Die Extrakt- und Säureanteile (90 bzw. 10 %) stimmen aber nicht mit dieser Spezies, sondern mit *B. frereana* überein. Die Dünnschicht-Chromatogramme vom *Extrakt* dieser Probe, verglichen mit demjenigen des Extraktes aus einer *B. frereana*-Referenz sowie der Säurefraktion aus *B. serrata*, *B. sacra* und *B. socotrana*, zeigen eindeutig, dass es sich bei der Probe 32 um ein Harz von *B. frereana* handelt (Abb. 25): Weder im UV (nicht gezeigt) noch nach dem Anfärben sind Boswelliasäuren zu erkennen; hingegen sind die Chromatogramme denjenigen der beiden *B. frereana*-Extrakte sehr ähnlich.
- Probe 33: Diese Probe aus der Harzsammlung in Kew Gardens stammt von *B. papyrifera* und ist ebenso wie die vorangegangene Probe von Dr. L. Pentz gestiftet worden; sie soll laut Notiz mit den übrigen Proben dieser Spezies in der Harzsammlung übereinstimmen. Da die einzige andere Probe von *B. papyrifera* keine Referenz-, sondern eine Handelsprobe war, ist nur ein relativer Vergleich möglich. Dieser zeigt bei beiden Proben ähnliche Werte für die Extrakt- und Säureanteile und identische Säuremuster im Dünnschicht-Chromatogramm.

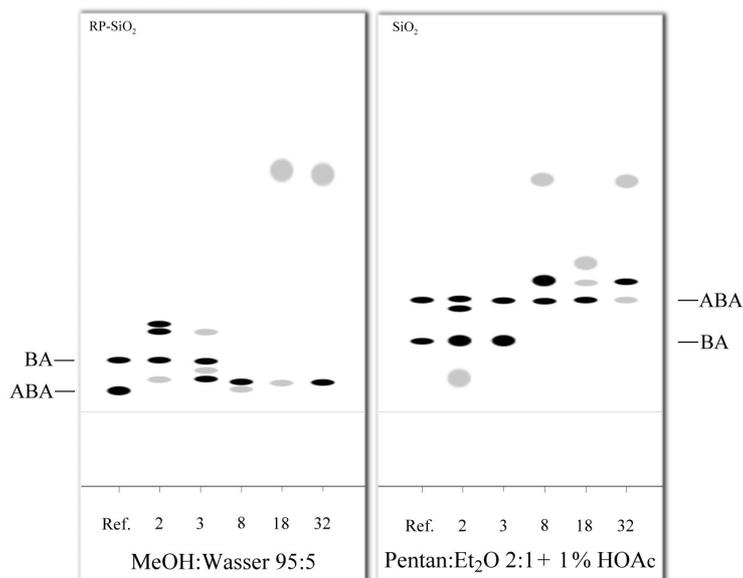


Abb. 25: HPTLC-Chromatogramme von Harzproben verschiedener *Boswellia*-Spezies nach dem Anfärben. Ref. = Referenz-Substanzen (β -BA 1 bei $R_f = 0,21$ (links) bzw. $0,15$ (rechts); β -ABA 2 bei $R_f = 0,32$ bzw. $0,09$).

Insbesondere bei stark verarbeiteten Proben (21, 22, 23, 24-27, 28) zeigt sich die Stärke des kombinierten, analytischen Ansatzes zur Identifizierung der *Boswellia*-Spezies: Obwohl bei den genannten Proben ein Geruch nicht vorhanden oder stark von Fremdgerüchen überdeckt ist und das Verhältnis von Extrahierbarem und Säurefraktion nicht mehr spezies-typische Werte zeigt, ist aufgrund des Säurespektrums in der Dünnschicht-Chromatographie eine klare Einordnung möglich. Auch alte Proben, deren Speziesbestimmung über die flüchtigen Komponenten nicht mehr ohne weiteres möglich ist (z. B. Probe 14), können über das Säuremuster mittels Dünnschicht-Chromatographie gut eingeordnet werden. Die Auswertung der Harzproben mit den oben genannten Methoden zeigt, dass gewöhnliche Handelsproben von Harzen (z. B. Proben 2-5, 11 und 13) von hervorragender Qualität sein und in ihren typischen Merkmalen mit denjenigen der Referenzproben übereinstimmen können. Auf der anderen Seite fallen eine Reihe von Proben schlechter Qualität auf, die den Ansprüchen des Käufers wahrscheinlich nicht genügen werden, z. B. die fast geruchslose und möglicherweise verunreinigte Probe 13. Die große Schwankungsbreite des Säureanteils (und damit der aktiven Inhaltsstoffe) bei den verschiedenen Chargen desselben Extraktes (Proben 24-27) ist als besonders bedenklich anzusehen, da dieser Extrakt als Grundstoff für die medizinische Verwendung dienen soll; eine verlässliche Dosierung durch den Anwender ist hierbei nicht möglich.

Die Analyse der Säurefraktion aus den Weihrauchextrakten mittels Dünnschicht-Chromatographie ist ein schnelles, robustes und zuverlässiges Mittel zur Identifizierung der *Boswellia*-Spezies. Durch Referenzproben einzelner Spezies kann zwischen den wichtigsten Arten unterschieden werden, und dies gelingt sowohl bei Proben aus Harzen als auch Extrakten und anderen Verarbeitungsprodukten. Die Analyse der Säurefraktion trägt zwar den

Nachteil eines weiteren Aufarbeitungsschrittes, der aber durch die Vereinfachung des Dünnschicht-Chromatogramms wettgemacht wird. Die Untersuchung der chemisch sehr beständigen Boswelliasäuren vereinfacht im Gegensatz zur Untersuchung flüchtiger Komponenten auch die Einordnung alter Proben. Bei alten Proben sind viele flüchtigen Komponenten verdunstet oder liegen aufgrund von Alterungsprozessen in veränderter Form vor; Boswelliasäuren hingegen können auch noch in archäologischen Proben identifiziert werden.^[297] Außerdem ist durch die Analyse über die spezies- und wirksamkeitsbestimmenden Boswelliasäuren gleichzeitig eine orientierende Einschätzung des therapeutischen Potenzials der Probe möglich. Die Methode versagt bei Proben, die wenig oder keine Säuren enthalten: Die Dünnschicht-Chromatographie ist in den meisten Fällen nicht auflösungsstark genug, um Neutralkomponenten oder flüchtige Anteile aufzutrennen. Für derartige Proben ist die Gas-Chromatographie(-Massenspektrometrie), GC(-MS), die Technik der Wahl.

Konkurrierende Methoden für die Dünnschicht-Chromatographie sind andere chromatographische Verfahren wie HPLC^[202] oder GC(-MS).^[200, 201, 206] Sie sind empfindlicher, erfordern jedoch mehr Probenvorbereitung, Analysenzeit, Materialeinsatz und ggf. eine Probenderivatisierung (GC). Andere Verfahren wie die FT-IR-, Raman- und NMR-Spektroskopie ermöglichen es zwar, Weihrauchharz von anderen Harzen zu unterscheiden,^[203, 204] eine Identifizierung der Spezies ist damit jedoch noch nicht gelungen.

Während die Analysen zu diesem Kapitel vorwiegend mit HPTLC-Platten durchgeführt wurden, sind übliche DC-Platten dafür ebenfalls geeignet. Die HPLC bringt beim derzeitigen Stand keinen großen zusätzlichen Nutzen gegenüber der Dünnschicht-Chromatographie. Sobald aber charakteristische Säuren oder Säuremuster für alle Spezies gefunden werden, ist die HPLC aufgrund der höheren Auflösung und der einfacheren Quantifizierung die Methode der Wahl.

3.1.5 HPLC-Übersichtschromatogramm der Säurefraktion auf monolithischer stationärer RP-18-Phase

Die bisher verwendeten stationären Phasen für die HPLC (RP-18-Phasen) stoßen bei einigen Trennproblemen an ihre Grenzen, z. B. bei der Analyse der gesamten Säurefraktion aus dem Weihrauchharz. So muss für die Übersichtschromatogramme der Rohsäuren aus Weihrauchharzen ein langsamer Gradient verwendet werden. Hierbei wird der Methanolanteil der mobilen Phase innerhalb von 30 Minuten von 65 auf 99 % MeOH erhöht und danach 10 min isokratisch mit diesem Methanolanteil eluiert. Dies sorgt zusammen mit der Äquilibrierzeit (5-10 min) für eine Gesamtanalysenzeit von 50-55 min. Einige sehr unpolare Substanzen wie BA und ABA eluieren selbst bei 99 % Methanol oder Acetonitril erst sehr spät (10-20 min), wobei sie teilweise mit ähnlichen Substanzen koeluieren. Die Retentionszeit für die unpolare Boswelliasäure (β -ABA **2**) beträgt bei einer Flussrate von $1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ ca. 9 min (99 % Methanol + 0,1 % TFA) bis ca. 44 min (90 % Methanol + 0,1 % TFA) bzw. ca. 16 min (99 % Acetonitril + 0,1 % TFA) bis ca. 34 min (90 % Acetonitril + 0,1 % TFA). Bei polareren Fließmittelzusammensetzungen steigen die Retentionszeiten drastisch an und es tritt zusätzlich eine Peakverbreiterung u. a. aufgrund von Lösungsproblemen auf.

Die RP-18-Phase ist aufgrund ihres sehr unpolaren Charakters die stationäre Phase der Wahl; ein Wechsel des Trennprinzips ist nicht sinnvoll. Mit der Verwendung einer monolithischen RP-18-Phase hingegen werden die Grenzen der herkömmlichen Phase hinsichtlich Druck und Zusammensetzung der mobilen Phase unter Beibehaltung des Trennprinzips erweitert.

Zur Untersuchung der Auftrennung der Harzsäuren an einer monolithischen Phase wird eine Chromolith Performance RP-18e-Säule mit den Abmessungen 100 mm x 4,6 mm von der Firma Merck verwendet. Als Vergleichssäule dient eine Saphir 250 mm x 4 mm-Säule mit entsprechender 20 x 4 mm-Vorsäule (110 Å Porengröße, 5 µm Partikelgröße, Fa. GROM). Alle anderen Bedingungen (HPLC-System, Injektionsventil, Injektionsschleife etc.) entsprechen den üblichen Methoden und werden beim Säulenwechsel nicht verändert. Sie sind, soweit nicht erwähnt, für die vorliegenden Fragestellungen nicht relevant.

Für die Optimierungsversuche zur Übersicht über die Säuren aus Weihrauchharzen wurde die Säurefraktion aus *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) verwendet, da dort das umfangreichste Säurespektrum vorzufinden ist, wie das HPLC-Chromatogramm auf der bisher eingesetzten RP-18-Phase in Abbildung 26 zeigt.

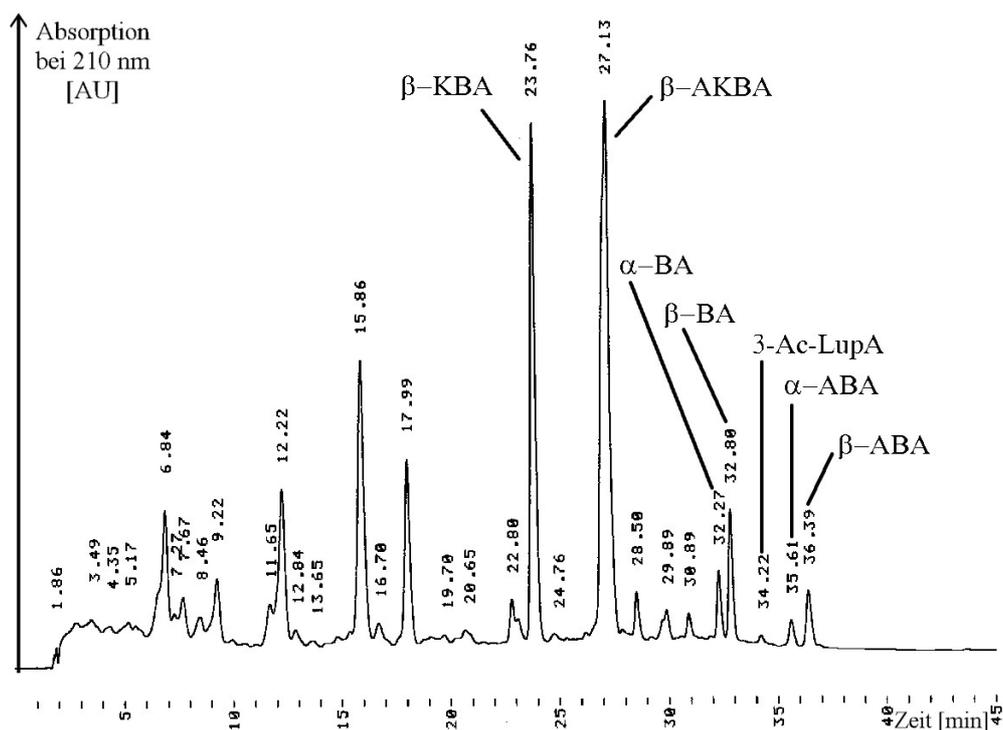


Abb. 26: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) auf einer herkömmlichen stationären Phase. HPLC-System („Beckman 1, analytisch“) mit Saphir 110 als stationäre Phase; Gradient 1, $\lambda = 210$ nm. Probenkonzentration: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ in Methanol.

Mit der monolithischen Phase werden einige Gradienten entwickelt, die eine schnellere Trennung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz bei gleicher Auflösung der Boswelliasäuren zeigen. Das HPLC-Chromatogramm mit dem optimalen Gradienten ist in Abb. 27 zeigt, wobei die deutlich verkürzte Zeitachse hervorzuheben ist.

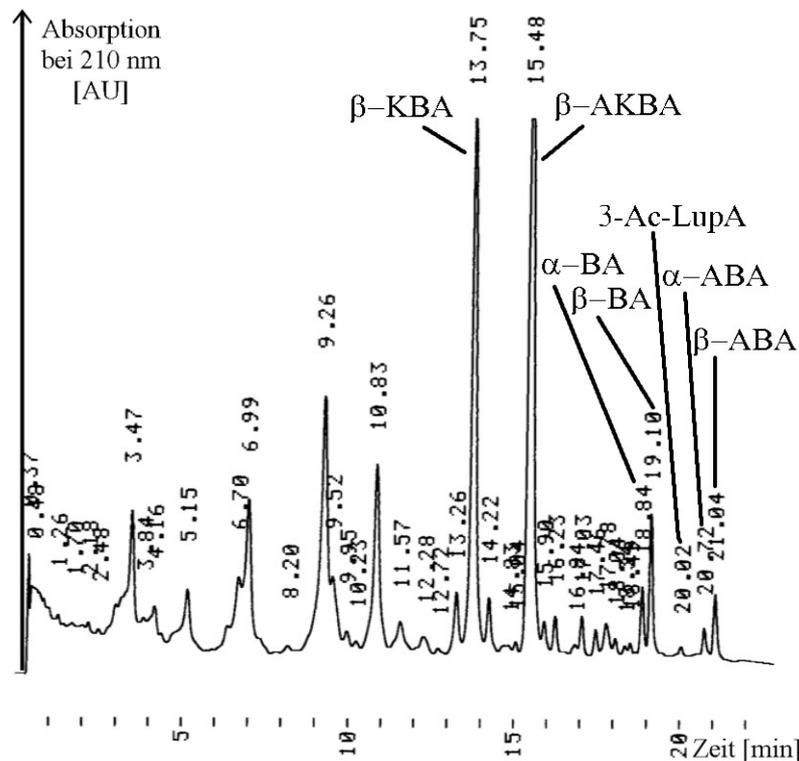


Abb. 27: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) auf monolithischer Phase. HPLC-System 3 mit Chromolith Performance als stationäre Phase; Gradient 20, $\lambda = 210$ nm. Probenkonzentration: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ in Methanol.

Die Trennung der Säuren auf der monolithischen Phase ist dabei relativ robust. Das Optimum liegt nicht in einer bestimmten Kombination aus Start- und Endzusammensetzung der mobilen Phase oder Steilheit des Gradienten, sondern toleriert mäßige Änderungen dieser Parameter; Tab. 31 im Anhang D (S. 183) vergleicht die untersuchten Gradienten. Die Drücke sind wie aus der Literatur bekannt moderat und weit unterhalb derjenigen von herkömmlichen stationären Phasen (s. Tab. 30 auf S. 183). Bei allen optimalen Gradienten hält sich der Lösungsmittelverbrauch in Grenzen ($3\text{-}5 \text{ ml} \times \text{ml}^{-1}$). Dieser wird teilweise durch die kürzere Analysenzeit (ca. 21 min beim besten Gradienten) ausgeglichen. Insgesamt kommt es im Vergleich zum herkömmlichen Gradienten zu einem Lösungsmittel-Mehrverbrauch von ca. 15-90 %: Während bei der herkömmlichen Phase in 45 min Analysenzeit und ca. ~ 10 min Äquilibrierzeit insgesamt 66 ml mobile Phase benötigt werden (bei $1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$), beträgt der Verbrauch bei der monolithischen Phase 75-125 ml (21 min Analysen- und ca. 4 min Äquilibrierzeit bei $3\text{-}5 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$). Der hervorzuhebende Vorteil der monolithischen Phase, nämlich die Verwendung hoher Flussraten zum Ausgleich für hohe Wasseranteile, kann nur zum Teil ausgeschöpft werden: Die Boswelliasäuren fallen bei einem Methanolanteil von weniger als 85 % in der mobilen Phase aus und eluieren sehr spät unter extremer Peakverbreiterung. Eine Quantifizierung der Boswelliasäuren aus dem Übersichtschromatogramm ist aufgrund der Koelution vieler Verbindungen ebenfalls nicht ohne weiteres möglich. Dies ist aber auch bei Verwendung der herkömmlichen stationären Phase nicht möglich. Die Verwendung eines Flussgradienten zeigt keine nennenswerte Verbesserung der Trennung.

3.2 Identifizierung und Quantifizierung von Kolophoniumbestandteilen im Weihrauchharz

3.2.1 Isolierung von Kolophoniumbestandteilen aus Probe 1 (*Bser Gr1*)

Im Rahmen der Isolierung bekannter Säuren aus dem Weihrauchharz wurde in verschiedenen Proben nach Säuren gesucht, die bislang überhaupt nicht oder nicht im Weihrauchharz beschrieben worden sind. Bei der Trennung von α - und β -Boswelliasäure **3/1** mittels präparativer HPLC wird eine dritte Säure erhalten, deren Massenspektrum mit demjenigen der beiden zuvor genannten Verbindungen identisch ist. Diese Verbindung wird anhand spektroskopischer Daten als 3α -Hydroxy-lup-20(29)ensäure (3-OH-LupA) **28** identifiziert, siehe Abb. 28.

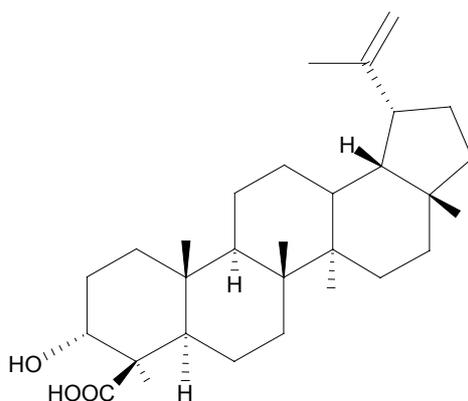


Abb. 28: 3α -Hydroxy-lup-20(29)ensäure (3-OH-LupA) **28**, die erste aus dem Weihrauch isolierte Triterpensäure mit Lupangerüst.^[50]

Da diese Verbindung kürzlich im Weihrauch beschrieben und in seiner Struktur aufgeklärt wurde,^[50] wird auf eine weitergehende Untersuchung der Substanz verzichtet. Es handelt sich unzweifelhaft um eine natürliche Komponente des Weihrauchharzes, deren 3-Acetyl-derivat auch in allen HPLC-Chromatogrammen von Proben aus *B. sacra* zu sehen ist. Ob die beiden Lupansäuren für diese Spezies typisch sind – also ausschließlich in *B. sacra* vorkommt – kann derzeit nicht beantwortet werden.

Auf der Suche nach weiteren neuen Terpensäuren im Weihrauchharz wird die Säurefraktion aus dem Harz von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) mittels Flash-Chromatographie getrennt. Die Chromatographie an Kieselgel liefert unter anderem zwei relativ unpolare Fraktionen (3+4) mit insgesamt 1,31 g (15,0 %) einer Mischung, die über Kieselgel nicht weiter in ihre Bestandteile getrennt werden kann. Die Chromatographie von 768,1 mg der vereinigten Fraktionen 3 und 4 an RP-Kieselgel liefert zwei jeweils einheitliche Fraktionen 4A (63,6 mg) und 4B (153,4 mg) mit R_f -Werten von 0,27 bzw. 0,20 (MeOH:Wasser 90:10 auf RP-Kieselgel).

Fraktion 4A wird durch Umkristallisation aus Methanol aufgereinigt und anhand spektroskopischer Methoden als Dehydroabietinsäure (DhAbiA) **38** identifiziert. Zu Vergleichszwecken wird technische Abietinsäure (Abietinsäure (AbiA) und deren Isomere **39**) nach mehreren Literaturvorschriften^[299, 300] zu DhAbiA **38** umgesetzt. Dabei liefert allein die

Umsetzung von technischer Abietinsäure **38** mit Palladium auf Aktivkohle das gewünschte Produkt mit mäßigem Erfolg (7 %). Die verschiedenen Methoden zur Darstellung von DhAbiA **38** werden in Abb. 29 miteinander verglichen.

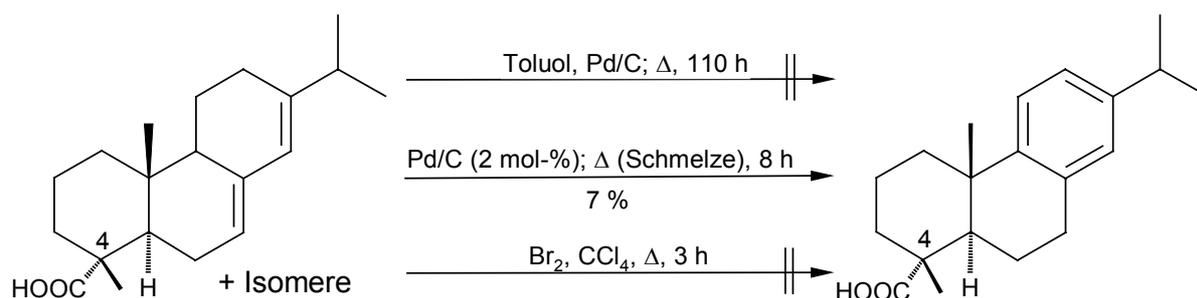


Abb. 29: Umsetzung von Abietinsäure(-Isomeren) **39** zu Dehydroabietinsäure **38**.

Tab. 13 vergleicht die ^{13}C -NMR-Verschiebungen der aus Weihrauchharz isolierten Dehydroabietinsäure **38** mit den Verschiebungen der partialsynthetisch hergestellten Verbindung und zeigt die Übereinstimmung mit den Literaturdaten und die Unterscheidung vom 4-Epimer der DhAbiA **38**, der Callitrisinsäure **40**.

Tab. 13: Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von isolierter und partialsynthetisch hergestellter DhAbiA **38** mit Literaturwerten für DhAbiA **38** und Callitrisinsäure **40**.

DhAbiA 38 , aus Probe 1 (<i>Bser Gr1</i>) isoliert	DhAbiA 38 , partialsynthetisch	DhAbiA 38 ^[301]	Callitrisinsäure 40 ^[302, 303]
185.1 C=O	185.5 C=O	185.0 C=O	– (181.0 C-19)
146.8 C	146.7 C	146.9 C	– (147.1 C-9)
145.7 C	145.7 C	145.8 C	– (145.6 C-18)
134.7 C	134.7 C	134.8 C	135.0 C-8 (127.2 C-14)
126.9 CH	126.9 CH	127.0 CH	126.8 C-14 (125.9 C-11)
124.1 CH	124.1 CH	124.2 CH	125.4 C-11 (124.2 C-12)
123.9 CH	123.9 CH	124.0 CH	124.0 C-12 (123.5 C-8)
47.4 C	47.4 C	47.5 C	52.9 C-5 (53.4 C-5)
44.6 CH	44.6 CH	44.7 CH	43.9 C-4 (44.6 C-4)
37.9 CH ₂	37.9 CH ₂	38.1 CH ₂	39.3 C-1 (40.4 C-1)
36.9 C	36.8 C	37.0 C	37.7 C-10 (39.0 C-3)
36.8 CH ₂	36.7 CH ₂	36.9 CH ₂	37.4 C-3 (38.8 C-10)
33.5 CH	33.4 CH	33.5 CH	33.4 C-15 (33.8 C-15)
30.0 CH ₂	30.0 CH ₂	30.1 CH ₂	32.0 C-7 (32.7 C-7)
25.1 CH ₃	25.1 CH ₃	25.2 CH ₃	28.7 C-18 (29.8 C-18)
24.0 CH ₃	24.0 CH ₃	24.0 CH ₃	23.9 C-16/17 (24.2 C-16/17)
21.8 CH ₂	21.7 CH ₂	21.9 CH ₂	23.2 C-20 – (–)
18.5 CH ₂	18.5 CH ₂	18.6 CH ₂	20.9 C-6 (22.0 C-6)
16.2 CH ₃	16.2 CH ₃	16.3 CH ₃	19.9 C-2 (21.1 C-2)

Fraktion 4B lässt sich weder über Dünnschicht-Chromatographie an Kieselgel, RP-Kieselgel oder AgNO₃-imprägniertem Kieselgel noch per HPLC befriedigend in ihre Einzelkomponenten auftrennen. Die Methylester hingegen können mittels der gekoppelten Gas-Chromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) gut voneinander getrennt und als Diterpene der Abietan- und Pimaranreihe identifiziert werden.

Da diese Diterpensäuren (Abb. 30) charakteristisch für Kolophonium sind, wird die Möglichkeit untersucht, ob die Weihrauchharz-Probe 1 mit Kolophonium verunreinigt sein könnte.

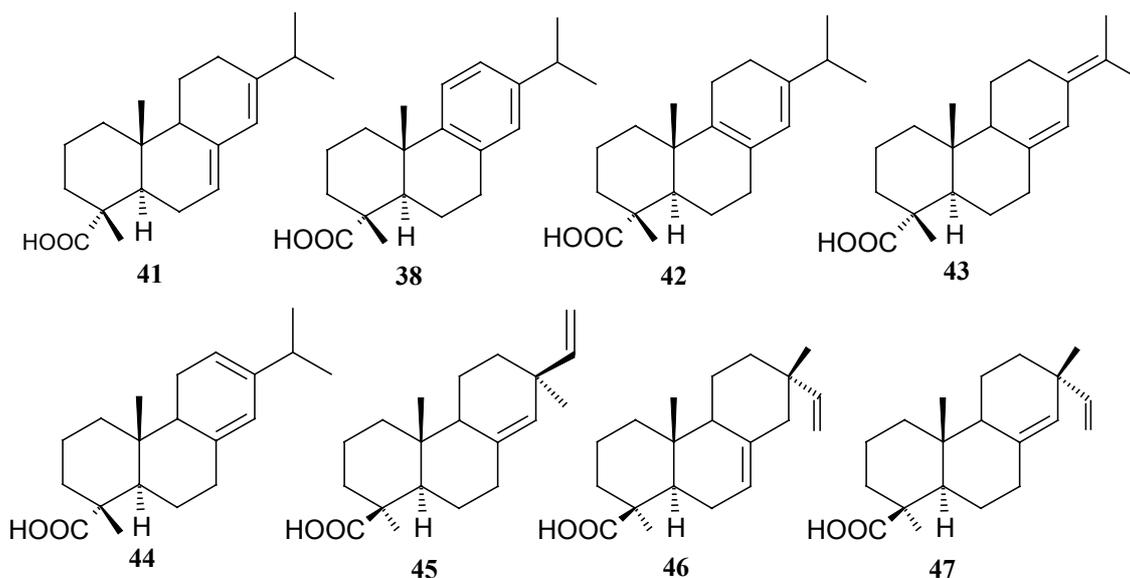


Abb. 30: Diterpensäuren als Hauptbestandteile im Kolophonium. Oben v. l. n. r.: Abietinsäure **41**, Dehydroabietinsäure **38**, Palustrinsäure **42**, Neoabietinsäure **43**. Unten v. l. n. r.: Levopimarinsäure **44**, Pimarinsäure **45**, Isopimarinsäure **46**, Sandaracopimarsäure **47**.

Zu diesem Zweck wird Kolophonium (helle Qualität) wie das Weihrauchharz zunächst über Kieselgel, dann über RP-Kieselgel säulenchromatographisch aufgetrennt. Dabei werden zwei Hauptfraktionen erhalten, die in R_F-Werten bei der Dünnschicht-Chromatographie sowie den Retentionszeiten und Massenspektren bei der GC-MS übereinstimmen. Auch die Säuremuster stimmen sowohl in ihrer qualitativen als auch quantitativen Zusammensetzung gut überein. Die beiden Kolophoniumkomponenten DhAbiA **38** und Abietinsäure **41** können anhand authentischer Referenzsubstanzen eindeutig identifiziert werden. Bei den anderen vier Diterpensäuren kann mangels Referenzsubstanzen keine eindeutige Zuordnung zu einer der in Frage kommenden Diterpensäuren (Abb. 30) getroffen werden. Die Massenspektren zeigen jedoch deutlich Signale, wie sie für Säuren der Abietan- und Pimaranreihe charakteristisch sind.^[304] Die Weihrauchharzprobe 1 (*Bser Gr1*) enthält also Diterpensäuren, wie sie für Kolophonium typisch sind.

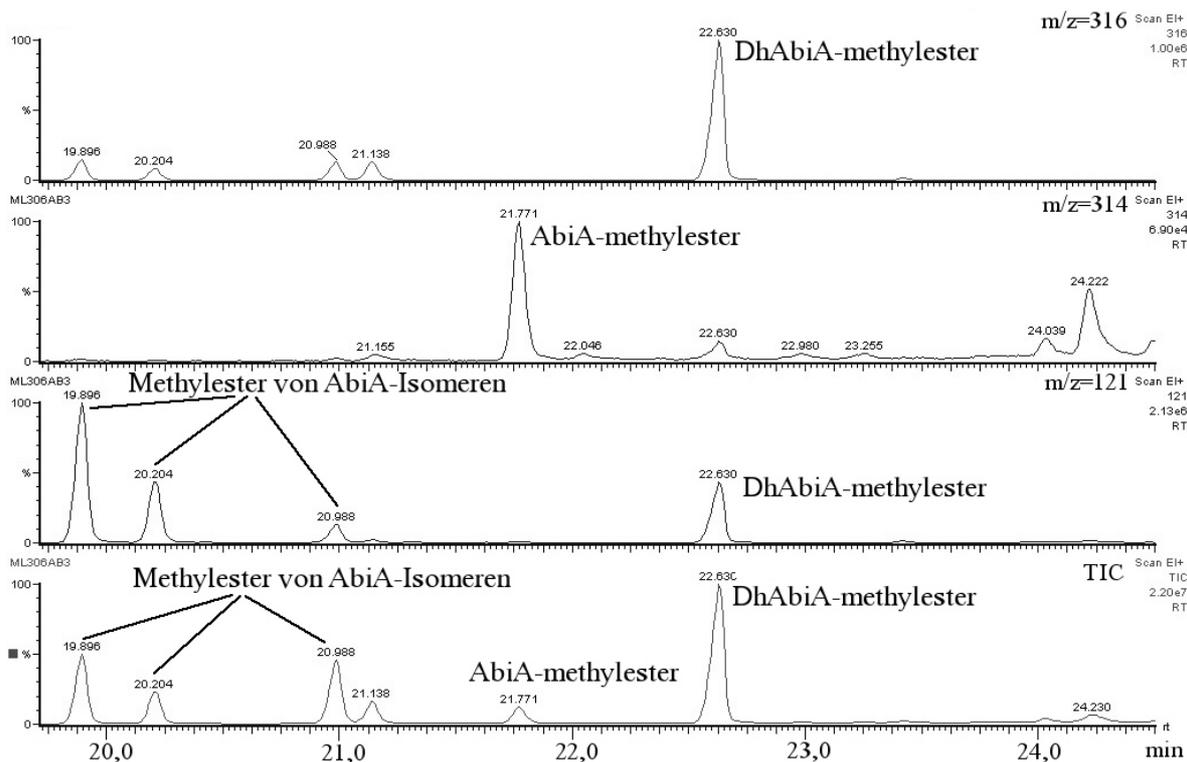


Abb. 31: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren **39** aus Weihrauchharz (Probe 1, *Bser Gr1*), Lauf 3. Die Verbindungen bei 19,90, 20,20, 20,99 und 21,13 min sind nicht genauer identifizierte Diterpensäuren mit Abietan- oder Pimarangerüst. GC-Chromatogramme 4-7 siehe Anhang E, ab S. 184.

Die Diterpensäuren können mittels Dünnschicht-Chromatographie nicht ohne weiteres im Weihrauchharz identifiziert werden. Diejenigen DC-Systeme, die sich bei der Identifizierung der *Boswellia*-Spezies bewährt haben, versagen bei der Trennung der Diterpensäuren von den anderen Bestandteilen: Bei Pentan:Diethylether-Mischungen auf Kieselgel zeigen alle Diterpensäuren einen R_f -Wert, der über den anderen Komponenten liegt. Da die Säuren untereinander aber nicht weiter aufgetrennt werden, kann dieses DC-System allenfalls einen Hinweis auf Diterpene liefern. Bei MeOH:Wasser-Mischungen auf RP-Kieselgel werden zwar DhAbiA **38** und AbiA-Isomere **39** voneinander getrennt, aber die erste Verbindung zeigt denselben R_f -Wert wie β -KBA **6**. Dies kann dazu führen, dass eine Kolophoniumbeimischung in Weihrauchharz nicht als solche identifiziert wird und bei einer quantitativen DC-Bestimmung ein zu hoher Wert für β -KBA **6** erhalten wird. Die einzige bisher veröffentlichte quantitative DC-Bestimmung von Boswelliasäuren im Weihrauchharz^[305] wurde mit HPTLC-Kieselgel-Platten und einer Hexan:Aceton-Mischung als mobiler Phase durchgeführt. Dieses System ist jedoch wie die übrigen literaturbekannten DC-Systeme (siehe Tab. 32 in Anhang F, S. 187) nicht geeignet, die isolierten Diterpensäuren von den Boswelliasäuren abzutrennen. Während diese DC-Systeme weiterhin für die Identifizierung und Quantifizierung von Weihrauchharz-Inhaltsstoffen verwendet werden können, müssen die Proben zuvor mit einem DC-System getestet werden, das DhAbiA **38** und AbiA-Isomere **39** voneinander und diese wiederum von den anderen Weihrauchharz-Inhaltsstoffen trennen kann. In einer Versuchsreihe mit Mischungen auf Kieselgel bzw. RP-Kieselgel (siehe Tab. 32 in Anhang F, S. 187) stellt sich eine 95:5-Mischung von Acetonitril und Wasser auf RP-Kieselgel als

einziges brauchbares DC-System heraus. Die vier wichtigsten Boswelliasäuren werden untereinander klar getrennt und ebenso DhAbiA **38** von den AbiA-Isomeren **39**. Boswelliasäuren einerseits und DhAbiA **38** / AbiA-Isomere **39** andererseits wiederum werden ebenfalls voneinander getrennt. Alle Weihrauchharzproben wurden mit diesem DC-System (95:5 Acetonitril:Wasser auf RP-Kieselgel) getestet. Nur in Probe 1 (*Bser Gr1*) wurden dabei die genannten Diterpensäuren gefunden; bei Probe 13 (*Bser OW1*) konnten diese Säuren nicht mit Sicherheit bestimmt werden.

Als Schnelltest auf eine Kolophoniumbeimischung stellt sich der Farbvergleich zwischen Weihrauchproben ($20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$) und einer Riboflavinlösung ($2 \text{ } \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) heraus.^[306] Während kolophoniumfreie Proben in dieser Konzentration farblos sind, zeigen Kolophonium- und kolophoniumhaltige Proben eine deutliche Gelbfärbung, die derjenigen einer Riboflavinlösung gleicht. Lösungen der Weihrauchproben ergeben anhand der vorliegenden Referenzproben durchweg farblose Lösungen, allerdings müssen Kolophoniumprodukte angesichts der großen Unterschiede in ihrer Zusammensetzung nicht unbedingt durchweg farbig sein. Dieser Test ist allenfalls als *Hinweis* und nicht als *Beweis* für eine Verunreinigung zu sehen und bedarf der Überprüfung mit weiteren Kolophoniumproben.

Die Anwesenheit von Diterpensäuren mit Abietan- und Pimarangerüst in Weihrauchharz ist in der Literatur bisher nicht beschrieben worden; im Gegenteil gilt Kolophonium als klassisches Verfälschungsmittel,^[7, 108, 113, 127, 192] s. Kap. 1.3 ab S. 20. Auch im vorliegenden Fall gibt es gute Gründe, die Abietin- und Pimarinsäuren als Verunreinigung einzuordnen:

- Bei der betreffenden Weihrauchharzprobe handelt es sich um eine billige Qualität und um eine Probe, deren botanische Herkunft nicht gesichert ist.
- Bis auf Probe 13 sind alle anderen Harzproben frei von DhAbiA **38** und AbiA-Isomeren **39** – also insbesondere diejenigen, deren botanische Herkunft sicher ist.
- Alle sauren Verbindungen, die bislang im Weihrauchharz gefunden wurden, kommen aufgrund gleicher Stoffwechselwege auch als nichtsaure Derivate mit demselben Grundgerüst vor, z. B. α - und β -Amyrin neben den Boswelliasäuren. Im Weihrauch sind als Diterpene bislang keine Diterpensäuren bekannt und die übrigen typischen Diterpene wie Incensol und Serratol basieren auf völlig anderen Grundgerüsten.
- Die gefundenen Diterpensäuren sind in anderen Burseraceen unbekannt. Dieses chemotaxonomische Argument gegen die Einordnung von Diterpensäuren als natürliche Komponenten im Weihrauchharz ist aber angesichts des lückenhaften chemischen Wissens über die Familie der Burseraceen als schwach einzustufen.

Die Einordnung der Diterpensäuren als Verunreinigung und somit als nichtnatürliche Weihrauchbestandteile ist insofern unsicher, dass nicht von allen *Boswellia*-Arten Referenzproben vorliegen. Es könnte also Weihraucharten geben, die Dehydroabietinsäure und verwandte Verbindungen natürlicherweise produzieren. Eine mögliche Spezies wäre *B. ovalifoliolata*, die aus demselben Ursprungsland (Indien) derjenigen Probe (Nr. 1, *Bser Gr1*) stammt, in der DhAbiA **38** und AbiA **39** gefunden wurde. Dagegen spricht jedoch, dass sich in keiner der mehr als zwei Dutzend vorliegenden Proben von einem halben Dutzend *Boswellia*-Arten Diterpensäuren nachweisen ließen.

Die Anwesenheit von Kolophoniumbestandteilen (von denen je nach Verarbeitungsgrad 80-100 % auf Diterpensäuren entfallen) kann in mehrfacher Hinsicht von Nachteil sein:

- Werden Extrakte oder andere Verarbeitungsprodukte für (prä-)klinische Tests verwendet, müssen diese grundsätzlich frei von weihrauchfremden Substanzen sein, da sonst die Vergleichbarkeit der Ergebnisse nicht gewährleistet ist.
- Die im Kolophonium enthaltenen Abietin- und Pimarinsäuren sind entzündungshemmend,^[307] können aber auch Allergien auslösen.^[308-310] Kolophonium gehört aus diesem Grund zu den klassischen Ursachen arbeitsbedingter Allergien, wobei die Allergie auslösenden Verbindungen wahrscheinlich Oxidationsprodukte der Diterpensäuren und nicht die Säuren selbst sind.^[311-321]
- Bei Weihrauchharz, das für Räucherzwecke verwendet wird, kann die Beimischung von Kolophonium zu allergieauslösenden oder anderen gesundheitsschädlichen Verbindungen führen. Außerdem vermindert sich dadurch der weihrauchartige Charakter der Räuchermischung, denn Kolophonium weist keinerlei derartige Noten auf.

Mit 95:5 Acetonitril:Wasser auf RP-Kieselgel als DC-System können Kolophoniumbeimischungen in Weihrauchharz und in vielen Verarbeitungsprodukten sicher und empfindlich nachgewiesen werden. Prinzipiell ist diese Methode auch zur Quantifizierung von DhAbiA **38** geeignet, wobei sie dann mit der HPLC (s. Kap. 3.2.2) konkurrieren muss. Während die Ergebnisse in diesem Abschnitt ausschließlich mit HPTLC-Platten erhalten wurden, kann der Nachweise von Kolophonium-Bestandteilen ebenso wie die Speziesidentifizierung (Kap. 3.1) auch mit herkömmliche DC-Platten und RP-Kieselgel als stationäre Phase vorgenommen werden.

3.2.2 Quantifizierung von Kolophoniumbestandteilen in Probe 1 (*Bser Gr1*)

Die Quantifizierung des Kolophoniumanteils in der Probe 1 (*Bser Gr1*) erfolgt mit Hilfe der HPLC unter Verwendung einer herkömmlichen stationären RP18-Phase. Da die Dehydroabietinsäure **38** im Gegensatz zu den meisten anderen Diterpensäuren im Kolophonium eine stabile Verbindung ist und leicht an ihrem UV-Spektrum erkannt werden kann, wird ausschließlich ihr Anteil in der verunreinigten Probe quantifiziert. Durch Bestimmung des DhAbiA-Anteils in einer Kolophonium-Vergleichsprobe, die lt. GC-MS (s. vorheriges Kapitel) in etwa das gleiche Säurespektrum aufweist, kann auf den Kolophoniumanteil im Weihrauchharz der Probe 1 geschlossen werden.

Wie schon bei der Dünnschichtchromatographie lässt sich die Dehydroabietinsäure unter Verwendung von Methanol in der mobilen Phase selbst mittels analytischer HPLC nicht ausreichend von β -KBA **6** abtrennen. Zwar ist in der Literatur eine HPLC-Methode^[322] beschrieben, bei der DhAbiA in kolophoniumhaltigen Proben mit Methanol in der mobilen Phase quantifiziert wurde, aber diese Proben enthielten nicht gleichzeitig Weihrauchbestandteile. Die HPLC-Chromatogramme in den Abbildungen 32-34 verstärken den aus der Dünnschicht-Chromatographie erhaltenen Eindruck, dass die Probe 1 (*Bser Gr1*) eine Mischung von Weihrauch und Kolophonium ist: Neben den vier β -Boswelliasäuren zeigt das HPLC-Chromatogramm von *Bser Gr1* nicht nur die Peaks von DhAbiA **38** und AbiA-Isomeren **39**

(durch Analyse von Referenzsubstanzen ermittelt), sondern auch die vielen bislang nicht identifizierten Verbindungen zu Beginn des Chromatogramms, die bei Weihrauchharz fehlen.

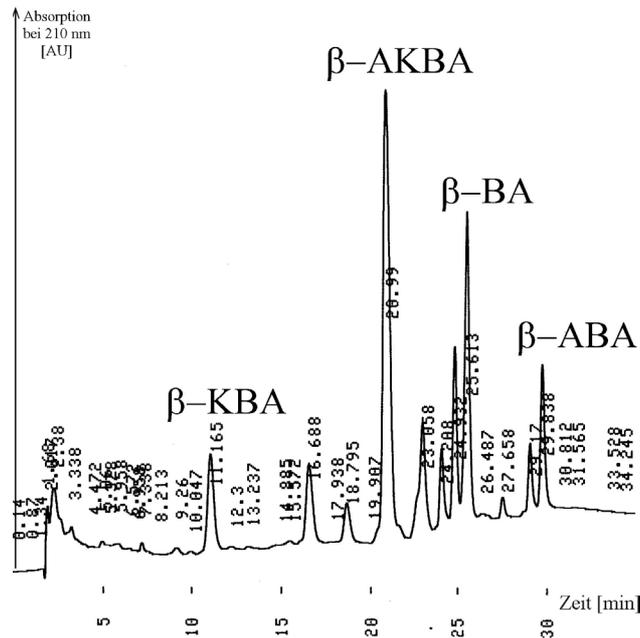


Abb. 32: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 2) mit Methanol in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm). HPLC-System 1 („Varian analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 22. Probe: $5 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 2, *Bser 1W1*) in Methanol. Auf die Bezeichnung der übrigen identifizierten Verbindungen wurde bei dieser und den folgenden Abbildungen aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet.

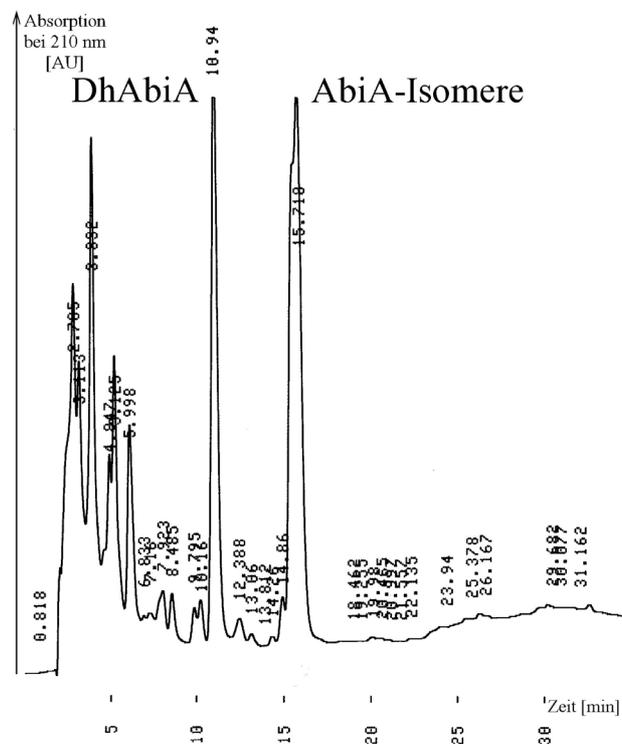


Abb. 33: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus Kolophonium mit Methanol in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm). HPLC-System 1 („Varian analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 22. Probe: $5 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Kolophonium in Methanol.

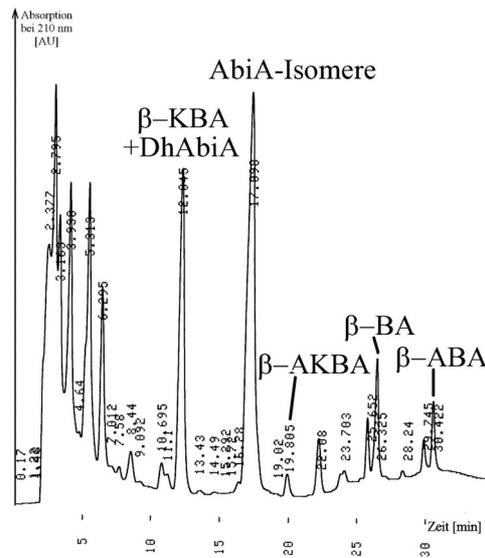


Abb. 34: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 1) mit Methanol in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm). HPLC-System 1 („Varian analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 22. Probe: $5 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) in Methanol.

Wie bereits bei der Dünnschicht-Chromatographie ermöglicht die Zumischung von Acetonitril eine Trennung von Weihrauch- und Kolophoniumbestandteilen, insbesondere von β -KBA **6** und der zu quantifizierenden DhAbiA **38**. Da Methanol aber eine bessere Auftrennung der übrigen Säuren ermöglicht, wurde nicht ausschließlich Acetonitril, sondern eine Mischung mit Methanol im Verhältnis 1:1 und wechselnden Wasseranteilen verwendet.

Die HPLC-Chromatogramme in den Abbildungen 35-38 zeigen die Säurefraktionen der Proben Nr. 2 (*Bser IWI*, kolophoniumfrei), Nr. 1 (*Bser Gr1*, kolophoniumhaltig), von Kolophonium sowie einer 1:1-Mischung der Säurefraktionen von Probe 2 und Kolophonium.

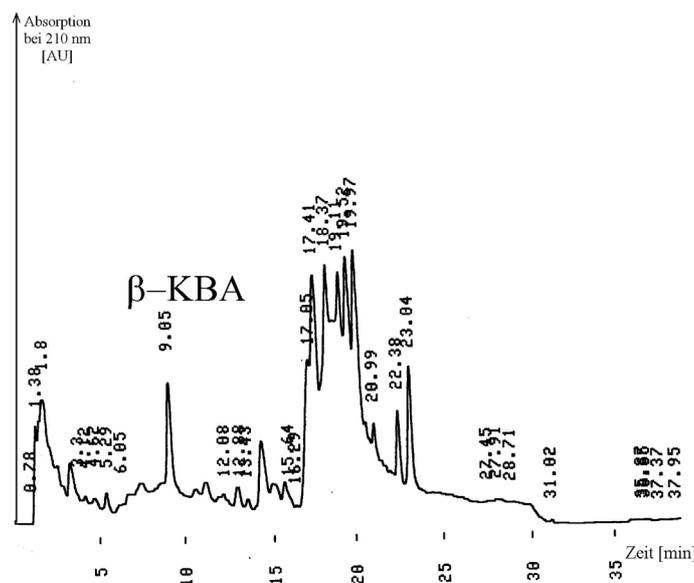


Abb. 35: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 2) mit MeCN:MeOH-Mischung in der mobilen Phase ($\lambda = 210$ nm). HPLC-System 1 („Varian analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 23. Probe: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 2, *Bser IWI*) in Methanol, eine kolophoniumfreie Weihrauchprobe.

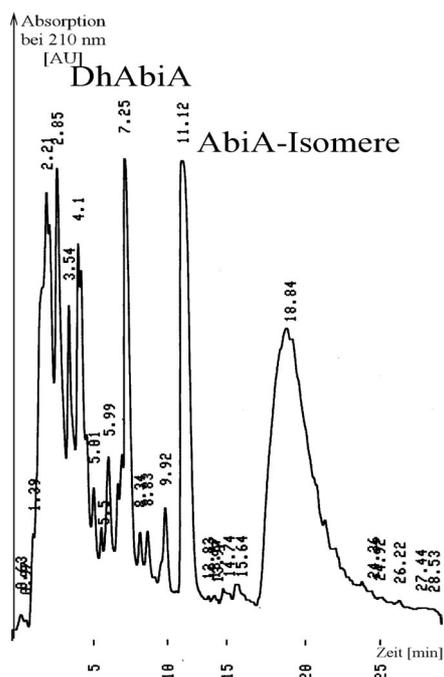


Abb. 36: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus Kolophonium mit MeCN:MeOH-Mischung in der mobilen Phase ($\lambda = 210 \text{ nm}$). HPLC-System 1 („Varian analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 23. Probe: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Kolophonium in Methanol.

Die Trennung von DhAbiA **38** und β -KBA **6** ist für eine Quantifizierung ausreichend, wie Abb. 37 zeigt. Probe 1 ist mittels HPLC von der Mischung aus kolophoniumfreiem Weihrauch und Kolophonium nicht zu unterscheiden.

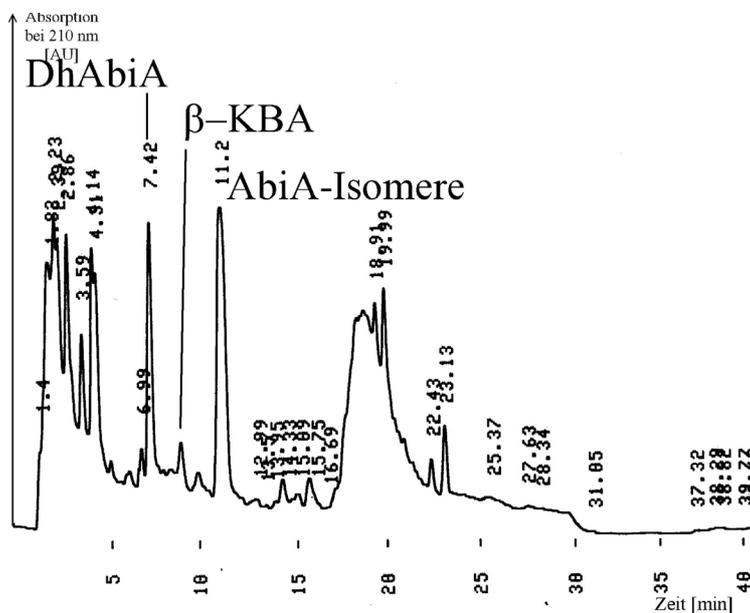


Abb. 37: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 1) mit MeCN:MeOH-Mischung in der mobilen Phase ($\lambda = 210 \text{ nm}$). HPLC-System 1 („Varian analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 23. Probe: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) in Methanol.

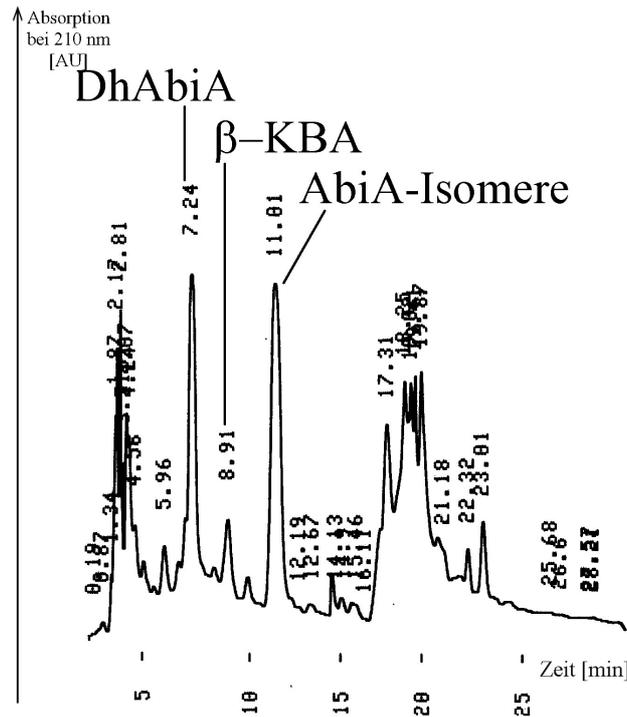


Abb. 38: HPLC-Chromatogramm der Mischung von Säurefraktion aus *B. serrata* (Probe 2) und Kolophonium ($\lambda = 210$ nm; mobile Phase: MeCN:MeOH 1:1 v/v). HPLC-System 1 („Varian analytisch“) mit Saphir-Material als stationäre Phase, Gradient 23. Probe: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Mischung aus Säurefraktion von *B. serrata* (Probe 2, *Bser 1W1*) und Kolophonium (1:1 m/m) in Methanol.

Abb. 39 zeigt die Kalibriergerade für DhAbiA **38** einschließlich der Messwerte für Probe 1 (*Bser Gr1*) und Kolophonium.

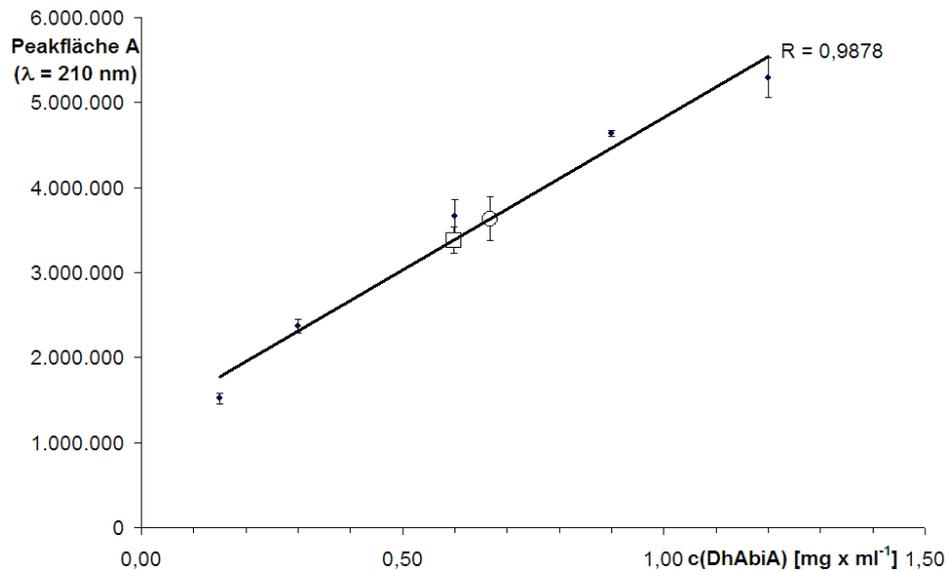


Abb. 39: Kalibriergerade und Messwerte für die Quantifizierung von DhAbiA **38** mittels HPLC. □: Absorption bei $6,0 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Kolophonium. ○: Absorption bei $20,0 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Weihrauchharz (Probe 1, *Bser Gr1*).

Der DhAbiA-Anteil in Kolophonium (ca. 10 %) stimmt mit den Literaturangaben gut überein.^[6] Die Harzprobe 1 enthält ca. 0,7 % DhAbiA **38** und somit etwa 7 Gew.-% Kolophoniumharz, siehe Tab. 14. Dieser Wert stimmt mit den Anteilen für DhAbiA **38** überein, die mittels Säulen-Chromatographie aus derselben Proben isoliert wurden (Kap. 4.5.2.1 und 4.5.2.2).

Tab. 14: Vergleich der DhAbiA **38**-Anteile gemäß HPLC und FC. Details zur FC siehe Kap. 4.5.2.2 und 4.5.2.3 (ab S. 119). *): Unter Einbeziehung von Fraktion 6A, die neben DhAbiA **38** beträchtliche Mengen an AbiA-Isomeren **39** enthält.

Probe	DhAbiA 38 nach HPLC...			DhAbiA 38 nach FC...	
	...in der Probenlösung [mg x ml ⁻¹]	...in der Säure- fraktion [m/m]	...im Harz [m/m]	... in der Säure- fraktion [m/m]	... im Harz [m/m]
Kolophonium (95,6 % RS)	0,598 bei 6,0 mg Säure- fraktion x ml ⁻¹	9,96 %	9,52 %	8,90 %	8,50 %
Weihrauchharz Nr. 1 (<i>Bser Gr1</i>) (20,7 % RS)	0,668 bei 20,0 mg Säurefraktion x ml ⁻¹	3,34 %	0,691 %	3,04 % 3,62 %*	0,630 % 0,750 %*

Die exakte Bestimmung des Kolophoniumanteils in Weihrauchharzproben ist im vorliegenden Fall nicht möglich, da der DhAbiA-Anteil im Kolophonium im Allgemeinen produktions- und lagerungsbedingt starken Schwankungen unterliegt.^[6, 322] Exakt kann die Kolophoniumbeimischung nur für den Fall bestimmt werden, in dem das zugemischte Kolophonium ebenfalls vorliegt und darin der DhAbiA-Anteil quantifiziert werden kann. Da im vorliegenden Fall Säuremuster von verunreinigter Weihrauchharz- und Kolophoniumprobe gut übereinstimmen (siehe GC-Chromatogramme der Methylester in Anhang E ab S. 184), ist die Übertragung des DhAbiA-Anteils von der Kolophoniumprobe auf die Kolophoniumbeimischung in der Weihrauchharzprobe eine gute Näherung.

Selbst wenn die Kolophoniumbeimischung grob auf 5-10 % Kolophoniumharz in Weihrauchharz angegeben wird, handelt es sich dabei um eine mehr als unerhebliche Verunreinigung. Diese kann nicht mit den üblichen Tests (Tab. 7, S. 18) ermittelt werden, da hierzu der Anteil zu gering ist und oft nicht genug über die natürliche Variationsbreite des Ergebnisses bei kolophoniumfreien Weihrauchharzproben bekannt ist. Ob es sich dabei um eine vorsätzliche oder versehentliche Beimischung handelt, kann nicht beurteilt werden. Die verunreinigte Probe wurde im regulären Handel von einem Großhändler gekauft. Da der Handel mit dem Weihrauchharz und die Weiterverarbeitung in Europa über wenige Firmen erfolgt, können Verunreinigungen im Weihrauchharz also über mehrere Händlerketten an den Endverbraucher weitergereicht werden – mit den im vorangegangenen Kapitel geschilderten Konsequenzen.

3.2.3 Trennung von DhAbiA **38** und β -KBA **6** auf monolithischer RP-18-Phase

Neben den Übersichtschromatogrammen über die Säurefraktion sind die Quantifizierung einzelner Boswelliasäuren und die Identifizierung eventuell vorhandener nicht-natürlicher Beimischungen im Weihrauch von Interesse. Als Beispiel hierfür können Kolophoniumbestandteile dienen. Wie die Abbildungen 32-34 auf S. 66-67 zeigen, koeluiert auf einer partikulären RP-18-Phase das Verbindungspaar β -KBA **6** / DhAbiA **38** bei Verwendung von Methanol/Wasser-Mischungen als mobile Phase. Auf der monolithischen Phase werden die beiden Verbindungen hingegen beinahe bis zur Basislinie getrennt, wie Abb. 40 zeigt. Für eine Identifizierung der Dehydroabietinsäure **38** als Kennzeichen einer Kolophoniumverunreinigung (s. Kap. 3.1.4) ist dies völlig ausreichend, zumal dabei das zweite Ziel – die Übersicht über die gesamte Säurefraktion – nicht beeinträchtigt wird.

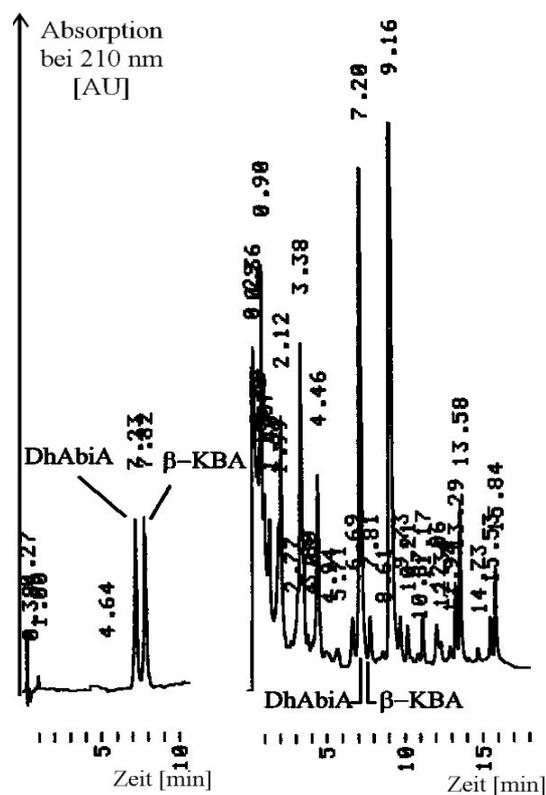


Abb. 40: Trennung von DhAbiA **38** und β -KBA **6** auf monolithischer stationärer HPLC-Phase. Proben: DhAbiA **38** und β -KBA **6** je $0,1 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ (links) und $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ Säurefraktion aus Harzprobe 1 (*Bser Gr1*, rechts). Bedingungen bei beiden Läufen: HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Chromolith als stationäre Phase, Gradient 21, MeOH als Lösungsmittel für die Proben.

Trotz der bereits in Kap. 3.1.5 (S. 57) angesprochenen Nachteile ist die monolithische stationäre Phase eine konkurrenzfähige Alternative zu den partikulären Phasen: Bei tolerierbarem Mehrverbrauch an Lösungsmittel wird die Analysenzeit mehr als halbiert und das ohne Verlust an Information bei den entstehenden Chromatogrammen. Zusätzlich werden Trennungen überhaupt erst ermöglicht, für die auf der partikuläreren Phase ein Wechsel der mobilen Phase notwendig wäre.

3.3 Isolierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz mittels Ionenaustauscher

Der eingesetzte Ionenaustauscher IRA-900 wird zunächst auf grundlegende Eigenschaften getestet. Der Wasseranteil wird durch Trocknen am Hochvakuum mit 58 % ermittelt und stimmt mit der Herstellerangabe von 60 % überein, während für die Austauscherkapazität ein Wert von $3,34 \text{ mmol} \times \text{g}^{-1}$ festgestellt wird. Er weicht zwar deutlich von der Herstellerangabe von $4,00 \text{ mmol} \times \text{g}^{-1}$ ab, was aber auf die Methoden der Kapazitätsbestimmung zurückzuführen ist. Im Folgenden wird zur Abschätzung der einzusetzenden Austauschermenge immer mit der selbst bestimmten Kapazität gerechnet.

Um zu prüfen, ob ein Ionenaustausch mit den Harzsäuren aus dem Weihrauchharz im nichtwässrigen Medium überhaupt stattfindet, wird in einem Vortest vakuumgetrockneter Ionenaustauscher und als Lösungsmittel Methanol, Dichlormethan und Diethylether verwendet. Eine exakt eingewogene Menge der Säurefraktion aus der Harzprobe 1 (*Bser Gr1*) wird mit Ionenaustauscher der etwa doppelten Kapazität und einem der drei genannten Lösungsmittel versetzt. Die Mischung wird in einem Glaskolben mit einem Magnetrührer gerührt; die Adsorption wird per Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nachdem nach über 24 h keine Änderung mehr zu beobachten ist, werden die Proben gefiltert und nicht adsorbierter und adsorbierter Teil gravimetrisch bestimmt; die Ergebnisse zeigt Tab. 15.

Tab. 15: Adsorption von Harzsäuren an den Ionenaustauscher IRA-900 in organischen Lösungsmitteln. Die Werte dienen nur zur groben Orientierung, s. Text.

	Diethylether	Methanol	Dichlormethan
Einwaage Säurefraktion [mg]	254,0	255,8	280,5
Adsorbierte Säuren [mg]	23,6 (9,29 %)	103,7 (40,5 %)	135,6 (48,3 %)
Nicht adsorbierte Säuren [mg]	139,9 (55,1 %)	10,6 (4,14 %)	11,7 (4,17 %)
Verhältnis von adsorbierten (A) zu nicht adsorbierten (NA) Säuren	1: 5,9	9,8:1	11,6:1
Wiederfindung A + NA [%]	64	45	53

Die Harzsäuren werden aus Methanol oder Dichlormethan deutlich effizienter an den Ionenaustauscher adsorbiert als aus Diethylether. Diese Ergebnisse sind jedoch nicht verallgemeinerbar, denn die Wiederfindung ist durchweg sehr schlecht (45-64 %). Bei Methanol und Dichlormethan kommt es außerdem zu einer heftigen Reaktion beim Mischen von Lösungsmittel und vakuumgetrocknetem Ionenaustauscher (Zerplatzen der Harzkügelchen), und durch die mechanische Beanspruchung beim Rühren wird das Austauschharz zusätzlich zerstört. Ein Versuch mit einer größeren Menge an Rohextrakt und einer Ethanol/Diethylether-Mischung verläuft hingegen erfolgreich. Da Ethanol allein kein ideales Lösungsmittel für Weihrauchextrakte ist, wird eine Mischung aus Ethanol und Diethylether verwendet. Der Versuch wird in einer Glassäule durchgeführt, so dass die mechanische Beanspruchung des Ionenaustauschers minimiert wird. Die Dünnschicht-Chromatogramme von Rohextrakt, Säurefraktion und Neutralkomponenten stimmen mit den entsprechenden Fraktionen nach dem klassischen Verfahren überein. Der Anteil der Säuren am Rohextrakt ist bei beiden gleich: Beim klassischen Verfahren werden 21 % Säuren aus dem Harz erhalten, beim Ionenaustauscherverfahren knapp 25 %. Das Verhältnis von Säurefraktion zu Neutralverbindungen

beträgt bei der Flüssig-Flüssig-Extraktion 1,44:1 und beim Ionenaustauscherverfahren 1,37:1. Ein Versuch zur maximalen Beladung ergibt, dass mit 100 g IRA-900 maximal 43 g Säurefraktion isoliert werden können.

Um den Einfluss des Lösungsmittels auf die Adsorption der Säuren näher zu bestimmen, wurden weitere Tests mit einer leicht veränderten Vorgehensweise durchgeführt, so dass die starke mechanische Beanspruchung durch das Rühren mit dem Magneten vermieden wird. Als Lösungsmittel werden Dichlormethan, Diethylether, Methanol, *tert.*-Butyl-methyl-ether (MTBE), *iso*-Propanol und Tetrahydrofuran verwendet. Der dabei verwendete Ionenaustauscher wurde dazu vorher mit einem Zyklus im selben Lösungsmittel behandelt (also „feucht“ im jeweiligen Lösungsmittel eingesetzt) und das Rühren mit dem Magnetrührer durch ein mittelstarkes maschinelles Schwenken ersetzt. Eine exakt eingewogene Menge an Weihrauch-Rohextrakt wird mit dem „feuchten“ Ionenaustauscher versetzt und über einen definierten Zeitraum in einer Spritze mit Fritte geschwenkt. Durch mehrmaliges Spülen mit dem jeweils verwendeten Lösungsmittel werden nicht adsorbierte Säuren (NA) vom Ionenaustauscher gewaschen; anschließend werden die adsorbierten Säuren (A) mit 10 % Essigsäure im verwendeten Lösungsmittel eluiert. Das Verfahren ist schematisch in Abbildung 41 dargestellt.

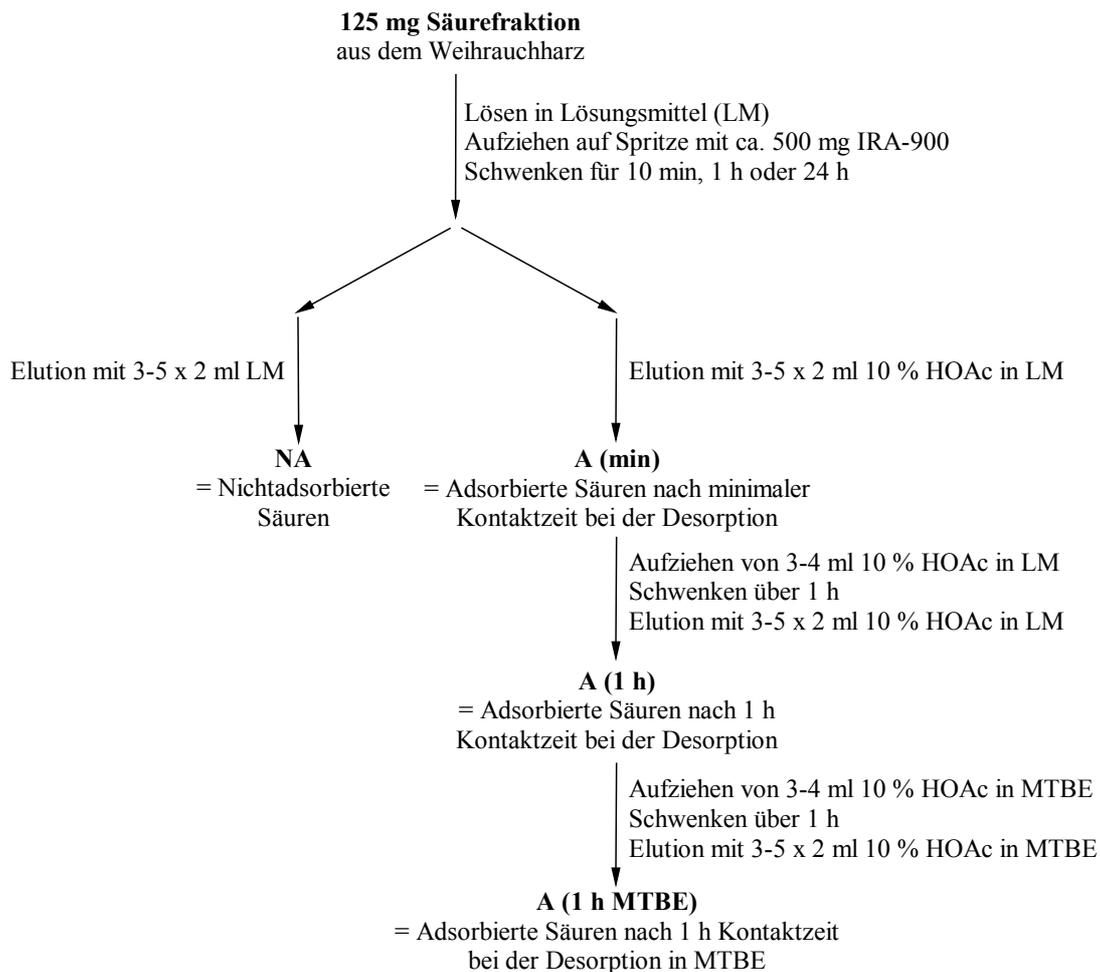


Abb. 41: Schematische Vorgehensweise zur Bestimmung der Lösungsmittelabhängigkeit bei der Adsorption von Harzsäuren an IRA-900.

Die Wiederfindungsraten (=Summe von Neutralkomponenten und Säurefraktion) liegen fast bei allen Ansätzen im Bereich von 90-100 %; eine unspezifische Adsorption von Verbindungen an die Ionenaustauschermatrix wird nicht beobachtet. Auch zeigen die Leerproben (=ohne Säurefraktion), dass nur bei Actenotril und Tetrahydrofuran nennenswerte Mengen an Artefakten entstehen. Acetonitril wurde aus den weiteren Versuchen als Lösungsmittel ausgeschlossen, weil es schon bei kurzer Kontaktzeit mit der OH-Form des Ionenaustauschers zu Acetamid umgesetzt wird (Abb. 42). Die Identität der Verbindung wurde anhand des Schmelzpunktes und der ^{13}C -/ ^1H -NMR-Verschiebungen gesichert.

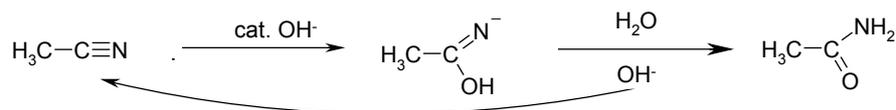


Abb. 42: Entstehung von Acetamid aus Acetonitril an der OH-Form des Ionenaustauschers IRA-900.

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse bei den einzelnen Lösungsmitteln diskutiert. Im Anschluss daran (Abb. 49-51 ab S. 78) werden dann die verschiedenen Lösungsmittel hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit beim Ionenaustausch im nichtwässrigen Medium verglichen.

Iso-Propanol ermöglicht eine nahezu vollständige Adsorption von Harzsäuren an das Ionenaustauscherharz, allerdings wird der Anteil adsorbierter Säuren von 87 % (Messwerte bei 24 h, s. Abb. 43) erst nach sehr langer Zeit (24 h) erreicht. Der Vergleich zwischen minimaler (= ca. 5 min) und 60 min Desorptionszeit (untere bzw. mittlere Linie in Abb. 43) zeigt, dass auch zur Desorption eine gewisse Zeit nötig ist. Angesichts der nahezu sofortigen und auch optisch beobachtbaren pH-Wert-Änderung (Farbumschlag beim Ionenaustauscher) ist die Diffusion der Säuren an freie aktive Stellen im Inneren des Ionenaustauscherharzes die plausibelste Erklärung für diese Verzögerung. Der Anteil der zusätzlich desorbierten Säuren erhöht sich um ca. 10 % (bei 10 min Adsorption) bzw. 20 % (bei 60 min Adsorption) und verschwindet erst nach Erreichen der maximalen Adsorptionsmenge.

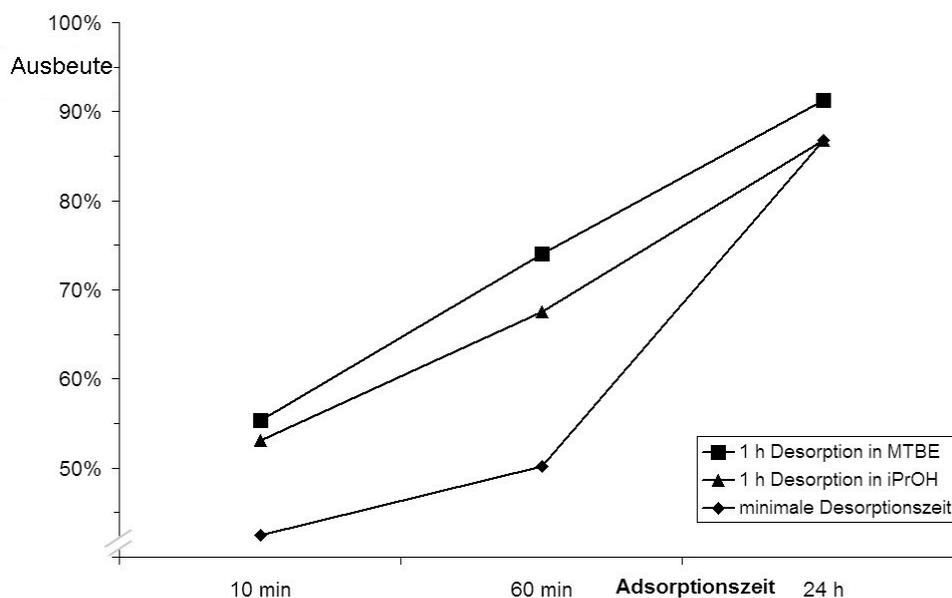


Abb. 43: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in *iso*-Propanol.

Das nachgeschaltete Schütteln mit 10 %iger Essigsäure in MBTE ergibt eine eindeutige, aber schwache Ausbeuteerhöhung um bis zu 5 %. MTBE wurde gewählt, da die Harzsäuren nach 1 h Schütteln praktisch vollständig desorbierten und der Umgang damit aufgrund des relativ hohen Siedepunktes einfach ist. Es stellt außerdem ein sehr gutes Lösungsmittel für Harzsäuren dar und lag in HPLC-Qualität vor, so dass keine weiteren Verunreinigungen in die Probe eingebracht werden. *Iso*-Propanol ist somit prinzipiell als Lösungsmittel für den Ionenaustausch geeignet, für Routinezwecke jedoch stören die langsame Adsorption und die langsame Desorption der Säuren.

Bei Methanol verläuft die Adsorptionskurve (Abb. 44) fast waagrecht zur Zeitachse. Die Adsorption der Harzsäuren erreicht bereits nach 10 min ihr Maximum und geht somit extrem schnell vonstatten. Die Verringerung der Adsorption (unterste Linie) ist wahrscheinlich auf die Diffusion von Harzsäuren in das Innere des Ionenaustauscherharzes und damit auf eine langsame Desorption und nicht auf eine generell geringe Adsorption zurückzuführen. Wichtig ist für die Desorption, dass diese nach 1 h in methanolischer Essigsäure vollständig ist; weiteres Schütteln mit Essigsäure in MTBE ergibt keine weitere Desorption.

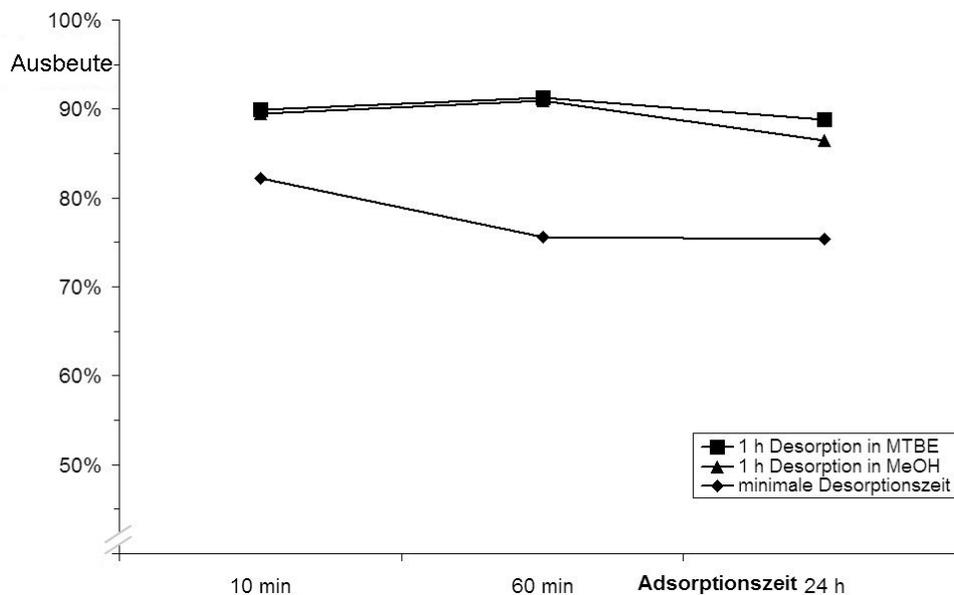


Abb. 44: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Methanol.

Tetrahydrofuran zeigt einen ähnlichen Kurvenverlauf wie *iso*-Propanol mit rascher, beinahe vollständiger Adsorption und rascher Desorption nach 1 h mit Essigsäure in THF (Abb. 45). Allerdings liegt die Wiederfindung konstant bei ca. 120 %, was auf die Entstehung eines Nebenproduktes schließen lässt. Eine Untersuchung des Produktes mittels NMR zeigt Signale, wie sie für langkettige Kohlenwasserstoffe wie Schliff-Fett (*grease*) typisch sind. Die über 100 % hinausgehenden Ausbeuten rühren demnach eher von Verunreinigungen im THF her als von Nebenreaktionen zwischen THF und Ionenaustauscher. Tetrahydrofuran wurde von der weiteren Verwendung mit dem Ionenaustauscher ausgeschlossen. Prinzipiell und nach Klärung des o. a. Sachverhaltes steht einer Verwendung nichts im Wege, zumal die Adsorption und das Lösungsverhalten hervorragend sind. Allerdings unterscheidet es sich in seiner

Verwendbarkeit nur wenig von Diethylether (s. dort) und ist dabei aufgrund der starken Neigung zur Peroxidbildung schwieriger als letzteres zu handhaben.

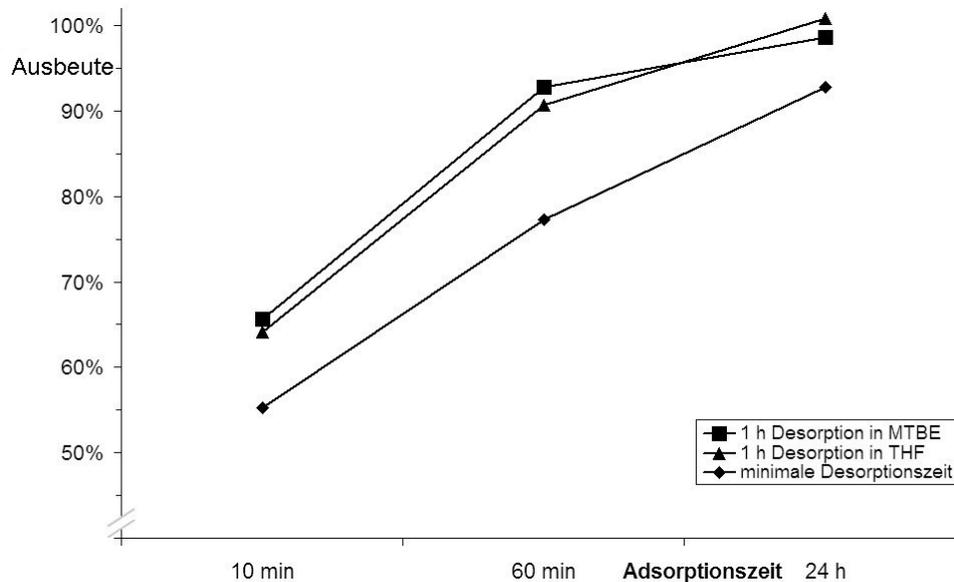


Abb. 45: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Tetrahydrofuran.

Diethylether zeichnet sich durch eine dem *iso*-Propanol vergleichbare Adsorption und sehr rasche Desorption aus (Abb. 46). Von Nachteil ist jedoch der maximale Adsorptionsanteil von knapp über 80 %, der hinter den entsprechenden Werten bei Methanol, *iso*-Propanol und Tetrahydrofuran zurückbleibt.

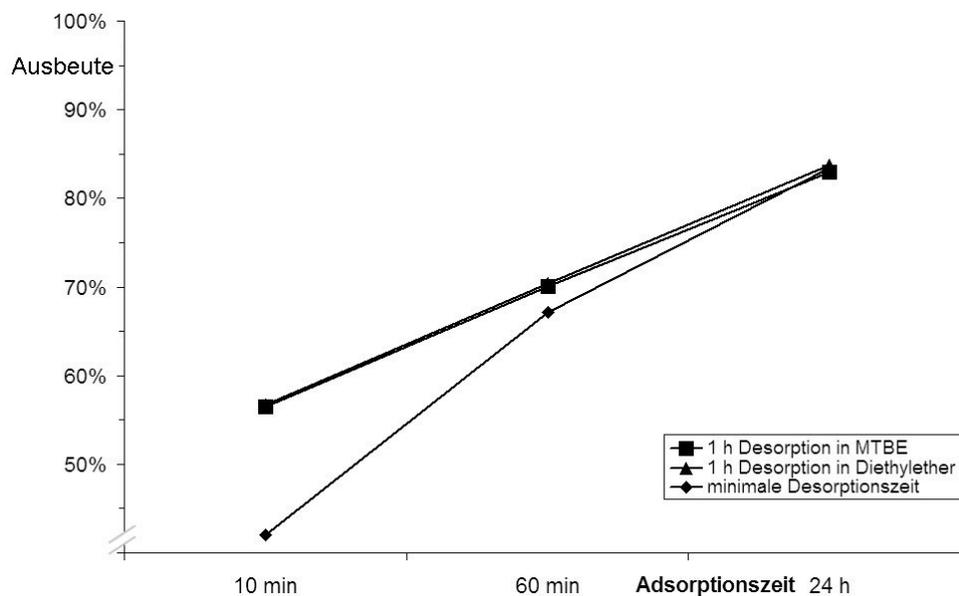


Abb. 46: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Diethylether.

Bei Verwendung von MTBE als Lösungsmittel (Abb. 47) steigt die Menge der adsorbier-ten Harzsäuren, die mit Essigsäure nach 1h in MTBE (in diesem Fall also 2 h Desorption in der MTBE/HOAc-Mischung) erhalten werden, wie bei den anderen Lösungsmitteln mit

zunehmender Adsorptionszeit an. Diese Zeit ist für die Desorption unerlässlich, da sonst trotz definitiv adsorbierter Säuren bei rascher (max. 5 min) oder einstündiger Dauer nicht alle adsorbierten Säuren vom Ionenaustauscher zurückgewonnen werden. Dieser Effekt wurde auch bei *iso*-Propanol beobachtet.

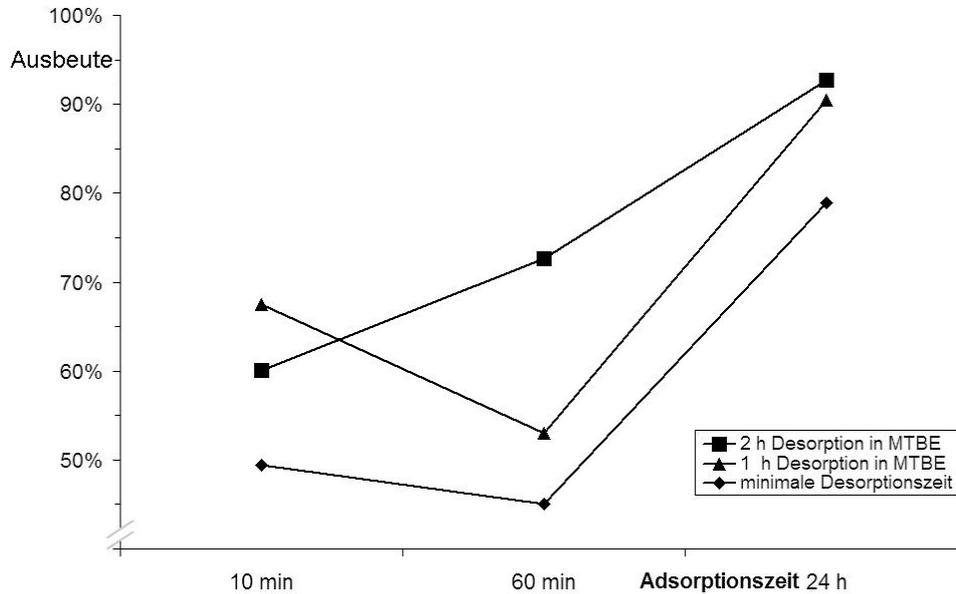


Abb. 47: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in MTBE.

Die Adsorption aus Dichlormethan schließlich (Abb. 48) zeigt, dass bei 24 h Adsorptionszeit durchweg nicht mehr, sondern weniger Harzsäuren als nach 1 h adsorbiert werden. Dies kann nicht an einer langsamen Desorption von Harzsäuren bei der Elution mit Essigsäure in DCM oder MTBE liegen, denn alle drei Kurven liegen bei den ersten beiden Messwerten nahe beieinander. Die Harzsäuren werden also unspezifisch in die Ionenaustauschermatrix gebunden und auch nach Protonierung erst langsam aus dem Austauscherharz entlassen.

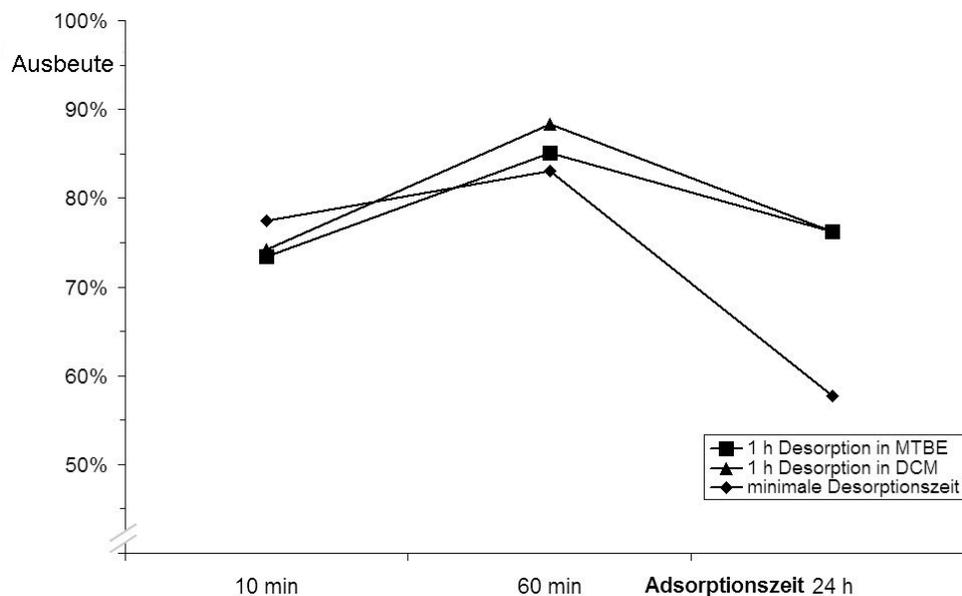


Abb. 48: Zeitabhängige Adsorption der Harzsäuren an IRA-900 in Dichlormethan.

Dies ist in Übereinstimmung mit der Beobachtung, dass nach 24 h Adsorption ein Unterschied zwischen 10- und 60-minütiger Desorption besteht. Es ist denkbar, dass eine weitere Verlängerung der Desorptionszeit die Ausbeute weiter erhöhen würde. Derart lange Desorptionszeiten sind aber nicht praxisrelevant und wurden daher nicht getestet. Dichlormethan und andere halogenierte Kohlenwasserstoffe sind aus einem weiteren Grund für die Praxis weniger geeignet: Durch die geringere Dichte des Ionenaustauschers schwimmt dieser bei Verwendung halogenerter Lösungsmitteln in einer Glassäule obenauf. Dadurch wird der Stoffaustausch erschwert, sofern nicht eine Vorrichtung zur Fixierung des Ionenaustauschers installiert wird.

Der Vergleich der verschiedenen Lösungsmittel in Abb. 49 zeigt nun bei Methanol, Tetrahydrofuran und Dichlormethan den paradoxen Effekt, dass die Menge adsorbierter Substanzen *nicht* in gleichem Maße mit der Adsorptionszeit steigt, die Adsorptionskurven also nicht mehr oder minder parallel zueinander verlaufen. Verantwortlich dafür sind zwei entgegengesetzte Effekte, nämlich

- zunehmende Adsorption (z. B. durch Diffusion von Säuren an aktive Stellen im Inneren der Harzkügelchen) und
- langsamere Desorption: längere Wegstrecke desorbierter Moleküle aus den Harzkügelchen hinaus; verstärkt durch eine Wechselwirkung der unpolaren Säuren mit der Ionenaustauschermatrix (*backbone interaction*).

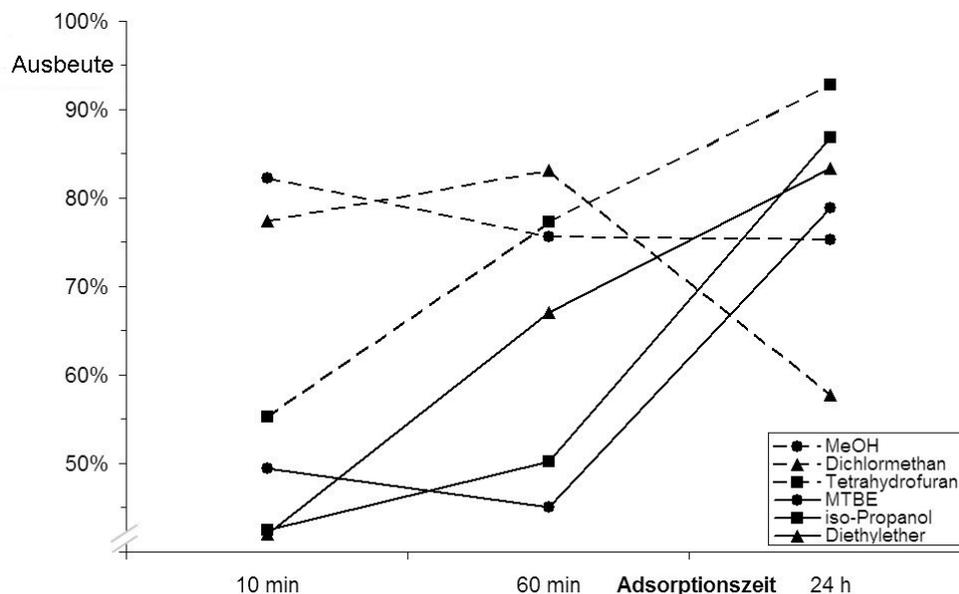


Abb. 49: Lösungsmittelabhängige Adsorption von Harzsäuren an IRA-900 bei minimaler Desorptionszeit (ca. 5 min).

Aus Abb. 49 kann man also nur für diejenigen Fälle Rückschlüsse ziehen, in denen die Desorptionszeit der limitierende Faktor ist.

Erkennbar ist, dass

- der Ionenaustausch prinzipiell mit allen getesteten Lösungsmitteln funktioniert;
- die maximalen Adsorptionsraten bei ca. 75-95 % liegen, der Ionenaustausch also gute bis sehr gute Ausbeuten liefert;
- die Adsorption bei Methanol und Dichlormethan am schnellsten stattfindet und bei Erreichen der maximalen Adsorption wieder abzufallen scheint; und dass
- die Adsorption bei Diethylether und Tetrahydrofuran langsam und bei MTBE und *iso*-Propanol sehr langsam, aber schließlich bei allen Lösungsmitteln mit mindestens mittelmäßiger Effizienz vonstatten geht.

Demzufolge bieten sich bei kurzen Desorptionszeiten (ca. 5 min) als Lösungsmittel für die Isolierung mittels Ionenaustauscher an:

- Methanol und Dichlormethan mit guter Effizienz bei kurzer Adsorptionszeit (10 min).
- Tetrahydrofuran mit guter und Diethylether mit mäßiger Effizienz bei mittlerer Adsorptionszeit (60 min).
- Tetrahydrofuran, *iso*-Propanol und Diethylether, MTBE und Methanol mit mittelmäßiger Effizienz bei langer Adsorptionszeit und maximaler Ausnutzung der Ionenaustauscher-Kapazität.

Die Verlängerung der Desorptionszeit von ca. 5 auf 60 min (Abb. 50) verändert den Kurvenverlauf der Ausbeute dahingehend, dass nun die Adsorptionsrate bei *iso*-Propanol, Diethylether und Tetrahydrofuran mit der Adsorptionszeit zunimmt. Bei MTBE und Dichlormethan ist dies nicht der Fall, wie bereits bei den jeweiligen Lösungsmitteln erläutert wurde. Bei Methanol wird nach 24 h Adsorptionszeit ebenfalls eine geringere Adsorptionsrate als nach 1 h gemessen, allerdings liegt diese im Bereich der üblichen Messschwankungen, sodass wohl eher eine Stagnierung auf hohem Niveau als eine mangelnde Desorption vorliegt.

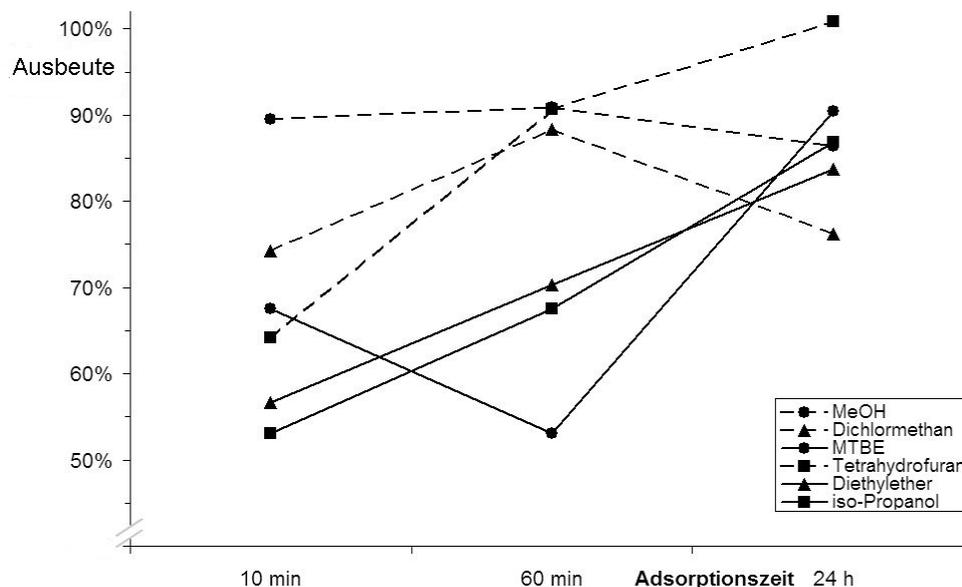


Abb. 50: Lösungsmittelabhängige Adsorption von Harzsäuren an IRA-900 bei 1 h Desorptionszeit.

Wenn eine Desorptionszeit von 1 h möglich ist, ändert sich die Bewertung einiger Lösungsmittel hinsichtlich des Einsatzes zur Isolierung von Harzsäuren:

- Methanol und Dichlormethan sind immer noch die Lösungsmittel der Wahl bei einer kurzen Adsorptionszeit von 10 min.
- Tetrahydrofuran kann mit guter und Diethylether mit mäßiger Effizienz bei mittleren Desorptionszeiten (ca. 1 h) eingesetzt werden.
- Die effektive maximale Adsorption, die bei kurzen Desorptionszeiten zu niedrige Werte ergibt, beträgt nun aber bei allen Lösungsmitteln mehr als 80 % (Ausnahme: Dichlormethan mit ca. 75 %).

Sofern für die Desorption in 10 %iger Essigsäure ein Lösungsmittelwechsel praktikabel ist, kann ein Wechsel auf 10 % Essigsäure in MTBE bei der Verwendung von *iso*-Propanol, Dichlormethan und MTBE zur Ausbeuteverbesserung beitragen. Bei den anderen genannten Lösungsmitteln werden keine erhöhten Ausbeuten im Vergleich zur einstündigen Desorption in 10 %iger Essigsäure im selben Lösungsmittel erreicht. Wie Abb. 51 verdeutlicht, verläuft die Adsorption der Harzsäuren linear oder stagniert auf einem hohem Niveau (Ausnahme: Dichlormethan).

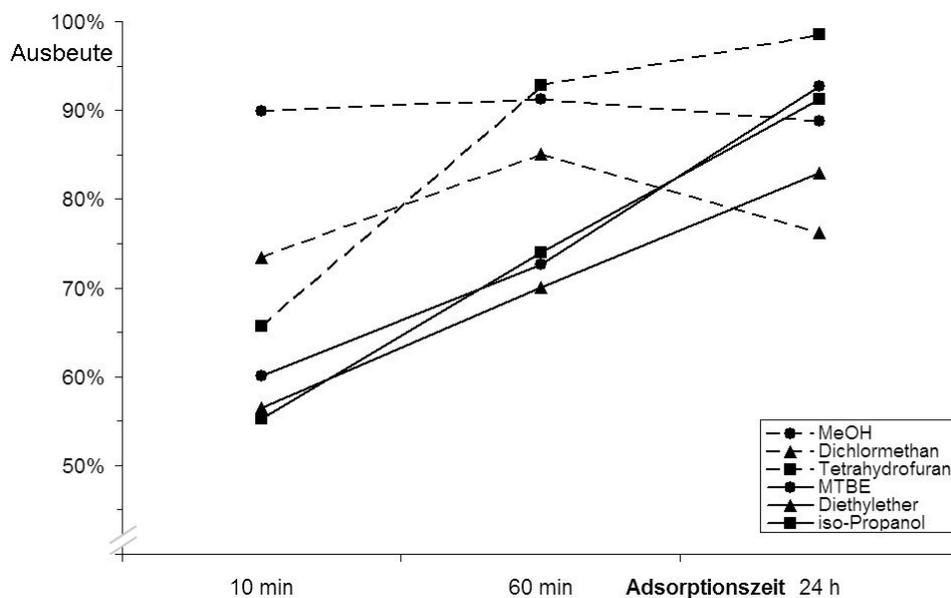


Abb. 51: Lösungsmittelabhängige Adsorption von Harzsäuren an IRA-900 bei Desorption nach 1 h in 10 % HOAc in MTBE.

Die Ergebnisse dieser umfangreicheren zweiten Testreihe widersprechen denjenigen der Vorversuche (s. Tab. 15 auf S. 72) insofern, dass die Adsorption bei Diethylether nun mäßig schnell und effizient und bei Dichlormethan mäßig schnell und paradoxer Weise nach 24 h geringer als nach 1 h ausfällt. Der Grund für diese Diskrepanz wurde nicht weiter untersucht; er liegt wahrscheinlich darin, dass der Ionentauscher bei den Vorversuchen getrocknet einge-

setzt wurde und damit bei allen Lösungsmitteln nur schlechte Ausbeuten (45-64 %) erzielt wurden.

Mit einer Methanol-Diethylether-Mischung als Lösungsmittel lassen sich aus dem Harzextrakt von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) unter Verwendung von 100 g IRA-900 maximal 33 g Harzsäuren isolieren. Der gesamte Zyklus nimmt einschließlich der Regenerierung des Ionenaustauschers 7-8 h in Anspruch. Die Ausbeute liegt deutlich niedriger als beim Vorversuch (S. 72), bei dem ca. 45 g Säurefraktion isoliert wurden. Ursachen für die geringere Ausbeute sind die kürzere Adsorptionszeit (1-2 h gegenüber ca. 12 h), die einmalige Probenaufgabe und die Lösungsmittelwahl. Für Routinezwecke wird ein deutlich schnellerer Zyklus erprobt: Er liefert in 3-4 h mit derselben Menge an Ionenaustauscher unwesentlich andere Werte als das klassische Verfahren und trennt ca. 48 g Extrakt glatt in 31 g Neutralkomponenten und 17 g Harzsäuren und ist damit für Routine-Isolierungen geeignet.

Störende Effekte bei der Ionenaustauscherbehandlung werden kaum beobachtet. Bei einigen Lösungsmitteln kommt es bei einer pH-Wert-Änderung zu leichter Gasblasen-Bildung, die aber zu vernachlässigen ist. Die Volumenänderung bei bestimmten Lösungsmittel/Zyklus-Kombinationen sind aus der Literatur bekannt^[227] und betragen maximal $\pm 10\%$. Sie müssen bei der Wahl der Glassäule berücksichtigt werden und führen zur Bildung von Gasblasen, stören aber die Isolierung nicht weiter; zumindest in der vorliegenden Messreihe hat sich die Befürchtung, bei einer Volumenminderung könnten aktive Stellen versteckt werden, nicht bewahrheitet.

Eine Untersuchung der Säurefraktion aus dem klassischen (Flüssig-Flüssig-Extraktions-) und dem Ionenaustauscher-Verfahren mittels HPLC (Abb. 52) zeigt beinahe identische Chromatogramme. Umsetzungen bei den Säuren scheint es also nicht in nennenswertem Maße zu geben. Allerdings ist nicht auszuschließen, dass einige Harzsäuren während des Kontaktes mit dem Ionenaustauscher in anderen Verbindungen überführt werden und die entstehenden Produkte nur aufgrund des geringen Anteils oder der Koelution mit anderen Säuren nicht im HPLC-Chromatogramm zu erkennen sind.

Beim Eluat vom Ionenaustauscher fällt sowohl bei den Neutralkomponenten als auch der Säurefraktion ein intensiver, unangenehm fischartiger Geruch auf. Als Ursache dafür werden Aminverbindungen vermutet, die nach der Herstellung im fertigen Austauschharz verbleiben und nach und nach eluiert werden können. Diese Komponenten sind im HPLC-Chromatogramm in Abb. 52 als „IE-Amine“ bei einer Retentionszeit von etwa 8,5 min zu sehen.

Bestätigt wird diese Vermutung durch die Tatsache, dass Geruch und HPLC-Peak nach Ausschütteln der ätherischen Lösung der Säurefraktion aus dem Ionenaustauscher mit konzentrierter Salzsäure verschwinden, wie in Abb. 53 zu sehen ist.

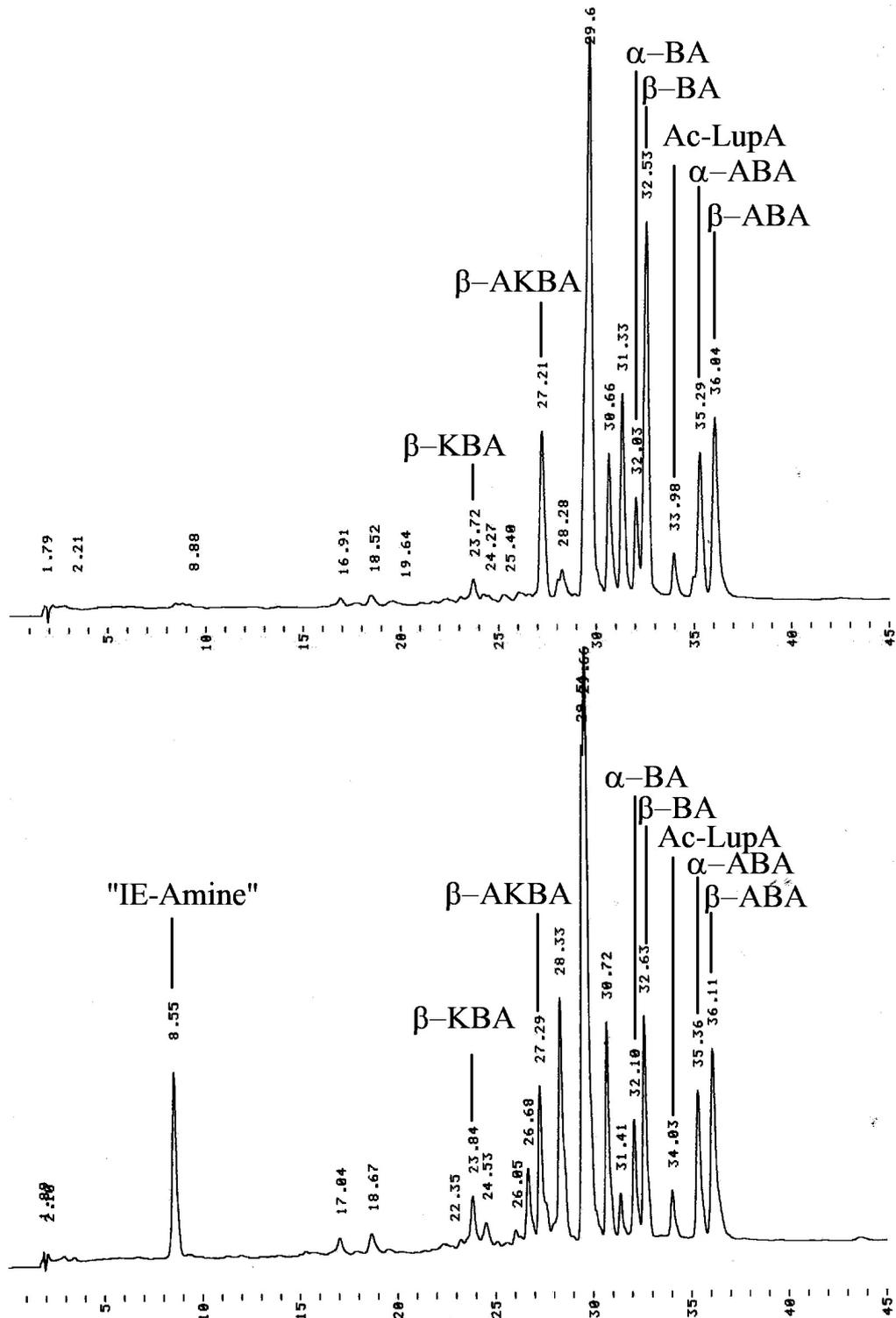


Abb. 52: Vergleich der HPLC-Chromatogramme der Säurefraktionen aus klassischer Isolierung (oben) und IE-Verfahren (unten).

Aus Abb. 53 ist auch ersichtlich, dass die Chromatogramme der Säurefraktion aus beiden Verfahren keine nennenswerten Unterschiede zeigen. Eine qualitative oder quantitative Veränderung bei der Verteilung der Harzsäuren durch die Verwendung des Ionenaustauschers bei der Isolierung ist mittels HPLC nicht zu erkennen. Eine befürchtete, irreversible Adsorption von Harzsäuren an das Austauscherharz kann ebenfalls nicht beobachtet werden.

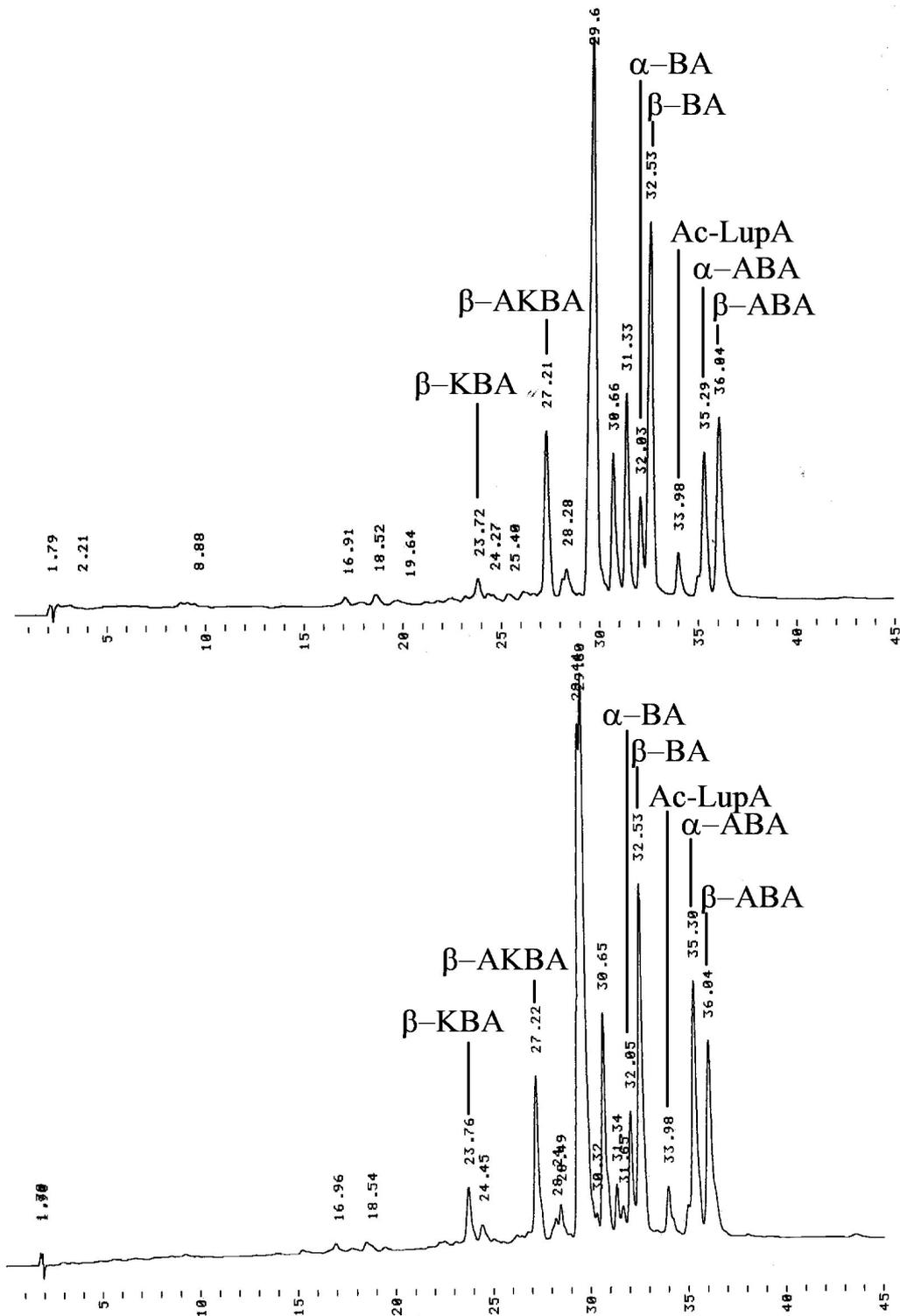


Abb. 53: Vergleich der Säurefraktionen aus klassischer Isolierung (oben) und IE-Verfahren mit anschließender HCl-Behandlung (unten)

In Abb. 52 sind im unteren Chromatogramm (IE-Methode ohne anschließende HCl-Behandlung) einige quantitative Unterschiede zum oberen Chromatogramm (klassische Methode) zu erkennen. Diese Unterschiede verschwinden durch die Behandlung mit Salzsäure (siehe unteres Chromatogramm in Abb. 53), die auch die Amine aus dem Ionenaustauscher

entfernt. Die scheinbare quantitative Veränderung dieser Verbindungen in Abb. 52 wird wahrscheinlich durch die Veränderung der Retentionszeiten einiger Säuren durch die „IE-Amine“ verursacht, z. B. durch Ionenpaarbildung. Durch die nachträgliche HCl-Behandlung der Säurefraktion aus dem Ionenaustauscher wird der Vorsprung der Ionenaustauschertechnik teilweise zunichte gemacht, denn es handelt sich um einen – wenn auch einfachen – zusätzlichen Arbeitsschritt. In vielen Situationen, z. B. wenn die Säurefraktion direkt weiteren Isolierungs- oder Syntheseschritten unterworfen wird, kann die HCl-Behandlung aber unterbleiben, und bei stark emulsionsbildenden Weihrauchextrakten (einem beträchtlichen Teil der vorliegenden Harzproben!) ist die Ionenaustauschermethode die einzig praktikable Methode.

Die Verwendung eines Ionenaustauschers ist unter Praxisbedingungen möglich und hat den Vorteil, dass sie praktisch beliebig großem Maßstab durchgeführt werden kann. Bezüglich des Lösungsmittelverbrauchs und Zeitaufwands sind beide Methoden in etwa gleichwertig, wobei die Ionenaustauschermethode noch größere Optimierungsmöglichkeiten bietet. Mit verbesserten Lösungsmittelmischungen und Adsorptions/Desorptions-Zeiten können Zyklen erarbeitet werden, die noch zeitsparender sind und dabei eine höhere Ausbeute liefern.

Die in Abb. 6 (S. 22) gezeigten Wege A und B zur Isolierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz können somit um eine konkurrenzfähige Alternative – das Ionenaustauscher-Verfahren C – ergänzt werden:

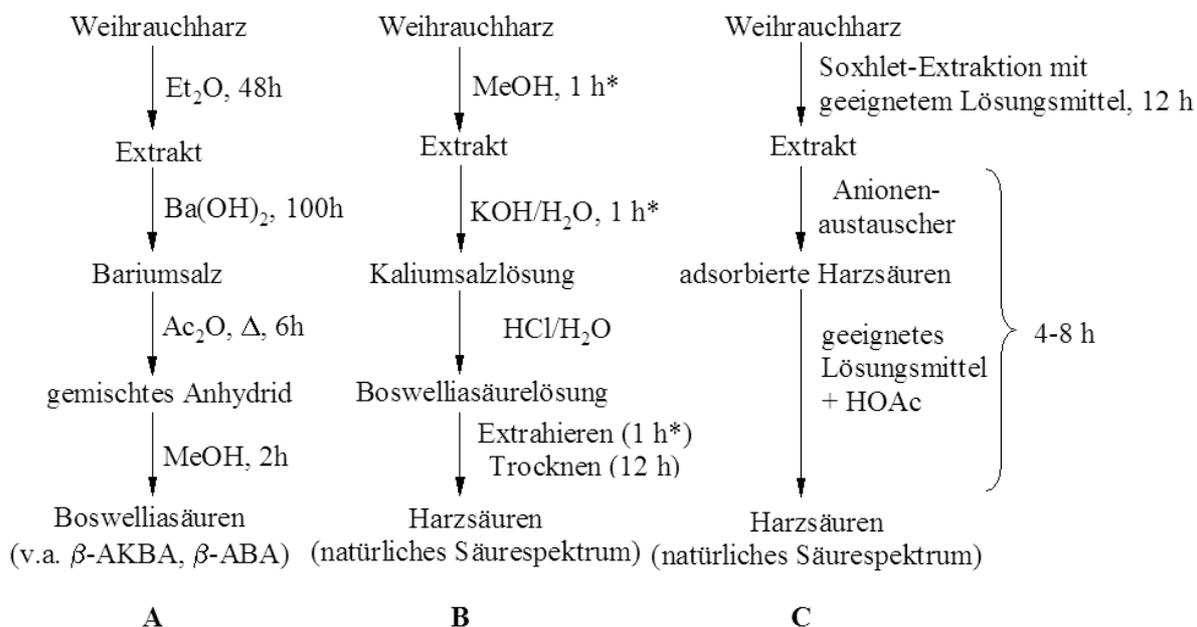


Abb. 54: Übersicht über die Gewinnung von Boswelliasäuren aus dem Weihrauchharz. A: Verfahren nach Winterstein und Stein;^[34] B: Verfahren nach Shao *et al.*^[99] (*: Reaktionszeiten geschätzt); C: Neues Verfahren unter Verwendung des Ionenaustauschers IRA-900. Alle Zeitangaben zuzüglich etwaiger Aufarbeitungsschritte wie z. B. Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer.

Die Vorteile der Ionenaustauschermethode im Gegensatz zum klassischen Extrahieren (Abb. 54) mit wässriger Alkalilauge sind:

- + Dauer und Effizienz der Trennung werden nicht durch emulgierende Substanzen beeinträchtigt.
- + Der Prozess ist sowohl im Labor als auch in größerem Maßstab durchführbar. Limitierende Größe ist nicht die Kapazität der Flüssig-Flüssig-Extraktoren, sondern die Ionenaustauscher-Menge und die Kapazität zum Abrotieren des Lösungsmittels.
- + Die Isolierung liefert das unveränderte Säurespektrum.
- + Durch die milden Bedingungen werden Artefakte vermieden, wie sie durch Fällungsreagenzien oder Anreicherung über Derivate (Anhydrid) entstehen können.

Nachteile des Ionenaustauscherverfahrens sind:

- Bislang mangelnde Automatisierbarkeit: Insbesondere bei unbekanntem Säuren muss jeder Schritt (Entfernung der nicht-sauren Bestandteile; Lösungsmittel- und pH-Wert-Änderung) auf Vollständigkeit überprüft werden, und auch bei bekannten Wasch- und Elutionszyklen fehlt derzeit ein geeignetes Pumpensystem.
- Die eingesetzten Proben dürfen nicht trüb sein, da sonst die Poren des Austauscherharzes verstopft werden; ggf. muss der Weihrauchextrakt vor dem Auftragen filtriert werden.
- Nebenreaktionen mit Terpenen und Harzsäuren sind ungeklärt. Ein Auftreten derartiger Nebenreaktionen ist aber derzeit als unwahrscheinlich anzusehen.
- Das Vorkommen von Aminkomponenten im Eluat ist ein geringes Problem, sofern sie die weitere Verwendung der verunreinigten Säurefraktion nicht stören. Andernfalls müssen die „IE-Amine“ durch einen einfachen Aufreinigungsschritt entfernt werden.
- Der Ionenaustauscher „blutet“, d. h. auch nach intensivem Waschen und mehreren Zyklen wird nach längeren Standzeiten (Monate) in Diethylether ein intensiv gelb gefärbtes Eluat erhalten. Wird der Ionenaustauscher in Wasser gelagert, tritt dieses Problem nicht auf. Mit einer effektiven Vorreinigung des Ionenaustauschers könnten dieses Problem zusammen mit dem der „IE-Amine“ gelöst werden.

Aufgrund der oben genannten Unwägbarkeiten (prinzipiell mögliche Anwesenheit von Artefakten, Aminkomponenten und anderen Komponenten aus dem Trägermaterial) werden im Verlaufe der weiteren Arbeiten grundsätzlich Säurefraktionen verwendet, die durch das klassische Verfahren hergestellt wurden. Die Trennung des Extraktes in Neutralverbindungen und Säuren erfolgt durch eine Flüssig-Flüssig-Extraktion zwischen Diethylether und wässriger Alkalilauge.

3.4 Isolierung und Partialsynthese von Boswelliasäuren und deren Derivaten

3.4.1 Partialsynthese einzelner Boswelliasäuren aus anderen Boswelliasäuren

Die Partialsynthese von Boswelliasäuren konzentriert sich zunächst auf die vier β -Boswelliasäuren β -Boswelliasäure (β -BA) **1**, 3-Acetyl- β -boswelliasäure (β -ABA) **2**, 11-Keto- β -boswelliasäure (β -KBA) **6** und 3-Acetyl-11-keto- β -boswelliasäure (β -AKBA) **7**.

Die Acetylierung von β -BA **1** zu β -ABA **2** und von β -KBA **6** zu β -AKBA **7** (siehe Abb. 55) erfolgt glatt mittels Acetanhydrid und 4-Dimethylaminopyridin (4-DMAP, „Steglich-Base“); die Reaktion verläuft bei Raumtemperatur und in Dichlormethan als Lösungsmittel innerhalb von 3-5 h quantitativ.

Der Umkehrschritt – die Deacetylierung von β -ABA **2** zu β -BA **1** und von β -AKBA **7** zu β -KBA **6** – wurde in verschiedenen niederen Alkoholen (Methanol, Ethanol, *iso*-Propanol) unter Zusatz einer starken Base (KOH, NaOH) durchgeführt. Dabei hat sich die Verwendung von *iso*-Propanol als das zweckmäßigste Lösungsmittel herausgestellt. Bei Methanol ist die Reaktionsgeschwindigkeit deutlich herabgesetzt. Bei Ethanol führt die Umsetzung von Vergällungsmitteln zu einer farbigen und schlecht abtrennbaren Verbindung. In *iso*-Propanol, das billig in ausreichender Reinheit erhältlich ist, ist die Deacetylierung hingegen nach ca. 1-2 h beendet. Die (De-)Acetylierung der korrespondierenden α -Boswelliasäuren α -BA **3** und α -ABA **4** erfolgt analog; ein unterschiedliches Verhalten bei der Acetylierung wird wie erwartet nicht beobachtet.

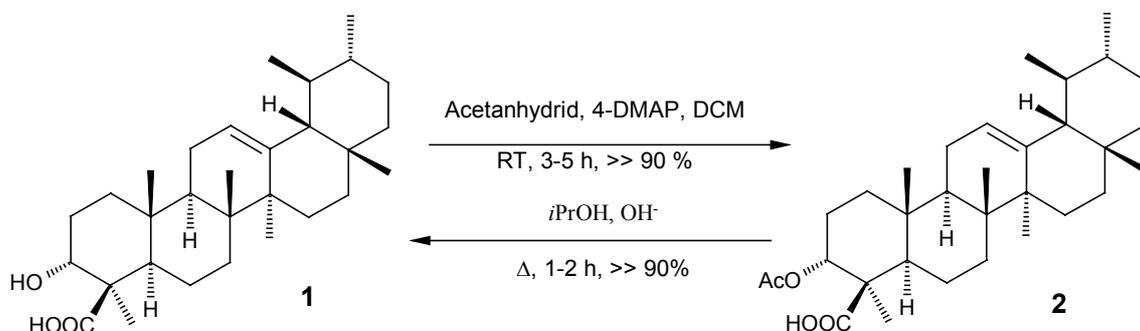


Abb. 55: (De-)Acetylierung der Boswelliasäuren am Beispiel von β -(A)BA **1** (**2**).

Die von β -ABA **2** ausgehende Partialsynthese von β -AKBA **7** verläuft über die bekannte Variante der Wohl-Ziegler-Bromierung mit *N*-Brom-succinimid^[323-325] und Wasser unter Bestrahlung mit sichtbarem Licht, wodurch die allylständige Methylengruppe im verwendeten Lösungsmittel (Dioxan/Wasser) zur Ketogruppe oxidiert wird. Bevorzugtes Edukt bei der Photooxidation ist die β -ABA **2**, da bei Umsetzung von β -BA **1** die Ausbeute sinkt.

Die Reduktion von β -AKBA **7** mit Natriumborhydrid in TFA liefert das gewünschte Produkt (β -ABA **2**) nur in geringer Ausbeute (bis zu 27 %), während literaturbekannte Umsetzungen von Substanzen mit diesem Strukturelement (Abb. 57) bessere Ausbeuten liefern.

Tab. 16 (S. 88) zeigt deutlich diese Unterschiede in der Reduktionswirkung von NaBH_4/TFA bei diesen Verbindungen. Sie sind das Resultat einer sterischen Hinderung des Angriffes auf die 11-Keto-Gruppe durch die Methylgruppen an C-26 und C-27, wie sie in Abb. 56 veranschaulicht wird.

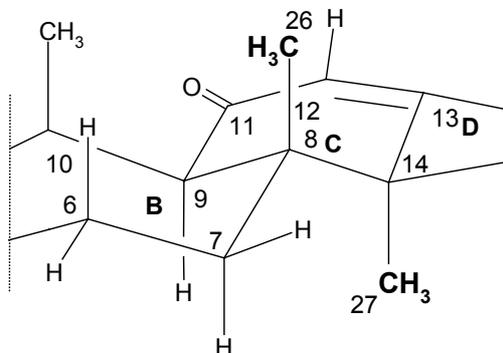


Abb. 56: Sterische Hinderung bei der Reduktion von β -(A)KBA **6** (**7**) durch die Methylgruppen C-26 und C-27 (fett hervorgehoben).

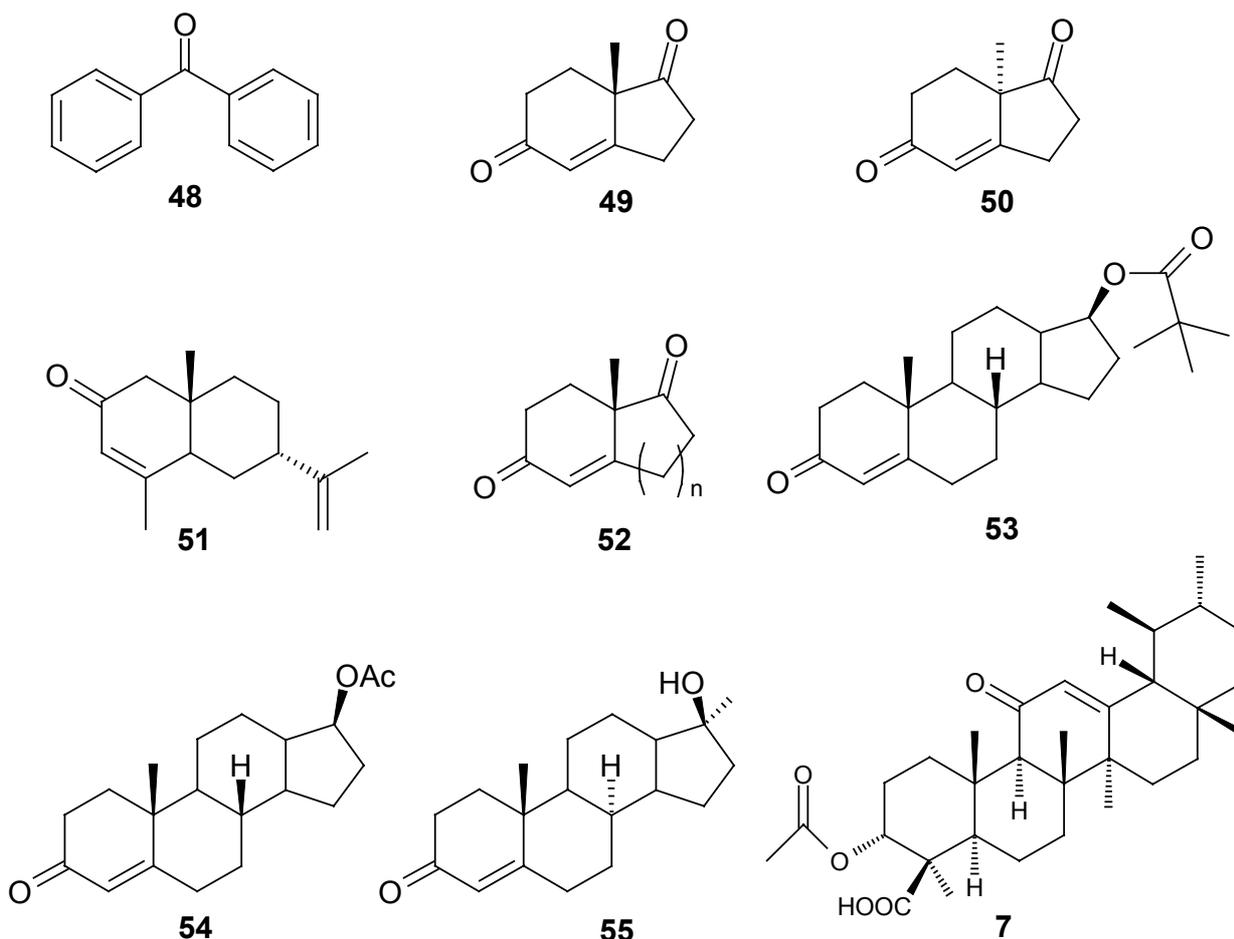


Abb. 57: α,β -ungesättigte Ketone, deren Ketogruppe mit NaBH_4/TFA zur Methylengruppe reduziert wird. Obere Reihe: Benzophenon^[326] **48**, Hajos-Wiechert-Keton **49**^[327] (7aS) bzw. **50**^[328, 329] (7aR). Mittlere Reihe: 1,5-Dimethyl-8-isopropyl-bicyclo[4.4.0]dec-4-en-3-on **51**,^[330] Methyltetrahydroindandion(-homologes) **52**^[331] mit $n=1,2$, Trimethylacetoxy-testosteron **53**.^[332] Untere Reihe: Testosteronacetat **54**,^[333, 334] 17α -Methyltestosteron **55**^[332] und das eingesetzte Substrat β -AKBA **7**.

Tab. 16: Literaturbeispiele und eigene Ansätze für die Reduktion α,β -ungesättigter Ketone mit TFA/NaBH₄. *) C-1 wird nur zur OH-Gruppe reduziert.

Quelle	Substrat	Äq. Keton	Äq. HOAc	Äq. TFA	Äq. NBH ₄	LM	t [h]	T	Ausbeute [%]	
Freixa <i>et al.</i> ^[333]	54	1	20,6	15,47	5,3	DCM MeCN	10	0°	80	
Hanson <i>et al.</i> ^[334]	54	1	20	14,9	4,9	DCM MeCN	1	RT	100	
Bensasson <i>et al.</i> ^[332]	55 53	Wie bei Hanson <i>et al.</i> ^[334]						1 6	RT	80
Schinzer <i>et al.</i> ^[330]	51	1	—	21,3	2,9	DCM MeCN	12	-20 °C → RT	46	
Beckmann <i>et al.</i> ^[329]	49	1,5*	—	31	4	MeCN DCM	1	-15 °C → RT	93	
Nowitzki <i>et al.</i> ^[331]	52	1,5*	K. A., Verweis auf Beckmann <i>et al.</i> ^[329]			MeCN DCM	k. A.	-10 °C	70 (n = 1) 41 (n = 2)	
Di Filippo <i>et al.</i> ^[327]	49	1,5*	—	16	3,5	MeCN	3,5	-20 °C	80	
Gribble und Leese ^[326]	48	1	—	60	4,2	—	12	15-20 °C	92	
Harrison <i>et al.</i> ^[328]	50	1,5*	—	12	13,3	MeCN DCM	2; übernacht	-40 °C; RT	82	
eigene Ansätze	β -AKBA 7	1	20	40	10	MeOH	22	-10 °C; RT	Keine Umsetzung	
			—	65	10	—	40	-10 °C; RT	21	
			—	15	5	MeCN DCM	117	-10 °C; RT	27	

Als Alternative zur Reduktion mit Natriumborhydrid und TFA bietet sich die Umsetzung mit Triethylsilan und Bortrifluorid an.^[335] Die entsprechende Reaktion von β -AKBA **7** verläuft mit befriedigenden Ausbeuten (bis zu 47 %). Es werden wie bei der Umsetzung mit NaBH₄/TFA große Mengen an Reduktionsmittel benötigt, damit überhaupt ein Produkt erhalten wird. Wie Tab. 17 zeigt, ist außerdem ein relativ enges Temperaturfenster von 60-65 °C zu beachten: Unterhalb 60 °C erfolgt keine Umsetzung und oberhalb von 80 °C sinkt die Ausbeute an β -ABA **2** deutlich. Als Nebenprodukt bei der Reduktion wird bei einigen Ansätzen eine Säure isoliert, deren Massenspektrum auf eine Molmasse von 484 u schließen lässt. Die Verbindung wird anhand NMR-spektroskopischer Daten als 3 α -Ethoxy- β -boswelliasäure (3-EtO- β -BA) **56** identifiziert, ein bislang nicht beschriebenes nicht-natürliches Boswelliasäurederivat. Wie Tab. 17 zeigt, kann die Bildung dieser unerwünschten Verbindung durch hohe Temperaturen und ein hohes Et₃SiH:BF₃:Et₂O-Verhältnis minimiert werden (Ansatz 7), wobei aber die absolute Ausbeute an β -ABA **2** mäßig ist. Die besten Ausbeuten an β -ABA **2** werden bei 60-65 °C und einem Et₃SiH:BF₃:Et₂O-Verhältnis von 1:2-2:1

erhalten; hierbei entstehen 43 bzw. 47 % β -ABA **2** neben 29 bzw. 37 % 3-EtO- β -BA **56**. Wenn 3-EtO- β -BA **56** als Hauptprodukt gewünscht wird, liefern hohe Temperaturen (80-85 °C) und ein $\text{Et}_3\text{SiH}:\text{BF}_3:\text{Et}_2\text{O}$ -Verhältnis von 1:2 3-EtO- β -BA **56** in einer Ausbeute von 72 % mit 14 % β -ABA **2** als Nebenprodukt.

Tab. 17: Ausbeuten bei der Reduktion von β -AKBA **7** mit $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3:\text{Et}_2\text{O}$.

Ansatz	Äq. Et_3SiH Äq. $\text{BF}_3:\text{Et}_2\text{O}$ $t = 0/\text{gesamt}$	Reaktionsdauer Temperatur $t = 0/\text{gesamt}$	LM	Ausbeute [%] β -ABA 2 EtO- β -BA 56	Molverhältnis 2 : 56
1	1,5 / 10 0,7 / 30	1 h / 38 h 0 °C ; 100 °C	—	keine Reaktion	—
2	1,5 20	74 h RT; 60 °C; 100 °C	—	keine Reaktion	—
3	1,5 4,0	74 h RT; 60 °C; 100 °C	CHCl_3	keine Reaktion	—
4	1,5 4,0	74 h RT; 60 °C; 100 °C	Toluol	keine Reaktion	—
5	1,5 / 3,1 —	48 / 66,5 h RT ; 60 °C	TFA	keine Reaktion	—
6	20 4,0	1 h RT ; 80-85 °C	—	35,3 51,3	0,7:1
7	20 8,0	1 h RT ; 80-85 °C	—	29,9 5,07	5,9:1
8	40 20	1 h RT ; 80-85 °C	—	40,9 52,9	0,8:1
9	20 40	1 h RT ; 80-85 °C	—	14,4 72,7	0,2:1
10	40 20	1 h RT ; 60-65 °C	—	46,9 29,3	1,6:1
11	20 40	1 h RT ; 60-65 °C	—	42,7 37,3	1,1:1

Die entsprechende Reduktion von β -KBA **6** ergibt neben der gewünschten β -Boswelliasäure **1** eine Verbindung, die den Dünnschicht-Chromatogrammen zufolge polarer ist als β -BA **1**. Sie zeigt im ^{13}C -NMR-Spektrum neben dem C-3-Signal bei 70.68 ppm ein zusätzliches Signal mit einer Verschiebung, wie sie für Alkohole typisch ist. Das Säure-Kohlenstoffatom des Eduktes bei 182.7 ppm ist hingegen verschwunden. Die Verbindung wird anhand NMR-spektroskopischer Daten als das bereits bekannte^[38, 243, 244, 336] und natürlich vorkommende^[103] 3 α ,24-Dihydroxy-urs-12-en **16** identifiziert, im Folgenden als 3,24- β -Boswelliadiol **16** bezeichnet. Dieses Diol ist ein unerwünschtes Nebenprodukt bei der Reduktion von β -KBA **6**, lässt sich aber ebenso wenig wie die Bildung von 3-EtO- β -BA **56** bei der Reduktion von β -AKBA **7** verhindern, sondern nur minimieren (s. Tab. 18). Die besten Ausbeuten werden bei 70-75 °C und einem $\text{Et}_3\text{SiH}:\text{BF}_3:\text{Et}_2\text{O}$ -Verhältnis von 1:3 erhalten (61 % 3 β -Boswelliasäure **1**).

Tab. 18: Ausbeuten bei der Reduktion von β -KBA **6** mit $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$. n. b.: nicht bestimmt.
*): Mittelwert aus zwei Ansätzen; Molverhältnis **1:16** aus erstem Ansatz bestimmt.

Ansatz	Äq. Et_3SiH Äq. $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ t = 0/gesamt	Reaktionsdauer Temperatur t = 0/gesamt	Ausbeute [%] β -BA 1 ; 3,24- β - Boswelliadiol 16
1	4,0 / 15,4 4,0 / 12	1 h RT ; 80-85 °C	47,8 ; n. b.
2 ; 3	20 40	1 h RT ; 80-85 °C	47,2* ; 32,9 Molverhältnis 1:16 : 1,7:1
4	40 20	1,25 h RT ; 80-85 °C	35,6 ; n. b.
5	20 40	7 h RT ; 70-75 °C	43,2 ; n. b.
6	40 20	9 h RT ; 70-75 °C	35,4 ; n. b.
7	20 60	3 h RT ; 70-75 °C	61,2 ; n. b.
8	60 20	11 h RT ; 70-75 °C	50,5 ; n. b.

Die selektive und effiziente Reduktion der 11-Keto-Funktion gelingt schließlich durch Umsetzung von β -KBA **6** mit Lithium und *tert.*-Butanol in HMPA.^[337] Die Reaktion liefert β -BA **1** in Ausbeuten von 85-90 % und lässt die Hydroxy-Gruppe an C-3 intakt. Die Verwendung von β -AKBA **7** als Edukt ist im Gegensatz zu den anderen Reduktionsmitteln nicht möglich, da hierbei die Acetoxygruppe abgespalten wird. Abb. 58 fasst die Ausbeuten bei der Oxidation und Reduktion der 11-Ketogruppe der β -Boswelliasäuren zusammen.

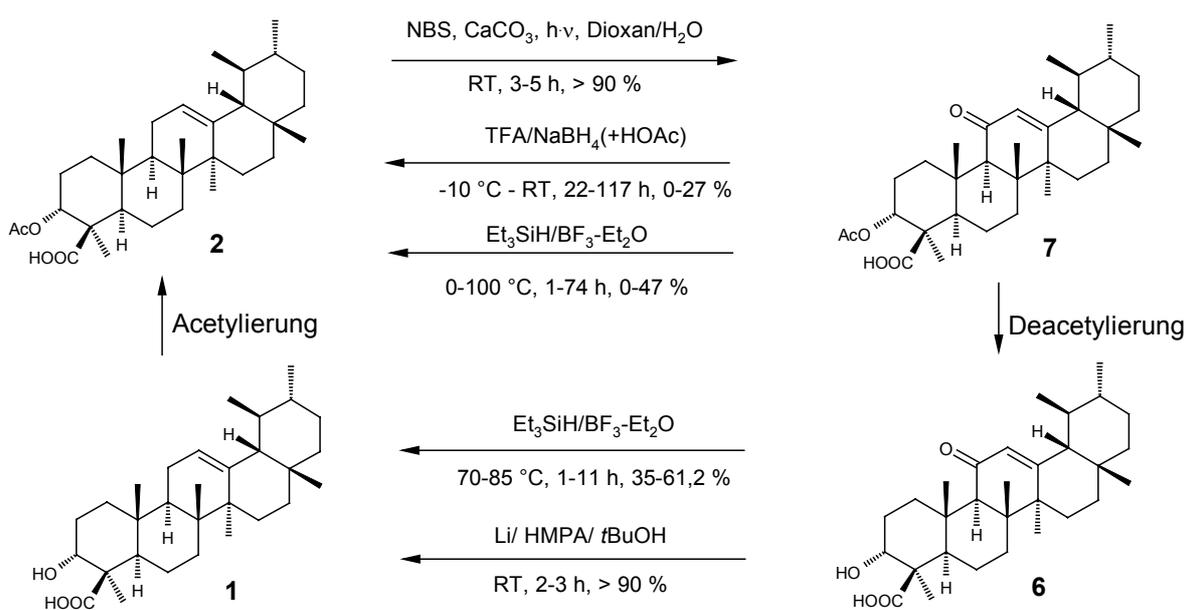


Abb. 58: Gegenseitige Umwandlung von β -Boswelliasäuren.

3.4.2 Partialsynthese einzelner Boswelliasäuren aus der gesamten Säurefraktion

Weihrauchextrakte stellen ein schwieriges Ausgangsmaterial für die Isolierung und Partialsynthese reiner Substanzen dar. Mehrere Dutzend Inhaltsstoffe sind als charakteristische oder uncharakteristische Bestandteile bekannt, und zu diesen gibt es nur wenige und teilweise widersprüchliche quantitative Angaben.^[98, 99] Die Gewinnung großer Mengen reiner Boswelliasäuren aus dem Harz oder Harzextrakt ist selbst mit großem Material- und Arbeitsaufwand schwierig, denn Boswelliasäuren kommen häufig nur in Spuren im Harz vor und die Trennung von anderen Weihrauchinhaltsstoffen oder Aufarbeitungsartefakten ist schwierig und mit Materialverlust verbunden (vgl. die in Kap. 1.1.2.1 erwähnte 3-Acetyl-9,11-dehydro- β -boswelliasäure **5**).

Die Übertragung der im vorangegangenen Kapitel genannten Reaktionen auf die gesamte Säurefraktion aus dem Weihrauchharz löst diese Probleme, denn sie führen zur Anreicherung einer einzigen Komponente, deren Aufreinigung erheblich leichter ist als die direkte Isolierung aus der gesamten Säurefraktion. Nebenreaktionen, die den Erfolg von (De-)Acetylierung, Oxidation oder Reduktion beeinträchtigen, werden nicht beobachtet.

β -AKBA **7** wird ausgehend von der Säurefraktion durch Acetylierung und anschließende Photooxidation der so entstandenen Säuremischung („acetylierte Säurefraktion“) gewonnen. β -BA **1** und β -KBA **6** werden durch die erste Reaktion zu β -ABA **2** und β -AKBA **7** umgesetzt; ebenso werden alle anderen acylierbaren Strukturelemente in das Acetylderivat umgewandelt. Die Abbildungen 59 und 60 zeigen die Auswirkung dieser Umsetzung anhand des HPLC-Chromatogrammes der Säurefraktion von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*): Viele Signale (darunter β -BA **1** und β -KBA **6**) verschwinden, während andere – darunter β -ABA **2** und β -AKBA **7** – nach der Acetylierung intensiver sind.

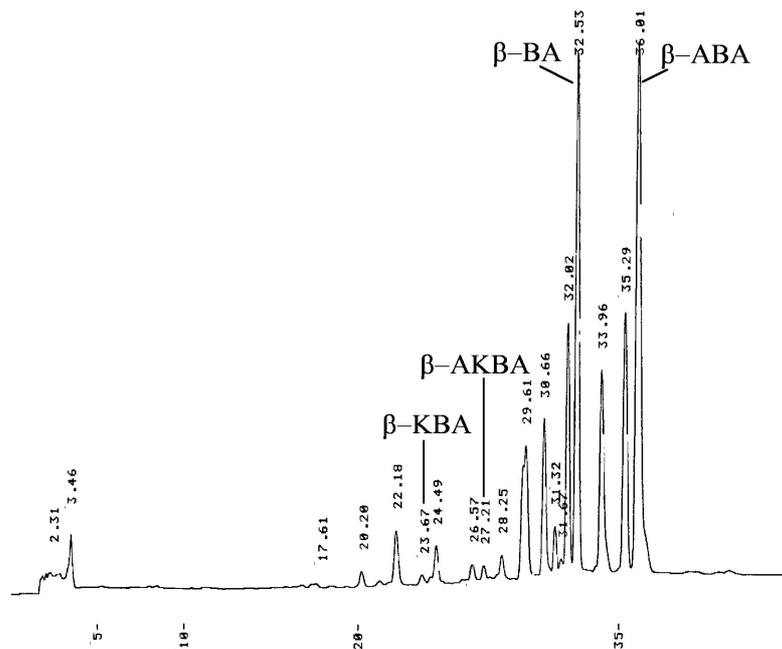


Abb. 59: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*). HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir 110 als stationäre Phase; Gradient 1, $\lambda = 210$ nm. Probenkonzentration: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ in Methanol.

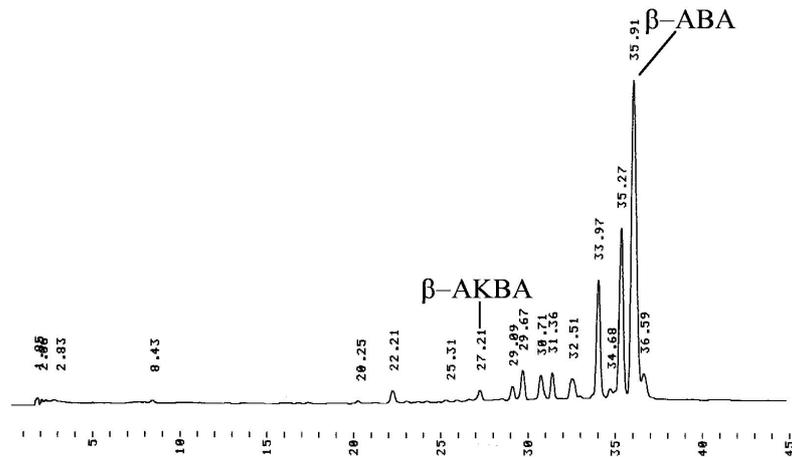


Abb. 60: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) nach Acetylierung. HPLC-System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir 110 als stationäre Phase; Gradient 1, $\lambda = 210$ nm. Probenkonzentration: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ in Methanol.

Die anschließende Photooxidation überführt β -ABA **2** in β -AKBA **7** und alle anderen Allyl-Methylengruppen in das entsprechende α,β -ungesättigte Keton. Nach den beiden Umsetzungen wird somit eine Mischung gewonnen, die hauptsächlich β -AKBA **7** enthält (Abb. 61). Das Verhältnis von β -AKBA **7** zu den anderen Säuren ist weitaus höher als das HPLC-Chromatogramm vermuten lässt, denn β -AKBA **7** absorbiert bei 210 nm nur sehr schwach. Diese Wellenlänge wurde dennoch gewählt, da beinahe alle übrigen Säuren bei 254 nm (dem Absorptionsmaximum von β -AKBA **7**) nicht absorbieren.

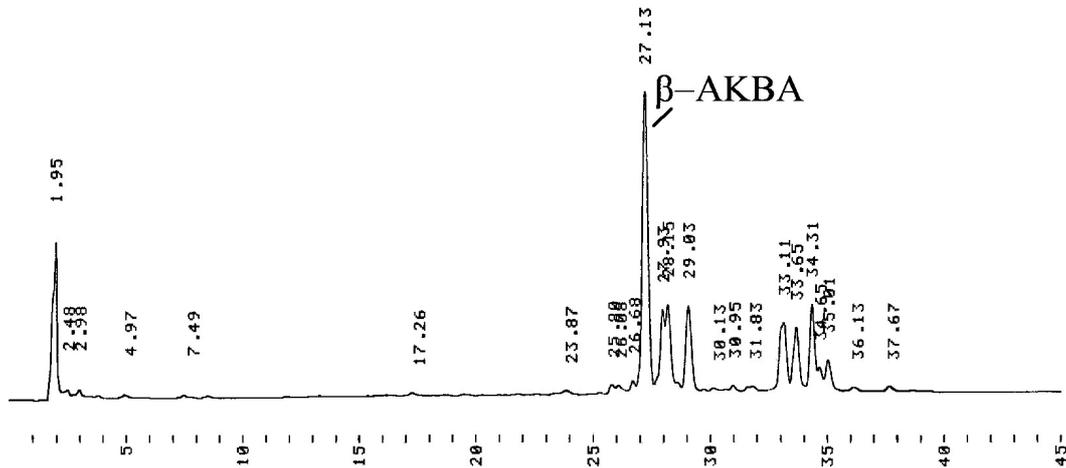


Abb. 61: HPLC-Chromatogramm der Säurefraktion aus *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) nach Acetylierung und Photooxidation. Bedingungen: System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir 110 als stationäre Phase; Gradient 1, $\lambda = 210$ nm. Probenkonzentration: $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$ in Methanol.

Die weitere Aufreinigung erfolgt durch zweimalige Flash-Chromatographie (zuerst an Kieselgel, dann an RP-Kieselgel) und Umkristallisieren der so vorgereinigten β -AKBA **7** aus Methanol.

Kurz gesagt: Eine Mischung aus den vier β -Boswelliasäuren und einer Vielzahl anderer Harzsäuren wird umgewandelt in eine einzige β -Boswelliasäure und weitere, teilweise derivatisierte Harzsäuren. Es wird also im Gegensatz zur kombinatorischen Chemie nicht aus einer geringen Anzahl von Ausgangsverbindungen eine Bibliothek von Stoffen synthetisiert; vielmehr entsteht aus einer Bibliothek strukturell ähnlicher Naturstoffe im Idealfall eine einzige Verbindung. Dieser Ansatz ist im Hinblick auf die Anreicherung einer einzigen Komponente am besten als „fokussierende Synthese“ zu bezeichnen und ist schematisch in Abb. 62 dargestellt.

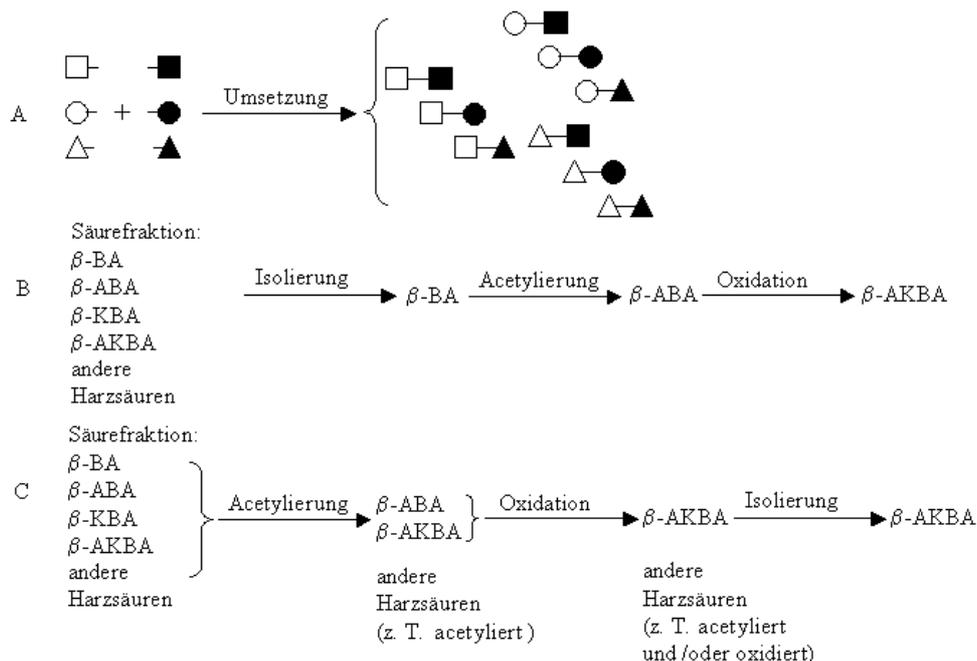


Abb. 62: Schematischer Vergleich verschiedener Syntheseansätze für Naturstoff(derivat)e
 A: kombinatorischer Ansatz; B: klassische Partialsynthese der β -AKBA 7 von β -BA 1 ausgehend;
 C: fokussierende Synthese der β -AKBA 7 von der Säurefraktion ausgehend.

Durch entsprechende Kombination von Acetylierung/Deacetylierung und Oxidation/Reduktion kann jede beliebige Boswelliasäure hergestellt werden. Aus je 25 g Säurefraktion von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) können durch Kombination von Acetylierung/Deacetylierung und Oxidation/Reduktion 7,8 g β -BA 1, 8,0 g β -KBA 6, 8,5 g β -ABA 2 oder 8,9 g β -AKBA 7 gewonnen werden. Durch Erweiterung des Reaktionsrepertoires, z. B. durch Variation des Oxidations- und Acylierungsmittels, sollten sich neben den vier β -Boswelliasäuren auch eine Vielzahl von nichtnatürlichen Boswelliasäuren synthetisieren lassen.

3.4.3 Effiziente Gewinnung und Aufreinigung einzelner Boswelliasäuren

Die Partialsynthese großer Mengen Boswelliasäuren kann zusätzlich zu den einzelnen Reaktionsschritten durch die Wahl der *Boswellia*-Spezies optimiert werden. Die Säurefraktion aus *B. sacra* hat sich als gutes Ausgangsmaterial für die Partialsynthese von β -AKBA 7 bewährt: Diese Säure wird nach den beiden Umsetzungsschritten (Acetylierung und Oxi-

dation) und zweimaliger Flash-Chromatographie in ca. 90-95 %iger Reinheit erhalten und lässt sich durch Umkristallisation aus Methanol leicht weiter aufreinigen. Im Gegensatz dazu liefern die Säurefraktionen von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) und *B. frereana* / *B. bhau-dajiana* (Probe 7, *Bf-b Cal*) nach Acetylierung und Oxidation gelbbraune zähe Produkte. Das Hauptprodukt β -AKBA **7** lässt sich mittels Flash-Chromatographie kaum von den Verunreinigungen abtrennen und fällt nach den beiden Chromatographie-Schritten nur langsam und unvollständig aus. Die Beimischung eines Fremdharzes (Probe 1, s. Kap. 3.2) oder einer anderen Weihrauch-Art kann möglicherweise die Menge und Reinheit der fokussierenden Synthese von Boswelliasäuren zusätzlich beeinflussen. Vorbehaltlich systematischer Untersuchungen zum Einfluss der *Boswellia*-Spezies auf die Ausbeute bei der fokussierenden Synthese von Boswelliasäuren ist die Verwendung der Säurefraktion von *B. sacra* als Ausgangsmaterial zu empfehlen.

Die weitere Aufreinigung der Boswelliasäure richtet sich nach dem Verwendungszweck des Endproduktes. Die Aufreinigung von Boswelliasäuren erfolgt in der Regel über Flash-Chromatographie an Kieselgel und RP-Kieselgel und soweit nötig durch Umkristallisation. Auf diese Weise werden β -AKBA **7** und β -KBA **6** in sehr großer Reinheit (>90 %) und β -BA **1** und β -ABA **2** in befriedigender Reinheit (>80 %) erhalten. Im HPLC-Chromatogramm wird die betreffende Boswelliasäure als dominierender Peak neben wenigen anderen Verbindungen beobachtet. Nach einmaligem Umkristallisieren von β -AKBA aus Methanol wird im HPLC-Chromatogramm nur noch der Peak von β -AKBA beobachtet; dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zufolge stellen Lösungsmittelreste, v. a. von Methanol, den Großteil der Verunreinigungen dar. Beim Auskristallisieren aus Methanol wird das Lösungsmittel in stöchiometrisch definiertem Verhältnis in das Kristallgitter eingeschlossen, wie es bereits aus den veröffentlichten Röntgenstrukturanalyse bekannt ist,^[48] und ist auch durch Trocknen bei erhöhter Temperatur bis 60 °C im Hochvakuum nicht aus der Verbindung zu entfernen. Abhilfe schafft das Lösen des β -AKBA-Methanol-Komplexes in Diethylether über MgSO_4 als Trockenmittel, das neben Wasserspuren auch Methanol adsorbiert. Auf diese Weise wird die hervorragende Aufreinigungswirkung der Fällung aus Methanol erhalten und das Methanol durch leicht entfernbaren Diethylether ersetzt. Die nach dieser Methode hergestellte β -AKBA **7** ist frei von anderen Boswelliasäuren und Methanol und weitestgehend frei von anderen Lösungsmitteln.

Bei der Partialsynthese von β -KBA **7** bietet sich diese Aufreinigung über die Umkristallisation nur bedingt an: Sowohl aus Methanol als auch aus anderen Lösungsmitteln (z. B. Diethylether) fällt β -KBA **6** zwar aus, aber nur unter großen Materialverlusten und mit einem geringen Aufreinigungseffekt.

Auch bei β -BA **1** und β -ABA **2** ist der Aufreinigungseffekt der Umkristallisation aus Methanol weniger ausgeprägt, da das jeweils begleitende α -Isomer mit in das Kristallgitter eingeschlossen wird. Ausgehend von β -ABA **2**, die durch Acetylierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz gewonnen wird, wird die Aufreinigungswirkung der Umkristallisation mittels HPLC verfolgt. Die Ergebnisse sind in Tab. 19 aufgeführt.

Tab. 19: Aufreinigungseffekt durch Umkristallisation aus Methanol bei β -ABA **2**. Chromatographische Bedingungen: System 3 („Beckman analytisch“), 1,2 ml x min⁻¹ 99:1 MeOH : 0,1 % TFA(*); 1,2 ml x min⁻¹ 95:5 MeOH : 0,1 % TFA (**); 1,5 ml x min⁻¹ 99:1 MeOH : 0,1 % TFA (***)

		Peakflächen α -ABA: β -ABA $\lambda = 210 \text{ nm}$	Peakflächen- verhältnis β/α	Anteil β -ABA [%]
Vor Umkristallisation	Charge 1	13 553 : 62 950 *	4,64	82,3 %
	Charge 2	11 589 : 65 923 **	5,69	85,1 %
1. Umkristallisation	Kristalle	9 344 : 90 164 ***	9,65	90,6 %
	Mutterlauge	15 399 : 59 833 ***	3,89	79,6 %
2. Umkristallisation	Kristalle	17 145 : 263 286 ***	15,4	93,9 %

Die beiden separat hergestellten Chargen β -ABA enthalten jeweils nur die zwei Verbindungen α -ABA **4** und β -ABA **2**. Die zweite Verbindung liegt dabei in 83-85 %iger Reinheit bezogen auf Gesamt-ABA vor, was einem Verhältnis $\beta:\alpha$ von 5:1 entspricht. Durch einmaliges langsames Umkristallisieren aus Methanol wird die Reinheit der vereinigten Chargen auf fast 91 % gesteigert, während α -ABA **4** bevorzugt in der Mutterlauge verbleibt. Weiteres Umkristallisieren steigert die Reinheit der β -ABA **2** nur wenig (auf ca. 94 %) und weiteres Umkristallisieren verändert diesen Wert nicht mehr wesentlich (Daten nicht gezeigt). Während die derart entstandene β -ABA **2** für viele Belange ausreichend rein ist, entfällt das Umkristallisieren aus Methanol als ökonomischer Weg zur Gewinnung hochreiner (>98 %) β -ABA **2**.

Neben der Wahl der optimalen *Boswellia*-Spezies und der Aufreinigung kann die fokussierende Synthese zusätzlich optimiert werden, indem wahlweise der Reduktions- oder Oxidationsschritt übersprungen werden. Wie das HPLC-Chromatogramm in Abb. 59 (S. 91) zeigt, stellen β -BA **1** und β -ABA **2** im Harz von *B. sacra* den weitaus größten Teil der β -Boswelliasäuren. Ist β -BA **1** oder β -ABA **2** das Ziel der Synthese, genügt die Acetylierung bzw. Deacetylierung der Säuremischung, gefolgt von den üblichen Aufreinigungsschritten. Dadurch wird im Falle der Acetylierung β -BA **1** in β -ABA **2** und β -KBA **6** in β -AKBA **7** umgewandelt. Durch Auslassen des Reduktionsschrittes wird auf den geringen Teil der Ausbeute aus der Reduktion von β -AKBA **7** verzichtet; im Gegenzug wird jedoch Zeit und Material für den Reduktionsschritt gespart. Für diejenigen Fälle, in denen am Weihrauchharz als Ausgangsmaterial kein Mangel besteht, ist der Verzicht auf den Reduktions- oder Oxidationsschritt bei der fokussierenden Synthese von β -BA **1**/ β -ABA **2** ein guter Kompromiss zwischen Ausbeute und Arbeitsaufwand. Allerdings müssen die α - und β -Isomere weiterhin mittels präparativer HPLC voneinander getrennt werden.

Solange keine Möglichkeit zur effizienten und zeitsparenden Trennung von α - und β -(A)BA vorhanden ist, gelten die folgenden Strategien für die Partialsynthese von β -Boswelliasäuren in großem Maßstab:

Zur Darstellung der vier β -Boswelliasäuren in technischer Reinheit (80-90 %) genügen die oben dargestellten Methoden der „fokussierenden Synthese“, d. h. der Kombination aus Deacetylierung/Acetylierung und Reduktion/Oxidation. Auf den zweiten Schritt kann u. U. verzichtet werden, β -AKBA **7** wird durch eine anschließende Umkristallisation sogar in weitaus höherer Reinheit gewonnen.

Die Darstellung hochreiner (>98 %) β -BA **1** hingegen bedarf weiterhin eines Umweges: Entweder sie geht von der betreffenden β -Boswelliasäure technischer Qualität aus und wird durch Aufreinigung über präparative HPLC abgeschlossen. Oder sie geht von der β -AKBA **7** aus, die effizient sehr hoher Reinheit hergestellt und durch die bekannten Umsetzungen in die anderen drei β -Boswelliasäuren umgewandelt werden kann. Eine Aufreinigung durch präparative HPLC kann dabei oft entfallen.

Die einfachste Möglichkeit zur Reinheitskontrolle der so erhaltenen Boswelliasäuren bieten die Messung von Schmelzpunkt, Drehwert und Dünnschicht-Chromatographie. Als geeignetste Methode hat sich die Kombination aus analytischer HPLC und NMR-Spektroskopie herausgestellt. Während mit der HPLC unerwünschte andere Boswelliasäuren erfasst werden, erlaubt die NMR-Spektroskopie eine verlässliche Identifizierung von Lösungsmittelrückständen. Beide analytischen Methoden erlauben auch die Quantifizierung der genannten Verunreinigungen.

Wie ein Vergleich mit literaturbekannten Methoden zur Gewinnung von Boswelliasäuren zeigt (siehe auch Kap. 1.5), ist die fokussierende Synthese von Boswelliasäuren dem üblichen Weg, also der direkten Isolierung der Säuren aus dem Weihrauchextrakt, überlegen. Mit üblicher Laborausstattung können Boswelliasäuren in größerer Menge und Reinheit gewonnen werden, als dies mit den klassischen Methoden in derselben Zeit möglich ist. Allerdings konkurriert die fokussierende Synthese mit anderen Methoden zur Anreicherung von Boswelliasäuren.

In der Literatur werden, abgesehen von der „einfachen“ Aufreinigung (Isolierung ohne vorherige chemische Umwandlung), bereits eine Reihe von Aufkonzentrierungsmaßnahmen beschrieben. Schon Winterstein und Stein^[34] trennten die in Diethylether schwerlöslichen Bariumsalze der Boswelliasäuren selektiv von nichtsauren Komponenten und anschließend die Boswelliasäuren von anderen Harzsäuren durch die Synthese des gemischten Anhydrids mit Essigsäure. Durch die Umsetzung mit Acetanhydrid wurde Boswelliasäure zur Acetylboswelliasäure umgesetzt, sodass die über 70 Jahre alte Methode als erste "fokussierende Synthese" einer Boswelliasäure bezeichnen werden kann. Die Ausbeute an „Boswellinsäure“ (Mischung beider ABA-Isomere) betrug bei diesem Verfahren jedoch nur 5 % auf das Harz bezogen.

Beton und Mitarbeiter^[38] variierten die Methode von Winterstein und Stein leicht, erhielten aber Material in nur unwesentlich höherer Menge und Reinheit. Sie geben als erste eine schlüssige Erklärung für das Phänomen der unterschiedlichen Drehwerte bei β -AKBA **7** (siehe Kap. 1.1.2.1) und identifizierten die 3-Acetyl-9,11-dehydro- β -Boswelliasäure **5** als

Ursache. Obwohl von den gleichen Autoren auch ein Weg zur Minimierung dieses Aufbereitungsartefaktes beschrieben wird, bleibt das Problem der Dien-Bildung prinzipiell bestehen. Durch den raschen Fortschritt der chromatographischen Trennmethode in den 1970er Jahren wurde lange Zeit kein neuer Ansatz mehr zur Anreicherung der Boswelliasäuren vor abschließender Aufreinigung vorgestellt, sondern die geringe Ausbeute durch hohen Materialeinsatz und extensive Chromatographie ausgeglichen. Schweizer gibt für die von ihm entwickelte Fällungsmethode mit Magnesiumhydroxid Konzentrationsfaktoren gegenüber dem Harz von 5-5,5 an.^[245, 246] Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass bereits die Soxhlet-Extraktion und die Trennung der Säure- von den Neutralkomponenten je nach *Boswellia*-Art eine Aufkonzentrierung um jeweils das Doppelte gegenüber dem Harz bewirken; man vergleiche hierzu die Anteile an Extrakt und Säuren bei den verschiedenen Harzen in Abb. 9 auf S. 36. Der entscheidende Schritt, nämlich die selektive Trennung der Magnesiumboswellate von den anderen Säuren, ist daher weit geringer zu veranschlagen und geht wahrscheinlich mit einem Verlust an nicht ausgefällten Harzsäuren einher.

Im Gegensatz zu diesen Ansätzen weist der hier vorgestellte fokussierende Ansatz drei entscheidende Vorteile auf:

- Die Umsetzungen verlaufen mit hoher Effizienz und Selektivität. Im Gegensatz zum unvermeidlichen Verlusten bei der Verwendung von Fällungsreagenzien wie Barium oder Magnesium werden alle umsetzbaren Säuren umgewandelt, wie dies die HPLC-Chromatogramme in den Abbildungen 59-61 zeigen.
- Die Isolierung und Aufreinigung einer Substanz, die zu ca. 30 % in einer Reaktionsmischung vorkommt, ist weitaus einfacher als beim Weihrauchextrakt oder der unveränderten Säurefraktion.
- Durch die milden Reaktionsbedingungen entstehen keine Artefakte, insbesondere keine 3-Acetyl-9,11-dehydro- β -boswelliasäure **5**.

3.5 NMR-Spektroskopie von Boswelliasäuren und deren Derivaten

3.5.1 Strukturaufklärung der Boswelliasäuren am Beispiel von β -ABA **2**

Vor Beginn der vorliegenden Arbeit waren zu natürlichen Boswelliasäuren nur die charakteristischen ^1H - und ^{13}C -NMR-Verschiebungen an H-3 und H-12 bzw. C-12, C-13 und C-24 bekannt. Vom nicht-natürlich vorkommenden 3-Oxo- β -boswelliasäuremethylester **57** hingegen lag ein kompletter NMR-Datensatz vor.^[338] In der Zwischenzeit erschienen zwei Arbeiten mit kompletten Datensätzen für jeweils ausgewählte natürliche Boswelliasäuren,^[50, 51] die mit den eigenen Daten teilweise im Widerspruch stehen. Vor einer genaueren Diskussion der widersprüchlichen Daten soll daher die Strukturaufklärung der Boswelliasäuren anhand der 3-O-Acetyl- β -boswelliasäure **2** (Abb. 63) erläutert und die NMR-Spektren verschiedener natürlicher und nicht-natürlicher Boswelliasäurederivate diskutiert werden.

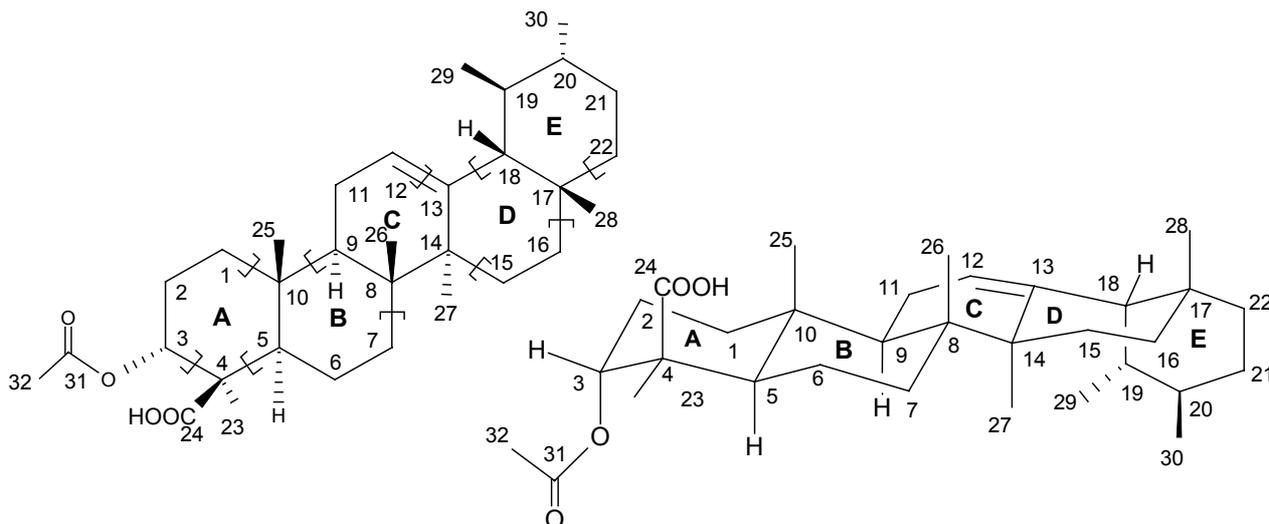


Abb. 63: β -ABA **2** mit Teilspinsystemen und in perspektivischer Darstellung.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von 3-O-Acetyl- β -boswelliasäure **2** in Abb. 64 zeigt 32 Signale, davon wie erwartet jeweils 8 von Methylgruppen und von quartären C-Atomen, 7 von Methin- und 9 von Methylengruppen (durch DEPT90- und DEPT135-Spektren ermittelt).

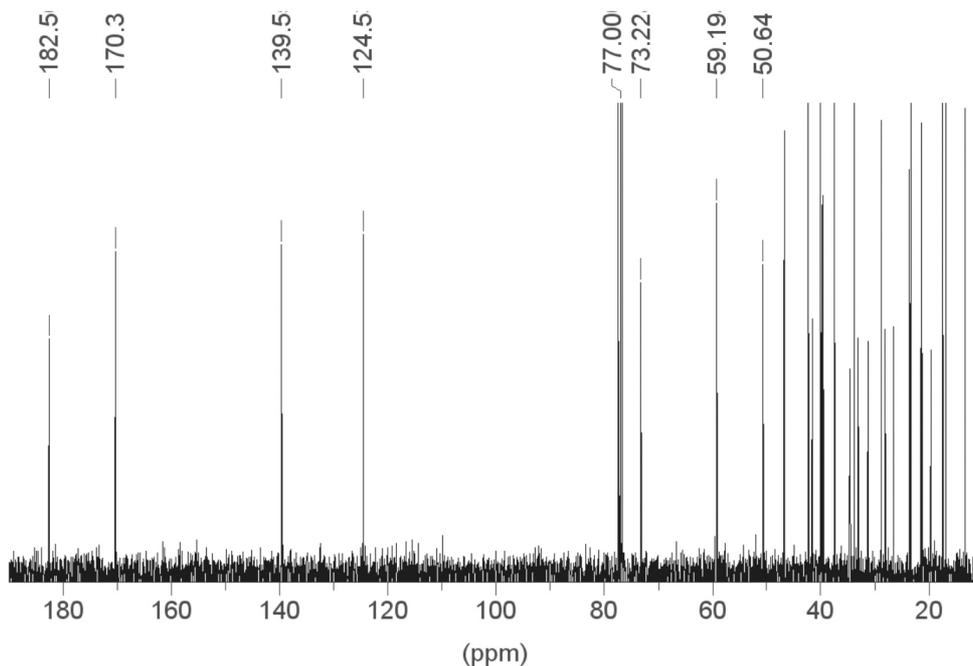


Abb. 64: ^{13}C -NMR-Spektrum (90,55 MHz) von β -ABA **2** (Übersicht).

Nur sieben der insgesamt 32 Signale werden im Bereich von ca. 180-50 ppm gemessen. Die übrigen Signale verteilen sich auf den Alkylbereich (50-10 ppm), der in Abb. 65 vergrößert dargestellt ist. Besonders zu erwähnen sind die beiden gerade noch aufgelösten Methinsignale bei 39.77 und 39.62 ppm.

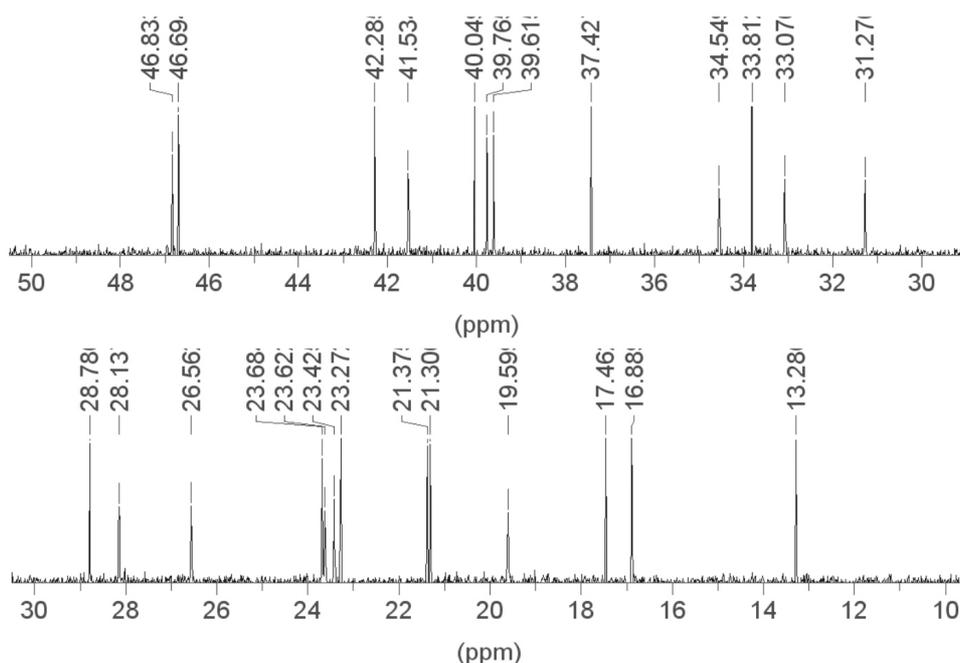


Abb. 65: ^{13}C -NMR-Spektrum (90,55 MHz) von β -ABA **2** (Alkylbereich).

Durch charakteristische Verschiebungen und Vergleich mit β -BA **1** und β -AKBA **7** können die folgenden C-Signale zugeordnet werden: 182.56 ppm (C-24, -COOH), 170.3 ppm (C-31, $>\text{C}=\text{O}$ (Acetyl)), 139.6 ppm (C-13, $\text{H}>\text{C}=\underline{\text{C}}<$), 124.53 ppm (C-12, $\text{H}>\underline{\text{C}}=\text{C}<$) und 73.23 ppm (C-3, $\text{HO}>\text{CH}<$).

Das in Abb. 66 gezeigte ^1H -NMR-Spektrum von β -ABA **2** ist weitaus unübersichtlicher: Von den insgesamt 50 Protonen sind nur die Methinprotonen an C-3 und C-12 eindeutig identifizierbar, und zwar jene bei 5.30 ppm (Triplet mit $J = 2.8$ Hz) und 5.14 ppm (Triplet mit $J = 3.5$ Hz).

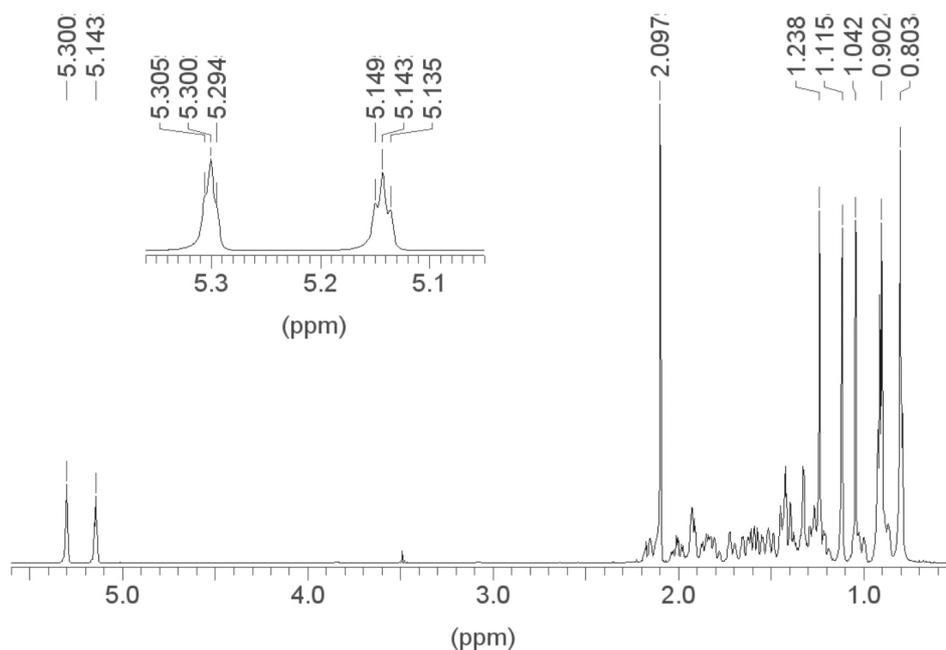


Abb. 66: ^1H -NMR-Spektrum (500,13 MHz) von β -ABA **2** (Übersicht).

Die Protonen der Acetylgruppe an C-32 zeigen wie üblich ein intensives Singulett bei 2.10 ppm; von den verbleibenden 7 Methylsignalen fallen jeweils zwei Gruppen bei ca. 0.90 ppm und 0.80 ppm zusammen. Der betreffende Bereich ist in Abb. 67 vergrößert dargestellt.

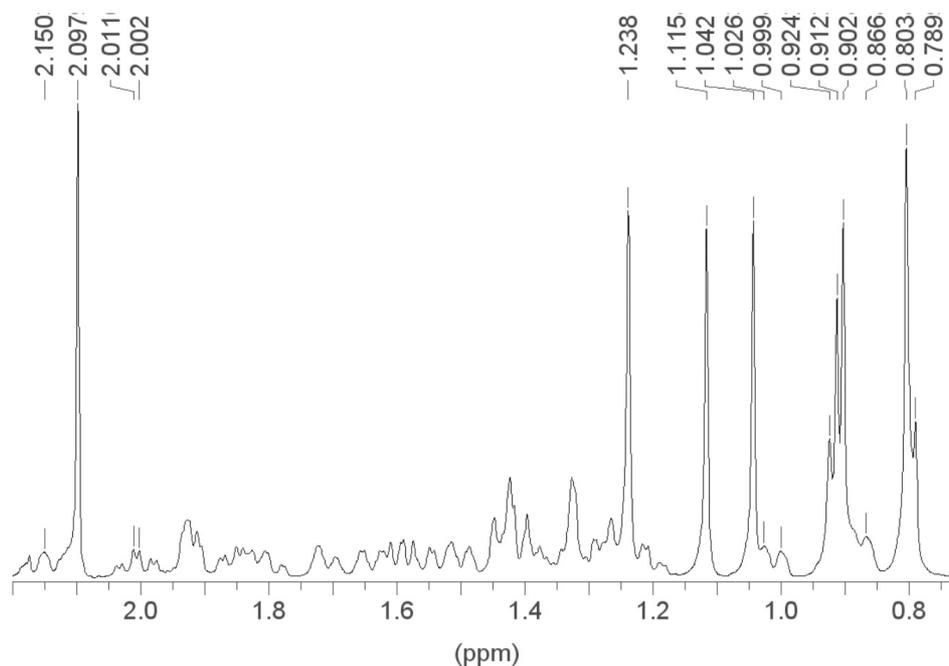


Abb. 67: ¹H-NMR-Spektrum (500,13 MHz) von β-ABA 2 (Alkylbereich).

Als Ausgangspunkt für die Strukturaufklärung dient das ¹³C-Signal der Carboxylgruppe bei 182.6 ppm. Im HMBC werden zwei Kreuzsignale beobachtet: Die H-Signale bei 1.24 ppm (und per HMQC das dazugehörige C-Signal bei 23.68 ppm) gehören zur Methylgruppe an C-4 (C/H-23); zur Methylgruppe an C-10 (C/H-25) wird keine Kopplung beobachtet. Das zweite HMBC-Kreuzsignal vom Säure-C-Atom (zu 1.45 ppm) lässt die eindeutige Zuordnung zu H-5 zu (und damit 50.6 ppm = C-5), da das andere Methinproton (H-3) aufgrund der OH-Gruppe deutlich weiter tieffeldverschoben ist. Die Zuordnung der quartären C-Atome erfolgt über HMBC-Kopplungen zu H-23 (1.24 ppm → 46.69 ppm, C-4) und H-5 (1.45 ppm koppelt mit C-4 und 37.43 = C-10) und die Zuordnung der Methylengruppen C/H-1 und C/H-2 vorwiegend über H,H-COSY: H-3 (5.28 ppm) koppelt mit 1.64 ppm und 2.14 ppm (H-2α+β, durch HMQC: C-2 = 23.62 ppm) und letzteres koppelt mit 1.22 ppm (und schwach mit einem Proton bei 1.51 ppm), die zur Methylengruppe C/H-1 gehören (durch HMQC: C-1 = 34.55). Das Spinsystem H-5–H-6α/β–H-7α/β wird analog aufgeklärt: Von 1.45 ppm (H-5) wird im H,H-COSY ein Kreuzsignal zu 1.71 ppm beobachtet (→H-6α/β); durch HMQC wird das dazugehörige C-Atom (19.61 ppm) und das zweite H-Atom (1.81 ppm) bestimmt. Die Signale der Methylengruppe C/H-7 (33.08 ppm; 1.58 ppm + 1.40 ppm) können über das HMQC-COSY-Kreuzsignal zu C-6 eindeutig identifiziert werden; die starke Überlappung mehrere Signale im Bereich von 1.80 ppm und 1.40 ppm lässt keine genauen Interpretation im H,H-COSY-Spektrum zu. Die Signale der Methylgruppe C/H-25 werden schließlich durch ein

HMBC-Kreuzsignal zu C-10 als 13.29/0.90 ppm bestimmt. Diese Zuordnungen werden durch andere Kreuzsignale in den HMQC-COSY- und HMBC-Spektren bestätigt.

Die Zuordnungen in Ring C und D gehen vom Spinsystem 5.15 ppm(H-12)–1.93 ppm–1.58 ppm aus, das im H,H-COSY beobachtet wird: Das Signal bei 1.93 ppm gehört zur Methylengruppe C/H-11 (durch HMQC-Kreuzsignal: 2. H-Signal bei 1.90 ppm und C-11 bei 23.43 ppm) und das Signal bei 1.58 ppm gehört zum Methinproton an C-9 (durch HMQC: 46.83 ppm = C-9). Letzteres koppelt im HMBC mit zwei Methyl-C-Atomen, wobei das eine (13.29 ppm = C-25) bereits zugeordnet ist und es sich bei dem anderen somit um C-26 handeln muss (16.89 ppm, durch HMQC: H-26 = 1.05 ppm). Von den intensiven Methyl-H-Signalen ausgehend wird per HMBC das quartäre C-Atom C-8 bei 40.05 ppm identifiziert. Von C-13 aus wird die Methylengruppe C/H-27 (23.27 ppm / 1.12 ppm) zugeordnet und von deren Methyl-H-Atomen aus das quartäre C-Atom C-14 (42.29 ppm). Das quartäre C-Atom C-13 (139.6 ppm) zeigt im HMBC weiterhin zwei schwache Kreuzsignale mit den bekannten Methylen-H-Atomen an C-11 und ein weiteres Methylen-H-Signal (1.90 ppm), das zu C-15 gehört (26.56 ppm); das HMBC-Kreuzsignal zwischen C-13 und dem zweite Proton an C-15 ist aufgrund des intensiven Kreuzsignals C-13↔H-27 nicht als solches erkennbar. Das Ringsystem C-D wird vervollständigt durch die Methingruppe C/H-18 (HMBC-Kreuzsignal von H-12 zu 59.19 ppm; durch HMQC: H-18 = 1.33 ppm), die Methylengruppe C/H-16 (durch HMQC-COSY-Kreuzsignale C-15↔H-16 α/β), die Methylgruppe C/H-28 (28.77 ppm / 0.80 ppm durch HMBC-Kreuzsignal zu C-18) und von letzterer ausgehend das quartäre C-Atom C-17 (33.81 ppm). Die Abbildung 68 zeigt diejenigen H,H-COSY-, HMBC- und HMQC-COSY-Kopplungen, die für die Strukturaufklärung der Ringe A, B und C von β -ABA **2** relevant sind.

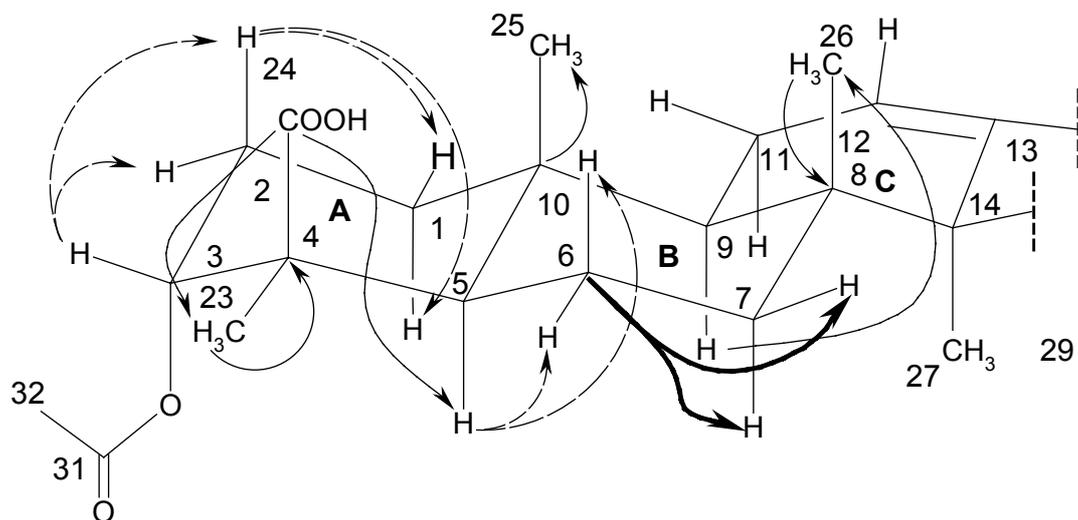


Abb. 68: Für die Strukturaufklärung relevante Kopplungen bei β -ABA **2** (Ringe A, B, C). Gestrichelte Linien: H,H-COSY; durchgezogene Linien: HMBC; dicke Linien: HMQC-COSY. Die Pfeile deuten jeweils von bereits zugeordneten zu bis dahin noch nicht zugeordneten Atomen; weitere Erläuterungen siehe Text.

Ring E wird vom quartären C-Atom C-17 aus aufgeklärt: Das HMBC-Spektrum zeigt u. a. ein Kreuzsignal zu Methyl-Protonen bei 0.77 ppm, die damit zur Methylgruppe C/H-29

gehören (durch HMQC: C-29 = 17.46 ppm); eine Bestätigung im H,H-COSY ist aufgrund der gleichen Verschiebung von H-18 und H-19 nicht möglich. Von den Methylprotonen an C-29 ausgehend wird im HMBC aufgrund der beinahe gleichen chemischen Verschiebung für die verbleibenden beiden Methin-C-Atome nur ein einziges Kreuzsignal gemessen, die dazugehörigen Protonen werden bei 1.32 ppm und 0.91 ppm gemessen. Das C-Atom C-18 zeigt im HMQC-COSY-Spektrum kein Kreuzsignal mit einem Proton bei 0.91 ppm, also muss es sich bei diesem Proton um H-20 und bei dem bei 1.30 ppm um H-19 handeln. Das HMQC-Spektrum ermöglicht dann die eindeutige Zuordnung von C-19 = 39.77 ppm und C-20 = 39.62 ppm; die Methylgruppe C/H-30 wird ausgehend vom intensiven Methylsignal an H-29 aus zugeordnet (H-29 ↔ 21.38 ppm, durch HMQC: H-30 = 0.91 ppm). Die Methylenprotonen an C-22 werden durch HMBC-Kreuzsignale mit C-18 zugeordnet (durch HMQC: C-22 = 41.53 ppm) und diejenigen an C-21 durch H,H-COSY-Kopplungen mit H-20 (durch HMQC: C-21 = 31.27 ppm). Abb. 69 zeigt diejenigen H,H-COSY-, HMBC- und HMQC-COSY-Kopplungen, die für die Strukturaufklärung der Ringe C, D und E relevant sind.

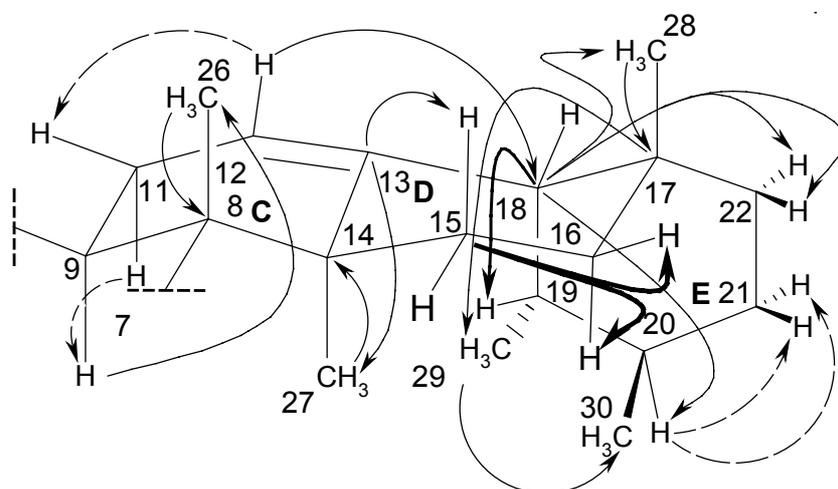


Abb. 69: Für die Strukturaufklärung relevante Kopplungen bei β -ABA **2** (Ringe C, D, E). Gestrichelte Linien: H,H-COSY; durchgezogene Linien: HMBC; dicke Linien: HMQC-COSY. Die Pfeile deuten jeweils von bereits zugeordneten zu bis dahin noch nicht zugeordneten Atomen; weitere Erläuterungen siehe Text.

Die räumliche Orientierung der Methylenprotonen wird ausgehend von Ring A durch NOESY-Spektren bestimmt. Die Zuordnung von 1.22 ppm als H-1 α (axial; Kopplung zu H-9) ist ebenso eindeutig wie die von 2.14 ppm zu H-2 β (axial; Kopplung zu H-25); die Kopplung zwischen H-3 und H-23 bestätigt die äquatoriale Position dieses Protons (in diesem Fall β). Die beiden Methylengruppen C/H-6 und C/H-7 werden durch Kopplung mit H-26 (\rightarrow 1.81 ppm, axial, H-6 β) bzw. H-5 (\rightarrow 1.58 ppm, axial, H-7 α) bestimmt. H-15 β (axial) gehört sicher zum Signal bei 1.90 ppm (Kopplung mit H-28) und H-16 ist durch eindeutige Kopplungen zuzuordnen (2.00 ppm = H-16 α (axial); Kopplung mit H-19 und H-27). Während die Zuordnung von H-22 α zu 1.43 ppm noch mit einiger Sicherheit vorgenommen werden kann, ist die Orientierung von H-22 β (1.39 ppm) mit Unsicherheit behaftet. Über die wichtigsten NOESY-Kopplungen informieren die Abbildungen 70 und 71.

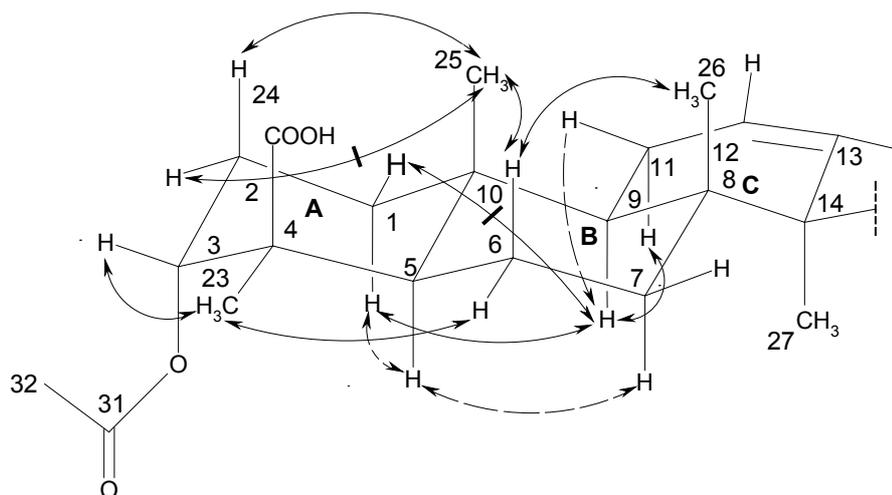


Abb. 70: Für die Strukturaufklärung relevante NOESY-Kopplungen bei β -ABA **2** (Ringe A, B, C). Gestrichelte Linien geben Kopplungen an, die aufgrund anderer Kopplungen nicht eindeutig sind, Pfeile nicht beobachteter Kopplungen sind durchgestrichen. Weitere Erläuterungen siehe Text.

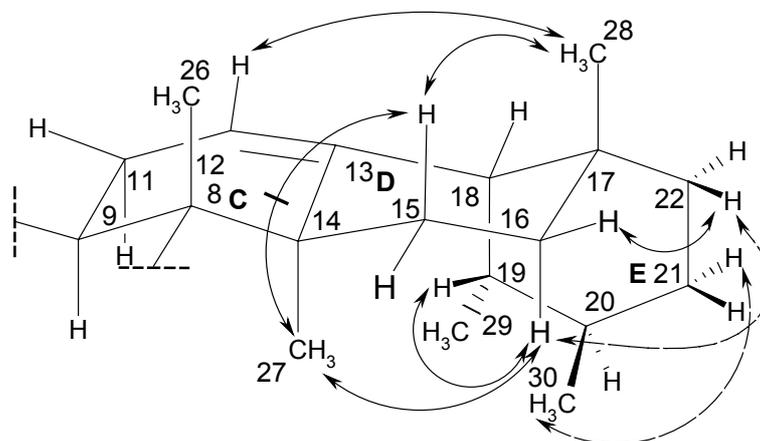


Abb. 71: Für die Strukturaufklärung relevante NOESY-Kopplungen bei β -ABA **2** (Ringe C, D, E). Gestrichelte Linien geben Kopplungen an, die aufgrund anderer Kopplungen nicht eindeutig sind, Pfeile nicht beobachteter Kopplungen sind durchgestrichen. Weitere Erläuterungen siehe Text.

Insgesamt ist die Aufklärung in Ring E durch die Überlappung zahlreicher Signale deutlich schwieriger als die der übrigen Ringe. Auch die Zuordnung der räumlichen Anordnung von Methylenprotonen krankt oft an mangelnden Bestätigungsmöglichkeiten. Durch den Vergleich mit anderen Boswelliasäuren, bei denen die betreffenden Signale im ^1H -NMR-Spektrum verschoben sind, lassen sich zusätzliche Indizien für eine Zuordnung ableiten. Bei $\text{H-21}\alpha/\beta$ und $\text{H-22}\alpha/\beta$ kann jedoch auch damit die räumliche Anordnung nicht sicher festgestellt werden; sie muss zukünftigen NMR-Messungen mit verbesserten Messbedingungen vorbehalten bleiben.

3.5.2 Vergleichende NMR-Spektroskopie von natürlichen und nicht-natürlichen Boswelliasäuren

Die vergleichende NMR-Spektroskopie von Boswelliasäuren und deren Derivaten ist nicht nur für die Identifizierung dieser Substanzen unerlässlich, sondern ermöglicht oft auch eine

Qualitätskontrolle und Quantifizierung (siehe Kap. 3.4.3). Alle in ausreichend reinem Zustand gewonnenen Boswelliasäuren und deren Derivate wurden daher mit ein- und zweidimensionalen NMR-Techniken untersucht.^[339]

Tab. 20 zeigt die NMR-Verschiebungen der vier wichtigsten β -Boswelliasäuren, und in Tab. 21 sind die NMR-Verschiebungen der beiden Boswelliasäure-Derivate 3,24- β -Boswelliadiol **16** und Ethoxy- β -BA **56** sowie von α -BA **3** und α -ABA **4** aufgelistet.

Tab. 20: ^1H - und ^{13}C -NMR-Verschiebungen der vier wichtigsten β -Boswelliasäuren. *: Zuordnung α/β konnte nicht mit Sicherheit vorgenommen werden, s. Text.

Atom	β -ABA 2			β -AKBA 7			β -BA 1			β -KBA 6		
	C	H		C	H		C	H		C	H	
		α	β		α	β		α	β		α	β
1	34.55	1.22	1.51	34.60	1.21	2.56	33.76	1.32	1.50	33.90	1.32	2.51
2	23.62	1.64	2.14	23.51	1.61	2.24	26.13	1.59	2.23	26.28	1.54	2.30
3	73.23	—	5.28	73.06	—	5.32	70.68	—	4.08	70.48	—	4.07
4	46.69	—	—	46.52	—	—	47.30	—	—	47.31	—	—
5	50.64	1.45	—	50.45	1.41	—	49.02	1.49	—	48.87	1.41	—
6	19.60	1.71	1.81	18.74	1.74	1.88	19.61	1.70	1.83	18.87	1.74	1.88
7	33.08	1.58	1.40	32.85	1.68	1.48	33.03	1.55	1.40	32.94	1.68	1.48
8	40.05	—	—	45.06	5.56	—	39.94	—	—	45.12	—	—
9	46.83	1.58	—	60.33	2.42	—	46.73	1.61	—	60.45	2.42	—
10	37.43	—	—	37.39	—	—	37.46	—	—	37.55	—	—
11	23.43	1.90	1.93	199.23	—	—	23.35	1.90	1.94	199.40	—	—
12	124.50	5.15	—	130.49	5.56	—	124.40	5.14	—	130.55	5.54	—
13	139.60	—	—	164.91	—	—	139.50	—	—	164.90	—	—
14	42.29	—	—	43.77	—	—	42.21	—	—	43.84	—	—
15	26.56	1.04	1.90	27.25	1.20	1.90	26.39	1.01	1.84	27.22	1.22	1.87
16	28.14	2.00	0.87	27.54	2.10	1.02	28.02	2.01	0.87	27.56	2.07	1.00
17	33.81	—	—	33.95	—	—	33.76	—	—	33.98	—	—
18	59.19	—	1.33	59.05	—	1.56	59.04	—	1.33	59.08	—	1.52
19	39.77	1.32	—	39.32	1.41	—	39.62	1.35	—	39.31	1.38	—
20	39.62	—	0.91	39.27	—	0.95	39.53	—	0.92	39.31	—	0.93
21*	31.27	1.26	1.39	30.91	1.32	1.48	32.21	1.27	1.41	30.94	1.32	1.44
22*	41.53	1.43	1.27	40.91	1.48	1.32	41.46	1.41	1.27	40.94	1.47	1.35
23	23.68	1.24	—	23.81	1.24	—	24.16	1.35	—	24.32	1.34	—
24	182.54	—	—	181.96	—	—	183.40	—	—	182.70	—	—
25	13.29	0.90	—	13.17	1.15	—	13.24	0.91	—	13.22	1.12	—
26	16.89	1.05	—	18.39	1.20	—	16.84	1.05	—	18.41	1.17	—
27	23.27	1.12	—	20.55	1.35	—	23.18	1.10	—	20.55	1.30	—
28	28.77	0.80	—	28.84	0.83	—	28.77	0.81	—	28.86	0.81	—
29	17.46	0.77	—	17.29	0.81	—	17.44	0.79	—	17.42	0.78	—
30	21.38	0.91	—	21.10	0.95	—	21.39	0.92	—	20.94	0.93	—
31	170.30	—	—	170.16	—	—	—	—	—	—	—	—
32	21.31	2.09	—	21.26	2.09	—	—	—	—	—	—	—

Die Unterschiede zwischen den Verbindungen (z. B. α/β -Reihe, Acetylgruppe oder freie OH-Gruppe an C-3, Keto- oder Methylengruppe an C-11) sind in der Regel eindeutig: Die

Deacetylierung der 3-OH-Gruppe führt bei β -AKBA, β -ABA und α -ABA zur Hochfeld-Verschiebung des Methin-Protons an C-3 (von ~ 5.30 ppm zu ~ 4.10 ppm); die übrigen Protonen am Ring A werden praktisch nicht beeinflusst. Die ^{13}C -NMR-Verschiebungen werden um ca. 0.5-3 ppm verändert. Die Einführung der Keto-Gruppe an C-11 führt zu einer starken Tieffeld-Verschiebung der benachbarten Signale, v. a. H-9 und H-11 und den dazugehörigen C-Atomen.

Tab. 21: ^1H - und ^{13}C -NMR-Verschiebungen von α -ABA **4**, α -BA **3**, 3,24- β -Boswelliadiol **16** und dem nicht-natürlichen Derivat 3 α -Ethoxy- β -BA **56**. *: Zuordnung α/β konnte nicht mit Sicherheit vorgenommen werden, s. Text. **: Zur Bezeichnung „ α “/“ β “ siehe Diskussion im Anschluss an die Tabelle.

Atom	α -ABA 4			α -BA 3			3-Ethoxy- β -BA 56			3,24- β -Diol 16		
	C	H		C	H		C	H		C	H	
		α	β		α	β		α	β		α	β
1	34.32	1.18	1.47	33.66	1.29	1.56	34.33	1.28	1.39	33.49	0.87	1.40
2	23.59	1.63	2.13	26.22	1.60	2.17	21.98	1.70	1.94	25.23	1.61	1.87
3	73.25	—	5.30	70.79	—	4.08	77.82	—	3.55	70.68	—	3.87
4	46.70	—		47.45	—	---	47.84	—		42.69	—	
5	50.64	1.44	—	49.16	1.49	—	49.77	1.49	—	49.53	1.34	—
6	19.64	1.72	1.82	19.75	1.73	1.90	19.69	1.69	1.81	18.55	1.34	1.51
7	32.79	1.40	1.50	32.82	1.36	1.51	33.08	1.54	1.36	33.11	1.56	1.34
8	39.85	—		39.87	---		40.08	—		40.08	—	
9	46.82	1.64	—	46.82	1.64	—	46.69	1.59	—	47.63	1.64	—
10	37.48	—		37.48	---		37.47	—		36.69	—	
11	23.59	1.87	1.90	23.57	1.88	1.90	23.46	1.95	1.92	23.38	1.93	1.90
12	121.1	5.20		121.8	5.20		124.7	5.13		124.3	5.12	
13	145.1	—		145.2	—		139.5	—		139.5	—	
14	41.96	—		42.95	—		42.33	—		42.07	—	
15	26.13	1.00	1.78	26.08	1.00	1.80	26.57	1.00	1.90	26.51	0.98	1.81
16	27.03	0.82	1.97	27.00	0.82	1.97	28.18	2.00	0.86	28.04	1.99	0.86
17	32.55	—		32.54	---		33.82	—		33.71	—	
18	47.38	—	1.94	47.36	—	1.95	59.46	—	1.32	59.00	—	1.30
19	46.90	1.04	1.69	46.82	1.03	1.67	39.75	1.32	—	39.63	1.30	—
20	31.09	—		31.08	---		39.65	—	0.92	39.56	—	0.91
21*	34.77	1.10	1.32	34.76	1.09	1.20	31.30	1.39	1.27	31.21	1.38	1.25
22*	37.15	1.24	1.43	37.16	1.24	1.40	41.58	1.41	1.29	41.48	1.40	1.26
23	23.68	1.24		24.14	1.35		23.98	1.31		21.65	1.09	
24	182.2	—		183.1	—		184.0	—		66.58	„ α “3.53 „ β “: 3.73**	
25	13.11	0.90		13.10	0.89		13.50	0.89		16.11	0.93	
26	16.79	1.01		16.78	1.00		16.91	1.03		16.70	0.98	
27	25.94	1.19		25.95	1.15		23.34	1.10		23.32	1.08	
28	28.44	0.84		28.43	0.84		28.81	0.80		28.73	0.79	
29	33.32	0.87		33.32	0.87		17.47	0.79		17.43	0.78	
30	23.68	0.87		23.68	0.87		21.38	0.91		21.39	0.91	
31	170.3	—		—	—		64.68	3.34 + 3.60		—	—	
32	21.28	2.09		—	—		15.55	1.17		—	—	

Ein unerwartetes Phänomen wird beim 3,24- β -Boswelliadiol **16** beobachtet: Die beiden Protonen der Hydroxymethylgruppe (H-24: 3.73 ppm und 3.53 ppm) sind nicht äquivalent, sondern sind dem NOESY-Spektrum (Abb. 72) zufolge räumlich gerichtet: Das Proton bei 3.73 ppm zeigt Kreuzpeaks mit den Methylprotonen bei 0.93 ppm (H-25) und schwächer mit H-2 β bei 1.87 ppm (H-2 β). Das Proton bei 3.53 ppm koppelt nicht mit H-2 β , dafür aber mit H-25 (0.93 ppm) und außerdem mit den Protonen bei 1.10 ppm (H-23), 1.34 ppm (H-6 α) und schwach mit 1.51 ppm (H-6 β). Das Proton bei 3.73 ppm teilt den Winkel C-3–C-4–C-5 und zeigt in perspektivischer Darstellung vom Betrachter weg. Es kann als H-24, β bezeichnet werden, wenn man sich diese Methylengruppe zu einem geschlossenen Ring gehörig vorstellt. Das andere Proton (H-24, α) zeigt zum Betrachter hin und teilt den Winkel C-5–C-4–C-23.

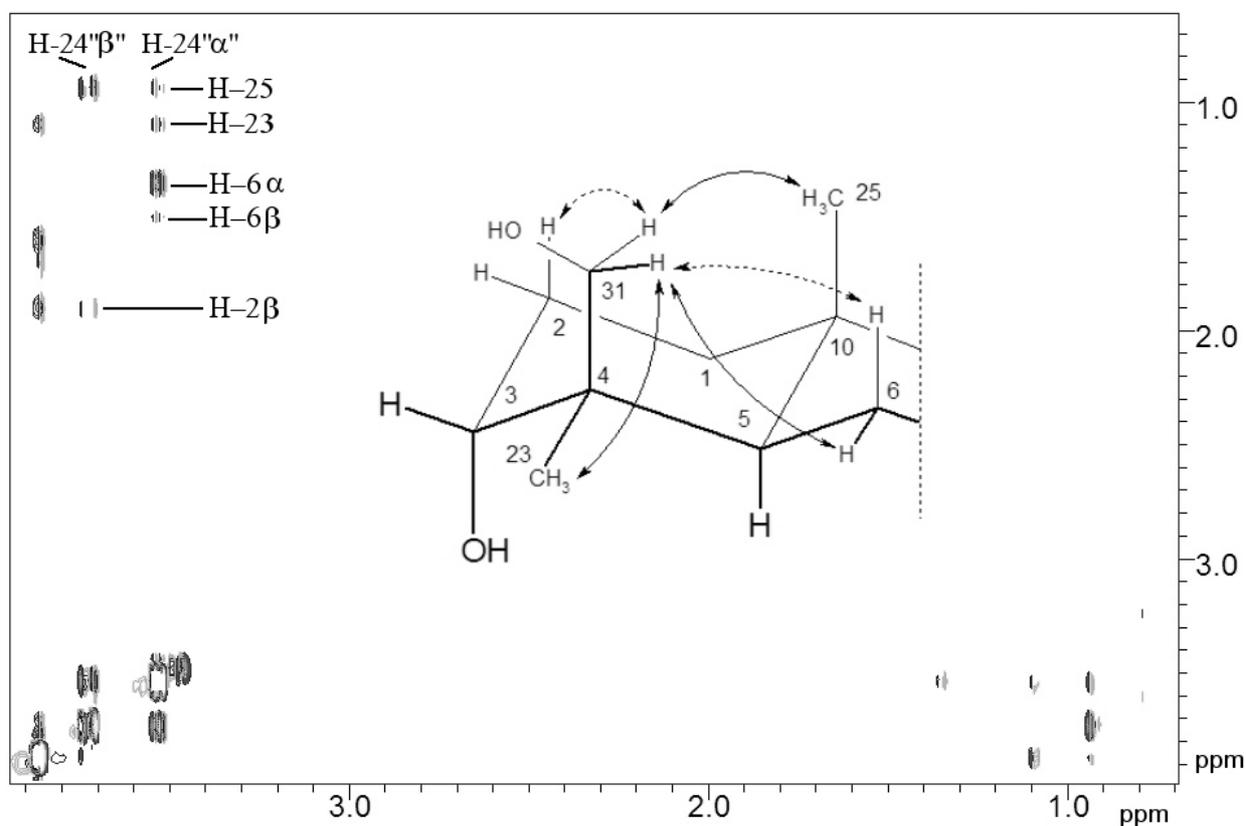


Abb. 72: NOESY-Spektrum (Ausschnitt) des Ringes A von 3,24- β -Boswelliadiol **16**. Schwache Kopplungen sind gestrichelt gezeichnet. Eingezeichnet sind nur Atome, die für die Bestimmung der räumlichen Anordnung der beiden Protonen an C-24 relevant sind; Signale von 1.0-2.0 ppm wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit gelöscht.

Eine Berechnung des 3,24- β -Boswelliadiols **16** mit dem Programm *HyperChem* bestätigt diese Anordnung als die energetisch günstigste, s. Abb. 73.^[340]

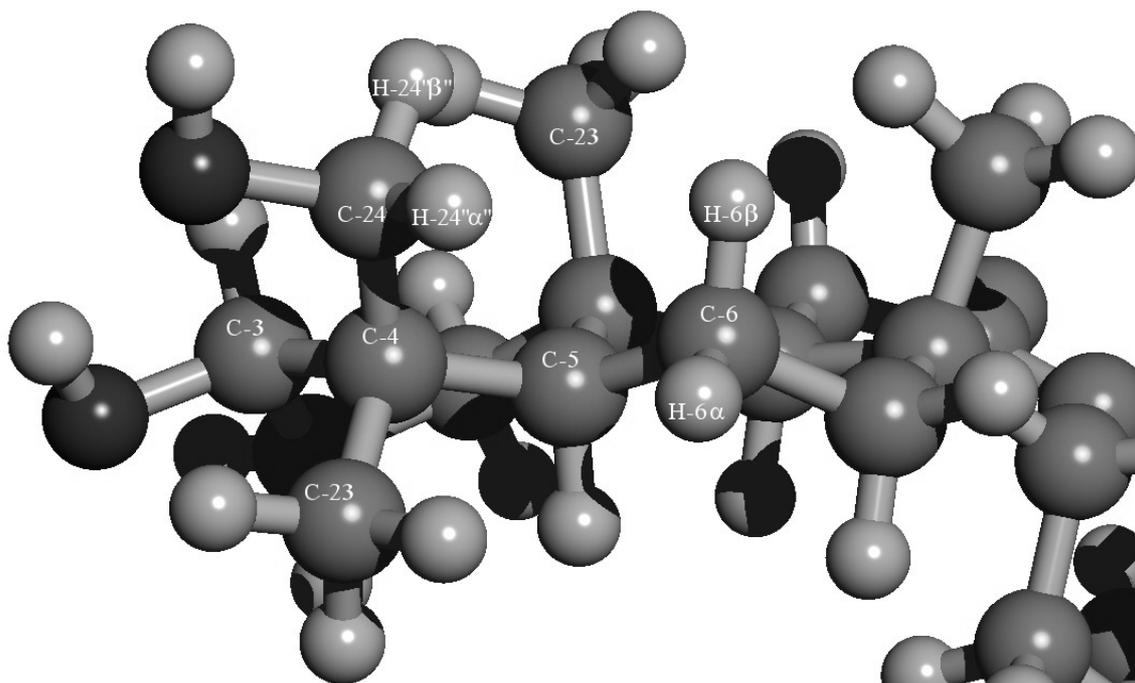


Abb. 73 Energetisch günstigste Anordnung der Ringe A+B von 3,24- β -Boswelliadiol **16** (Berechnung mit *HyperChem*).

3.5.3 Diskrepanzen zwischen eigenen Messungen und Literaturwerten

Im Laufe der Auswertung der NMR-spektroskopischen Daten der Boswelliasäuren erschienen zwei Arbeiten mit NMR-Verschiebungen zu β -BA **1** und α -BA **3**^[50] bzw. β -ABA **2** und β -AKBA **7**,^[51] deren Zuordnungen an einzelnen Stellen mit den unter Punkt 3.5.1 genannten abweichen, siehe auch die Tabellen 28 und 29 in Anhang C (ab S. 181).

Die Zuordnung der ¹³C-NMR-Signale ist in allen zitierten Arbeiten übereinstimmend bis auf die Signale von C-19 und C-20, für die Belsner *et al.*^[51] 39.63 ppm bzw. 39.78 ppm angeben. Im Gegensatz zu den anderen Autoren ordnen sie C-20 (und nicht C-19) dem tieffeldverschobenen Signal zu. Aufgrund der eindeutigen Zuordnung in vier β -Boswelliasäuren und zwei Derivaten (s. Kap. 3.5.1) besteht kein Anlass zu einer Revidierung der Zuordnung dieser Signale.

Bei allen Verbindungen mit Methylengruppe an C-11 (α/β -BA **3/1**, α -/ β -ABA **4/2**, 3-EtO- β -BA **56** und 3,24-Boswelliadiol **16**) werden für diese beiden Protonen Verschiebungen von 1.90 ± 0.05 ppm gemessen. Culioli *et al.*^[50] geben für diese Protonen Verschiebungen von 1.18 ppm und 1.92 ppm (bei β -BA **1**) an, Belsner *et al.*^[51] hingegen für beide Protonen 1.69 ppm^[341] (bei β -ABA **2**). Die Zuordnung ist mittels H,H-COSY und HMQC-COSY auch in denjenigen Fällen möglich, in denen im HMQC die Überlappung von Signalen entlang der ¹³C-Dimension keine eindeutige Zuordnung zulässt: Das H,H-COSY von β -ABA **2** (Abb. 74) zeigt ausgehend vom Proton H-12 nur ein einziges breites Kreuzsignal bei 1.85-1.98 ppm.

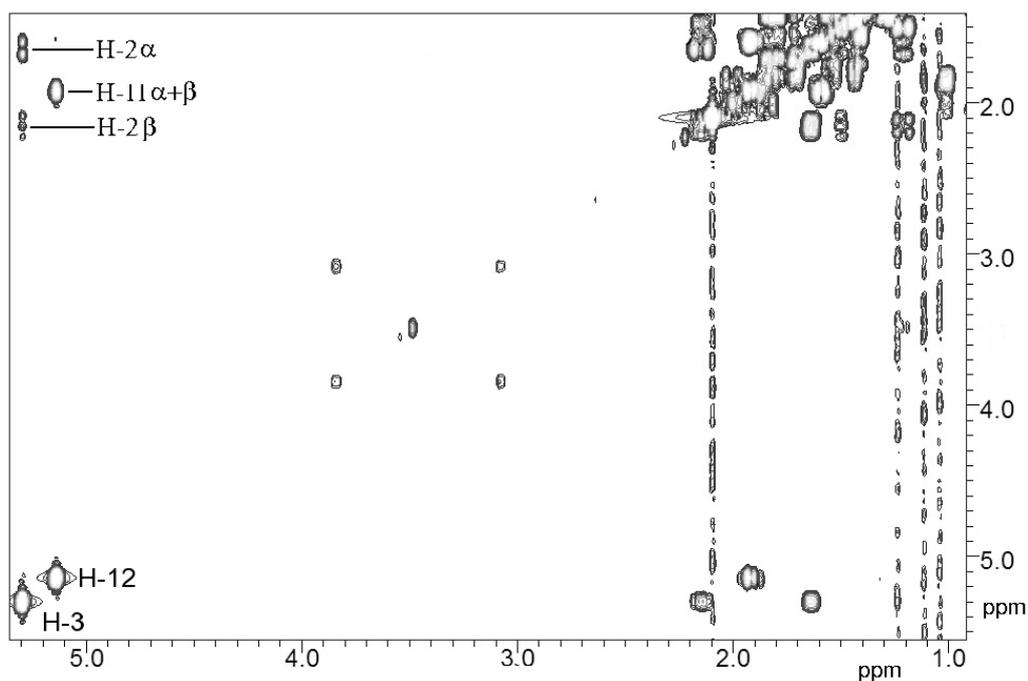


Abb. 74: H,H-COSY-Spektrum (Ausschnitt) von β -ABA **2** zur Zuordnung der ^1H -NMR-Signale an C-11. Die Schnittebene wurde hierbei (und bei den übrigen Abbildungen in diesem Kapitel) zur Veranschaulichung deutlicher abgesenkt, als es allein zur Zuordnung von H-11 notwendig gewesen wäre.

Auch im HMQC-COSY werden ausgehend von den Nachbar-C-Atomen C-9 und C-12 eindeutige Kreuzsignale zu 1.85-1.98 ppm gemessen (s. Abbildungen 75 und 76), wodurch die Verschiebung für beide Methylenprotonen an C-11 einwandfrei bestimmt wäre; die Verhältnisse bei β -BA **1** sind dieselben.

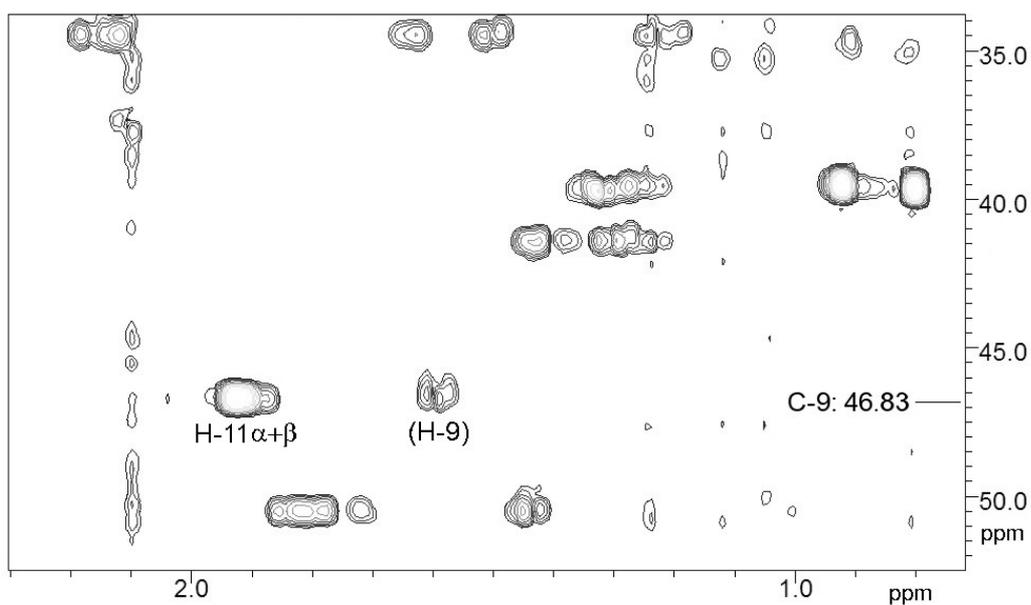


Abb. 75: HMQC-COSY-Spektrum (Ausschnitt) von β -ABA **2** zur Zuordnung der ^1H -NMR-Signale an C-11.

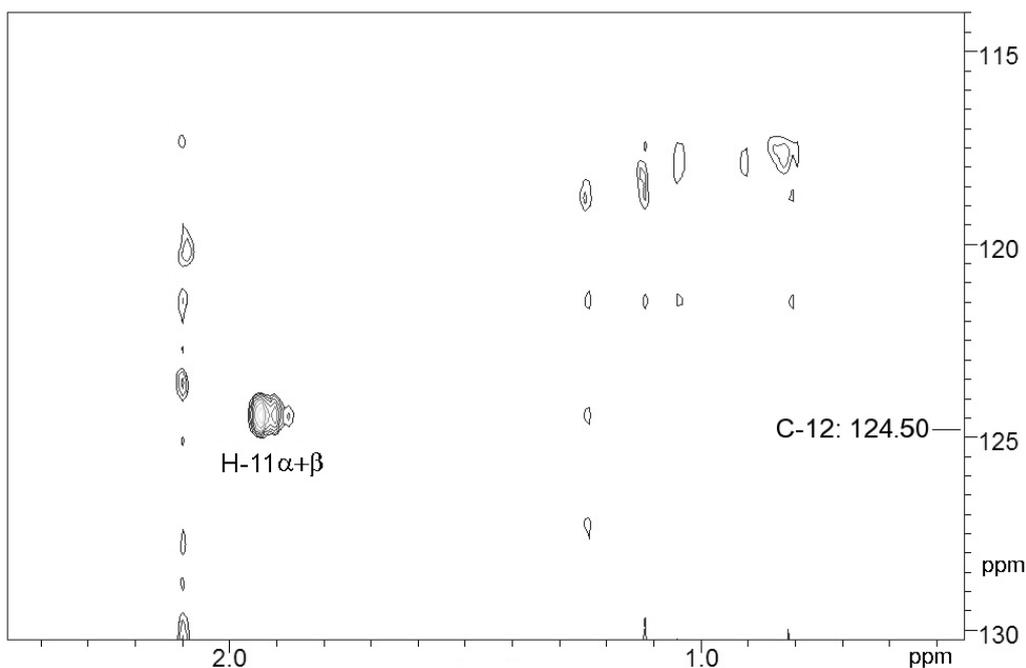


Abb. 76: HMQC-COSY-Spektrum (Ausschnitt) von β -ABA **2** zur Zuordnung der ^1H -NMR-Signale an C-11.

Die zweite Diskrepanz besteht beim Methinproton an C-19, dessen chemische Verschiebung Belsner *et al.*^[51] bei β -ABA **2** mit 1.87 ppm angeben. Das HMQC erlaubt hier bei den eigenen Spektren, die Lage von H-20 bzw. H-19 eindeutig den Signalen bei 0.91 ppm bzw. 1.32 ppm zuzuordnen:

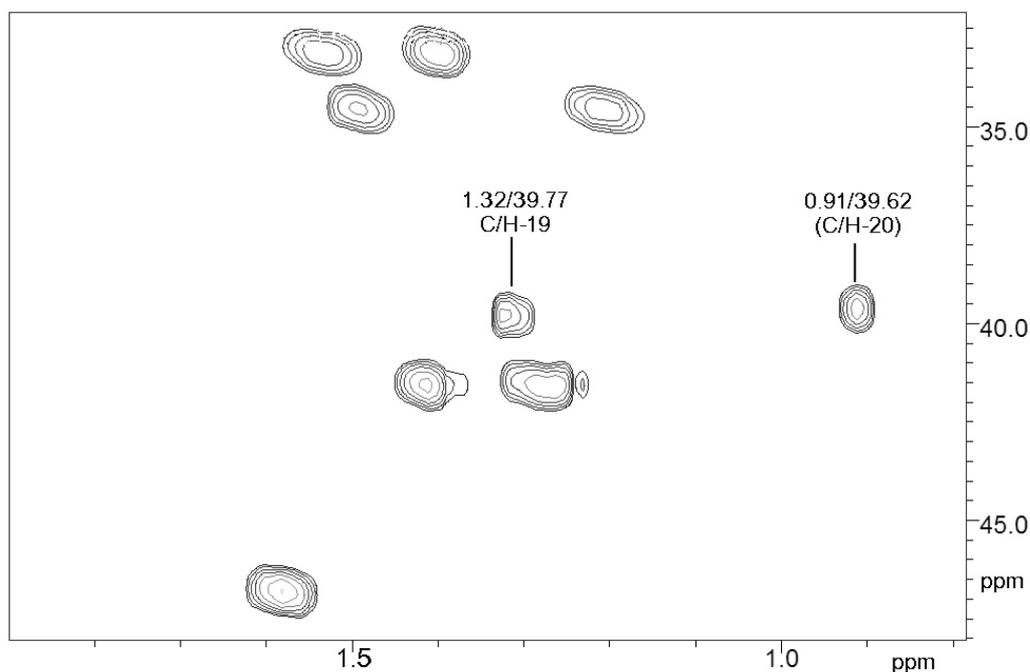


Abb. 77: HMQC (Ausschnitt) von β -ABA **2** zur Zuordnung von H-19. Beschriftet sind die Kreuzpeaks C/H-19 und C/H-20; zur Zuordnung von C-19 und C-20 siehe Kap. 3.5.1 (S. 97).

Die übrigen Diskrepanzen beziehen sich ausschließlich auf Angaben zur Orientierung von α - und β -H-Atomen an Methylengruppen: Belsner *et al.*^[51] geben für die Orientierung der H-Atome an C-2 andere Werte an, als bei den eigenen Auswertungen ermittelt wurde. Das NOESY-Spektrum von β -ABA **2** zeigt aber eindeutig ein Kreuzsignal von 0.90 ppm (H-25) zu 2.14 ppm, womit dieses H-Atom axial steht und damit H-2 β sein muss. Auch die Zuordnung von H-15 α/β ist durch eindeutige Kreuzsignale im NOESY-Spektrum in Übereinstimmung mit den anderen Autoren gesichert, steht aber im Widerspruch zu den Angaben von Belsner *et al.*^[51]. Bei der Angabe „ α -ständig“ für H-18 und H-20^[51] schließlich kann es sich nur um eine Verwechslung von α und β handeln: Die Kopplungen im zitierten Artikel und die Röntgenstruktur,^[49] auf deren Übereinstimmung mit den NMR-Daten die Autoren verweisen, zeigen beide Atome als eindeutig β -ständig. Auch die Röntgenstruktur von β -AKBA **7** zeigt diese beiden H-Atome als β -ständig.^[48]

Die Zuordnungen von Loganathan *et al.*^[338] stimmen mit den eigenen Angaben zu β -BA **1** überall dort überein, wo aufgrund der räumlichen Entfernung der unterschiedlichen funktionellen Gruppen an C-3 keine Effekte mehr zu erwarten sind, d. h. in den Ringen B (bis auf C-5), C, D, und E. Allein die räumliche Anordnung von H-22 α und H-22 β geben diese Autoren entgegengesetzt (und damit im Widerspruch zu Belsner *et al.*) an – ein Umstand, der wie bereits oben erwähnt derzeit nicht abschließend geklärt werden kann.

4 Experimenteller Teil

4.1 Allgemeine Angaben

Harze und daraus hergestellte Zubereitungen (d. h. Harze, Harzmischungen, Extrakte, Rohsäuremischungen, Handelsproben von Harzen, Medikamenten und anderen Zubereitungen) wurden bei Raumtemperatur in dunklen, luftdichten Gefäßen gelagert.

Harze wurden zum Zerkleinern vor der Extraktion bei Bedarf gekühlt (-20 °C) und ansonsten bei RT mit Mörser und Pistill oder einem handelsüblichen Küchenmixer zerkleinert.

„Rohextrakte“ sind – soweit nicht anders vermerkt – die etherischen Extrakte von Harzproben, die durch erschöpfende Soxhlet-Extraktion und anschließendes Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer gewonnen wurden (Vorschrift unter den Punkten 4.5.1.1 und 4.5.1.2).

Mit „Rohsäuremischung“ oder „Säurefraktion“ ist – soweit nicht anders vermerkt – die Harzsäuremischung gemeint, die durch Verteilen des Rohextraktes zwischen Diethylether und wässriger Kali- oder Natronlauge gewonnen wurde (Vorschrift unter Punkt 4.5.1.6). Die „acetylierte Säurefraktion“ bzw. „deacetylierte Säurefraktion“ wird durch Acetylierung mit Acetanhydrid und 4-DMAP als Katalysator in DCM bzw. durch alkalische Verseifung mit KOH in *iso*-Propanol gewonnen (Vorschriften unter den Punkten 4.5.4.3 und 4.5.4.5). Die Angaben bei den Laufmitteln beziehen sich auf die Volumenverhältnisse (v/v).

Die Entwicklung von Dünnschicht-Chromatogrammen erfolgte bei Kammersättigung in einem 400 ml-Glas. Die Verbindungen wurden mit UV-Licht (254 nm) detektiert und anschließend mit Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagens angefärbt. Dazu werden die DC-Platten mit Essigsäure:Schwefelsäure:Anisaldehyd (100:2:1 v/v/v) besprüht und anschließend mit dem Heißluftfön bis zur deutlichen Färbung der Flecken erhitzt. Die Dünnschicht-Chromatogramme wurden digital abfotografiert (Canon Powershot A 40). Die Aufnahmen wurden mit einem Grafikprogramm (Ulead Photo Image 8) ausgewertet und nachgezeichnet.

Zur Flash-Chromatographie wurden – sofern nicht anders erwähnt – die folgenden Volumina Kieselgel bzw. RP-Kieselgel als stationäre Phase eingesetzt: Glassäule mit 1,5 cm Innendurchmesser: 30 ml; 2,5 cm: 100 ml; 5 cm: 350 ml; 7,5 cm: 700 ml; 10 cm: 1.400 ml.

Pflanzen sind nach dem „Zander“^[342] mit lateinischen Namen bezeichnet; bei dort nicht verzeichneten Namen wurde nach dem Konsens der neueren Literatur (siehe Kap. 1.1.2) oder einschlägigen Datenbanken benannt.^[10, 11, 27, 343]

Für die Berechnung der Moleküldynamik mit dem Programm HyperChem^[344] wurde zunächst eine Molekülmechanik-Optimierung nach Polak-Ribière im Vakuum vorgenommen und anschließend die Moleküldynamikberechnung durchgeführt mit folgenden Parametern: Aufheiz-, Halte- und Abkühlzeiten jeweils 100 ps in 0,001 ps-Schritten; Temperatur zwischen 0 und 300 K in 1 K-Schritten im Vakuum; gleichbleibende Badtemperatur.

4.2 Chemikalien

Harzproben: Siehe Übersicht in Tab. 9 (S. 28) und ausführliche Beschreibung im Anhang A (S. 160)

Kolophonium: „Colophonium hell (Geigenharz, Balsamharz)“, Eggebrecht (Süde-
rau), Art.-Nr. 10-080

THF und Dioxan wurden vor Verwendung auf Peroxidfreiheit getestet (Merckoquant
10 011 Peroxid-Test) und ggf. über basisches Al_2O_3 filtriert.

Pyridin und HMPA wurden – soweit als „absolut“ angegeben – durch Kochen über
 CaH_2 über Nacht getrocknet, destilliert und bis zur Verwendung über
Molekularsieb (4 Å) gelagert.

Deuteriochloroform (CDCl_3) für die NMR-Spektroskopie: Deutero GmbH, Kastellaun

Methanol und Acetonitril für die HPLC (LiChrosolv): Merck AG, Darmstadt

Abietinsäure techn. (85 %): Acros Organics, Geel (Belgien)

Riboflavin: SERVA, Heidelberg

Celite 545: Merck VWR

Trimethylsulfoniumiodid (TMSI), 98 %: Acros Organics, Geel (Belgien)

Alle anderen Chemikalien stammen aus den Beständen der Materialverwaltung der
TU München. Alle Lösungsmittel wurden – soweit nicht anders vermerkt – destilliert
eingesetzt; mit „Wasser“ ist immer demineralisiertes Wasser gemeint.

0,2 M Trimethylsulfoniumhydroxid-Lösung (TMSH) wurde nach leicht veränderter
Vorschrift von Schulte und Weber^[345] hergestellt: Etwa 10 g trockner Amberlite
IRA-900 (Lagerform = Cl-Form) werden in Wasser angeschlämmt und in eine
20 x 2 cm-Glassäule mit Glasfritte und Hahn gefüllt. Der Ionenaustauscher wird mit
80 ml 1 N Natronlauge konditioniert, mit Wasser neutral gewaschen (ca. 150 ml) und
mit ca. 150 ml warmem Methanol gespült. 2,05 g Trimethylsulfoniumiodid (TMSI,
10,0 mmol) werden unter Erwärmen auf max. 50 °C in ca. 30 ml MeOH gelöst, in
5-10 ml-Portionen auf den Ionenaustauscher gegeben und mit 2 x 5 ml warmem Me-
thanol nachgespült. Der Ionenaustauscher wird mit ca. 5 ml Methanol nachgewaschen
und das Eluat im Messzylinder auf 50 ml aufgefüllt. Auf diese Weise werden 50 ml
einer 0,2 M TMSH-Lösung in Methanol erhalten; sie wird bei 4 °C (Kühlschrank)
aufbewahrt.

4.3 Material

Amberlite IRA-900 (Cl-Form, stark): Fluka, Steinheim

Kieselgel: Kieselgel 60 (40-63 µm): Merck AG, Darmstadt

RP-Kieselgel: Verwendet wurde RP-18-Kieselgel, das in leichter Abwandlung der
Vorschriften von *Kühler und Lindsten*^[346, 347] hergestellt wurde:

Kieselgel wird mit Dichlormethan bis zur Bildung einer leicht gießfähigen
Suspension versetzt (Verhältnis ca. 1:10 m/v); Octadecyltrichlorsilan (ODTS,
 $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{SiCl}_3$; Verhältnis ODTS: SiO_2 ca. 1:10 m/m) wird hinzugegeben und 2 h
unter gelegentlichem Schwenken stehen gelassen; es wird zweimal mit Dich-

lormethan und einmal mit Methanol gewaschen und abfiltriert. Dann wird mit Trimethylsilylchlorid (TMSCl, C_3H_9SiCl) im Verhältnis TMSCl:SiO₂ 1:10 (m/m) behandelt, erneut mit Dichlormethan gewaschen und übernacht bei 40 °C getrocknet.

4.4 Geräte

Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

System 1 („System varian, analytisch“)

Pumpe: model 5000 (Varian)
 Autosampler: sp8875 (Spectra-Physics)
 Vorsäule: LiChrosorb RP-18 20 mm x 4 mm ID, 5 µm Teilchengröße (Merck)
 Trennsäule: LiChrospher 100 RP-18 250 mm x 4 mm ID, 5 µm Teilchengröße (Merck)

oder

Vorsäule: Saphir 110 C18 30 mm x 4 mm ID, 5 µm Teilchengröße (Grom)
 Trennsäule: Saphir 110 C18 250 mm x 4 mm ID, 5 µm Teilchengröße (Grom)
 Detektor: Diodenarraydetektor model 1000s (Applied Biosystems)
 Ausgabe: Drucker, Plotter

System 2 („System varian, präparativ“)

Pumpe: model 5000 (Varian)
 Autosampler: sp8875 (Spectra-Physics)
 Vorsäule: LiChrospher 100 RP-18 250 mm x 20 mm, 5 µm Teilchengröße (Merck)
 Trennsäule: LiChrosorb RP-18 20 mm x 4 mm, 5 µm Teilchengröße
 Detektor: Diodenarraydetektor model 1000s (Applied Biosystems)
 Ausgabe: Drucker, Plotter

System 3 („System Beckman, analytisch“)

System: System Gold (Beckman) mit Pumpe 127NM und Detektor 166NM
 Injektor: 7125 mit 20 µl Injektionsvolumen (Rheodyne)
 Vorsäule: LiChrosorb RP-18 20 mm x 4 mm, 5 µm Teilchengröße
 Trennsäule: LiChrospher 100 RP-18 250 mm x 20 mm, 5 µm Teilchengröße
 oder
 Vorsäule: Saphir 110 C18 30 mm x 4 mm ID, 5 µm Teilchengröße (Grom)
 Trennsäule: Saphir 110 C18 250 mm x 4 mm ID, 5 µm Teilchengröße (Grom)
 oder
 Trennsäule: Chromolith Performance RP-18e, 100 mm x 4,6 mm ID (Merck-VWR)
 Ausgabe: Chromato-Integrator D-2500A (Merck-Hitachi)
 Gradient 1: 0→30 min: 65→99 % MeOH, 35→1 % 0,1 % TFA 1,2 ml x min⁻¹
 Gradient 2: 0→10 min: 90→99 % MeOH, 10→1 % 0,1 % TFA 1,2 ml x min⁻¹
 Gradient 3: 0→10 min: 90→99 % MeOH, 10→1 % 0,1 % TFA 1,0 ml x min⁻¹

Gradient 4:	0→20 min: 90→99 % MeOH, 10→1 % 0,1 % TFA	1,2 ml x min ⁻¹
Gradient 5:	0→10 min: 95→99 % MeOH, 5→1 % 0,1 % TFA	1,0 ml x min ⁻¹
Gradient 6:	0-5 min: 90 % MeCN, 10 % 0,1 % TFA	1,2 ml x min ⁻¹
	5→15 min: 90→99 % MeCN, 10→1 % 0,1 % TFA	
Gradient 7:	0-5 min: 90 % MeCN, 10 % 0,1 % TFA	1,5 ml x min ⁻¹
	5→15 min: 90→99 % MeCN, 10→1 % 0,1 % TFA	
Gradient 8:	0-6 min: 80 % MeCN, 20 % 0,1 % TFA	1,2 ml x min ⁻¹
	6→16 min: 80→99 % MeCN, 20→1 % 0,1 % TFA	
Gradient 9:	0-9 min: 70 % MeCN, 30 % 0,1 % TFA	1,2 ml x min ⁻¹
	9→12 min: 70→80 % MeCN, 30→20 % 0,1 % TFA	
	12→13 min: 80→99 % MeCN, 20→1 % 0,1 % TFA	
Gradient 10:	0-9 min: 70 % MeCN, 30 % 0,1 % TFA	1,2 ml x min ⁻¹
	9→20 min: 70→99 % MeCN, 30→1 % 0,1 % TFA	
Gradient 11:	0→20 min: 60→90 % MeOH, 40→10 % 0,1 % TFA	5,0 ml x min ⁻¹
Gradient 12:	0→20 min: 40→95 % MeOH, 60→5 % 0,1 % TFA	5,0 ml x min ⁻¹
Gradient 13:	0→15 min: 50→85 % MeOH, 50→15 % 0,1 % TFA	5,0 ml x min ⁻¹
Gradient 14:	0→20 min: 50→90 % MeOH, 50→10 % 0,1 % TFA	
	0→10 min: 3→5,0 ml x min ⁻¹ 10-20 min: 5,0 ml x min ⁻¹	
Gradient 15:	0→20 min: 50→90 % MeOH, 50→10 % 0,1 % TFA	
	0-10 min: 3 ml x min ⁻¹ 10-20 min: 5,0 ml x min ⁻¹	
Gradient 16:	0→20 min: 60→95 % MeOH, 40→5 % 0,1 % TFA	
	0-10 min: 2 ml x min ⁻¹ 10-20 min: 4,0 ml x min ⁻¹	
Gradient 17:	0-5 min: 50 % MeOH, 50 % 0,1 % TFA	
	5→20 min: 50→90 % MeOH, 50→10% 0,1 % TFA	
	0-10 min: 3 ml x min ⁻¹ 10-20 min: 4,0 ml x min ⁻¹	
Gradient 18:	0→20 min: 50→90 % MeOH, 50→10 % 0,1 % TFA	
	0-10 min: 3 ml x min ⁻¹ 10-20 min: 4,0 ml x min ⁻¹	
Gradient 19:	0→20 min: 50→90 % MeOH, 50→10 % 0,1 % TFA	3,0 ml x min ⁻¹
Gradient 20:	0→20 min: 50→90 % MeOH, 50→10 % 0,1 % TFA	
	0-10 min: 3 ml x min ⁻¹ 10→20 min: 3→5 ml x min ⁻¹	
Gradient 21:	0→15 min: 60→90 % MeOH, 40→10 % 0,1 % TFA	5,0 ml x min ⁻¹
Gradient 22:	0-5 min: 80 % MeOH, 20 % 0,1 % TFA	
	5→25 min: 80→99 % MeOH, 20→1 % 0,1 % TFA	1,2 ml x min ⁻¹
Gradient 23:	0→10 min: 80→85 % MeOH, 20→15 % 0,1 % TFA	
	10-13 min: 85 % MeOH, 15 % 0,1 % TFA	
	13→14 min: 85→99 % MeOH, 15→1 % 0,1 % TFA	1,2 ml x min ⁻¹

Massenspektrometrie

Gerät: Finnigan MAT 8200 im EI-Modus (70 eV), Direkteinlass

Kernresonanzspektroskopie

Geräte: Bruker AV360 (^1H , ^{13}C , DEPT 90 und 135 Grad), Bruker AV500 (^1H , H,H-COSY, HMBC, HMQC, HMQC-COSY, NOESY).
 Lösungsmittel: CDCl_3
 Kalibrierung: $\delta = 77.0$ (CDCl_3 , ^{13}C); $\delta = 7.26$ (CDCl_3 , ^1H)
 Auswertung: WinNMR^[348] (^1H , ^{13}C , DEPT90/135), NPNMR^[349] (H,H-COSY, HMBC, HMQC, HMQC-COSY, NOESY), MestRe-C^[350] (NOESY).

IR-Spektroskopie

Gerät: 1600 FTIR (Perkin Elmer, Rodgau); die Messungen wurden als Differenzmessung durchgeführt (Probe in CHCl_3 gegen CHCl_3).

Polarimetrie

Gerät: Perkin-Elmer 241MC (Perkin Elmer, Rodgau) mit einer Küvettenlänge von 1 dm. Die spezifische Drehung errechnet sich aus

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{c \cdot l} \quad \text{mit } [c] = \text{g}/100 \text{ ml, } [l] = \text{dm und } [\alpha] = \text{Grad.}$$

Schmelzpunktbestimmung

Gerät: Büchi 510 (Büchi AG, Konstanz); Schmelzpunkte sind unkorrigiert

Gekoppelte Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)

Gerät: Typ 8000 (Thermoquest, Egelsbach)
 Kapillarsäule: DB-5; 30 m x 0,32 mm, 0,25 μm (J & W Scientific)
 MS: MD 800 (Thermoquest, Egelsbach)
 Ionisierung: Elektronenstoß-Ionisation
 Probenaufgabe: split/splitless, 40 °C
 Aufgabevolumen: 1,0 μl
 Temperaturprogramm 1 für FAME-GC-Analytik: 1 min bei 40 °C; 6 °C x min^{-1} bis 200 °C; 10 °C x min^{-1} bis 250 °C, dort 1 min
 Temperaturprogramm 2 für FAME-GC-Analytik: 1 min bei 50 °C; 15 °C x min^{-1} bis 180 °C; 4 °C x min^{-1} bis 230 °C; 20 °C x min^{-1} bis 250 °C, dort 1 min

4.5 Arbeitsvorschriften

4.5.1 Identifizierung der Weihrauch-Art bei unbekanntem Proben

4.5.1.1 Herstellung von Weihrauch-Extrakten aus großen Probenmengen

Weihrauchharz wird in einem Küchenmixer fein zermahlen, wobei Proben von weicher Konsistenz zuvor 1 h auf -20 °C gekühlt werden. Das gemahlene Harz wird in eine Filterhülse gefüllt, mit Watte abgedeckt und in der Soxhlet-Apparatur erschöpfend mit Diethylether

extrahiert. Nach Extraktion muss der Rückstand des Ablaufs vernachlässigbar und geruchlos sein. Der etherische Weihrauchextrakt („Roh-Extrakt“, RE) wird am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur unter Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

4.5.1.2 Herstellung von Weihrauch-Extrakten aus kleinen Probenmengen

Weihrauchharz wird grob in der Reibschale vermahlen, wobei Proben von weicher Konsistenz zuvor auf -20 °C gekühlt werden. Die gemahlene Probe wird in einem Glasrohr (2 cm ID mit Glasfilter Por. 4) über wenig Celite platziert und mit Watte abgedeckt. Das Harz wird mit $3 \times 20\text{ ml}$ Aceton pro g Harz in 10-15 ml-Schritten in einen gewogenen Rundkolben extrahiert. Wenn der Extrakt nicht zügig abläuft ($1-2\text{ Tr} \times \text{s}^{-1}$), wird leichter Überdruck (Howorka-Ball) angewendet. In der Probe eingeschlossene Luftblasen werden vor Zugabe von neuem Extraktionsmittel durch Rühren mit einem Glasstab beseitigt. Der Weihrauchextrakt („Roh-Extrakt“, RE) wird am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur unter Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

4.5.1.3 Bestimmung der Effizienz verschiedener Lösungsmittel bei der Extraktion von Weihrauchharz

Ca. 5 g des Weihrauchharzes oder Produktes mit Weihrauchharz werden grob in der Reibschale vermahlen; Proben von weicher Konsistenz werden zuvor auf -20 °C gekühlt. Die gemahlene Probe wird exakt eingewogen und in einem Glasrohr (2 cm ID mit Glasfilter Por. 4) über wenig Celite platziert und mit Watte abgedeckt. Die Extraktion erfolgt mit 100 ml Lösungsmittel (Aceton, DCM, Et_2O , EtOAc, MeOH, MTBE, Pentan oder *i*-PrOH) in 10-15 ml-Schritten in einen gewogenen Rundkolben. Wenn der Extrakt nicht zügig abläuft ($1-2\text{ Tr.} \times \text{s}^{-1}$), wird leichter Überdruck (Howorka-Ball oder N_2 /Pressluft bis 0,5 bar) angewendet. In der Probe eingeschlossene Luftblasen werden vor Zugabe von neuem Extraktionsmittel durch Rühren mit einem Glasstab beseitigt; nach Extraktion wird die Probe trockengeblasen. Der Weihrauchextrakt („Roh-Extrakt“, RE) wird am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur unter Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Nach Auswiegen wird die Extraktion mit jeweils 100 ml Lösungsmittel viermal wiederholt (Gesamt-Extraktionsvolumen: 500 ml).

4.5.1.4 Bestimmung des Einflusses der *Boswellia*-Spezies auf die Extraktion mit *iso*-Propanol

Ca. 10 g des Weihrauchharzes oder Produktes mit Weihrauchharz werden grob in der Reibschale vermahlen; Proben von weicher Konsistenz werden zuvor auf -20 °C gekühlt. Etwa 2 g der gemahlene Probe werden exakt eingewogen, in einem Glasrohr (2 cm ID mit Glasfilter Por. 4) über wenig Celite platziert und mit Watte abgedeckt. Die Extraktion erfolgt mit 10 ml *iso*-Propanol in einen gewogenen Rundkolben. Wenn der Extrakt nicht zügig abläuft ($1-2\text{ Tr.} \times \text{s}^{-1}$), wird leichter Überdruck (Howorka-Ball) angewendet. In der Probe eingeschlossene Luftblasen werden vor Zugabe von neuem Extraktionsmittel durch Rühren mit einem Glasstab beseitigt; nach Extraktion wird die Probe trockengeblasen. Der Weih-

rauchextrakt (Roh-Extrakt, RE) wird am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur unter Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Nach Auswiegen wird die Extraktion mit jeweils 10 ml Lösungsmittel viermal wiederholt (Gesamt-Extraktionsvolumen: 50 ml).

4.5.1.5 Extraktion von Weihrauchbestandteilen: Bestimmung des Einflusses der Probenbeschaffenheit

Mehrere Proben von derselben Weihrauchprobe (Probe 4, *Bcar Tr1*) werden wie unter Punkt 4.5.1.3 mit Diethylether extrahiert und anschließend der Anteil der Säurefraktion durch Verteilen zwischen der etherischen Lösung des Rohextraktes und 1 N Kalilauge bestimmt.

Tab. 22: Ausbeuten bei der Extraktion von Probe 4 (*B. carteri*, *Bcar T1*) in Abhängigkeit der Probenbeschaffenheit. *) ohne besondere Auswahl der Harzstücke. **) grob zerstoßen, so dass große Stücke etwa so groß sind wie kleine Stücke.

Probe Nr.	eingesetzte Harzmenge [g]	eingesetztes verriebenes Harz [g]	Rohextrakt RE [%]	Mittelwert (Standardabweichung)	Säurefraktion RS [%]	Mittelwert (Standardabweichung)	RS-Anteil [% v. RE]	Verhältnis RS:RE
1	1,27*	0,9928	70,4	68,6 % (1,9)	27,2%	24,3 % (2,7)	38,7%	1 : 2,58
2	1,43*	1,0172	68,9		23,8%		34,6%	1 : 2,89
3	1,74*	1,0085	66,6		21,8%		32,8%	1 : 3,05
4	5,49*	5,0298	64,1	64,6 % (2,1)	21,2%	21,4 % (4,0)	33,1%	1 : 3,02
5	5,89*	5,0164	66,9		17,6%		26,2%	1 : 3,81
6	5,45*	5,0069	62,9		25,5%		40,6%	1 : 2,46
7	11,11*	9,9878	65,2	67,1 % (1,6)	18,9%	19,6 % (2,2)	28,9%	1 : 3,46
8	11,42*	10,0687	68,2		17,8%		26,1%	1 : 3,83
9	11,87*	10,0108	67,8		22,0%		32,4%	1 : 3,08
10	21,22*	1,9952	63,1	63,8 % (6,1)	22,3%	23,5 % (4,7)	35,3%	1 : 2,83
11	22,18*	2,0106	58,0		19,6%		33,8%	1 : 2,96
12	21,42*	2,0130	70,2		28,7%		40,9%	1 : 2,44
13	3,94 (1 großer Brocken)	2,0106	71,9	–	22,8%	–	31,7%	1 : 3,16
14	2,23 (kleine Brocken)	1,9840	71,8	–	20,1%	–	27,9%	1 : 3,58
15	22,52 (große Brocken)	1,9925	69,2	–	27,4%	–	39,6%	1 : 2,52
16	20,24 (kleine Brocken)	2,0193	64,3	–	23,8%	–	37,0%	1 : 2,70
17	50,38**	2,0249	55,2	60,8 % (5,8)	18,4%	20,9 % (2,3)	33,3%	1 : 3,01
18	50,02**	2,0153	66,8		22,9%		34,2%	1 : 2,92
19	50,42**	1,9987	60,3		21,4%		35,5%	1 : 2,82
Mittelwert über alle Proben				65,9 % (4,5)		22,3 % (3,3)	33,8%	1 : 2,96

4.5.1.6 Auftrennung des Weihrauches-Extraktes in Säure- und Neutralfraktion

Etherlösliche Bestandteile des Weihrauchextraktes werden im Scheidetrichter in Diethylether gelöst ($0,1-0,2 \text{ g} \times \text{ml}^{-1} \text{ Et}_2\text{O}$), mit 1 N-Kalilauge bis zu einem pH-Wert von >10 versetzt und mit $5 \times 10 \text{ ml}$ Diethylether $\times \text{g}^{-1}$ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit $2 \times 20 \text{ ml}$ 1 N-Kalilauge gewaschen und verworfen. Die wässrigen Phasen werden mit HCl auf einen pH-Wert von <3 eingestellt und mit $5 \times 10 \text{ ml}$ Diethylether $\times \text{g}^{-1}$ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser neutral gewaschen, mit ges. NaCl-Lsg. geschüttelt und über MgSO_4 getrocknet (30 min). Das Trocknungsmittel wird abfiltriert und das Lösungsmittel unter Vakuum am Rotationsverdampfer entfernt (Wasserbadtemperatur max. $40 \text{ }^\circ\text{C}$).

4.5.2 Identifizierung und Quantifizierung einer Kolophonium-Beimischung in Weihrauchharz

4.5.2.1 Isolierung von DhAbiA **38** und AbiA(-Isomeren) **39** aus dem Harz von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*)

8,74 g der Säurefraktion aus dem Diethylether-Extrakt des Harzes von *B. serrata* werden mittels Säulenchromatographie getrennt (Kieselgel, 10 cm ID, jeweils 1 l Pentan: Et_2O 10:1, 8:1, 6:1, 4:1, 7:2, 3:1, 2:1, 3:2, 1:1 und Et_2O mit jeweils 1 % HOAc). Es wird wie folgt fraktioniert (in Klammern: Nummern der vereinigten 20 ml-Fractionen): Frkt. 1 (1-20; 1,5 mg, 0,0172 %), Frkt. 2 (21-120; 12,0 mg, 0,137 %), Frkt. 3 (121-127; 39,4 mg, 0,451 %), Frkt. 4 (128-261; 1,2738 g, 14,6 %), Frkt. 5 (162-205; 954,0 mg, 10,9 %), Frkt. 6 (206-250; 352,8 mg, 4,04 %), Frkt. 7 (251-280; 164,7 mg, 1,89 %), Frkt. 8 (281-293; 46,2 mg, 0,53 %), Frkt. 9 (294-324; 403,3 mg (4,62 %), Frkt. 10 (325-345; 414,4 mg, 4,74 %), Frkt. 11 (346-362; 234,9 mg, 2,69 %), Frkt. 12 (363-370; 100,9 mg, 1,16 %), Frkt. 13 (371-410; 270,8 mg, 3,10 %), Frkt. 14 (411-435; 95,2 mg, 1,09 %), Frkt. 15 (436-464; 282,3 mg, 3,23 %), Frkt. 16 (465-478; 122,9 mg, 1,41 %), Frkt. 17 (479-483; 111,4 mg, 1,28 %), Frkt. 18 (484-503; 787,0 mg, 9,01 %), Frkt. 19 (504-506; 67,8 mg, 0,776 %), Frkt. 20 (507-509; 74,1 mg, 0,848 %), Nachlauf (Et_2O) 532,7 mg, 5,98 %. Gesamtausbeute: 6,3421 g (72,6 %). Nach Untersuchung der Fraktionen mit DC auf RP-Kieselgel (mobile Phase: MeOH:Wasser 90:10) werden die Fraktionen 3 und 4 vereinigt (1.313,2 mg, 15,0 %).

768,1 mg der vereinigten Fraktionen 3 + 4 werden per FC aufgetrennt (RP-Kieselgel, 2,5 cm ID, MeOH:Wasser 90:10). Die Fraktionen 1-5 sind leer und werden verworfen, die übrigen 6 ml-Fractionen wie folgt vereinigt: Frkt. 6-15 (Säuren 4C-4J, 247,3 mg, 32,2 %), Frkt. 16-18 (4K, 48,1 mg, 6,26%), Frkt. 19-25 (4L, 48,6 mg, 6,33 %), Frkt. 26-30 (4B, 153,4 mg, 20,0 %), Frkt. 36-50 (4A; 63,9 mg, 8,32 %). Summe: 561,3 mg (73,1 %).

Fraktion 4A enthält eine Verbindung, deren ^{13}C - und ^1H -NMR-Verschiebungen mit partial-synthetisch hergestellter DhAbiA **38** übereinstimmen (physikalische Daten siehe dort, Kapitel 4.5.2.5).

Die übrigen Fraktionen enthalten allesamt Mischungen, die nicht oder nur schwer aufzutrennen sind. Zum zweiten Ansatz und quantitativer Abschätzung von DhAbiA **38** und Abietinsäure **39** und deren Derivate s. Kap. 4.5.2.2.

4.5.2.2 Isolierung und Quantifizierung von DhAbiA **38** und AbiA(-Isomeren) **39** aus dem Harz von *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*)

(Siehe auch Fließschema in Abb. 80 in Anhang B, S. 179)

9,6850 g Säurefraktion von *B. serrata* (Harzprobe 1, *Bser Gr1*; entsprechen 16,4 g Extrakt und 46,8 g Harz) werden per FC vorgetrennt (5 cm ID; Pentan:Et₂O 5:1 + 1 % HOAc auf Kieselgel, nach 400 ml (3 SV) Vorlauf Fraktionen zu je 15 ml). Neben 23,3 mg (0,24 %) Vorlauf (inhomogene zähe farblose Flüssigkeit) werden 2,0144 g (20,8 %) in Frkt. 1-50 mit wenig ABA (α - und β -Isomer) als schmutzig-weiße, klebrige Masse erhalten.

Chromatographie (RP-SiO₂, 2,5 cm ID; MeCN:MeOH:Wasser 42,5:42,5:15, 120 ml Vorlauf; 6 ml-Fractionen) von Frkt. 1-50 der ersten FC ergibt 90,8 mg 2A (4,51 %, Frkt. 5-29), 307,4 mg 2B = verunreinigte DhAbiA **38** (15,3 %, Frkt. 30-49) sowie 1.263,9 mg 2C = AbiA(-Isomere) **39** (62,7 %, Frkt. 50-60). Summe: 1.662,1 mg (82,5 %).

Fraktion 2B wird über RP-Kieselgel getrennt (1,5 cm ID; 250 ml MeCN:MeOH:Wasser 42,5:42,5:15, dann MeCN:MeOH 1:1; 30 ml Vorlauf; 2 ml-Fractionen) und liefert neben 11,2 mg 3A (3,64 %, Frkt. 4-10, inhomogene zähe Masse), 253,3 mg 3B = DhAbiA **38** (82,4 %, Frkt. 11-23) und 5,9 mg 3C = DhAbiA **38** und AbiA(-Isomere) **39** (1,92 %, Frkt. 24-40). Summe: 270,4 mg (88,0 %). Durch Umkristallisation von 3B (Methanol/Wasser, Δ) werden 199,6 mg DhAbiA **38** in kristalliner Form und zusätzlich 53,7 mg aus der Mutterlauge erhalten.

Fraktionen 2C und 3C werden vereinigt (insgesamt 1.269,8 mg) und über RP-Kieselgel getrennt (RP-SiO₂, 2,5 cm ID; MeCN:MeOH:Wasser 42,5:42,5:15, 100 ml Vorlauf; 2 ml-Fractionen): Neben 179,6 mg 4A = unsauberer DhAbiA **38** (14,2 %, Frkt. 1-22) werden 556,8 mg 4B = DhAbiA **38** und AbiA(-Isomere) **39** (43,8 %, Frkt. 23-42) und 418,5 mg 4C = AbiA(-Isomere) **39** (33,0 %, Frkt. 43-65) erhalten. Summe: 1.155,2 mg (91,0 %).

Mutterlauge aus der Umkristallisation von DhAbiA **38** (Frkt. 3B) und 4A (insgesamt: 233,3 mg) werden über RP-Kieselgel aufgereinigt (1,5 cm ID; MeCN:MeOH:Wasser 4:4:1; 30 ml Vorlauf; 1 ml-Fractionen). Neben 98,2 mg 5A = Mischung unbekannter Substanzen (42,1 %, Frkt. 1-18) werden 95,4 mg 5B = DhAbiA **38** (40,9 %, Frkt. 19-32) erhalten, die sich nicht aus MeOH/Wasser oder reinem Methanol umkristallisieren lässt. Summe: 193,6 mg (83,0 %).

Fraktion 5B (556,8 mg) wird über RP-Kieselgel aufgereinigt (1,5 cm ID; Acetonitril:Methanol:Wasser 4:4:1; 30 ml Vorlauf; 1 ml-Fractionen) und ergibt neben 56,0 mg 6A = Mischung aus DhAbiA **38** und AbiA(-Isomeren) **39** (10,1 %, Frkt. 1-30) 423,9 mg 6B = AbiA(-Isomere) **39** (76,1 %, Frkt. 31-50). Summe: 479,9 mg (86,2 %).

Für die FAME-GC-MS-Analyse (Kap. 4.5.2.4) werden DhAbiA **38** (aus Umkristallisation von Fraktion 3B) und AbiA-Isomere **39** aus Fraktion 4C verwendet.

4.5.2.3 Isolierung von DhAbiA **38** und AbiA(-Isomeren) **39** aus Kolophonium

(Siehe auch Fließschema in Abb. 81 in Anhang B, S.180)

4,0036 g Säurefraktion von Kolophonium (entsprechen 4,4994 g Kolophonium und derselben Menge Kolophoniumextrakt) werden mittels FC an Kieselgel getrennt (2,5 cm ID; 250 ml Pentan:Et₂O 5:1, 150 ml Pentan:Et₂O 2:1, 100 ml Et₂O mit jeweils 1 % HOAc; 60 ml Vorlauf, 15 ml-Fraktionen). Neben 1.636,3 mg AbiA(-Isomeren) **39**, wenig DhAbiA **38** (40,8 %, Vorlauf und Frkt. 1-25), 286,5 mg 1B = DhAbiA **38** und wenig AbiA(-Isomeren) **39** (7,16 %, Frkt. 26-48) werden mit 869,2 mg 1C (21,7 %, 49-90) und 718,7 mg 1D (18,0 %, Nachlauf) jeweils Mischungen unbekannter Substanzen erhalten. Summe: 3,5107 mg (87,7 %)

Frkt. 1A wird über RP-Kieselgel weiter aufgetrennt (2,5 cm ID, 400 ml MeCN:MeOH:Wasser 4:4:1, 200 ml MeCN:MeOH, 200 ml MeOH; 100 ml Vorlauf, 3 ml-Fraktionen) in 52,4 mg 2A (3,20 %, Vorlauf + Frkt. 1-20), 290,9 mg 2B = DhAbiA **38** (17,8 %, Frkt. 21-36), 1.202,2 mg 2C = AbiA(-Isomere) **39** (73,5 %, Frkt. 38-44) und 50,1 mg 2D (3,06 %, Frkt. 45-51 + Nachlauf). Summe: 1.595,6 mg (97,5 %).

Fraktionen 1B und 2B (insgesamt 577,4 mg) werden vereinigt und über RP-Kieselgel getrennt (1,5 cm ID; 300 ml MeOH:Wasser 4:1, 300 ml MeOH; 30 ml Vorlauf, 2 ml-Fraktionen). Neben 104,0 mg 3A (18,0 %, Vorlauf und Frkt. 11-18) und 356,4 mg 3B = DhAbiA **38** (61,7 %, Frkt. 19-48) werden 80,2 mg 3C (13,9 %, Frkt. 49-51 + Nachlauf) erhalten. Summe: 540,6 mg (93,6 %). Für die FAME-GC-MS-Analyse (Kap. 4.5.2.4) werden DhAbiA **38** aus Fraktion 3B und AbiA(-Isomere) **39** aus Fraktion 2C verwendet.

4.5.2.4 FAME-GC-MS von DhAbiA **38** und Abietinsäure(-Isomeren) **39**

Die Analyse erfolgt in Variation der Vorschrift von Schulte und Weber:^[345] Ca. 5 mg freie Säure, bei Einzelsubstanzen 2 mg (bei Abietinsäure(derivaten) mit $M_r = 300$: 16,6 μmol) werden in 250 μl MTBE gelöst und mit 250 μl 0,2 M TMSH in Methanol (0,05 mmol, 3,01 μl) versetzt^[351] und in den Injektionsport des Gas-Chromatographen gegeben (1 μl entspr. 2 μg Probenmenge^[352]).

Tab. 23: GC-MS-Läufe mit Dehydroabietinsäure **38** und Abietinsäure(-Isomeren) **39** aus Weihrauchharz *Bser Gr1*, Kolophonium und technischer Abietinsäure. Die Fraktionen (Spalte „Herkunft“) beziehen sich auf die Isolierungen unter Kap. 4.5.2.2 (*Bser Gr1*) bzw. Kap. 4.5.2.3 (Kolophonium). Temperaturprogramme siehe Kap. 4.4.

Lauf Nr.	Probe	Herkunft	Einwaage [mg]	Temperaturprogramm
1	AbiA-Isomere	<i>Bser Gr1</i> , Frkt. 4C	5,00	1
2	AbiA-Isomere	<i>Bser Gr1</i> , Frkt. 4C	5,00	1
3	AbiA-Isomere	<i>Bser Gr1</i> , Frkt. 4C	5,00	2
4	DhAbiA	<i>Bser Gr1</i> , Kristalle aus Frkt. 3B	2,12	2
5	AbiA-Isomere	Kolophonium, Frkt. 2C	5,06	2
6	DhAbiA	Kolophonium, Frkt. 3B	5,21	2
7	AbiA techn.	[Acros]	5,29	2

4.5.2.5 Darstellung von DhAbiA **38** aus technischer AbiA **39** mittels Pd/H

5,10 g technische Abietinsäure **39** (17 mmol) werden mit 110 mg Palladium auf Aktivkohle (10 % m/m) vermischt und in einen 50 ml-Dreihalskolben mit Rückflusskühler gefüllt; die Apparatur wird zweimal evakuiert, mit Stickstoff geflutet und schließlich auf 275 ± 5 °C erhitzt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle) wird die erkaltete Reaktionsmischung in Aceton gelöst, über Celite abfiltriert und über FC gereinigt (1: Pentan:Et₂O 50:1 bis reiner Diethylether auf Kieselgel, jeweils mit 1 % HOAc; 2: MeOH:Wasser 9:1 bis reines Methanol auf RP-Kieselgel). Es werden 304,1 mg Dehydroabietinsäure **38** als weißes Pulver erhalten (7 % bezogen auf 5,10 g 85%ige Abietinsäure). Umkristallisation aus heißem MeOH/H₂O ergibt 143 mg Dehydroabietinsäure **38** in klaren, farblosen Plättchen von teils dreieckiger, teils länglicher Form mit feinen Abstufungen.

DC: $R_f = 0,59$ (SiO₂, DCM:MeOH 15:1); $0,70$ (SiO₂, Et₂O:Pentan 2:1 + 1 % HOAc); $0,51$ (RP-SiO₂, MeCN); $0,02$ (RP-SiO₂, MeCN:Wasser 50:50); $0,29$ (RP-SiO₂, Methanol:Wasser 9:1); $0,44$ (SiO₂, Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc).

HPLC: $R_t = 24,0$ min (Gradient 1), $6,21$ min (Gradient 2), $7,39$ min (Gradient 3), $6,48$ min (Gradient 4), $5,23$ min (Gradient 5), $4,35$ min (Gradient 6), $4,26$ min (Gradient 7), $9,85$ min (Gradient 9), $9,62$ min (Gradient 10), $4,05$ min (alle bei $1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ MeCN + $0,1$ % TFA), $7,40$ min ($1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ MeCN 78:22), $6,54$ min ($1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ MeCN:0,1 % TFA 80:20), $4,40$ min ($1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ MeCN:0,1 % TFA 90:10), $3,75$ min ($1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ MeCN:0,1 % TFA 95:5), $3,61$ min ($1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ MeCN:0,1 % TFA 99:1), $6,76$ min ($1,2 \text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ MeOH:0,1 % TFA 90:10), alle auf System 3 („System Beckman, analytisch“); $7,25$ min (Gradient 23); $10,94$ min (Gradient 22) (beide Werte auf System 1, „System Varian, analytisch“); alle Werte mit Saphir 110 C18 als stationäre Phase; $7,23$ min (Gradient 21 auf System 1, „System Varian, analytisch“, mit monolithischer stationärer Phase).

¹H-NMR (500.13 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.17$ (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-11); 7.01 (dd, $J = 8.5$ Hz, 1H, 2.1 Hz, 1H, H-12); 6.89 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H-14); 2.98 - 2.89 (m, 2H, H-7 α , H7 β); 2.83 (Septett, $J = 6.9$ Hz, H-15); 2.31 (dbt, $J = 12.6$ Hz, 2.8 Hz, 1H, H-1 β); 2.25 (dt, $J = 12.3$ Hz, 2.3 Hz, 1H, H-5); 1.89 - 1.70 (m, 5H, H-2 α , H-2 β , H-3 α , H-3 β , H-6 β); 1.57 - 1.48 (m, 2H, H-1 α , H-6 α); 1.28 (s, 3H, H-19); 1.23 (s, 3H, H-16 oder H-17); 1.22 (s, 3H, H-16 oder H-17); 1.22 (s, 3H, H-20) ppm.

¹³C-NMR (62.9 MHz, CDCl₃): $\delta = 185.1$ (C-18, >C<); 146.8 (C-9, >C<); 145.7 (C-13, >C<); 134.7 (C-8, >C<); 126.9 (C-14, Aryl-CH); 124.1 (C-11, Aryl-CH); 123.9 (C-12, Aryl-CH); 47.4 (C-4, >C<); 44.6 (>CH-, C-5); 37.9 (C-1, -CH₂-); 36.9 (C-10, >C<); 36.8 (C-3, -CH₂-); 33.5 (C-15, >CH-); 30.0 (C-7, -CH₂-); 25.1 (C-20, -CH₃); 24.0 (C-16, C-17, -CH₃); 21.8 (C-6, -CH₂-); 18.5 (C-2, -CH₂-); 16.2 (C-19, -CH₃) ppm (siehe auch Tabelle mit NMR-Verschiebungen in Kap. 3.2.1, S. 60).

IR: $\nu = 3222$ (w), 3005 , 2799 , 2694 (alle s, Aryl-H), 2606 (m), 2427 (w), 2360 (w), 2341 (w), 2270 (w), 2226 (w), 2089 (w), 1962 (s, Aryl-H), 1924 (m), 1780 (w), 1726 (m, C=O), 1653 (w), 1559 (w), 1484 (s, Aryl-C), 1468 (s), 1452 (s), 1369 , 1352 (beide s, *iso*-Propyl), 1300 (m, C-O), 1184 (s), 1122 (s), 1041 (s), 935 (m), 846 (m), 739 (w), 704 (w), 668 (w) cm⁻¹.

UV: Maxima (gemessen am DAD der HPLC-Anlage, mobile Phase: 1,2 ml x min⁻¹ 90 % MeOH:Wasser): 219 nm (100 %), 271 nm (10 %)

MS (EI): m/z (%) = 300 (29, M⁺); 285 (100, [M-CH₃]⁺); 239 (80); 197 (28); 141 (15); 129 (11); 117 (10); 43 (13).

HRMS (EI): ber.: 300,20892 (C₂₀H₂₈O₂); gef. 300,20975.

Schmelzpunkt: 164-168 °C (Methanol/Wasser), Lit.: 180 °C (Ethanol),^[353] 172 °C (Ethanol/Wasser).^[354]

$[\alpha]_D^{20}$ = +49,1 (2,06; CHCl₃), Lit.: +69 (o. Konzentrationsangabe; CHCl₃);^[355] +59,6 (5,64; CHCl₃) bei 578 nm;^[356] +57,3 (1,04; CHCl₃)^[357].

4.5.2.6 Quantifizierung von DhAbiA 38 mittels HPLC

Die Quantifizierung erfolgt mit dem HPLC-System 1 mit „Saphir“-Material als stationärer Phase bei einer Wellenlänge von $\lambda = 210$ nm und dem Gradienten 23. Die Kalibriergerade wurde ausgehend von einer Stammlösung (SL) von 1,50 mg x ml⁻¹ DhAbiA 38 in Methanol gemäß Tab. 24 erstellt; die Messergebnisse sind in Tab. 25 zusammengefasst.

Tab. 24: Pipettierschema für die Quantifizierung von DhAbiA 38 mittels HPLC.

c(DhAbiA) [mg x ml ⁻¹]	Verdünnungsfaktor gegenüber SL	V(SL) [μl]	V(MeOH) [μl]
0,15	10,0	100	900
0,30	5,00	200	800
0,60	1,67	400	600
0,90	1,25	600	400
1,20	0,80	800	200
1,50	1,00	1.000	0

Tab. 25: Messwerte bei der Quantifizierung von DhAbiA 38 mittels HPLC.

Probe [mg x ml ⁻¹]	Anzahl der Messungen	Peakfläche A (Mittelwert)	Rel. Standard- abweichung [%]	Berechnete Konzentration [mg x ml ⁻¹]
SL 0,15 mg x ml ⁻¹	4	1.520.506	4,0	–
SL 0,30 mg x ml ⁻¹	3	2.367.434	3,4	–
SL 0,60 mg x ml ⁻¹	3	3.666.387	5,3	–
SL 0,90 mg x ml ⁻¹	3	4.638.785	0,7	–
SL 1,20 mg x ml ⁻¹	3	5.294.366	4,4	–
6,0 mg x ml ⁻¹ RS aus Kolophonium	3	3.381.821	3,3	0,60
20,0 mg x ml ⁻¹ RS aus Probe 1 (<i>Bser Gr1</i>)	3	3.634.110	7,1	0,67

Die Kalibriergerade (s. Abb. 39, S. 69) folgt der Gleichung $A = 3.589.665 c + 1.236.006$ und verläuft über den gesamten Bereich linear ($R = 0,9878$, $R^2 = 0,9758$).

4.5.3 Isolierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz mittels Ionenaustauscher

4.5.3.1 Bestimmung der Kapazität des Ionenaustauschers IRA-900

Die Kapazitätsbestimmung des Ionenaustauschers erfolgt in Variation einer Vorschrift von Kunin^[358] für Kationentauscher: Etwa 500 mg Austauschharz (OH-Form, trocken) werden exakt eingewogen, mit Methanol:Wasser (10 %, v/v) versetzt und mittels Vakuum entgast. Etwa das Doppelte der berechneten Menge HCl oder Essigsäure wird exakt zugegeben und nach 10-15 min mit Natronlauge gegen Kongorot bzw. Phenolphthalein titriert. Die Kapazität des Ionenaustauschers ergibt die in Tab. 26 gezeigten Werte gemäß der Gleichung

$$\text{Kapazität} = \frac{(m(\text{HCl}) \cdot c(\text{HCl})) - (m(\text{NaOH}) \cdot c(\text{NaOH}))}{\text{Einwaage}} \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$$

Tab. 26: Kapazitätsbestimmung des Ionenaustauschers IRA-900. *: Bestimmung erfolgt unter Zusatz von 1,5 ml ges. NaCl-Lösung.

Ansatz	Verwendete Säure	Einwaage [g]	Kapazität [mmol x g ⁻¹]	Durchschnitt
1*	Essigsäure	0,5665	3,36	3,37
2	Essigsäure	0,5029	3,50	
3*	Essigsäure	0,5096	3,38	
4	Essigsäure	0,5644	3,38	
5*	HCl	0,5410	3,31	3,30
6*	HCl	0,5444	3,24	
7	HCl	0,5819	3,34	
8	HCl	0,4860	3,31	

4.5.3.2 Adsorption von Harzsäuren an vakuumgetrockneten Ionenaustauscher IRA-900

Etwa 250 mg der Säurefraktion aus *B. serrata* (Probe 1, *Bser Gr1*) werden exakt eingewogen und mit etwa der doppelten berechneten, exakt eingewogenen Menge IRA-900 (OH-Form, vakuumgetrocknet) versetzt. Die Mischung wird mit ca. 10 ml Lösungsmittel (Dichlormethan, Diethylether oder Methanol) versetzt und gerührt. Zu Reaktionsbeginn und nach 15, 30, 60, 120, 180 min, 20 h und 36 h wird die Lösung mittels DC auf Harzsäuren überprüft (SiO₂; Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc). Wenn keine Änderung der Adsorption mehr zu beobachten ist, wird der Ionenaustauscher abfiltriert und durch Spülen mit dem Lösungsmittel von nicht adsorbierten Säuren befreit. Anschließend werden die adsorbierten Säuren mit Essigsäure (1 % im verwendeten Lösungsmittel) vom Ionenaustauscher gewaschen.

4.5.3.3 Reinigung des Ionenaustauschers IRA-900 für die Verwendung in nichtwässrigen Lösungsmitteln (Standardvorschrift für große Ansätze)

100 g Austauschharz Amberlite IRA-900 (trockene Cl-Lagerform, ca. 200 ml(= BV)) werden in Wasser angeschlämmt und in eine Glassäule (5 cm ID, mit Glasfritte und Teflonhahn) gefüllt. Die Konditionierung des Austauschers erfolgt mit 2 l Natronlauge (5 % m/m);

die Tropfgeschwindigkeit bei diesem und den folgenden Elutionen beträgt ca. 2-4 Tr. \times s⁻¹. Bei Verwendung eines nicht mit Wasser mischbaren Lösungsmittels wird an dieser Stelle mit 400 ml (2 BV) Methanol gespült; bei anderen Lösungsmitteln wird dieser Zwischenschritt übersprungen.

Nach Neutralspülen mit Wasser (ca. 800 ml, 4 BV) und 400 ml (2 BV) Lösungsmittel wird mit je 1 l (5 BV) Lösungsmittel und Diethylether gespült (= Simulation von Probenaufgabe und Elution der nichtsauren Komponenten); es folgt die Elution mit 1,5 l (7,5 BV) 10 % HOAc (v/v) im verwendeten Lösungsmittel. Bei nicht mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln wird an dieser Stelle mit 400 ml (2 BV) MeOH gespült; bei anderen Lösungsmitteln wird dieser Zwischenschritt übersprungen.

Die Regenerierung erfolgt durch Neutralspülen mit Wasser (ca. 800 ml, 4 BV), 2,0 l Kalilauge (5 % m/m, 10 BV) und erneutem Neutralspülen mit Wasser (ca. 800 ml, 4 BV).

4.5.3.4 Reinigung des Ionenaustauschers IRA-900 für die Verwendung in nichtwässrigen Lösungsmitteln (Standardvorschrift für kleine Ansätze)

Ca. 10 g Amberlite IRA-900 in der OH-Form (unter Wasser gelagert und bereits mit einem Zyklus gemäß Vorschrift unter Punkt. 4.5.3.3 gereinigt) mit etwa 20 ml Volumen (BV) werden im Lösungsmittel angeschlämmt und in eine Glassäule (2 cm ID mit Glasfritte und Hahn) gefüllt. Die Konditionierung erfolgt mit 40 ml (2 BV) Lösungsmittel; vorab wird (nur bei nicht mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln) mit 80 ml (4 BV) Methanol gespült. Wenn das Eluat trüb oder gefärbt ist, wird solange mit demselben Lösungsmittel eluiert, bis das Eluat klar und farblos ist.

Es wird mit 200 ml Lösungsmittel (10 BV) gespült (= Simulation von Probenaufgabe und Elution neutraler Komponenten). Anschließend wird mit 160 ml (8 BV) 10 % HOAc (v/v) im verwendeten Lösungsmittel gespült (= Simulation der Elution von Säuren). Es wird solange eluiert, bis eine eventuelle Trübung und/oder Färbung vollständig verschwunden ist. Die Regenerierung erfolgt durch Neutralspülen mit Wasser (80 ml, 4 BV; bei nicht wassermischbaren Lösungsmitteln wird zuvor mit 80 ml (4 BV) Methanol gespült), 200 ml (10 BV) 5 %iger Kalilauge und erneutem Neutralspülen mit Wasser (ca. 80 ml, 4 BV).

4.5.3.5 Adsorption von Harzsäuren an feuchten Ionenaustauscher IRA-900 (batch-Versuche mit vorbehandeltem IE)

Vorschrift für Methanol: 1 ml (= BV, entspr. ca. 500 mg) des nach Punkt 4.5.3.4 vorbereiteten Austauscherharzes IRA-900 wird in eine 5 ml-Spritze (Becton Dickinson Discardit II) mit Teflonfilter vor dem Auslass gefüllt und portionsweise mit insgesamt ca. 4 ml (4 BV) Lösungsmittel konditioniert, indem das Lösungsmittel durch die Kanüle aufgezogen und zur Trockne abgelassen wird. Bei nicht wassermischbaren Lösungsmitteln wird zuvor auf die gleiche Weise mit ca. 4 ml (4 BV) Methanol gespült. Der suspendierte Ionenaustauscher wird leicht geschwenkt, sodass möglichst alle Gasblasen verschwinden, und das Lösungsmittel bei senkrechter Stellung der Spritze bis zur Oberkante des Austauscherharzes abgelassen.

Etwa 125 mg der Säurefraktion von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) werden exakt eingewogen, in möglichst wenig Lösungsmittel gelöst und auf die Spritze mit dem Ionenaustauscher aufgezogen. Das Gefäß, in dem die Lösung hergestellt wurde, wird zweimal mit demselben Volumen Lösungsmittel nachgespült und ebenfalls auf die Spritze aufgezogen. Das Gesamtvolumen in der Spritze (Austauscherharz und Säure-Lösung) sollte 4 ml nicht überschreiten. Die Spritze wird den vorgesehenen Zeitraum in beinahe waagerechter Stellung (Kanüle leicht nach oben gerichtet) auf der Rührmaschine geschwenkt.

Nach Ende der vorbestimmten Adsorptionszeit wird das Lösungsmittel mit den nicht adsorbierten Säuren (NA) in einen gewogenen Kolben überführt und der IE mit 5 x 4 ml Lösungsmittel gespült, d. h. das Lösungsmittel auf die Spritze aufgezogen, die Spritze ca. 20 s leicht geschwenkt und dann das Lösungsmittel bei senkrechter Haltung des Spritze in ca. 10 s durch den abgesetzten Ionenaustauscher eluiert. Die gemeinsamen Eluate werden am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Die adsorbierten Säuren werden mit 8 x 2 ml (2 BV) 10 % HOAc im verwendeten Lösungsmittel eluiert und ebenfalls ausgewogen.

4.5.3.6 Isolierung der Harzsäuren aus Harzprobe 1 (*Bser Gr1*) mittels IRA-900 im Routinebetrieb (Ethanol/Et₂O als Lösungsmittel)

100 g Amberlite IRA-900 (= BV, ca. 200 ml, Cl-Form, feucht) werden in einer Glassäule (2,5 cm ID mit Glasfritte und Hahn) mit 2 l (10 BV) 5 %iger Kalilauge (m/m) in die OH-Form überführt, mit 1,5 l (7,5 BV) Wasser neutral gewaschen und mit 0,5 l (2,5 BV) Ethanol konditioniert.

100 g des Extraktes von Harzprobe 1 (*Bser Gr1*) werden in einer Mischung von Diethylether und Ethanol (ca. 1:1 v/v) zweimal aufgegeben und das Eluat jeweils auf Harzsäuren geprüft. Die Elution von Neutralkomponenten erfolgt mit je 1 l (5 BV) Ethanol und Diethylether. Die Säuren werden mit 1,5 l (7,5 BV) Essigsäure in Diethylether (10 % v/v) eluiert. Der Ionenaustauscher wird mit 0,25 l (1,25 BV) Methanol und 2 l (10 BV) 5 %iger Kalilauge regeneriert und mit Wasser neutralgewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter Vakuum werden 24,78 g Säurefraktion und 18,06 g Neutralbestandteile erhalten.

4.5.3.7 Isolierung der Harzsäuren aus dem Weihrauchextrakt mittels IRA-900 im Routinebetrieb (Methanol als Lösungsmittel)

100 g Amberlite IRA-900 (OH-Form in Wasser, bereits für mehrere Zyklen gemäß der Vorschrift unter Punkt 4.5.3.6 (S. 125) verwendet) mit einem Volumen (BV) von 200 ml werden in einer Glassäule (2,5 cm ID) mit je 0,2 l MeOH und MeOH:Et₂O 1:1 bei 6 BV x h⁻¹ konditioniert.

48,42 g getrockneter etherischer Extrakt von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) werden in 100 ml Et₂O:MeOH (3:1 v/v) gelöst und auf den Ionenaustauscher gegeben; die Probenaufgabe erfolgt bei 3-4 BV x h⁻¹. Neutralkomponenten werden mit 0,4 l MeOH:Et₂O 1:1 und 600 ml Et₂O (aufgeteilt in eine 200 ml- und eine 400 ml-Fraktion) vom Harz gespült; die Ausbeute beträgt 30,79 g (63,6 %). Die Elution der Säuren erfolgt mit 3 x 400 ml 10 % HOAc in Diethylether (jeweils 6 BV x h⁻¹). Der Ionenaustauscher wird mit 0,4 l MeOH, 0,5 l Natron-

lauge (5 % m/m) und Neutralspülen mit 0,7 l Wasser regeneriert. Nach Abrotieren des Lösungsmittels werden 16,83 g (34,5 %) Harzsäuren erhalten; die Summe von Neutral- und sauren Bestandteilen beträgt 47,62 g (98,3 %). Dauer des gesamten Zyklus: 3,5-4 h.

4.5.3.8 Isolierung der Harzsäuren aus dem Weihrauchextrakt mittels IRA-900 unter maximaler Ausnutzung der Kapazität (MeOH/Et₂O als Lösungsmittel)

100 g Amberlite IRA-900 (OH-Form in Wasser, bereits für mehrere Zyklen gem. Kap. 4.5.3.6 verwendet) mit einem Volumen (BV) von 200 ml werden in einer Glassäule (2,5 cm ID) mit 600 ml (3 BV) Methanol mit einem Fluss von 4 BV x h⁻¹ (ca. 2-4 Tr. x s⁻¹) konditioniert.

102,15 g getrockneter etherischer Extrakt von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) werden in ca. 900 ml MeOH:Et₂O (ca. 1:1) gelöst und aufgegeben (4 BV x h⁻¹); Reste der Probe werden mit ca. 100 ml MeOH:Et₂O (ca. 1:1) nachgespült. Die Elution nicht-saurer Bestandteile erfolgt mit 1,0 l MeOH:Et₂O (1:1 v/v; wird in zwei gleichgroße Fraktionen aufgetrennt) und 1,0 l Et₂O (wird in zwei gleichgroße Fraktionen aufgetrennt) bei jeweils 5 BV x h⁻¹. Es werden 66,89 g (65,5 %) nichtadsorbierte Bestandteile (NA) erhalten. Die Säuren werden mit 1,0 l Essigsäure in Diethylether (10 % v/v) eluiert (5 BV x h⁻¹); die Vollständigkeit wird durch gravimetrische Bestimmung eines weiteren 500 ml-Eluats überprüft.

Der Ionenaustauscher wird bei 8 BV x h⁻¹ nacheinander mit 100 ml Et₂O, 400 ml Methanol, 100 ml Wasser und 1,5 l Natronlauge (5 % m/m in Wasser) regeneriert und mit 1 l Wasser neutral gespült. Dauer des gesamten Zyklus: 7-8 h. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter Vakuum werden 33,44 g (32,7 %) Harzsäuren erhalten. Summe von Nichtadsorbiertem und Adsorbiertem beträgt 98,2 %.

4.5.3.9 Isolierung der Säurefraktion aus Weihrauchextrakt mit unbekanntem Säuregehalt mittels IRA-900 (EtOH/Et₂O als Lösungsmittel)

100 g Amberlite IRA-900 (Cl-Form, feucht) werden in einer Glassäule (2,5 cm ID) mit 2 l Kalilauge (5 % m/m) in die OH-Form überführt, mit 1,5 l Wasser neutral gewaschen und mit 0,5 l Ethanol konditioniert.

Der Weihrauchharz-Rohextrakt (max. 132 mmol Harzsäuren entsprechend 35,2 g Harzsäuren mit $M_r \approx 400 \text{ g mol}^{-1}$) wird in einer Mischung von Diethylether und Ethanol (ca. 4:1-1:1 v/v) solange aufgetragen, bis im Eluat keine Säuren mehr nachweisbar sind (Uhrglasprobe, evtl. nach Extraktion des Eluats mit 1 N Kalilauge). Die Elution von Neutralbestandteilen erfolgt mit Ethanol und Diethylether jeweils solange, bis keine Verbindungen mehr vom Ionenaustauscher eluiert werden (Uhrglasprobe). Die Säuren werden mit Essigsäure in Diethylether (10 % v/v) eluiert, die Vollständigkeit der Elution wird mit der Uhrglasprobe überprüft. Nach vollständiger Elution der Säurebestandteile wird der Ionenaustauscher mit 0,25 l Methanol und 2,0 l 5 %iger Kalilauge regeneriert.

4.5.3.10 Isolierung der Harzsäuren aus dem Weihrauchextrakt mittels IRA-900 unter maximaler Ausnutzung der Kapazität (EtOH/Et₂O als Lösungsmittel)

100 g Amberlite IRA-900 (Cl-Form, feucht) werden in einer Glassäule (2,5 cm ID) mit 2 l 5 %iger Kalilauge (m/m) in die OH-Form überführt, mit 1,5 l Wasser neutral gespült und mit 0,5 l Ethanol konditioniert. Der Diethylether-Extrakt aus der Soxhlet-Extraktion (80 g in 200 ml Ethanol) wird aufgegeben und nach vollständiger Probenaufgabe übernacht stehen gelassen; am folgenden Tag wird das Eluat noch viermal erneut aufgegeben, um die Adsorption der Säuren zu maximieren. Die Elution nicht-saurer Bestandteile erfolgt nacheinander mit 3 l Ethanol, 0,75 l Diethylether und erneut 0,5 l Ethanol (zum Rekonditionieren für die Elution der Säuren). Die Säuren werden mit 1,5 l 10 %iger Essigsäure in Diethylether eluiert. Die Vollständigkeit der Elution wird durch zusätzliche Elution mit weiteren 0,5 l Essigsäure in Diethylether überprüft: Nach Abrotieren des Lösungsmittels sind keine Säuren vorhanden. Der Ionenaustauscher wird durch Spülen mit 0,25 l Methanol, 2 l 5 %iger Kalilauge und Neutralspülen mit Wasser regeneriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels unter Vakuum werden 42,75 g Säurefraktion erhalten.

4.5.4 Isolierung und Partialsynthese von Boswelliasäuren und deren Derivaten

4.5.4.1 Isolierung von 3-OH-LupA **28**, α -BA **3** und β -BA **1** aus der deacetylierten Säurefraktion von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*)

Die genannten Verbindungen werden mittels präparativer HPLC aus der deacetylierten und per FC vorgereinigten Säurefraktion aus dem Harz von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) isoliert.

3 α -Hydroxy-lup-20(29)ensäure (3-OH-LupA) **28**: Die Verbindung wurde nach der Standardvorschrift acetyliert (Kap. 4.5.4.2) und das durch Kristallisation aus Methanol gereinigte 3-Acetyl-Derivat 3-Ac-LupA **29** mit den Literaturangaben^[50, 96] verglichen.

DC: auf keinem DC-System von α -BA **3** und β -BA **1** zu trennen, R_F-Werte siehe dort.

HPLC: R_t = 6,76 min (1,2 ml x min⁻¹ Methanol:0,1 % TFA 99:1, System 3, „Beckman, analytisch“ mit Saphir 110 C18 als stationäre Phase).

¹H-NMR (CDCl₃, 500,13 MHz) und **¹³C-NMR** (CDCl₃, 90,56 MHz) und Vergleich mit Literaturwerten: siehe Tab. 27 auf S. 128

UV: Absorptionsmaximum bei 210 nm.

MS (EI) (70 eV, 230 °C): m/z = 498 (100, M⁺), 483 (25, [M-CH₃]⁺), 455 (7), 438 (20), 423 (14), 388 (19), 327 (15), 306 (11), 280 (22), 246 (27), 236 (20), 218 (97), 203 (48), 189 (53), 175 (46), 162 (36), 147 (49), 133 (47), 121 (92), 109 (87), 95 (80), 82 (62), 69 (36), 55 (35), 40 (28).

HRMS: berechnet: 498,37091 für C₃₂H₅₀O₄; gefunden: 498,37091

Tab. 27: Vergleich der ^{13}C - und ^1H -NMR-Verschiebungen von 3-Ac-LupA **29** mit Literaturangaben.^[96]

Atom	^{13}C -NMR-Verschiebungen		^1H -NMR-Verschiebungen	
	Belsner <i>et al.</i> ^[96]	Eigene Daten	Belsner <i>et al.</i> ^[96]	Eigene Daten
1	34.41	34.42	1.07 ; 1.48	1.05 ; 1.52-1.47 (3H,m)
2	23.72	23.73	2.10 ; 1.58	2.09 ; 1.60
3	73.48	73.35	5.25	5.27 (1H, t, $J = 2.7$ Hz)
4	46.70	46.77	–	–
5	50.48	50.54	1.37	1.40-1.36
6	19.53	19.54	1.84 ; 1.62	1.87-1.81 ; 1.67-1.66
7	34.08	34.12	~1.40	1.40-1.36
8	40.81	40.86	–	–
9	49.68	49.74	1.31	1.36-1.24
10	37.66	37.70	–	–
11	21.08	21.12	1.42 ; 1.21	~1.43 ; ~1.21
12	25.19	25.24	1.06 ; 1.68	~1.06 ; ~1.68
13	38.02	38.07	1.64	1.67-1.65
14	42.92	42.95	–	–
15	27.43	27.47	1.66	1.67-1.65
16	35.56	35.59	1.36 ; 1.46	1.36-1.24 ; 1.52-1.47
17	43.03	43.04	–	–
18	48.25	48.30	1.36	1.36-1.24
19	47.95	47.97	2.36	2.38 (1H, m)
20	150.92	150.9	–	–
21	29.85	29.89	1.90 ; 1.31	2.00-1.81 ; 1.36-1.24
22	39.98	40.00	1.37 ; 1.17	1.40-1.36 ; 1.19
23	23.67	23.66	1.18	1.21
24	181.26	181.7	–	–
25	13.41	13.42	0.76	0.79
26	15.98	15.92	1.04	~1.06
27	14.64	14.66	0.97	0.98
28	18.01	18.03	0.78	0.80
29	109.33	109.3	4.55 (e) 4.67 (z)	4.57 (e), $J = 1.8$ Hz 4.69 (z), $J = 2.5$ Hz
30	19.30	19.32	1.65	–
31	170.4	170.3	–	–
32	21.36	21.31	2.07	2.09 (3H, s)

α -Boswelliasäure **3**:

DC: auf keinem DC-System von β -BA zu trennen, R_f -Werte s. dort

HPLC: $R_t = 11,78$ min (1,5 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 95:5; System 3, „Beckman analytisch“), 31,00 min (12,0 ml x min⁻¹ Methanol:0,1 % TFA 95:5; System 2, „Varian präparativ analytisch“), alle Werte mit Saphir 110 C18 als stationäre Phase.

¹H-NMR (CDCl₃, 500.13 MHz): δ = 5.19 (t, J = 3.2 Hz, 1H, H-12), 4.08 (t, J = 2,7 Hz, 1H, H-3), 2.21 (tm, J = 14.6 Hz, 1H, H-2 β), 2.02-1.93 (m, 2H, H-16 α , H-18), 1.89-1.87 (m, 2H, H-11 α , H-11 β), 1.85-1.73 (m, 2H, H-6 β , H-15 β), 1.71-1.62 (m, 3H, H-6 α , H-19 β , H-9), 1.58 (dm, J = 14.8 Hz, 1H, H-2 α), 1.54-1.44 (m, 3H, H-7 α , H-5, H-1 β), 1.44-1.42 (m, 1H, H-22 α), 1.40-1.38 (m, 1H, H-7 β), 1.35 (m, 3H, H-23), 1.33-1.25 (m, 2H, H-1 α , H-22 β), 1.21 (dt, J = 13.4 Hz, 3.2 Hz, 1H, H-21 α), 1.15 (s, 3H, H-27), 1.12-1.07 (m, 1H, H-21 β), 1.03-0.96 (m, 5H, H-19 α , H 15 α , H-26), 0.88-0.86 (m, 9H, H-25, H-29, H-30), 0.83 (s, 3H, H-28), 0.82-0.78 (m, 1H, H-16 β) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 90.56 MHz): δ = 183,1 (C-24, COOH), 145,2 (C-13, $\text{H}>\text{C}=\text{C}<$), 121,8 (C-12, $\text{H}>\text{C}=\text{C}<$), 70,79 (C-3, $\text{HO}>\text{CH}<$), 49,16 (C-5, $>\text{CH}<$), 47,45 (C-4, $>\text{C}<_{\text{COOH}}$), 47,36 (C-18, $>\text{CH}<$), 46,82 (C-9C-19, CHCH₂), 41,95 (C-14, $>\text{C}<$), 39,87 (C-8, $>\text{C}<$), 37,61 (C-10, $>\text{C}<$), 37,16 (C-22, -CH₂-), 34,76 (C-21, -CH₂-), 33,66 (C-1, -CH₂-), 33,32 (C-29, -CH₃), 32,82 (C-7, -CH₂-), 32,54 (C-17, $>\text{C}<$), 31,08 (C-20, $>\text{C}<$), 28,43 (C-28, -CH₃), 27,00 (C-16, -CH₂-), 26,22 (C-2, -CH₂-), 26,08 (C-15, -CH₂-), 25,95 (C-27, -CH₃), 24,14 (C-23, -CH₃), 23,68 (C-30, -CH₃), 23,57 (C-11, -CH₂-), 19,75 (C-6, -CH₂-), 16,78 (C-26, -CH₃), 13,10 (C-25, -CH₃) ppm.

IR: ν = 2970 (s), 2949 (s), 2924 (s), 2874 (s), 2853 (s), 1702 (s), 1696 (s), 1682 (s), 1674 (m), 1657 (m), 1644 (m), 1633 (m), 1362 (m), 1454 (m), 1380 (m), 1362 (m), 1246 (m), 1234 (m), 1216 (m) cm⁻¹.

UV: Absorptionsmaximum bei 210 nm.

MS (EI) (70 eV, 175 °C): m/z = 456 (9, M⁺), 441 (3, [M-CH₃]⁺), 238 (16, [RDA II]⁺), 218 (100, [RDA I]⁺), 203 (28, [RDA II-CH₃]⁺), 189 (9, [RDA II-C₂H₅]⁺), 133 (8, [203-C₅H₁₀]⁺), 95 (10), 40 (15).

HRMS (EI): berechnet: 456,36035 für C₃₀H₄₈O₃; gefunden: 456,36022.

$[\alpha]_D^{20}$ = 62,0 (0,57; CHCl₃), Lit.: +80 (0,80; CHCl₃)^[50].

β -Boswelliasäure **1** siehe unter Punkt 4.5.4.15 (S. 137).

4.5.4.2 Acetylierung von α -BA **3** zu α -ABA **4**

51,0 mg α -BA **3** (112 μ mol) werden in einem 4 ml-Schraubdeckelglas in 500 μ l DCM gelöst, nacheinander mit 30,0 μ l abs. Pyridin (29,34 mg, 371 μ mol; 3,7 Äq.), 20,0 μ l Acetanhydrid (21,64 mg, 212 μ mol, 2,1 Äq.) und 2,0 mg DMAP (16,4 μ mol; 0,16 Äq.) versetzt und im verschlossenen Schraubdeckelglas bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsverfolgung erfolgt per DC nach 1, 2, 3 und 4 h auf Kieselgel (Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc) und RP-Kieselgel (MeOH). Nach 3 h ist noch keine vollständige Umsetzung zu beobachten; es werden weitere 20 μ l Acetanhydrid (21,64 mg, 212 μ mol; 2,1 Äq.) und 2 mg DMAP (16,4 μ mol; 0,16 Äq.) zugesetzt. Nach 4,5 h wird aufgearbeitet: Die Reaktionsmischung wird mit ca. 2 ml DCM verdünnt, im Scheidetrichter mit ca. 5 Volumina kalter verdünnter HCl ausgeschüttelt und die wässrige Phase mit 3 x 5 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet (10 min), abfiltriert und am Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Rohausbeute: 56,9 mg. Nach Flash-Chromatographie an Kieselgel (Pentan:Et₂O 2:1 + 1 %

HOAc; 1,5 cm-Säule, 20 ml (2 SV) Vorlauf, 1 ml-Fractionen) werden 48,2 mg α -ABA **4** erhalten (96,6 μ mol, 86,3 % d. Th. auf α -ABA **4** bezogen).

DC: Auf keinem DC-System von β -ABA **2** und 3-Ac-LupA **29** zu trennen, R_f -Werte s. dort.

HPLC: $R_t = 7,87$ min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 99:1, System 3, "System Beckman analytisch"), 36,84 min (12,0 ml x min⁻¹ MeOH + 0,1 % TFA, System 2, "System Varian präparativ"), alle mit Saphir 110 C18 als stationäre Phase.

¹H-NMR (CDCl₃, 500.13 MHz): $\delta = 5.29$ (t, $J = 2.5$ Hz, 1H, H-3), 5.20 (t, $J = 3.4$ Hz, 1H, H-12), 2.13 (bt, $J = 3.0$ Hz, 1H, H-2 β), 2.09 (s, 3H, H-32), 2.00-1.93 (m, 2H, H-16 α , H-18), 1.89-1.87 (m, 2H, H-11 α , H-11 β), 1.85-1.75 (m, 2H, H-6 β , H-15 α), 1.73-1.68 (m, 2H, H6 α , H19 β), 1.65-1.61 (m, 2H, H-9, H-2 α), 1.55-1.30 (m, 6H, H-7 β , H-1 β , H-5, H-22 α , H-7 α , H-21 β), 1.25-1.23 (m, 4H, H-22 β , H-23), 1.21-1.17 (m, 4H, H-27, H-1 α), 1.10 (m, 1H, H-21 α), 1.06-0.99 (m, 5H, H-26, H-16 β , H-15 β), 0.89-0.87 (m, 9H, H-25, H-29 + H-30), 0.83 (bs, 3H, H-28) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 90.56 MHz): $\delta = 182.1$ (C-24, COOH), 170.3 (C-31, >C<), 145.0 (C-13, $\text{H}>\text{C}=\underline{\text{C}}<$), 121.8 (C-12, $\text{H}>\underline{\text{C}}=\text{C}<$), 73.27 (C-3, $\text{HO}>\text{CH}-$), 50.62 (C-5, >CH-), 47.38 (C-18, >CH-), 46.90 (C-19, -CH₂-), 46.82 (C-9, >CH-), 46.68 (C-4, >C<_{COOH}), 41.94 (C-14, >C<), 39.84 (C-8, >C<), 37.47 (C-10, >C<), 37.14 (C-22, -CH₂-), 34.76 (C-21, -CH₂-), 34.32 (C-1, -CH₂-), 33.31 (C-29, -CH₃), 32.78 (C-7, -CH₂-), 32.54 (C-17, >C<), 31.07 (C-20, >C<), 28.43 (C-28, -CH₃), 27.02 (C-16, -CH₂-), 26.12 (C-15, -CH₂-), 25.93 (C-27, -CH₃), 23.68 (C-23 + C-30, -CH₃), 23.58 (C-11 + C-2, -CH₂-), 21.27 (C-32, -CH₃), 19.64 (C-6, -CH₃), 16.78 (C-26, -CH₃), 13.10 (C-25, -CH₃) ppm.

IR: $\nu = 2971$ (s), 2948 (s), 2924 (s), 1742 (s), 1732 (s), 1716 (m), 1696 (s), 1694 (s), 1462 (m), 1454 (m), 1379 (bm), 1244 (bm), 1025 (m) cm⁻¹.

UV: Absorptionsmaximum bei 210 nm.

EI-MS (70 eV, 50-200 °C): $m/z = 498$ (6,96, M⁺), 483 (1,90, [M-CH₃]⁺), 280 (2,53, RDA I), 218 (100, [RDA II]⁺), 203 (28,5, [RDA II-CH₃]⁺), 189 (8,23, [RDA II-C₂H₅]⁺), 175 (6,33), 161 (4,43), 147 (3,80), 40 (10,8).

HRMS: berechnet: 498,37091 für C₃₂H₅₀O₅; gefunden: 498,37051

$[\alpha]_D^{20} = 101,9$ (0,92, CHCl₃).

4.5.4.3 Acetylierung der Säurefraktion aus dem Weihrauch

5,53 g Säurefraktion aus dem Weihrauchharz von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac OmI*; 12,1 mmol, ber. als β -BA **1** mit M_r 456,71) werden exakt in einen 25 ml-Zweihalskolben eingewogen und in 8 ml DCM gelöst. Zu dieser Lösung werden unter Rühren nacheinander 3,6 ml abs. Pyridin (3,52 g, 44,5 mmol; 3,67 Äq.) und 5,0 ml Acetanhydrid (5,41 g, 53,0 mmol; 4,38 Äq.) zuge tropft. Danach werden 237 mg DMAP (19 μ mol; 0,16 Äq.) zugegeben. Die Reaktion wird mittels DC auf Kieselgel verfolgt (Et₂O:Pentan 2:1 + 1 % HOAc). Die Reaktion ist nach 3 h beendet (es wird keine β -BA **1** mehr detektiert).

Die Reaktionsmischung wird zweimal mit je ca. 5 ml Salzsäure (ca. 1 N) ausgeschüttelt; die vereinigten wässrigen Phasen werden mit ca. 5 ml Dichlormethan ausgeschüttelt und die

Dichlormethanphase zur Reaktionsmischung gegeben. Nach Abrotieren des Lösungsmittels werden 5,77 g acetylierte Säurefraktion erhalten.

4.5.4.4 Deacetylierung von β -ABA **2** zu β -BA **1**

2,13 g β -ABA **2** (4,27 mmol) werden unter Rückfluss in 40 ml 1 N KOH in *i*PrOH gerührt. Die Reaktion wird mittels DC verfolgt (Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc auf Kieselgel oder MeOH auf RP-Kieselgel) und wie üblich aufbereitet: Die Reaktionsmischung wird nach beendeter Reaktion (2 h) mit HCl angesäuert, mit Wasser zum Lösen anorganischer Verbindungen versetzt und dreimal mit Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lsg. ausgeschüttelt, über MgSO₄ getrocknet und Diethylether am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt (1,935 g) wird per FC an Kieselgel getrennt (Pentan:Et₂O 5:1 + 1 % HOAc) und liefert 1,751 g β -BA **1** (3,83 mmol, 90 %).

4.5.4.5 Deacetylierung der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz

10,58 g Säurefraktion von *B. sacra* (Probe 2, *Bsac Om1*; 22,5 mmol bei mittlerem M_r von 498,75 u) werden in 100 ml *iso*-Propanol gelöst, mit 30 g KOH (536 mmol; 23,8 Äq.) versetzt und unter Rückfluss erhitzt (KOH löst sich erst in der Siedehitze vollständig). Die Reaktionskontrolle erfolgt mittels Dünnschicht-Chromatographie (Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc auf Kieselgel; Methanol auf RP-Kieselgel) gegen Edukt und Referenzsubstanzen von β -BA **1** und β -ABA **2**. Nach vollständiger Umsetzung (ca. 3 h) wird die auf Raumtemperatur abgekühlte Reaktionsmischung mit eiskalter HCl angesäuert; es entsteht ein voluminöser weißer Niederschlag. Die Suspension wird mit Wasser bis zur Lösung des Niederschlags versetzt (ca. 100 ml) und das *iso*-Propanol am Rotationsverdampfer am Vakuum fast vollständig entfernt. Die dabei entstehende Suspension wird in einem Gemisch aus Wasser und Diethylether gelöst und die beiden Phasen im Scheidetrichter getrennt. Nach viermaliger Extraktion der wässrigen Phase mit jeweils ca. 100 ml Diethylether werden die vereinigten organischen Phase mit Wasser neutral gewaschen, mit ges. NaCl-Lösung ausgeschüttelt, über MgSO₄ getrocknet (30 min) und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit (Wasserbadtemperatur max. 40 °C). Ausbeute: 7,12 g.

4.5.4.6 Photooxidation von β -ABA **2** zu β -AKBA **7**

Standardvorschrift: Zu einer Lösung von 125 mg β -ABA (25 μ mol) **2** in 10 ml peroxidfreiem Dioxan werden unter Rühren nacheinander 2,5 ml Wasser, 110 mg CaCO₃ und 125 mg NBS (70 μ mol, 2,8 Äq.) gegeben. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur heftig gerührt und dabei mit sichtbarem Licht (Energiesparlampe, 11 W) bestrahlt. Die Reaktionsverfolgung erfolgt auf Kieselgel (DCM:MeOH 30:1 oder Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc) und RP-Kieselgel (MeOH). Nach beendeter Reaktion (ca. 2-3 h) wird filtriert, mit gesättigter Natriumthiosulfat-Lsg. versetzt, Dioxan am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt mit Diethylether aus der wässrigen Phase extrahiert. Die Reinigung der β -AKBA **7** erfolgt mittels

FC an Kieselgel (Pentan:Et₂O 4:1 + 0,5 % HOAc) und dann über RP-Kieselgel (Methanol:Wasser 9:1).

4.5.4.7 Photooxidation der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz

Standardvorschrift bei Verwendung von Harz aus *B. sacra*: 25-30 g Säurefraktion werden in 2 l peroxidfreiem Dioxan gelöst, unter Rühren mit 200 ml Wasser, 21 g CaCO₃ und 24 g NBS versetzt und das Reaktionsgefäß mit Stickstoff geflutet. Die Reaktionsmischung wird unter Bestrahlung mit sichtbarem Licht (4-6 Energiesparlampen mit insges. 44-66 W) heftig gerührt; die Reaktionsverfolgung erfolgt mit DC auf Kieselgel (DCM:Methanol 30:1 oder Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc) und RP-Kieselgel (Methanol). Nach beendeter Reaktion (ca. 4-6 h) wird wie üblich aufgearbeitet. Das Reaktionsprodukt (brauner trockener Schaum) wird über FC an Kieselgel (Pentan:Et₂O 4:1 + 0,5 % HOAc) und dann über RP-Kieselgel (MeOH:Wasser 9:1) gereinigt. Das Methanol wird unter Vakuum entfernt und die verbleibende wässrige Phase mit DCM ausgeschüttelt (3 x 100 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet (MgSO₄), abfiltriert und am Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

4.5.4.8 Reduktion von β-KBA **6** bzw. β-AKBA **7** zu β-BA **1** bzw. β-ABA **2** mit NaBH₄/TFA

Standardvorschrift: 80 mg NaBH₄ (2,0 mmol, 5 Äq.) werden in 460 µl (684 mg, 6,0 mmol, 15 Äq.) TFA gelöst und unter Rühren und Kühlung (-10 °C) mit einer Lösung von 205 mg β-AKBA **7** (4 µmol) in 2,5 ml DCM versetzt. Die Reaktion wird per DC verfolgt (Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc auf Kieselgel und MeOH:Wasser 90:10 auf RP-Kieselgel) und die Temperatur nach ausbleibender Reaktion bis auf Raumtemperatur erhöht. Nach beendeter Reaktion wird mit NaHCO₃-Lsg. neutralisiert, die wässrige Phase mehrmals mit DCM extrahiert, die organischen Phasen mit Wasser gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und am Rotationsverdampfer von DCM befreit. Die weitere Reinigung des Produktes erfolgt über FC (mobile und stationäre Phasen wie bei der Reaktionsverfolgung).

Ausbeuten mit anderen Lösungsmittel, Reduktionsmittelmengen und bei anderen Temperaturen siehe Tab. 16 (S. 88).

4.5.4.9 Reduktion von β-KBA **6** und β-AKBA **7** mit Et₃SiH/BF₃Et₂O

Standardvorschrift: 64 mg β-AKBA **7** (125 µmol) werden in 399 µl (291 mg, 2,5 mmol, 20 Äq.) Triethylsilan suspendiert und mit 628 µl (710 mg, 5,0 mmol, 40 Äq.) BF₃Et₂O versetzt. Die Reaktionsmischung wird unter heftigem Rühren bei 80-85 °C im verschlossenen Schraubdeckelglas erhitzt. Die Reaktion wird per DC verfolgt (Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc auf Kieselgel und MeOH:Wasser 90:10 auf RP-Kieselgel). Nach beendeter Reaktion wird mit NaHCO₃-Lsg. neutralisiert, die wässrige Phase mehrmals mit DCM extrahiert, die organischen Phasen mit Wasser gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und am Rotationsverdampfer entfernt. Die weitere Reinigung des Produktes erfolgt über FC (mobile und stationäre Phasen wie bei der Reaktionsverfolgung).

Ausbeuten mit anderen Lösungsmitteln, Reduktionsäquivalenten und bei anderen Temperaturen siehe Tab. 17 (S. 88) für β -AKBA **7** und Tab. 18 (S. 90) für β -KBA **6**.

4.5.4.10 Partialsynthese von 3,24- β -Boswelliadiol **16** durch Reduktion von β -KBA **6** mit $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Die Verbindung wird als Nebenprodukt bei allen Ansätzen zur Reduktion von β -KBA **6** mit $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ als weißer Feststoff erhalten; Standardvorschrift siehe Kap. 4.5.4.9.

DC: $R_f = 0,25$ (SiO_2 , Et_2O :Pentan 2:1 + 1 % HOAc).

HPLC: $R_t = 16,68$ min (System 3 („Beckman analytisch“) mit Saphir-Material; 1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 99:1).

Smp.: 177-179 °C, Lit.: 185 °C,^[359] 184-185 °C (MeOH),^[336] 183-185 °C (Methanol/Wasser),^[38] 182-184 °C (MeOH), 180 °C (Petrolether/EtOAc).^[103]

¹H-NMR (CDCl_3 , 500.13 MHz): $\delta = 5.12$ (t, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-12), 3.87 (t, $J = 3.2$ Hz, 1H, H-3), 3.73 (d, $J = 11.1$ Hz, 1H, H-24“ β “), 3.53 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H, H-24“ α “^[360]), 1.99 (td, $J = 13.3, 4.8$ Hz, 1H, H-16 α), 1.95-1.86 (m, 3H, H-11 α , H-11 β , H-2 β), 1.81 (td, $J = 13.6$ Hz, 5.0 Hz, 1H, H-15 β), 1.68-1.49 (m, 4H, H-9, H-2 α , H 7 α , H-6 β), 1.43-1.39 (m, 3H, H-1 β , H-22 α , H 21 α), 1.37-1.34 (m, 3H, H-5, H-6 α , H 7 β), 1.33-1.29 (m, 2H, H-18, H-19), 1.28-1.25 (m, 2H, H-22 β , H-21 β), 1.09 (s, 3H, H-23), 1.081 (s, 3H, H-27), 0.98 (bs, 4H, H-26, H-15 α), 0.93 (s, 3H, H-25), 0.91 (bd, $J = 6.0$ Hz, 4H, H-30, H-20), 0.87 (bd, $J = 2.6$ Hz, 1H, H-1 α), 0.85-0.84 (m, 1H, H-16 β), 0.79 (s, 3H, H-28), 0.78 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-29) ppm.

¹³C-NMR (CDCl_3 , 90.56 MHz): $\delta = 139.49$ (C-13, $\text{H}>\text{C}=\underline{\text{C}}<$), 124.3 (C-12, $\text{H}>\underline{\text{C}}=\text{C}<$), 70.68 (C-3, $\text{HO}>\text{CH}-$), (66.58 (C-24, $-\text{CH}_2-$), 59.00 (C-18, $>\text{CH}-$), 49.53 (C-5, $>\text{CH}-$), 47.63 (C-9, $>\text{CH}-$), 42.69 (C-4, $>\text{C}<$), 42.07 (C-14, $>\text{C}<$), 41.48 (C-22 CH_2-), 40.08 (C-8, $>\text{C}<$), 39.63 (C-19, $>\text{CH}-$), 39.56 (C-20, $>\text{CH}-$), 36.69 (C-10, $>\text{C}<$), 33.71 (C-17, $>\text{C}<$), 33.49 (C-1, CH_2-), 33.11 (C-7, $-\text{CH}_2-$), 31.23 (C-21, $-\text{CH}_2-$), 28.73 (C-28, $-\text{CH}_3$), 28.04 (C-16, $-\text{CH}_2-$), 26.51 (C-15, $-\text{CH}_2-$), 25.23 (C-2, $-\text{CH}_2-$), 23.38 (C-11, $-\text{CH}_2-$), 23.32 (C-27, $-\text{CH}_3$), 21.65 (C-23, $-\text{CH}_3$), 21.39 (C-30, $-\text{CH}_3$), 18.55 (C-6, $-\text{CH}_2-$), 17.43 (C-29, $-\text{CH}_3$), 16.70 (C-26, $-\text{CH}_3$), 16.11 (C-25, $-\text{CH}_3$) ppm.

IR: 3060 (s), 2986 (s), 2685 (m), 2521 (w), 2410 (w), 2305 (m), 1711 (m), 1550 (w), 1421 (s), 1260,0 (s), 1156 (m), 896 (s), 762 (s).

UV: Absorptionsmaximum bei 210 nm.

EI-MS (70 eV, 100-200 °C): $m/z = 442$ (5, M^+), 424 (<1, $\text{M} - \text{H}_2\text{O}^+$), 409 (1, $[424 - \text{CH}_3]^+$), 272 (13), 224 (13, RDA I), 218 (100, RDA II), 206 (15, $[\text{RDA I} - \text{H}_2\text{O}]^+$), 203 (15, $[\text{RDA II} - \text{CH}_3]^+$), 189 (11, $[\text{RDA II} - \text{C}_2\text{H}_5]^+$), 175 (17), 135 (11), 133 (10, $[\text{RDA II} - \text{C}_5\text{H}_{10}]^+$), 121 (11, aus RDA II), 109 (11, aus RDA II), 95 (13, aus RDA II), 40 (11,4, aus RDA II).

HRMS: berechnet: 442,38107 für $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$; gefunden: 442,38173.

$[\alpha]_D^{20} = 71,1$ (0,25; CHCl_3), Lit.: +69 (5,7; CHCl_3),^[336] +73 (1,9; CHCl_3)^[38] 74,1 (1,43; CHCl_3).^[244]

4.5.4.11 Partialsynthese von 3-EtO- β -BA **56** durch Reduktion von β -AKBA **7** mit $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Die Verbindung wird als Nebenprodukt bei allen Ansätzen zur Reduktion von β -AKBA **7** mit $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ als weißer Feststoff erhalten; Standardvorschrift siehe Kap. 4.5.4.9.

DC: $R_f = 0,71$ (SiO_2 , Et_2O :Pentan 2:1 + 1 % HOAc), 0,04 (RP- SiO_2 , MeOH:Wasser 95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500.13 MHz): $\delta = 5.13$ (t, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-12), 3.60 (dq, $J = 9.6$ Hz, 7.0 Hz, 1H, H-31), 3.55 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H, H-3), 3.34 (dq, $J = 9.6$ Hz, 7.0 Hz, 1H, H-31), 2.00 (td, $J = 13.4$ Hz, 4.7 Hz, 1H, H-16 α), 1.96-1.89 (m, 4H, H-11 α , H-2 β , H-11 β , H-15 β), 1.86-1.76 (m, 1H, H-6 β), 1.70-1.66 (m, 2H, H-2 α , H-6 α), 1.60-1.52 (m, 2H, H-9, H-7 α), 1.49 (dd, $J = 12.3$ Hz, 2.2 Hz, 1H, H-5), 1.44-1.33 (m, 6H, H-22 α , H-21 α , H-1 β , H-7 β , H-18, H-19), 1.31 (s, 3H, H-23), 1.29-1.25 (m, 3H, H-22 β , H-1 α , H-21 β), 1.17 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-32), 1.09 (s, 3H, H-27), 1.03 (s, 3H, H-26), 1.00 (dm, 11.0 Hz, 1H, H-15 α), 0.92 (bs, 3H, H-20), 0.91 (s, 3H, H-30), 0.89 (s, 3H, H-25), 0.86 (dm, $J = 11.1$ Hz, 1H, H-16 β), 0.80 (s, 3H, H-28), 0.79 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-29) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 90.56 MHz): $\delta = 184.0$ (C-24, COOH), 139.5 (C-13, $>\text{C}<$), 124.7 (C-12, $\text{H}>\text{C}=\text{C}<$), 77.82 (C-3, $\text{HO}>\text{CH}<$), 64.68 (C-31, $-\text{CH}_2\text{-O}<$), 59.24 (C-18, $>\text{CH}<$), 49.63 (C-5, $>\text{CH}<$), 47.84 (C-4, $>\text{C}<$), 46.69 (C-9, $>\text{CH}<$), 42.33 (C-14, $>\text{C}<$), 41.58 (C-22, $-\text{CH}_2-<$), 40.08 (C-8, $>\text{C}<$), 39.75 (C-19, $>\text{CH}<$), 39.65 (C-20, $>\text{CH}<$), 37.47 (C-10, $>\text{C}<$), 34.33 (C-1, $-\text{CH}_2-<$), 33.82 (C-17, $>\text{C}<$), 33.08 (C-7, $-\text{CH}_2-<$), 31.30 (C-21, $-\text{CH}_2-<$), 28.81 (C-28, $-\text{CH}_3$), 28.18 (C-16, $-\text{CH}_2-<$), 26.57 (C-15, $-\text{CH}_2-<$), 23.98 (C-23, $-\text{CH}_3$), 23.46 (C-11, $-\text{CH}_2-<$), 23.34 (C-27, $-\text{CH}_3$), 21.98 (C-2, $-\text{CH}_2-<$), 21.38 (C-30, $-\text{CH}_3$), 19.69 (C-6, $-\text{CH}_2-<$), 17.47 (C-29, $-\text{CH}_3$), 16.91 (C-26, $-\text{CH}_3$), 15.55 (C-32, $-\text{CH}_3$), 13.50 (C-25, $-\text{CH}_3$) ppm.

IR: $\nu = 3387$ (bs), 2973 (s), 2946 (s), 2922 (s), 2869 (s), 2856 (s), 1455 (m), 1378 (m), 1030 (m), 1029 (m) cm^{-1} .

UV: Absorptionsmaximum bei 210 nm.

MS (EI) (70 eV, 160 °C): $m/z = 484$ (9, M^+), 469 (1, $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$), 266 (18, RDA I), 218 (100, RDA II), 203 (11, $[\text{RDA II}-\text{CH}_3]^+$), 189 (12, $[\text{RDA II}-\text{C}_2\text{H}_5]^+$), 136 (12), 135 (11,4), 133 (9, $[\text{203}-\text{C}_5\text{H}_{10}]^+$), 121 (13), 109 (11), 95 (15), 40 (41).

HRMS (EI): berechnet: 484,39163 für $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_3$; gefunden: 484,39160.

$[\alpha]_D^{20} = 77,5$ ($c = 1,48$, CHCl_3), +83,4 (1,21, CHCl_3).

4.5.4.12 Reduktion von β -KBA **6** zu β -BA **1** mit Li/HMPA/*t*BuOH

Standardvorschrift: 118 mg β -KBA **6** (0,25 mmol) werden mit 4 mg Li (580 μmol , 2,3 Äq.) versetzt; das Reaktionsgefäß wird mit Stickstoff geflutet. Mit einer Spritze werden nacheinander 1,05 ml trockenes HMPA und 26 μl *t*BuOH zugegeben und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur gerührt. Nach 15 min wird eine intensive Blaufärbung beobachtet, die nach 3-4 h verschwindet. Die Reaktionsmischung wird mit 1,5 ml eiskalter 1 N HCl angesäuert und mit 3 x 0,5 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zur Entfernung von HMPA-Resten wiederholt mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrock-

net und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es wird eine orangebraune Masse von ölicher Konsistenz erhalten, die mittels FC aufgereinigt wird (1: Pentan:Et₂O 4:1 + 0,5 % HOAc auf Kieselgel; 2: MeOH:Wasser 9:1 auf RP-Kieselgel). Nach Entfernen des Methanols wird die wässrige Phase mit 3 x 1,5 ml DCM extrahiert und das Lösungsmittel nach Trocknen über MgSO₄ am Rotationsverdampfer entfernt.

4.5.4.13 Reduktion der Säurefraktion aus dem Weihrauchharz mit Li/HMPA/*tert.*-Butanol

Standardvorschrift: Ca. 20-25 g Säurefraktion aus dem Weihrauchharz werden mit 765 mg Lithiumpulver (0,11 mol) versetzt; das Reaktionsgefäß wird mit Stickstoff geflutet. Mit einer Spritze werden nacheinander 200 ml trockenes HMPA und 5 ml *t*BuOH zugegeben und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur gerührt. Nach 15 min wird eine intensive Blaufärbung beobachtet, die nach 3-4 h verschwindet. Die Reaktionsmischung wird mit 300 ml eiskalter 1 N HCl versetzt und mit 3 x 100 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zur Entfernung von HMPA-Resten wiederholt mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es wird eine orangebraune Masse von ölicher Konsistenz erhalten, die mittels FC aufgereinigt wird (1: Pentan:Et₂O 4:1 + 0,5 % HOAc auf Kieselgel; 2: MeOH:Wasser 9:1 auf RP-Kieselgel). Nach Entfernen des Methanols wird die wässrige Phase mit 3 x 100 ml DCM extrahiert und das Lösungsmittel nach Trocknen über MgSO₄ am Rotationsverdampfer entfernt.

4.5.4.14 Fokussierende Synthese von β -AKBA **7** ausgehend von der Säurefraktion des Weihrauchharzes

25 g der Säurefraktion aus dem Harz von *B. sacra* (Probe 3, *BSac Om1*) werden in 30 ml DCM gelöst und nacheinander unter Rühren 16 ml Pyridin (15,8 g, 0,2 mol), 12,5 ml Essigsäureanhydrid (12,5 g, 0,18 mol) und 3 g 4-DMAP (25 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wird unter leichtem Rückfluss erhitzt und die Reaktion mittels DC auf Kieselgel (DCM:MeOH 30:1 oder Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc) und RP-Kieselgel (MeOH) verfolgt. Nach beendeter Reaktion (ca. 4 h) wird die Mischung mit eiskalter 1 N HCl (ca. 300 ml) gequenchet und die wässrige Phase mit 3 x 100 ml Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es werden 28 g acetylierte Säurefraktion als orangebrauner trockener Schaum erhalten, der für den folgenden Reaktionsschritt in 2 l peroxidfreiem Dioxan gelöst wird. Nacheinander werden unter Rühren 200 ml Wasser, 21 g CaCO₃ und 24 g NBS zugegeben und das Reaktionsgefäß mit Stickstoff geflutet. Die Reaktionsmischung wird unter Bestrahlung mit sichtbarem Licht (4-6 Energiesparlampen mit insges. 44-66 W) heftig gerührt; die Reaktionsverfolgung erfolgt mit den beim ersten Reaktionsschritt genannten DC-Systemen. Nach beendeter Reaktion (ca. 6 h) wird filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum am Rotationsverdampfer entfernt. Das Reaktionsprodukt (brauner trockener Schaum) wird zunächst über FC an Kieselgel (Pentan:Et₂O 4:1 + 0,5 % HOAc) und dann über RP-Kieselgel gereinigt (Methanol:Wasser 9:1). Das Methanol wird unter Vakuum entfernt und die verbleibende wässrige Phase mit 3 x 100 ml DCM ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden

getrocknet (MgSO_4), abfiltriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Ausbeute: 8,9 g β -AKBA mit einer Reinheit von >98 % (HPLC, $^1\text{H-NMR}$).

DC: $R_f = 0,16$ (SiO_2 , DCM:Methanol 30:1); 0,45 (SiO_2 , DCM:MeOH 15:1); 0,33 (SiO_2 , Pentan:EtOAc:MeOH 10:2:1); 0,48 (SiO_2 , Et_2O :Pentan 1:1 + 1 % HOAc); 0,58 (SiO_2 , Et_2O :Pentan 2:1 + 1 % HOAc); 0,78 (SiO_2 , Et_2O :Pentan 5:1 + 1 % HOAc); 0,25 (SiO_2 , Pentan: Et_2O 2:1 + 1 % HOAc); 0,18 (SiO_2 , Pentan: Et_2O 3:1 + 1 % HOAc); 0,12 (SiO_2 , Pentan: Et_2O 4:1 + 1 % HOAc); 0,07 (SiO_2 , Pentan: Et_2O 5:1 + 1 % HOAc); 0,33 (RP- SiO_2 , MeCN); 0,01 (RP- SiO_2 , MeCN:Wasser 1:1); 0,08 (RP- SiO_2 , MeCN:Wasser 7:3); 0,32 (RP- SiO_2 , MeCN:Wasser 9:1); 0,53 (RP- SiO_2 , MeOH); 0,06 (RP- SiO_2 , MeOH:Wasser 8:2); 0,10 (RP- SiO_2 , MeOH:Wasser 85:15); 0,22 (RP- SiO_2 , MeOH:Wasser 9:1); 0,37 (RP- SiO_2 , MeOH:Wasser 95:5); 0,50 (RP- SiO_2 , MeOH:Wasser 97:3).

HPLC: $R_t = 6,41$ min ($1,0$ ml x min^{-1} MeOH:0,1 % TFA 95:5), 6,62 min ($1,5$ ml x min^{-1} MeOH:0,1 % TFA 99:1), 27,12 min (Gradient 1), 7,78 min (Gradient 2), 9,12 min (Gradient 3), 8,47 min (Gradient 4), 6,23 min (Gradient 5), 9,01 min (Gradient 6), 8,34 min (Gradient 7), 14,34 min (Gradient 8), 16,53 min (Gradient 9), 18,67 min (Gradient 10), 18,65 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 78:22), 15,81 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 80:20), 11,62 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 85:15), 8,48 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 90:10), 6,42 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 95:5), 5,67 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 99:1), alle auf System 3 „System Beckman, analytisch“; 20,99 min (Gradient 22), 31,86 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeOH:0,1 % TFA 80:20), 14,81 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeOH:0,1 % TFA 85:15), 11,57 min ($1,2$ ml x min^{-1} MeOH:0,1 % TFA 90:10, alle auf System 1, „System Varian, analytisch“), alle Werte mit Saphirmaterial als stationärer Phase

Smp.: 271-274 °C (Zersetzung), Lit.: 271 °C;^[41] 275-276 °C.^[361]

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500.13 MHz): $\delta = 5.56$ (s, 1H, H-12), 5.32 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H, H-3), 2.56 (dt, $J = 2$ Hz, 3.5 Hz, 1H, H-1 β), 2.41 (s, 1H, H-9), 2.24 (tdd, $J = 14.3$ Hz, 4.4 Hz, 2.7 Hz, 1H, H-2 β), 2.10 (td, $J = 13.6$ Hz, 4.9 Hz, 1H, H-16 α), 2.09 (s, 3H, H-32), 1.96-1.84 (m, 2H, H-15 β , H-6 β), 1.74 (dq, $J = 14.2$ Hz, 3.6 Hz, 1H, H-6 α), 1.68 (td, $J = 13.1$ Hz, 4.0 Hz, 1H, H-7 α), 1.61 (dq, $J = 15.4$ Hz, 3.2 Hz, 1H, H-2 α), 1.56 (dd, $J = 11$ Hz, 1.7 Hz, 1H, H-18), 1.52-1.43 (m, 3H, H-7 β , H-21 α , H-22 α), 1.41 (dd, $J = 12.3$ Hz, 2.1 Hz, 1H, H-5), 1.42-1.40 (m, 1H, H-19), 1.35 (s, 3H, H-27), 1.32-1.26 (m, 2H, H-21 β , H-22 β), 1.24 (s, 3H, H-23), 1.21 (m, 1H, H-1 α), 1.20 (m, 1H, H-15 α), 1.20 (s, 3H, H-26), 1.15 (s, 3H, H-25), 1.02 (ddt, $J = 13.6$ Hz, 5.0 Hz, 2.0 Hz, 1H, H-16 β), 0.99-0.93 (m, 1H, H-20), 0.95 (bd, $J = 2.4$ Hz, 3H, H-30), 0.83 (s, 3H, H-28), 0.81 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-29) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 90.56 MHz): $\delta = 199.2$ (C-11, C=O), 182.0 (C-24, COOH), 170.2 (C-31, C=O(Acetyl)), 164.9 (C-13, $\text{H}>\text{C}=\text{C}<$), 130.5 (C-12, $\text{H}>\text{C}=\text{C}<$), 73.1 (C-3, $\text{HO}>\text{CH}-$), 60.3 (C-9, $>\text{CH}-\text{CO}-$), 59.1 (C-18, $>\text{CH}-$), 50.5 (C-5, $>\text{CH}-$), 46.5 (C-4, $>\text{C}<$), 45.1 (C-8, $>\text{C}<$), 43.8 (C-14, $>\text{C}<$), 40.9 (C-22; $-\text{CH}_2-$), 39.3 (C-19; $>\text{CH}-$), 39.2 (C-20, $>\text{CH}-$), 37.4 (C-10, $>\text{C}<$), 34.6 (C-1, $-\text{CH}_2-$), 34.0 (C-17, $>\text{C}<$), 32.9 (C-7, $-\text{CH}_2-$), 30.9 (C-21, $-\text{CH}_2-$), 28.8 (C-28, $-\text{CH}_3$), 27.5 (C-16, $-\text{CH}_2-$), 27.2 (C-15, $-\text{CH}_2-$), 23.8 (C-23, $-\text{CH}_3$), 23.5 (C-2, $-\text{CH}_2-$), 21.3 (C-32, $-\text{CH}_3(\text{acetyl})$), 21.1 (C-30, $-\text{CH}_3$), 20.5 (C-27, $-\text{CH}_3$), 18.7 (C-6, $-\text{CH}_2-$), 18.4 (C-26, $-\text{CH}_3$), 17.3 (C-29, $-\text{CH}_3$), 13.2 (C-25, $-\text{CH}_3$) ppm.

IR: $\nu = 3019$ (m), 2981 (s), 2929 (s), 2870 (m), 2623 (w, breit), 1735 (s), 1695 (s), 1654 (s), 1616 (w), 1456 (m), 1412 (w), 1388 (m), 1379 (m), 1354 (w), 1321 (w), 1252 (s), 1212 (w), 1201 (m), 1190 (m), 1177 (m), 1144 (w), 1127 (w), 1109 (w), 1080 (w), 1050 (m), 1026 (m), 997 (m) cm^{-1} .

UV: UV-Maxima bei 254 nm (Maximum) und 210 nm (ca. 25 %).

MS (EI) (70 eV, 230 °C): $m/z = 512$ (14) [M^+], 497 (1) [$M-\text{CH}_3$]⁺, 273 (100, RDA I), 232 (50, RDA II), 135 (40).

HRMS (EI): berechnet: 512,35016 für $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_5$, gefunden: 512,35122.

$[\alpha]_D^{20} = +82$ (c = 1,25, CHCl_3), Lit.: +87; c = 4,2; CHCl_3 ,^[41] +92; c = 1,2; CHCl_3 .^[361]

4.5.4.15 Fokussierende Synthese von β -BA **1** aus der Säurefraktion des Weihrauch-Harzes

25 g der Säurefraktion aus dem Harz von *B. sacra* (Probe 3, *BSac Om1*) werden in 250 ml einer 1 N-Lösung von KOH in *i*PrOH gelöst. Die Reaktionsmischung wird unter leichtem Rückfluss erhitzt und die Reaktion mittels DC auf Kieselgel (DCM:MeOH 30:1 oder Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc) und RP-Kieselgel (MeOH) verfolgt. Nach beendeter Reaktion (ca. 5 h) wird die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur gekühlt, der Großteil des *iso*-Propanol unter Vakuum entfernt und die verbleibende Mischung mit 300 ml 1 N HCl versetzt. Die entstehende Suspension wird mit 3 x 100 ml DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels werden 22 g deacetylierte Harzsäuren als orangebrauner trockener Schaum erhalten, die für den nächsten Schritt mit 765 mg Lithiumpulver (0,11 mol) versetzt werden. Nach Fluten des Reaktionsgefäßes mit Stickstoff werden mit einer Spritze 200 ml trockenes HMPA und 5 ml *t*BuOH zugegeben und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur gerührt. Nach 15 min wird eine intensive Blaufärbung beobachtet, die nach 3-4 h verschwindet. Die Reaktionsmischung wird mit 300 ml eiskalter 1 N HCl versetzt und mit 3 x 100 ml DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zur Entfernung von HMPA-Resten wiederholt mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Es wird eine orangebraune Masse von öligler Konsistenz erhalten, die mittels FC an Kieselgel (Pentan:Et₂O 4:1 + 0,5 % HOAc) und RP-Kieselgel (MeOH:Wasser 9:1) aufgereinigt wird. Nach Entfernen des Methanols wird die wässrige Phase mit 3 x 100 ml DCM extrahiert und das Lösungsmittel nach Trocknen über MgSO_4 am Rotationsverdampfer entfernt. Ausbeute: 7,8 g β -Boswelliasäure **1** in Reinheit von >98 % (HPLC, ¹H-NMR) als weißer, trockener Schaum.

DC: $R_f = 0,27$ (SiO_2 , DCM:Methanol 30:1); 0,41 (SiO_2 , Pentan:EtOAc:MeOH 10:2:1); 0,58 (SiO_2 , Et₂O:Pentan 2:1 + 1 % HOAc); 0,25 (SiO_2 , Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc); 0,38 (RP- SiO_2 , MeOH); 0,14 (RP- SiO_2 , MeOH:Wasser 95:5).

HPLC: $R_t = 14,99$ min (Gradient 10), 17,78 min (1,2 ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 90:10), 13,17 min (1,2 ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 95:5), 11,48 min (1,2 ml x min^{-1} MeCN:0,1 % TFA 99:1), 10,62 min (1,5 ml x min^{-1} MeOH:0,1 % TFA 90:10), 13,01 min (1,5 ml x min^{-1} MeOH:0,1 % TFA 95:5), alle Werte aus System 3 („System Beckman, analytisch“);

26,61 min (Gradient 22, System 1, „System varian, analytisch“); alle Werte mit Saphir-material als stationäre Phase.

Smp.: 232-236 °C (Zersetzung), Lit.: 228-230 °C; ^[41] 227-229 °C. ^[361]

¹H-NMR (CDCl₃, 500.13 MHz): δ = 5.14 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-12), 4.08 (t, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-3), 2.23 (tdd, *J* = 14.5 Hz, 4.2 Hz, 2.8 Hz, 1H, H-2β), 2.01 (td, *J* = 13.6 Hz, 4.7 Hz, 1H, H-16α), 1.96-1.89 (m, 2 H, H-11α, H-11β), 1.88-1.78 (m, 2H, H-6β, H-15β), 1.73-1.67 (m, 1H, H-6α), 1.63-1.52 (m, 3H, H-2α, H-7α, H-9), 1.51-1.46 (m, 2H, H-1β, H-5), 1.44-1.36 (m, 3H, H-7β, H-21β, H-22α), 1.36-1.34 (m, 1H, H-19), 1.35 (s, 3H, H-23), 1.32 (bs, 2H, H-1α, H-18), 1.30-1.24 (m, 2H, H-21α, H-22β), 1.09 (s, 3H, H-27), 1.05 (s, 3H, H-26), 1.03-0.98 (m, 1H, H-15α), 0.93-0.91 (m, 1H, H-20), 0.92 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, H-30), 0.89-0.86 (m, 1H, H-16β), 0.81 (s, 3H, H-28), 0.79 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, H-29) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 90.56 MHz): δ = 183.4 (C-24, COOH), 139.5 (C-13, _H>C=C<), 124.4 (C-12, _H>C=C<), 70.7 (C-3, _{HO}>CH-), 59.0 (C-18, >CH-), 49.0 (C-5, >CH-), 47.3 (C-4, >C<), 46.7 (C-9, >CH-), 42.2 (C-14, >C<), 41.5 (C-22, -CH₂-), 39.9 (C-8, >C<), 39.6 (C-19, >CH-), 39.5 (C-20, >CH-), 37.5 (C-10, >C<), 33.8 (C-1, -CH₂-), 33.7 (C-17, >C<), 33.0 (C-7, -CH₂-), 31.2 (C-21, -CH₂-), 28.8 (C-28, -CH₃), 28.0 (C-16, -CH₂-), 26.4 (C-15, -CH₂-), 26.1 (C-2, -CH₂-), 24.2 (C-23, >CH-), 23.4 (C-11, -CH₂-), 23.2 (C-27, -CH₃), 21.4 (C-30, -CH₃), 19.6 C-6, -CH₂-), 17.4 (C-29, -CH₃), 16.8 (C-26, -CH₃), 13.2 (C-25, -CH₃) ppm.

IR: ν = 2973 (s), 2920 (s), 2867 (s), 2627 (w, breit), 1694 (s), 1653 (w), 1558 (w), 1456 (m), 1379 (m), 1328 (w), 1284 (w), 1265 (w), 1127 (m), 1105 (m), 1078 (m), 1054 (m), 1026 (m), 994 (m) cm⁻¹.

UV: Absorptionsmaximum bei 210 nm

MS (EI) (70 eV, 175 °C): *m/z* = 456 (11) [M⁺], 238 (17, RDA I), 218 (100, RDA II), 203 (14, [RDA II-Me]⁺), 189 (11, [RDA II-C₂H₅]⁺), 133 (11, [203-C₅H₁₀]⁺), 109 (10), 95 (12).

HRMS (EI): berechnet: 456,36035 für C₃₀H₄₈O₃; gefunden 456,35981.

[α]_D²⁰ = +86 (c = 0,54, CHCl₃), Lit.: +108 (2,59; CHCl₃)^[41], +112.7 (0,7; CHCl₃).^[361]

4.5.4.16 Fokussierende Synthese von β-ABA 4 aus der Säurefraktion des Weihrauch-Harzes

β-ABA 4 wird durch Deacetylierung, Reduktion und Reacetylierung der Säurefraktion aus dem Harz von *B. sacra* (Probe 3, *Bsac Om1*) erhalten, wie sie unter den Punkten 4.5.4.13, 4.5.4.14 und 4.5.4.15 beschrieben sind. Ausbeute: 8,5 g aus 25 g Säurefraktion.

DC: R_f = 0,39 (SiO₂, DCM:Methanol 15:1); 0,49 (SiO₂, DCM: Methanol 15:1); 0,69 (SiO₂, Et₂O:Pentan 2:1 + 1 % HOAc); 0,30 (SiO₂, Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc); 0,56 (SiO₂, Pentan:EtOAc:MeOH 10:2:1 + 1 % HOAc); 0,10 (RP-SiO₂, Acetonitril); 0,00 (RP-SiO₂, Acetonitril:Wasser 50:50); 0,24 (RP-SiO₂, MeOH); 0,05 (RP-SiO₂, MeOH:Wasser 9:1); 0,12 (RP-SiO₂, MeOH:Wasser 95:5).

HPLC: R_t = 36,84 min (Gradient 1), 22,20 min (Gradient 6), 21,10 min (Gradient 7), 21,23 min (Gradient 9), 29,43 min (Gradient 10), 34,96 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 90:10), 21,40 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 95:5), 16,36 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 99:1), 44,34 min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 90:10), 8,94 min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 99:1), 6,80 min (1,5 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 99:1,

alle auf System 1, „System Beckman, analytisch“); 29,84 min (Gradient 22, System 1 („System Varian, analytisch“); 22,80 min (12,0 ml x min⁻¹ MeOH + 0,1 % TFA, System 2, „System Varian, präparativ“), alle Werte gemessen mit Saphir als stationäre Phase.

Smp. 251-253 °C (Zersetzung), Lit.: 253 °C;^[41] 254-256 °C.^[361]

¹H-NMR (CDCl₃, 500.13 MHz): δ = 5.14 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-12), 5.30 (t, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-3), 2.14 (m, 1H, H-2β), 2.10 (s, 3H, H-32), 2.01 (td, *J* = 13.6 Hz, 4.7 Hz, 1H, H-16α), 1.95-1.89 (m, 2H, H-11α, H-11β), 1.88-1.77 (m, 2H, H-6β, H-15β), 1.74-1.68 (m, 1H, H-6α), 1.67-1.62 (m, 1H, H-2α), 1.60 (dd, *J* = 10.1 Hz, 7.3 Hz, 1H, H-9), 1.57-1.47 (m, 2H, H-1β, H-7α), 1.47-1.41 (m, 3H, H-5, H-7β, H-22α), 1.41-1.35 (m, 1H, H-21β), 1.35-1.30 (m, 2H, H-18, H-19), 1.30-1.25 (m, 2H, H-21α, H-22β), 1.24 (s, 3H, H-23), 1.22-1.16 (m, 1H, H-1α), 1.12 (s, 3H, H-27), 1.04 (s, 3H, H-26), 1.04-0.98 (m, 1H, H-15α), 0.92 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, H-30), 0.90 (s, 3H, H-25), 0.92-0.85 (m, 2H, H-16β, H-20), 0.80 (s, 3H, H-28), 0.79 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-29) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 90.56 MHz): δ = 182.5 (C-24, COOH), 170.3 (C-31, >C=O(Acetyl)), 139.5 (C-13, _H>C=C<), 124.5 (C-12, _H>C=C<), 73.2 (C-3, _{HO}>CH-), 59.2 (C-18, >CH-), 50.6 (C-5, >CH-), 46.8 (C-9, >CH-), 46.7 (C-4, >C<), 42.7 (C-14, >C<), 41.5 (C-22, -CH₂-), 40.0 (C-8, >C<), 39.8 (C-19, >CH-), 39.6 (C-20, >CH-), 37.4 (C-10, >C<), 34.5 (C-1, -CH₂-), 33.8 (C-17, >C<), 33.1 (C-7; -CH₂-), 31.3 (C-21, -CH₂-), 28.8 (C-28; -CH₃), 28.1 (C-16, -CH₂-), 26.6 (C-15, -CH₂-), 23.7 (C-23, -CH₃), 23.6 (C-2, -CH₂-), 23.4 (C-11, -CH₂-), 23.3 (C-27, -CH₃), 21.4 (C-30, -CH₃), 21.3 (C-32, -CH₃(Acetyl)), 19.6 (C-6, -CH₂-), 17.5 (C-29, -CH₃), 16.9 (C-26, -CH₃), 13.3 (C-25, -CH₃) ppm.

IR: ν = 3630 (w), 3504 (w), 3024 (m), 2977 (s), 2949 (s), 2918 (s), 2862 (s), 2622 (m), 2359 (w), 2341 (w), 1733 (s), 1694 (s), 1455 (m), 1412 (w), 1378 (m), 1370 (m), 1326 (w), 1305 (w), 1282 (m), 1253 (s), 1200 (w), 1190 (w), 1167 (w), 1144 (w), 1128 (w), 1116 (w), 1074 (w), 1049 (m), 1026 (m), 1000 (w), 988 (m), 966 (m), 946 (w), 918 (w), 897 (w), 872 (w), 828 (w), 803 (w) cm⁻¹.

UV: Absorptionsmaximum bei 210 nm.

MS (EI) (70 eV, 220 °C): *m/z* = 498 (8 M⁺), 218 (100, RDA I), 203 (13, RDA II), 95 (13).

HRMS (EI): berechnet: 498,37091 für C₃₂H₅₀O₄, gefunden: 498,37158.

[α]_D²⁰ = +54 (1.00; CHCl₃), Lit.: +47 (2.58; CHCl₃),^[41] +141 (0.4; CHCl₃).^[361]

4.5.4.17 Fokussierende Synthese von β-KBA **6** aus der Säurefraktion des Weihrauch-Harzes

11-Keto-β-boswelliasäure **6** wird durch Deacetylierung der Säurefraktion aus dem Harz von *B. sacra* (Probe 3, *BSac Om1*) und anschließende Oxidation erhalten, wie sie unter den Punkten 4.5.4.14 und 4.5.4.15 beschrieben sind. Ausbeute: 8,0 g aus 25 g Säurefraktion.

DC: R_f = 0,16 (SiO₂, DCM:MeOH 30:1); 0,49 (SiO₂, DCM:MeOH 15:1); 0,30 (SiO₂, Et₂O:Pentan 1:1 + 1 % HOAc); 0,42 (SiO₂, Et₂O:Pentan 2:1 + 1 % HOAc) 0,30 (SiO₂, Pentan:EtOAc:MeOH 10:2:1 + 1 % HOAc); 0,11 (SiO₂, Pentan:Et₂O 2:1 + 1 % HOAc); 0,04 (SiO₂, Pentan:Et₂O 5:1 + 1 % HOAc); 0,35 (RP-SiO₂, MeCN); 0,58 (RP-SiO₂, MeOH); 0,32 (RP-SiO₂, MeOH:Wasser 9:1); 0,46 (RP-SiO₂, MeOH:Wasser 95:5).

HPLC: $R_t = 24,20$ min (Gradient 1), 5,92 (Gradient 2), 7,06 min (Gradient 3), 6,16 min (Gradient 4), 4,93 min (Gradient 5), 5,29 min (Gradient 6), 5,25 min (Gradient 7), 8,60 min (Gradient 8), 12,18 min (Gradient 9), 11,76 min (Gradient 10), 9,27 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 78:22), 8,27 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 80:20), 5,58 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 90:10), 4,76 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 95:5), 4,64 min (1,2 ml x min⁻¹ MeCN:0,1 % TFA 99:1), 6,51 min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 90:10) 4,97 min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 95:5) (alle auf System 3 „System Beckman, analytisch“); 11,17 min (Gradient 22), 17,34 min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 80:20), 7,70 min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 90:10), 4,76 min (1,2 ml x min⁻¹ MeOH:0,1 % TFA 95:5), alle auf System 1, „System Varian, analytisch“, alle Werte mit Saphirmaterial als stationärer Phase, 7,82 min (Gradient 21 auf System 1, „System Varian, analytisch“, mit monolithischer stationärer Phase).

Smp.: 194-195 °C (Zersetzung), Lit.: 195 °C;^[41] 197-198 °C.^[361]

¹H-NMR (CDCl₃, 500.13 MHz): $\delta = 5.54$ (s, 1H, H-12), 4.07 (t, $J = 2.8$ Hz, 1H, H-3), 2.51 (dt, $J = 13.2$ Hz, 3.5 Hz, 1H, H-1 β), 2.42 (s, 1H, H-9), 2.30 (*tbt*, $J = 14.5$ Hz, 3.5 Hz, 1H, H-2 β), 2.08 (td, $J = 13.6$ Hz, 4.7 Hz, 1H, H-16 β), 1.92-184 (m, 2H, H-15 β , H-6 β), 1.71 (m, 1H, H-6 α), 1.65 (dd, $J = 12.9$ Hz, 4.1 Hz, 1H, H-7 α), 1.57-1.51 (m, 2H, H-2 α , H-18), 1.49-1.41 (m, 4 H, H-5, H-7 β , H-21 α , H-22 β), 1.39-1.37 (m, 1H, H-19), 1.35 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-22 α), 1.33 (s, 3H, H-23), 1.32 (*bd*, $J = 3.2$ Hz, 2H, H-1 α , H-21 β), 1.30 (s, 3H, H-27), 1.22 (*bd*, 3.5 Hz, 1H, H-15 α), 1.17 (s, 3H, H-26), 1.12 (s, 3H, H-25), 1.00 (*bd*, $J = 13.6$ Hz, 1H, H-16 β), 0.93 (*bs*, 4H, H-20, H-30), 0.81 (s, 3H, H-28), 0.78 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, H-29) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 90.56 MHz): $\delta = 199.4$ (C-11, >C=O), 182.7 (C-24, COOH), 164.9 (C-13, _H>C=C<), 130.6 (C-12, _H>C=C<), 70.5 (C-3, _{HO}>CH-), 60.5 (C-9, >CH-), 59.1 (C-18, >CH-), 48.9 (C-5, >CH-), 47.3 (C-4, >C<), 45.1 (C-8, >C<), 43.8 (C-14, >C<), 40.9 (C-22, -CH₂-), 39.31 (C-19, >CH-), 39.3 (C-20, >CH-), 37.6 (C-10, >C<), 34.0 (C-17, >C<), 33.9 (C-1, -CH₂-), 32.9 (C-7, -CH₂-), 30.9 (C-21, -CH₂-), 28.9 (C-28, -CH₃), 27.6 (C-16, -CH₂-), 27.2 (C-15, -CH₂-), 26.3 (C-2, -CH₂-), 24.3 (C-23, -CH₃), 21.1 (C-30, -CH₃), 20.6 (C-27, -CH₃), 18.9 (C-6, -CH₂-), 18.4 (C-26, -CH₃), 17.4 (C-29, -CH₃), 13.2 (C-25, -CH₃) ppm.

IR: $\nu = 3622$ (w), 3494 (w), 3023 (s), 2979 (s), 2952 (s), 2926 (s), 2870 (s), 1693 (s), 1650 (s), 1616 (w), 1552 (w), 1456 (m), 1383 (m), 1352 (w), 1320 (w), 1292 (w), 1267 (m), 1234 (m), 1199 (m), 1172 (w), 1148 (w), 1109 (m), 1078 (w), 1054 (m), 1029 (w), 1000 (m), 990 (w), 966 (m), 945 (w), 911 (w), 888 (w), 854 (w) cm⁻¹.

UV: Absorptionsmaxima bei 254 nm (100 %) und 210 nm (ca. 25 %).

MS (EI) (70 eV, 200 °C): $m/z = 470$ (18) [M⁺], 287 (10), 273 (100), 232 (51), 135 (25).

HRMS (EI): berechnet: 470,33960 für C₃₀H₄₆O₄, gemessen: 470,33945.

$[\alpha]_D^{20} = +121$ (1.11; CHCl₃), Lit.: +129 (4.2; CHCl₃),^[41] +79 (1.0; CHCl₃).^[361]

5 Zusammenfassung

Das Harz vieler Weihrauch-Arten (*Boswellia* spp.) enthält neben den geruchsaktiven Verbindungen einen beträchtlichen Anteil organischer Säuren. Sie gehören fast ausschließlich zur Gruppe der Triterpensäuren, denen das Hauptaugenmerk dieser Arbeit galt. Unter diesen Triterpensäuren nehmen die Boswelliasäuren eine besondere Stellung ein. Sie leiten sich vom α - und β -Amyrin ab und unterscheiden sich von wichtigen anderen Triterpenen wie der Oleanol- und der Ursolsäure nur in der Stellung der Carboxylgruppe. Im Gegensatz zur weiten Verbreitung vieler anderer Triterpensäuren sind Boswelliasäuren ausschließlich in Weihrauchbäumen zu finden.

Boswelliasäuren weisen eine Reihe pharmakologisch bedeutsamer Wirkungen auf wie die Entzündungshemmung, die Beeinflussung der MAPK-Signalkaskade, die Inhibierung der Topoisomerasen und die Induktion von Apoptose in einer Reihe von Krebszelllinien. Da Boswelliasäuren gleichzeitig keine nennenswerten Nebenwirkungen zeigen, stellen sie potenzielle Wirkstoffe oder Leitstrukturen für die Behandlung von Krankheiten dar.

Derzeit ungenügend gelöste oder ungelöste Probleme sind die schnelle und eindeutige Bestimmung der Weihrauch-Spezies bei einer unbekanntem Harzprobe, die Identifizierung von Beimischungen anderer Harze sowie die Synthese großer Mengen von Boswelliasäuren für umfangreiche *in vitro*- und *in vivo*-Studien.

Anhand einer Sammlung von 33 Weihrauchharzproben wurde untersucht, wie die Harze verschiedener *Boswellia*-Arten voneinander unterschieden werden können. Farbe und Geruch geben ebenso wie die Anteile an extrahierbaren Substanzen, Neutralverbindungen und Säuren erste Hinweise auf die *Boswellia*-Spezies. Hierbei zeigte es sich, dass die Weihrauchharze grob in typische Weihrauchharze und elemiartige Harze unterteilt werden können. Erstere sind fest und weisen einen Säureanteil von 30-40 % auf, letztere sind von weicher Konsistenz und beinahe frei von Säuren. Mehr als eine Orientierung hinsichtlich der Weihrauch-Spezies erlauben die genannten Merkmale nicht, vor allem nicht bei Verarbeitungsprodukten des Weihrauchs (Räuchermischungen, Medikamente) oder alten Proben. Anhand des charakteristischen Säuremusters in DC- und HPLC-Chromatogrammen können die Harze der wichtigen Weihraucharten *B. serrata*, *B. sacra*, *B. papyrifera* sowie *B. socotrana* eindeutig voneinander unterschieden werden. Die Methode ist wahrscheinlich auf die anderen typischen – also säurehaltigen – Weihrauchharze übertragbar, von denen keine Proben vorlagen. Der chromatographische Fingerabdruck der Säurefraktion ist sehr robust, wie die Untersuchung von Verarbeitungsprodukten zeigt. Das Harz von *B. frereana* enthält saure Komponenten nur in Spuren, sodass zur Identifizierung dieser und anderer elemiartiger Weihrauchharze weitere Methoden wie die Gas-Chromatographie herangezogen werden müssen.

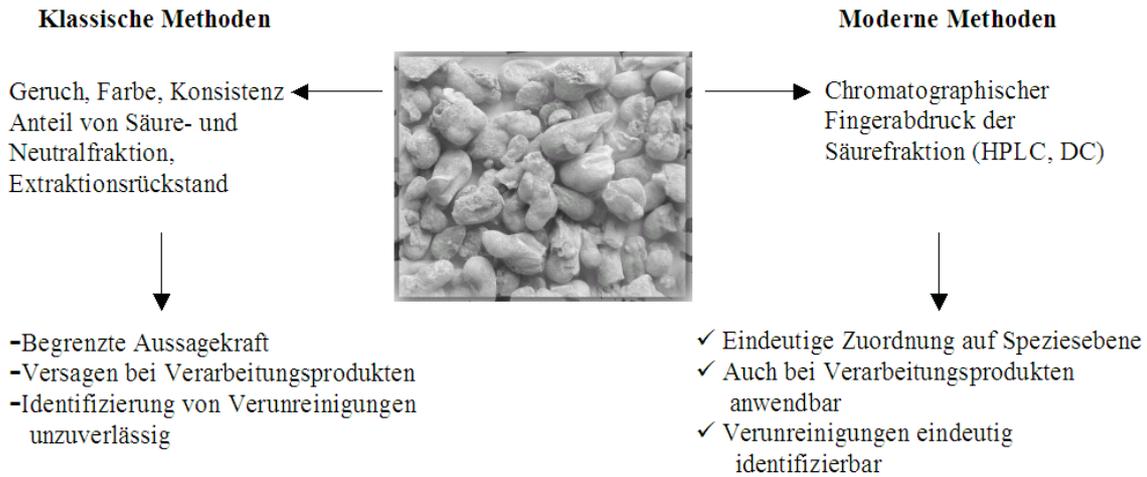


Abb. 78: Vergleich klassischer und moderner Methoden zur Speziesidentifizierung und Erkennung von Verunreinigungen beim Weihrauchharz.

Anhand des chromatographischen Fingerabdruckes können auch nicht-natürliche Bestandteile sicher identifiziert werden. In einer Handelsprobe mit Harz von *B. serrata* wurden Abietinsäure-Isomere und Dehydroabietinsäure identifiziert. Diese Diterpene sind bislang nicht als Weihrauchinhaltsstoffe beschrieben worden. Sie sind vielmehr typische Bestandteile von Kolophonium und dieses Harz gilt wiederum als klassische Verunreinigung von Weihrauchharz. Die Quantifizierung der Dehydroabietinsäure mittels HPLC erlaubt es, den Kolophoniumanteil in der betreffenden Weihrauchharz-Probe indirekt mit 5-10 Gew.-% anzugeben. Chemotaxonomische Gründe sprechen eindeutig für eine Einordnung der Diterpensäuren als Verunreinigung und ebenso wie die Tatsache, dass diese Verbindungen in keiner anderen Weihrauchharz-Probe mit gesicherter botanischer Herkunft gefunden wurden. Eine genauere Quantifizierung des Kolophoniumanteils ist nicht möglich, da der Dehydroabietinsäure-Anteil im Kolophonium herkunfts- und verarbeitungsbedingt sehr starken Schwankungen unterliegt.

Für die Isolierung der gesamten Säurefraktion aus dem Weihrauchharz wurde ein Verfahren mit einem Ionenaustauscher entwickelt, der im wasserfreien Medium betrieben wird. Anhand von Modellversuchen wurde der Einfluss des verwendeten Lösungsmittels und unterschiedlicher Adsorptions- und Desorptionszeiten ermittelt. Anschließend wurde eine Routinevorschrift entwickelt, mit der große Mengen an Weihrauchextrakt effizient in Säurefraktion und Neutralkomponenten getrennt werden können. Die Isolierung mittels Ionenaustauscher ist der klassischen Flüssig-Flüssig-Extraktion deutlich überlegen, da sie schneller als diese und problemlos in großem Maßstab durchführbar ist und nicht durch eine Emulsionsbildung beeinträchtigt wird.

In der Säurefraktion sind die β -Boswelliasäuren von besonderem Interesse. Ausgehend von β -Boswelliasäure wurden die drei anderen wichtigen Vertreter 3-Acetyl- β -boswelliasäure, 3-Acetyl-11-keto- β -boswelliasäure und 11-Keto- β -boswelliasäure synthetisiert. Als Edukt kann auch die gesamte Säurefraktion aus dem Weihrauchharz dienen. Durch die Kombination von Acetylierung/Deacetylierung und Oxidation/Reduktion werden die darin enthaltenen

β -Boswelliasäuren in eine einzige Säure umgewandelt. Für diese Methode wird der Begriff „fokussierende Synthese“ eingeführt; sie liefert aus 25 g Säurefraktion jeweils ca. 8 g einer einzelnen β -Boswelliasäure. Durch Variation des Acylierungs- und Reduktionsmittels sowie die Erweiterung des Reaktionsrepertoires um andere Reagenzien können mit der fokussierenden Synthese eine Vielzahl natürlicher und nicht-natürlicher Boswelliasäure-Derivate hergestellt werden. Ausbeute, Zeitbedarf und Materialeinsatz der Boswelliasäuresynthese können zusätzlich optimiert werden, indem die Säurefraktion einer bestimmten Spezies (*B. sacra*) verwendet und auf einzelne Umsetzungen und Aufreinigungsschritte verzichtet wird.

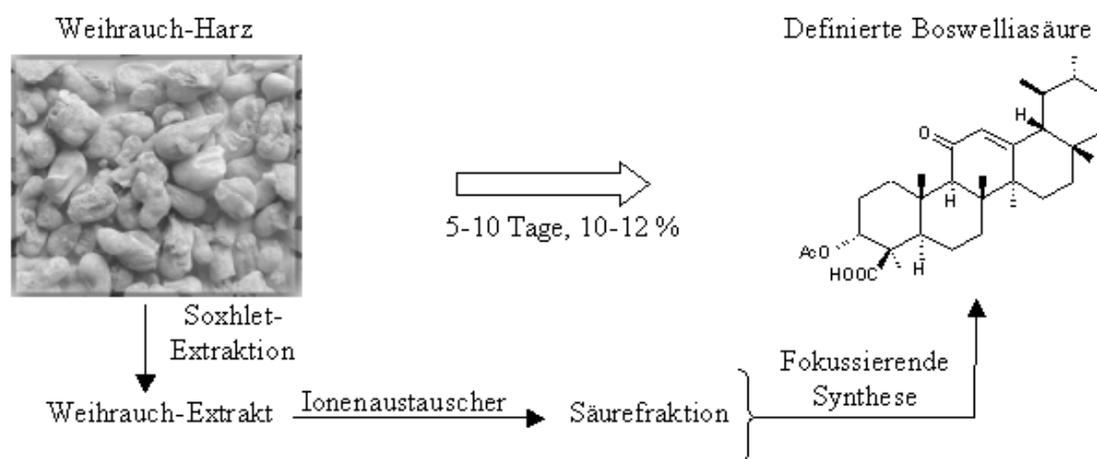


Abb. 79: Effiziente Gewinnung definierter Boswelliasäuren mit Hilfe eines Ionenaustauschers und fokussierender Synthese.

Mit der Kombination aus Speziesidentifizierung, Ionenaustauscher-Methode und fokussierender Synthese wurde eine Möglichkeit geschaffen, natürliche und nicht-natürliche Boswelliasäuren schneller, reiner und in größerer Menge zu synthetisieren, als dies mit den herkömmlichen Methoden der Fall ist. Sechs natürliche Boswelliasäuren, zwei Boswelliasäure-derivate (darunter die bislang nicht beschriebene, nicht-natürliche 3-Ethoxy- β -boswelliasäure) und zwei Säuren mit Lupangerüst wurden im Rahmen dieser Arbeit isoliert bzw. synthetisiert. Alle Substanzen wurden mittels moderner Methoden der Strukturaufklärung ((HR-)MS, UV-, IR-, 1D- und 2D-NMR-Spektroskopie) in ihrer Struktur aufgeklärt. Diskrepanzen zwischen der Zuordnung der NMR-Signale zu den Angaben in zwei kürzlich erschienenen Veröffentlichungen wurden ausführlich erörtert. Verschiedene Methoden der Reinheitskontrolle von Boswelliasäuren wurden verglichen, wobei sich die Kombination von HPLC und $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie als die effizienteste Möglichkeit herausstellte.

Die Säurefraktion ist somit der Schlüssel zur Analytik des gesamten Weihrauchharzes. Trotz ihrer Komplexität ermöglicht sie die Identifizierung der *Boswellia*-Art sowie eventuell vorhandener Verunreinigungen. Durch einfache Schritte lässt sie sich in großem Maßstab in definierte Boswelliasäuren umsetzen, wodurch die Basis für eine weitergehende Erforschung dieser interessanten Verbindungsklasse geschaffen wurde.

6 Literatur und Anmerkungen

- [1] Howes F.N., Vegetable gums and resins, Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., USA (1949)
- [2] Langenheim J.H., Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany, Timber Press, Portland, Or., USA (2003)
- [3] Tschirch A., Die Harze und die Harzbehälter, Bornträger, Leipzig (1900)
- [4] Möller J., Lehrbuch der Pharmakognosie, A. Hölder, Wien (1889)
- [5] Collin G., Mildenberg R., Zander M., Höke H., McKillip W., Freitag W., Imöhl W., Synthetic resins, in *Ullmann's encyclopedia of technical chemistry*, Bd. A23 (Hrg.: B. Elvers, S. Hawkin, W. Russey, G. Schulz), VCH, Weinheim, 89-115 (1993)
- [6] Fiebach K., Natural Resins, in *Ullmann's encyclopedia of technical chemistry*, Bd. A23 (Hrg.: B. Elvers, S. Hawkin, W. Russey, G. Schulz), VCH, Weinheim, 73-88 (1993)
- [7] Martinetz D., Lohs K., Janzen J., Weihrauch und Myrrhe. Kulturgeschichte und wirtschaftliche Bedeutung. Botanik, Chemie, Medizin, WVG, Stuttgart (1989)
- [8] Franke W., Nutzpflanzenkunde, 6. Aufl., Thieme, Stuttgart (1997)
- [9] Vgl. den Umfang des entsprechenden Eintrages in "Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry" (15 Seiten für natürliche Harze, davon allein 9 für Kolophonium und dessen Verarbeitungsprodukte).
- [10] Germplasm Resources Information Network (GRIN) database, <http://www.ars-grin.gov/npgs/tax/taxgenform.html> (Zugriff am 28.1.2004)
- [11] Survey of Economic Plants for Arid and Semi-Arid Lands (SEPASAL) database. Royal Botanic Gardens (Kew, GB), <http://www.rbgekew.org.uk/ceb/sepasal/internet/> (Zugriff am 28.1.2004)
- [12] IPK, Mansfeld's World Database of Agricultural and Horticultural Crops, Version 4 (2002), <http://mansfeld.ipk-gatersleben.de/Mansfeld/> (Zugriff am 29.1.2004)
- [13] Weeks A., The Molecular Systematics and Biogeography of the Burseraceae, Dissertation, University of Texas, Austin (2003)
- [14] Tücker A.O., Frankincense and myrrh, *Economic Botany*, **40**, 425-433 (1986)
- [15] Raffaelli M., Mosit S., Tardelli M., The frankincense tree (*Boswellia sacra* Flueck., *Burseraceae*) in Dhofar, southern Oman: field-investigations on the natural populations, *Webbia*, **58**, 133-149 (2003)
- [16] Persönliche Mitteilung, R. Dreyer, C. E. Roeper GmbH (Hamburg), 12.1.2004. Diese Firma deckt über die Hälfte des europäischen Weihrauchmarktes ab und hat in den Jahren 2000-2003 jeweils zwischen 350 und 500 t Weihrauchharz importiert und diese Mengen jeweils auch verkauft.
- [17] The wealth of India: a dictionary of Indian raw materials and industrial products (Hrg.: B. L. Manjunath), Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi, India (1946)
- [18] Pernet R., Phytochimie des Burseracees, *Lloydia*, **35**, 280-287 (1972)
- [19] Kirtikar K.R., Basu B.D., An I.C.S., Indian Medicinal Plants, 2. Aufl., Bd. I, Delhi (India) (1975)
- [20] Svoboda K., Svoboda T., Hampson J., Hall L., Frankincense (*Boswellia* species) oleoresin and oil from Somalia. Part 2, *Aroma Research*, **1**, 84-89 (2000)
- [21] Persönliche Mitteilung (E-Mail), Prof. M. Thulin, Uppsala Universitet, Schweden (12.2.2004)
- [22] Vollesen K., Studies in *Burseraceae* of northeastern Africa, *Kew Bull*, **40**, 39-76 (1985)
- [23] Thulin M., Warfa A.M., The frankincense trees (*Boswellia* spp., *Burseraceae*) of northern Somalia and southern Arabia, *Kew Bull*, **42**, 487-500 (1987)
- [24] Thulin M., Al-Gifri A., The frankincense trees (*Boswellia* spp.) of Soqotra, in *Proceedings of the first international symposium on Soqotra Island: present and future* (Hrg.: H. J. Dumont), United Nations Publications, New York, 107-113 (1998)
- [25] Thulin M., Two new species of frankincense trees (*Boswellia*, *Burseraceae*) from Socotra, *Kew Bull*, **56**, 983-988 (2001)
- [26] Pullaiah T., Medicinal Plants in India, Bd. 1, Regency, New Delhi, India (2002)
- [27] USDA, NRCS, The PLANTS Database, Version 3.5. National Plant Data Center, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA, <http://plants.usda.gov/> (Zugriff am 28.1.2004)

- [28] Persönliche Mitteilung (E-Mail), Prof. M. Thulin, Uppsala Universität, Schweden, 12.2.2004
- [29] Persönliche Mitteilung, H. Bartz, Firma "Elbenzauber", Berlin, 11.02.2004
- [30] Tschirch A., Halbey O., Untersuchungen über die Sekrete. 28. Über das Olibanum, *Arch Pharm*, **236**, 487-503 (1898)
- [31] Fundstellen dazu siehe Tschirchs "Die Harze und Harzbehälter" (Bornträger, Leipzig 1900), ab S. 3
- [32] Halbey O., Über das Olibanum, Dissertation, Universität Bern, Bern (1898)
- [33] Bei der "Boswellinsäure" von Tschirch und Halbery handelt es sich höchstwahrscheinlich um eine Mischung aus 3-Acetyl- β -boswelliasäure und ihrem α -Isomer. Die Bezeichnung "Boswellinsäure" für beta-Boswelliasäure wurde erst 1932 von Winterstein und Stein eingeführt, s. folgende Literaturstelle.
- [34] Winterstein A., Stein G., Untersuchungen in der Saponinreihe X. Zur Kenntnis der Mono-oxytriterpensäuren, *Z. physiol. Chem.*, **208**, 9-25 (1932)
- [35] Simpson J.C.E., Structure of β -boswellinic acid, *Nature*, **140**, 467 (1937)
- [36] Ruzicka L., Wirz W., Zur Kenntnis der Triterpene (50. Mitteilung). Umwandlung der β -Boswellinsäure in α -Amyrin, *Helv Chim Acta*, **22**, 948-951 (1939)
- [37] Ruzicka L., Wirz W., Zur Kenntnis der Triterpene (52. Mitteilung). Umwandlung der α -Boswellinsäure in β -Amyrin, *Helv Chim Acta*, **23**, 132-135 (1940)
- [38] Beton J.L., Halsall T.G., Jones E.R.H., Chemistry of triterpenes and related compounds. XXVIII. β -Boswellic acid, *J Chem Soc*, 2904-2909 (1956)
- [39] Trost F., The triterpenic hydroxy acids in Somaliland incense. I, *Ann Chim Appl*, **27**, 178-188 (1937)
- [40] Budzikiewicz H., Wilson J.M., Djerassi C., Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. XXXII. Pentacyclic Triterpenes, *J Am Chem Soc*, **85**, 3688-3699 (1963)
- [41] Pardhy M.R.S., Bhattacharyya S.C., β -Boswellic acid, acetyl- β -boswellic acid, acetyl-11-keto- β -boswellic acid and 11-keto- β -boswellic acid, four pentacyclic triterpene acids from the resin of *Boswellia serrata* Roxb., *Indian Journal of Chemistry B*, **16B**, 176-178 (1978)
- [42] Hairfield E.M., Hairfield H.H., Pentz L.H., A Rapid Test for the Identification of Incense Resins, *Perfumer Flavorist*, **9**, 33-36 (1984)
- [43] Corsano S., Iavarone C., Isolamento dall'incenso dell'acido 3-acetil-11-ossi- β -bosvellico, *Gazz Chim Ital*, **94**, 328-339 (1964)
- [44] Savoir R., Ottinger R., Tursch B., Chiurdoglu G., Triterpènes X. Spectroscopie de résonance nucléaire de composés triterpéniques. Influence de la substitution sur les fréquences de résonance des groupes méthyles en série Δ^{12} -Oléaénénique, *Bull Soc Chim Belges*, **76**, 335-367 (1967)
- [45] Savoir R., Ottinger R., Tursch B., Chiurdoglu G., Triterpènes XII. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire de composés triterpéniques. Les groupes méthyles en série ursénique, *Bull Soc Chim Belges*, **76**, 371-373 (1967)
- [46] Savoir R., Tursch B., Huneck S., Triterpènes XI. Présence d'acide 11-ceto- β -boswellique dans l'encens, *Bull Soc Chim Belges*, **76**, 368-370 (1967)
- [47] Schweizer S., Von Brocke A.F.W., Boden S.E., Bayer E., Ammon H.P.T., Safayhi H., Workup-dependent formation of 5-lipoxygenase inhibitory boswellic acid analogues, *Journal of Natural Products*, **63**, 1058-1061 (2000)
- [48] Schweizer S., Eichele K., Ammon H.P.T., Safayhi H., 3-acetoxy group of genuine AKBA (acetyl-11-keto- β -boswellic acid) is α -configured, *Planta Medica*, **66**, 781-782 (2000)
- [49] Rajnikant, Gupta V.K., Rangari V.D., Bapat S.R., Agarwal R.B., Gupta R., Crystallographic analysis of acetyl β -boswellic acid, *Crystal Research and Technology*, **36**, 93-100 (2001)
- [50] Culioli G., Mathe C., Archier P., Vieillescazes C., A lupane triterpene from frankincense (*Boswellia* sp., *Burseraceae*), *Phytochem*, **62**, 537-541 (2003)
- [51] Belsner K., Büchele B., Werz U., Syrovets T., Simmet T., Structural analysis of pentacyclic triterpenes from the gum resin of *Boswellia serrata* by NMR spectroscopy, *Magnetic Resonance in Chemistry*, **41**, 115-122 (2003)
- [52] Basu N., Rastogi R.P., Triterpenoid saponins and sapogenins, *Phytochemistry*, **6**, 1249-1270 (1967)
- [53] Agarwal S.K., Rastogi R.P., Triterpenoid saponins and their genins, *Phytochemistry*, **13**, 2623-2645 (1974)

- [54] Chandel R.S., Rastogi R.P., Triterpenoid saponins and sapogenins: 1973-1978, *Phytochemistry*, **19**, 1889-1908 (1980)
- [55] Brieskorn C.H., Triterpenoide - physiologische Funktionen und therapeutische Eigenschaften, *Pharmazie in unserer Zeit*, **16**, 161-179 (1987)
- [56] Mahato S.B., Nandy A.K., Roy G., Triterpenoids, *Phytochemistry*, **31**, 2199-2249 (1992)
- [57] Xu R., Fazio G.C., Matsuda S.P.T., On the origins of triterpenoid skeletal diversity, *Phytochem*, **65**, 261-291 (2004)
- [58] Ahumada C., Saenz T., Garcia D., De La Puerta R., Fernandez A., Martinez E., The effects of a triterpene fraction isolated from *Crataegus monogyna* Jacq. on different acute inflammation models in rats and mice. Leucocyte migration and phospholipase A2 inhibition, *J Pharm Pharmacol*, **49**, 329-331 (1997)
- [59] Akihisa T., Yasukawa K., Kimura Y., Takase S., Yamanouchi S., Tamura T., Triterpene alcohols from camellia and sasanqua oils and their anti-inflammatory effects, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **45**, 2016-2023 (1997)
- [60] Akihisa T., Yasukawa K., Oinuma H., Kasahara Y., Yamanouchi S., Takido M., Kumaki K., Tamura T., Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects, *Phytochemistry*, **43**, 1255-1260 (1996)
- [61] Akihisa T., Yasukawa K., Yamaura M., Ukiya M., Kimura Y., Shimizu N., Arai K., Triterpene alcohol and sterol ferulates from rice bran and their anti-inflammatory effects, *J Agric Food Chem*, **48**, 2313-2319 (2000)
- [62] Chaturvedi A.K., Parmar S.S., Nigam S.K., Bhatnagar S.C., Misra G., Sastry B.V., Anti-inflammatory and anticonvulsant properties of some natural plant triterpenoids, *Pharmacol Res Commun*, **8**, 199-210 (1976)
- [63] Della Loggia R., Tubaro A., Sosa S., Becker H., Saar S., Isaac O., The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers, *Planta Med*, **60**, 516-520 (1994)
- [64] Fourie T.G., Snyckers F.O., A pentacyclic triterpene with anti-inflammatory and analgesic activity from the roots of *Commiphora merkeri*, *J Nat Prod*, **52**, 1129-1131 (1989)
- [65] Gupta M.B., Bhalla T.N., Gupta G.P., Mitra C.R., Bhargava K.P., Anti-inflammatory activity of natural products. I. Triterpenoids, *Eur J Pharmacol*, **6**, 67-70 (1969)
- [66] Kim S.Y., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S., Kim H.P., Inhibition of mouse ear edema by steroidal and triterpenoid saponins, *Arch Pharm Res*, **22**, 313-316 (1999)
- [67] Safayhi H., Sailer E.R., Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes, *Planta Med*, **63**, 487-493 (1997)
- [68] Rios J.L., Recio M.C., Manez S., Giner R.M., Natural triterpenoids as anti-inflammatory agents, in *Studies in Natural Products Chemistry*, Bd. 22 (Hrg.: Attta-ur-Rahman), Elsevier, 93-143 (2000)
- [69] Huguet A., del Carmen Recio M., Manez S., Giner R., Rios J., Effect of triterpenoids on the inflammation induced by protein kinase C activators, neuronally acting irritants and other agents, *Eur J Pharmacol*, **410**, 69-81 (2000)
- [70] Ryu S.Y., Oak M.H., Yoon S.K., Cho D.I., Yoo G.S., Kim T.S., Kim K.M., Anti-allergic and anti-inflammatory triterpenes from the herb of *Prunella vulgaris*, *Planta Med*, **66**, 358-360 (2000)
- [71] Geetha T., Varalakshmi P., Effect of lupeol and lupeol linoleate on lysosomal enzymes and collagen in adjuvant-induced arthritis in rats, *Mol Cell Biochem*, **201**, 83-87 (1999)
- [72] Geetha T., Varalakshmi P., Anticomplement activity of triterpenes from *Crataeva nurvala* stem bark in adjuvant arthritis in rats, *Gen Pharmacol*, **32**, 495-497 (1999)
- [73] Geetha T., Varalakshmi P., Latha R.M., Effect of triterpenes from *Crataeva nurvala* stem bark on lipid peroxidation in adjuvant induced arthritis in rats, *Pharmacol Res*, **37**, 191-195 (1998)
- [74] Kesava Reddy G., Dhar S.C., Effect of a new non-steroidal anti-inflammatory agent on lysosomal stability in adjuvant induced arthritis, *Ital J Biochem*, **36**, 205-217 (1987)
- [75] Kweifio-Okai G., De Munk F., Rumble B.A., Macrides T.A., Cropley M., Antiarthritic mechanisms of amyrin triterpenes, *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, **85**, 45-55 (1994)
- [76] Baltina L.A., Flekhter O.B., Nigmatullina L.R., Boreko E.I., Pavlova N.I., Nikolaeva S.N., Savinova O.V., Tolstikov G.A., Lupane Triterpenes and Derivatives with Antiviral Activity, *Bioorg Med Chem Lett*, **13**, 3549-3552 (2003)

- [77] al-Said M.S., Tariq M., al-Yahya M.A., Rafatullah S., Ginnawi O.T., Ageel A.M., Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine, *J Ethnopharmacol*, **28**, 305-312 (1990)
- [78] de Miranda A.L., Silva J.R., Rezende C.M., Neves J.S., Parrini S.C., Pinheiro M.L., Cordeiro M.C., Tamborini E., Pinto A.C., Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sucuuba*, *Planta Med*, **66**, 284-286 (2000)
- [79] Freire S.M., Torres L.M., Roque N.F., Souccar C., Lapa A.J., Analgesic activity of a triterpene isolated from *Scoparia dulcis* L. (Vassourinha), *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **86 Suppl 2**, 149-151 (1991)
- [80] Gaertner M., Muller L., Roos J.F., Cani G., Santos A.R., Niero R., Calixto J.B., Yunes R.A., Delle Monache F., Cechinel-Filho V., Analgesic triterpenes from *Sebastiania schottiana* roots, *Phytomedicine*, **6**, 41-44 (1999)
- [81] Peters R.R., Farias M.R., Ribeiro-do-Valle R.M., Anti-inflammatory and analgesic effects of cucurbitacins from *Wilbrandia ebracteata*, *Planta Med*, **63**, 525-528 (1997)
- [82] Vohora S.B., Shamsi M.A., Khan M.S., Antipyretic and analgesic studies on the diacetate of a new triterpenic acid isolated from *Corchorus depressus* L., *J Ethnopharmacol*, **4**, 223-228 (1981)
- [83] Andersson D., Liu J.-J., Nilsson A., Duan R.-D., Ursolic acid inhibits proliferation and stimulates apoptosis in HT29 cells following activation of alkaline sphingomyelinase, *Anticancer Research*, **23**, 3317-3322 (2003)
- [84] Huang M.T., Ho C.T., Wang Z.Y., Ferraro T., Lou Y.R., Stauber K., Ma W., Georgiadis C., Laskin J.D., Conney A.H., Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid, *Cancer Res*, **54**, 701-708 (1994)
- [85] Najid A., Simon A., Cook J., Chable-Rabinovitch H., Delage C., Chulia A.J., Rigaud M., Characterization of ursolic acid as a lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitor using macrophages, platelets and differentiated HL60 leukemic cells, *FEBS Lett*, **299**, 213-217 (1992)
- [86] Subbaramaiah K., Michaluart P., Sporn M.B., Dannenberg A.J., Ursolic acid inhibits cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells, *Cancer Res*, **60**, 2399-2404 (2000)
- [87] Liu J., Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid, *J Ethnopharmacol*, **49**, 57-68 (1995)
- [88] Yasukawa K., Takido M., Matsumoto T., Takeuchi M., Nakagawa S., Sterol and triterpene derivatives from plants inhibit the effects of a tumor promoter, and sitosterol and betulinic acid inhibit tumor formation in mouse skin two-stage carcinogenesis, *Oncology*, **48**, 72-76 (1991)
- [89] You Y.-J., Kim Y., Nam N.H., Ahn B.Z., Synthesis and Cytotoxic Activity of A-ring Modified Betulinic Acid Derivatives, *Bioorg Med Chem Lett*, **13**, 3137-3140 (2003)
- [90] Zuco V., Supino R., Righetti S.C., Cleris L., Marchesi E., Gambacorti-Passerini C., Formelli F., Selective cytotoxicity of betulinic acid on tumor cell lines, but not on normal cells, *Cancer Lett*, **175**, 17-25 (2002)
- [91] Baran J.S., Langford D.D., Liang C., Pitzele B.S., Synthesis and biological activities of substituted glycyrrhetic acids, *J Med Chem*, **17**, 184-191 (1974)
- [92] Boden S.E., Stimulation der 5-Lipoxygenase-Aktivität durch Tirucallsäuren aus *Boswellia spec.*, Dissertation, Eberhard-Karl-Universität, Tübingen (2000)
- [93] Boden S.E., Schweizer S., Bertsche T., Dufer M., Drews G., Safayhi H., Stimulation of leukotriene synthesis in intact polymorphonuclear cells by the 5-lipoxygenase inhibitor 3-oxo-tirucallic acid, *Molecular Pharmacology*, **60**, 267-273 (2001)
- [94] Pardhy R.S., Bhattacharyya S.C., Tetracyclic triterpene acids from the resin of *Boswellia serrata* Roxb., *Indian Journal of Chemistry B*, **16B**, 174-175 (1978)
- [95] Xaasan C.F., Minale L., Bashir M., Hussein M., Finamore E., Triterpenes of *Boswellia carterii*, *Rendiconto dell'Accademia delle Scienze Fisiche e Matematiche, Naples*, **51**, 93-96 (1984)
- [96] Belsner K., Buechele B., Werz U., Simmet T., Structural analysis of 3- α -acetyl-20(29)-lupene-24-oic acid, a novel pentacyclic triterpene isolated from the gum resin of *Boswellia serrata*, by NMR spectroscopy, *Magnetic Resonance in Chemistry*, **41**, 629-632 (2003)
- [97] Fattorusso E., Santacroce C., Xaasan C.F., Dammarane triterpenes from the resin of *Boswellia freerana*, *Phytochemistry*, **24**, 1035-1036 (1985)
- [98] Ennet D., Poetsch F., Schopka D., Indischer Weihrauch. Pharmazeutische Bewertung der Harzdroge und ihrer Zubereitungen, *Deutsche Apotheker Zeitung*, **140**, 105-113 (2000)

- [99] Shao Y., Ho C.T., Chin C.K., Badmaev V., Ma W., Huang M.T., Inhibitory activity of boswellic acids from *Boswellia serrata* against human leukemia HL-60 cells in culture, *Planta Med*, **64**, 328-331 (1998)
- [100] Dekebo A., Dagne E., Gautun O.R., Aasen A.J., Triterpenes from the resin of *Boswellia neglecta*, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, **16**, 87-90 (2002)
- [101] Obermann H., Monoterpensäuren als Spurenkomponenten in Olibanumöl, *Dragoco Rep*, **25**, 55-60 (1978)
- [102] de Rijke D., Traas P.C., ter Heide R., Boelens H., Takken H.J., Acidic components in essential oils of costus root, patchouli and olibanum, *Phytochemistry*, **17**, 1664-1666 (1978)
- [103] Mahajan B., Taneja S.C., Sethi V.K., Dhar K.L., Two triterpenoids from *Boswellia serrata* gum resin, *Phytochemistry*, **39**, 453-455 (1995)
- [104] Pailer M., Scheidl O., Gutwillinger H., Klein E., Obermann H., Über die Zusammensetzung des Pyrolysates von Weihrauch "Aden", dem Gummiharz von *Boswellia carteri* Birdw., 1. Mitt., *Monatsh Chem*, **112**, 341-358 (1981)
- [105] Pailer M., Scheidl O., Gutwillinger H., Klein E., Obermann H., Über die Zusammensetzung des Pyrolysates von Weihrauch "Aden", dem Gummiharz von *Boswellia carteri* Birdw., 2. Mitt., *Monatsh Chem*, **112**, 595-603 (1981)
- [106] Pailer M., Scheidl O., Gutwillinger H., Klein E., Obermann H., Über die Zusammensetzung des Pyrolysates von Weihrauch "Aden", dem Gummiharz von *Boswellia carteri* Birdw., 3. Mitt., *Monatsh Chem*, **112**, 987-1006 (1981)
- [107] Snatzke G., Vertesy L., Über die neutralen Sesqui- und Triterpene des Weihrauchs, *Monatsh Chem*, **98**, 121-132 (1967)
- [108] Henkel J.B., Handbuch der Pharmacognosie des Pflanzen- und Thierreichs, Verlag der H. Laupp'schen Buchhandlung, Tübingen (1867)
- [109] nach Zörnig H., Arzneidrogen, W. Klinkhardt, Leipzig (1909)
- [110] nach Zörnig H., Arzneidrogen, W. Klinkhardt, Leipzig (1909)
- [111] nach Zörnig H., Arzneidrogen, W. Klinkhardt, Leipzig (1909)
- [112] Karsten G., Weber U., Lehrbuch der Pharmakognosie für Hochschulen, 6. Aufl., G. Fischer, Jena (1946)
- [113] Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis (Hrg.: P. H. List, L. Hörhammer), 4. Aufl., Bd. 3, Springer, Berlin (1972)
- [114] Wehmer C., Die Pflanzenstoffe, G. Fischer, Jena (1911)
- [115] Jaretzky R., Lehrbuch der Pharmakognosie, 2. Aufl., Vieweg, Braunschweig (1949)
- [116] Hoppe H.A., Drogenkunde. Band 1. Angiospermen, 8. Aufl., de Gruyter, Berlin (1975)
- [117] Meißner R., Eine Apotheke des 16. Jahrhunderts dargestellt auf Grund einer notariell beglaubigten und bei dem Verkaufe der Rathsapotheke zu Kolberg im Jahre 1589 aufgestellten Inventur-liste, W. Bilz, Berlin (1908)
- [118] Imbesi A., Indice delle piante finora ammesse nelle farmacopee ufficiali dei diversi stati del mondo, Scilla, Messina (1964)
- [119] Einschränkung muss hier vermerkt werden, dass Olibanum in den meisten Fällen als Kleber für Pflaster offizinell war. Die innerliche Anwendung wird schon von Autoren des frühen 20. Jahrhunderts (Zörnig, Karsten/Weber, Jaretzky) als "selten" bezeichnet. Mit der Entwicklung synthetischer Pflasterklebstoffe verdrängten diese die pflanzlichen Harze auch aus Kostengründen als Pflasterzusätze.
- [120] Schreiben des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM), 7.2.2001
- [121] Eine Ausnahme sind elemiartige Harz wie das von *B. frereana*, das aber nicht in derartigen Produkten zum Einsatz kommt.
- [122] Schrott E., Weihrauch. Seine außergewöhnliche Heilwirkung neu entdeckt, J. Kamphausen, Bielefeld (2003)
- [123] Kluge H., Fernando C., Weihrauch und seine heilende Wirkung, Haug, Heidelberg (1998)
- [124] Freyberg I., Mit Weihrauch gegen Rheuma, Polyarthritits, Morbus Crohn, Asthma und andere Krankheiten, vgs, Köln (1998)

- [125] Siehe z.B. die Internetseiten von Vitamin Shop Direct Inc., Kerkrade/Niederlande (<http://www.vitamehr.com>), CommTrade GmbH, Bern/Schweiz (<http://www.naturepower-shop.com>), Olibanum B.V. Good Natural Products, Kerkrade/Niederlande (<http://www.olibanum-bv.com/>) oder den Katalog der Dr. Hittich GmbH, Kerkrade/Niederlande (Ausgabe 2/2002, S.17)
- [126] Die Aufzählung ist insofern nicht repräsentativ für die verschiedenen Spezies, dass dem indischen Weihrauch (*B. serrata*) traditionell mehr medizinisches Interesse entgegengebracht wurde (v. a. im Ausland). Wenn über die traditionelle Verwendung der arabischen und insbesondere der tropischen Spezies wenig bekannt ist, liegt dies eher am mangelnden Wissen darüber als am fehlenden Einsatz dieser Spezies.
- [127] Zörnig H., Arzneidroge, W. Klinkhardt, Leipzig (1909)
- [128] Bakshi D.N.G., Sensarma P., Pal D.C., A Lexicon of A Medicinal Plants in India, Bd. 1, Naya Prokash, Calcutta, India (1999)
- [129] Neuwinger H.D., African Traditional Medicine - A Dictionary of Plant use and Applications, medpharm Scientific Publishers, Stuttgart (2000)
- [130] Es ist nicht bekannt, ob es sich bei *B. microphylla* um eine eigene Art oder das Synonym für eine andere Art handelt; sie gehört nicht zu den anerkannten Weihraucharten.
- [131] Samuelsson G., Farah M.H., Claeson P., Hagos M., Thulin M., Hedberg O., Warfa A.M., Hassan A.O., Elmi A.H., Abdurahman A.D., Elmi A.S., Abdi Y.A., Alin M.H., Inventory of plants used in traditional medicine in Somalia. I. Plants of the families *Acanthaceae-Chenopodiaceae*, *J Ethnopharmacol*, **35**, 25-63 (1991)
- [132] Drosbeke E., Weihrauch, Iris, Amsterdam (1998)
- [133] Recio M.C., Giner R.M., Manes S., Rios J.L., Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids, *Planta Med*, **61**, 182-185 (1995)
- [134] Janakat S., Al-Merie H., Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*, *J Ethnopharmacol*, **83**, 135-138 (2002)
- [135] Sunitha S., Nagaraj M., Varalakshmi P., Hepatoprotective effect of lupeol and lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats, *Fitoterapia*, **72**, 516-523 (2001)
- [136] Ammon H.P.T., Mack T., Singh G.B., Safayhi H., Inhibition of leukotriene B4 formation in rat peritoneal neutrophils by an ethanolic extract of the gum resin exudate of *Boswellia serrata*, *Planta Med*, **57**, 203-207 (1991)
- [137] Safayhi H., Mack T., Sabieraj J., Anazodo M.I., Subramanian L.R., Ammon H.P., Boswellic acids: novel, specific, nonredox inhibitors of 5-lipoxygenase, *J Pharmacol Exp Ther*, **261**, 1143-1146 (1992)
- [138] Safayhi H., Sailer E.-R., Ammon H.P.T., Mechanism of 5-lipoxygenase inhibition by acetyl-11-keto- β -boswellic acid, *Molecular Pharmacology*, **47**, 1212-1216 (1995)
- [139] Sailer E.R., Subramanian L.R., Rall B., Hoernlein R.F., Ammon H.P., Safayhi H., Acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA): structure requirements for binding and 5-lipoxygenase inhibitory activity, *Br J Pharmacol*, **117**, 615-618 (1996)
- [140] Sailer E.R., Hoernlein R.F., Ammon H.P.T., Safayhi H., Structure-activity-relationships of 5-lipoxygenase-inhibition by boswellic acids, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **353**, R43 (1996)
- [141] Safayhi H., Sailer E.R., Ammon H.P.T., 5-Lipoxygenase inhibition by acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) by a novel mechanism, *Phytomedicine*, **3**, 71-72 (1996)
- [142] Samuelsson B., Dahlen S.E., Lindgren J.A., Rouzer C.A., Serhan C.N., Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects, *Science*, **237**, 1171-1176 (1987)
- [143] Denzlinger C., Biology and Pathophysiology of leukotrienes, *Critical Reviews in Oncology, Hematology*, **23**, 167-223 (1996)
- [144] Mayatepek E., Hoffmann G.F., Leukotrienes: biosynthesis, metabolism, and pathophysiologic significance, *Pediatric Res*, **37**, 1-9 (1995)
- [145] Ammon H.P., Safayhi H., Mack T., Sabieraj J., Mechanism of antiinflammatory actions of curcumine and boswellic acids, *J Ethnopharmacol*, **38**, 113-119 (1993)

- [146] Safayhi H., Boden S.E., Schweizer S., Ammon H.P., Concentration-dependent potentiating and inhibitory effects of *Boswellia* extracts on 5-lipoxygenase product formation in stimulated PMNL, *Planta Med*, **66**, 110-113 (2000)
- [147] Sailer E.-R., Hoernlein R.F., Subramanian L.R., Ammon H.P.T., Safayhi H., Preparation of novel analogs of the nonredox-type non-competitive leukotriene biosynthesis inhibitor AKBA, *Archiv der Pharmazie (Weinheim, Germany)*, **329**, 54-56 (1996)
- [148] Krieglstein C.F., Anthoni C., Rijcken E.J.M., Laukotter M., Spiegel H.-U., Boden S.E., Schweizer S., Safayhi H., Senninger N., Schurmann G., Acetyl-11-keto- β -boswellic acid, a constituent of a herbal medicine from *Boswellia serrata* resin, attenuates experimental ileitis, *International Journal of Colorectal Disease*, **16**, 88-95 (2001)
- [149] Poudrel J.M., Hullot P., Vidal J.P., Girard J.P., Rossi J.C., Muller A., Bonne C., Bezuglov V., Serkov I., Renard P., Pfeiffer B., Synthesis and structure-activity relationships of new 1,3-disubstituted cyclohexanes as structurally rigid leukotriene B(4) receptor antagonists., *J Med Chem*, **42**, 5289-5310 (1999)
- [150] Dahlén S.-E., Antileukotrienes, *Res Immunol*, **149**, 219-221 (1998)
- [151] Buccellati C., Fumagalli F., Viappiani S., Folco G., Leukotriene modifiers: novel therapeutic opportunities in asthma, *Il Farmaco*, **57**, 235-242 (2002)
- [152] Young R.N., Inhibitors of 5-lipoxygenase: a therapeutic potential yet to be fully realized?, *Eur J Med Chem*, **34**, 671-685 (1999)
- [153] Celotti F., Laufer S., Anti-inflammatory drugs: News multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept, *Pharmacol Res*, **43**, 429-436 (2001)
- [154] Celotti F., Durand T., The metabolic effects of inhibitors of 5-lipoxygenase and of cyclooxygenase 1 and 2 are an advancement in the efficacy and safety of anti-inflammatory therapy, *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, **71**, 147-162 (2003)
- [155] Bertolini A., Ottani A., Sandrini M., Dual acting antiinflammatory drugs: A reappraisal, *Pharmacol Res*, **44**, 437-450 (2001)
- [156] Hoernlein R.F., Orlikowsky T., Zehrer C., Niethammer D., Sailer E.R., Simmet T., Dannecker G.E., Ammon H.P.T., Acetyl-11-keto- β -boswellic acid induces apoptosis in HL-60 and CCRF-CEM cells and inhibits topoisomerase I, *J Pharmacol Exp Ther*, **288**, 613-619 (1999)
- [157] Syrovets T., Buchele B., Gedig E., Slupsky J.R., Simmet T., Acetyl-boswellic acids are novel catalytic inhibitors of human topoisomerases I and IIa, *Mol Pharmacol*, **58**, 71-81 (2000)
- [158] Altmann A., Fischer L., Schubert-Zsilavec M., Steinhilber D., Werz O., Boswellic acids activate p42(MAPK) and p38 MAPK and stimulate Ca^{2+} mobilization, *Biochem Biophys Res Commun*, **290**, 185-190 (2002)
- [159] Huang M.T., Badmaev V., Ding Y., Liu Y., Xie J.G., Ho C.T., Anti-tumor and anti-carcinogenic activities of triterpenoid, β -boswellic acid, *Biofactors*, **13**, 225-230 (2000)
- [160] Park R.-K., Oh K.-R., Lee K.-G., Mun Y.-J., Kim J.-H., Woo W.-H., The water extract of *Boswellia carterii* induces apoptosis in human leukemia HL-60 cells, *Yakhak Hoechi*, **45**, 161-168 (2001)
- [161] Park Y.S., Lee J.H., Bondar J., Harwalkar J.A., Safayhi H., Golubic M., Cytotoxic action of acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) on meningioma cells, *Planta Medica*, **68**, 397-401 (2002)
- [162] Park Y.S., Lee J.H., Harwalkar J.A., Bondar J., Safayhi H., Golubic M., Acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) is cytotoxic for meningioma cells and inhibits phosphorylation of the extracellular-signal regulated kinase 1 and 2, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **507**, 387-393 (2002)
- [163] Jing Y., Nakajo S., Xia L., Nakaya K., Fang Q., Waxman S., Han R., Boswellic acid acetate induces differentiation and apoptosis in leukemia cell lines, *Leuk Res*, **23**, 43-50 (1999)
- [164] Glaser T., Winter S., Groscurth P., Safayhi H., Sailer E.R., Ammon H.P., Schabet M., Weller M., Boswellic acids and malignant glioma: induction of apoptosis but no modulation of drug sensitivity, *Br J Cancer*, **80**, 756-765 (1999)
- [165] Hostanska K., Daum G., Saller R., Cytostatic and apoptosis-inducing activity of boswellic acids toward malignant cell lines in vitro, *Anticancer Research*, **22**, 2853-2862 (2002)

- [166] Liu J.-J., Nilsson A., Oredsson S., Badmaev V., Duan R.-D., Keto- and acetyl-keto-boswellic acids inhibit proliferation and induce apoptosis in Hep G2 cells via a caspase-8 dependent pathway, *International Journal of Molecular Medicine*, **10**, 501-505 (2002)
- [167] Zhao W., Entschladen F., Liu H., Niggemann B., Fang Q., Zaenker K.S., Han R., Boswellic acid acetate induces differentiation and apoptosis in highly metastatic melanoma and fibrosarcoma cells, *Cancer Detection and Prevention*, **27**, 67-75 (2003)
- [168] Dahmen U., Gu Y.L., Dirsch O., Fan L.M., Li J., Shen K., Broelsch C.E., Boswellic Acid, a Potent Antiinflammatory Drug, Inhibits Rejection to the Same Extent as High Dose Steroids, *Transplantation Proceedings*, **33**, 539-541 (2001)
- [169] Safayhi H., Rall B., Sailer E.R., Ammon H.P., Inhibition by boswellic acids of human leukocyte elastase, *J Pharmacol Exp Ther*, **281**, 460-463 (1997)
- [170] Rall B., Ammon H.P.T., Safayhi H., Boswellic acids and protease activities, *Phytomedicine*, **3**, 75-76 (1996)
- [171] Rall B., Effekte der Boswelliasäuren auf Entzündungsfaktoren in vitro: Untersuchungen zur Aktivität der Humanen Leukozyten Elastase und zur Sauerstoffradikalbildung, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen (1996)
- [172] von Ritter C., Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen - Pathophysiologie und medikamentöse Therapie, *Radiologe*, **38**, 3-7 (1998)
- [173] Stange E.F., Colitis ulcerosa - Morbus Crohn, Uni-med, Bremen (1999)
- [174] Chang P., Schwartz R.W., Crohn's disease: Current Concepts in diagnosis and treatment, *Curr Surgery*, **58**, 288-292 (2001)
- [175] Hanauer S.B., Krawitt E.L., Robinson M., Rick G.R., Safdi M.A., Long-Term Management of Crohn's Disease with Mesalamine Capsules (Pentasa (R)), *The American Journal of Gastroenterology*, **88**, 1343-1351 (1993)
- [176] Podolsky D.K., Inflammatory Bowel Disease, *New England J Med*, **347**, 417-429 (2002)
- [177] Moum B., Medical treatment: does it influence the natural course of inflammatory bowel disease?, *Eur J Intern Med*, **11**, 197-203 (2000)
- [178] Heuschkel R., Afzal N., Wuerth A., Zurakowski D., Leichtner A., Kemper K., Tolia V., Bousvaros A., Complementary Medicine use in children and young adults with Inflammatory Bowel Disease, *Am J Gastroenterol*, **97**, 382-388 (2002)
- [179] Gupta I., Parihar A., Malhotra P., Singh G.B., Ludtke R., Safayhi H., Ammon H.P., Effects of *Boswellia serrata* gum resin in patients with ulcerative colitis, *Eur J Med Res*, **2**, 37-43 (1997)
- [180] Gupta I., Parihar A., Malhotra P., Gupta S., Ludtke R., Safayhi H., Ammon H.P.T., Effects of gum resin of *Boswellia serrata* in patients with chronic colitis, *Planta Medica*, **67**, 391-395 (2001)
- [181] Gerhardt H., Therapeutischer Nutzen des *Boswellia-serrata*-Extrakts H15, *Med Welt*, **52**, 37-39 (2001)
- [182] Gerhardt H., Seifert F., Buvvari P., Vogelsang H., Reppes R., Therapie des aktiven Morbus Crohn mit dem *Boswellia-serrata*-Extrakt H15, *Z Gastroenterol*, **39**, 11-17 (2001)
- [183] Seifert F., Gerhardt H., Lebensqualität unter antientzündlicher Therapie mit dem *Boswellia-serrata*-Extrakt H15, *Med Welt*, **52**, 3-8 (2001)
- [184] Gupta I., Gupta V., Parihar A., Gupta S., Ludtke R., Safayhi H., Ammon H.P., Effects of *Boswellia serrata* gum resin in patients with bronchial asthma: results of a double-blind, placebo-controlled, 6-week clinical study, *Eur J Med Res*, **3**, 511-514 (1998)
- [185] Janßen G., Bode U., Breu H., Dohrn B., Engelbrecht V., Gobel U., Boswellic acids in the palliative therapy of children with progressive or relapsed brain tumors, *Klin Padiatr*, **212**, 189-195 (2000)
- [186] Sander O., Herborn G., Rau R., Ist H15 (Harzextrakt von *Boswellia serrata*, "Weihrauch") eine sinnvolle Ergänzung zur etablierten medikamentösen Therapie der chronischen Polyarthritits? Ergebnisse einer doppelblinden Pilotstudie, *Zeitschrift für Rheumatologie*, **57**, 11-16 (1998)
- [187] Kulkarni R.R., Patki P.S., Jog V.P., Gandage S.G., Patwardhan B., Treatment of osteoarthritis with a herbomineral formulation: a double-blind, placebo-controlled, cross-over study, *J Ethnopharmacol*, **33**, 91-95 (1991)
- [188] Die Bewertung der genannten Studie (Kulkarni *et al.* 1991, s. vorangegangene Literaturstelle) wird zusätzlich dadurch erschwert, dass im Abstract "stem" (Stamm), im Artikel selbst hingegen

- "Sallai Guggul/oleo-resin" (also das Harz von *B. serrata*) als Weihrauchbestandteil der Medikation angegeben wird.
- [189] Persönliche Mitteilung (e-Mail), Prof. M. Thulin, Uppsala Universität, Schweden, 12.2.2004
- [190] Persönliche Mitteilung, R. Dreyer, C. E. Roeper GmbH (Hamburg), 13.1.2004
- [191] Martius T.W.C., Pharmakognosie des Pflanzenreiches zum Gebrauche bei akademischen Vorlesungen, so wie für Ärzte, Apotheker und Droguisten entworfen, J.J.Palm und E. Enke, Erlangen (1832)
- [192] Wasicky R., Leitfaden für die Pharmakognostischen Untersuchungen im Unterricht und in der Praxis. II. Teil, F. Deuticke, Leipzig, Wien (1936)
- [193] Jork H., Funk W., Fischer W., Wimmer H., Dünnschichtchromatographie - Reagenzien und Nachweismethoden. Band 1a. Physikalische und chemische Nachweismethoden: Grundlagen, Reagenzien I, VCH, Weinheim (1990)
- [194] Klein E., Obermann H., (S)-1-Isopropyl-4,8,12-trimethyl-cyclotetradeca-3E,7E,11E-trien-1-ol, ein neues Cembrenol aus dem ätherischen Öl von Olibanum, *Tet Lett*, **4**, 349-352 (1978)
- [195] Basar S., Koch A., König W.A., A verticillane-type diterpene from *Boswellia carterii* essential oil, *Flavour and Fragrance Journal*, **16**, 315-318 (2001)
- [196] Obermann H., Die chemischen und geruchlichen Unterschiede von Weihrauchharzen, *Dragoco Rep*, **24**, 260-265 (1977)
- [197] Corsano S., Nicoletti R., The structure of incensole, *Tetrahedron*, **23**, 1977-1984 (1967)
- [198] Strappaghetti G., Corsano S., Craveiro A., Proietti G., Constituents of essential oil of *Boswellia frereana*, *Phytochemistry*, **21**, 2114-2115 (1982)
- [199] Baser K.H.C., Demirci B., Dekebo A., Dagne E., Essential oils of some *Boswellia* spp., myrrh and opopanax, *Flavour and Fragrance Journal*, **18**, 153-156 (2003)
- [200] Van Bergen P.F., Peakman T.M., Leigh-Firbank E.C., Evershed R.P., Chemical evidence for archaeological frankincense: Boswellic acids and their derivatives in solvent soluble and insoluble fractions of resin-like materials, *Tetrahedron Letters*, **38**, 8409-8412 (1997)
- [201] Mathe C., Culioli G., Archier P., Vieillescazes C., Characterization of archaeological frankincense by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography, A*, **1023**, 277-285 (2004)
- [202] Archier P., Vieillescazes C., Characterization of various geographical origin incense based on chemical criteria, *Analisis*, **28**, 233-237 (2000)
- [203] Edwards H.G.M., Falk M.J., Fourier-Transform Raman Spectroscopic Study of Frankincense and Myrrh, *Spectrochim. Acta Part A*, **53**, 2393-2402 (1997)
- [204] Brody R.H., Edwards H.G.M., Pollard A.M., Fourier transform-Raman spectroscopic study of natural resins of archeological interest, *Biopolymers*, **67**, 129-141 (2002)
- [205] Hahn-Deinstrop E., Koch A., Weihrauch im Labor, *Pharmazeutische Zeitung*, **145**, 774-776 (2000)
- [206] Hairfield E.M., Hairfield H.H., Jr., McNair H.M., GC, GC/MS, and TLC of β -boswellic acid and O-acetyl- β -boswellic acid from *B. serrata*, *B. carte[r]ii*, and *B. papyrifera*, *J Chromatograph Sci*, **27**, 127-133 (1989)
- [207] Chiavari G., Galletti G.C., Piccaglia R., Mohamud M.A., Differentiation between resins [of] *Boswellia carterii* and *Boswellia frereana* (frankincense) of Somali origin, *Journal of Essential Oil Research*, **3**, 185-186 (1991)
- [208] Lucy C.A., Evolution of ion-exchange: from Moses to the Manhattan Project to Modern Times, *J Chromatogr A*, **1000**, 711-724 (2003)
- [209] Die Bezeichnung "synthetische Ionenaustauscherharze" erfolgte in Anlehnung an die zur selben Zeit eingeführten "synthetischen Harze" wie Bakelit.
- [210] Abrams I.M., Millar J.R., A history of the origin an development of macroporous ion-exchange resins, *Reactive Funct Polymers*, **35**, 7-22 (1997)
- [211] Pietrzyk D.J., Ion chromatography, in *Encyclopedia of analytical chemistry* (Hrg.: R. A. Meyers), Wiley, New York, 11360-11383 (2000)
- [212] De Dardel F., Arden T.N., Ion exchangers, in *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, Bd. A 14 (Hrg.: B. Elvers), VCH, Weinheim, 393-459 (1989)

- [213] Malshe V.C., Sujatha E.S., Regeneration and reuse of cation-exchange resin catalyst used in alkylation of phenol, *Reactive Funct Polymers*, **1997**, 159-168 (1997)
- [214] Koivula R., Lehto J., Pajo L., Gale T., Leinonen H., Purification of metal plating rinse waters with chelating ion exchangers, *Hydrometallurgy*, **56**, 93-108 (2000)
- [215] Anand V., Kandarapu R., Garg S., Ion-exchange resins - carrying drug delivery forward, *Drug Discovery Today*, **6**, 905-914 (2001)
- [216] Bergemann C., Müller-Schulte D., Oster J., à Brassard L., Lübbe A.S., Magnetic ion-exchange nano- and microparticles for medical, biochemical and molecular biological applications, *J Magnetism Magn Materiasl*, **194**, 45-52 (1999)
- [217] Artigas J., Jimènez C., Domínguez C., Mínguez S., Gonzalo A., Alonso J., Development of a multiparametric analyser based on ISFET sensors applied to process control in the wine industry, *Sensors Actuators B*, **89**, 199-204 (2003)
- [218] Mongay C., Pastor A., Olmos C., Determination of carboxylic acids and inorganic anions in wines by ion-exchange chromatography, *J Chromatogr A*, **736**, 351-357 (1996)
- [219] Chen J., Determination of organic acids in industrial streams by ion chromatography after solid-phase extraction, *J Chromatogr A*, **739**, 273-280 (1996)
- [220] Chen Q.-C., Wang J., Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography, *J Chromatogr A*, **937**, 57-64 (2001)
- [221] Xie Y.-T., Chen P., Wei W.-Z., Rapid Analysis of Preservatives in Beverages by Ion Chromatography with Series Piezoelectric Quartz Crystal as Detector, *Microchem J*, **61**, 58-68 (1999)
- [222] Chen Q., Mou S., Hou X., Riviello J.M., Ni Z., Determination of eight synthetic food colorants in drinks by high-performance ion chromatography, *J Chromatogr A*, **827**, 73-81 (1998)
- [223] Talamond P., Doubeau S., Rochette I., Guyot J.-P., Treche S., Anion-exchange high-performance liquid chromatography with conductivity detection for the analysis of phytic acid in food, *J Chromatogr A*, **871**, 7-12 (2000)
- [224] Dumont P.J., Fritz J.S., Schmidt L.W., Cation-exchange chromatography in non-aqueous solvents, *J Chromatogr A*, **706**, 109-114 (1995)
- [225] Knize M.G., Salmon C.P., Hopmans E.C., Felton J.S., Analysis of foods for heterocyclic aromatic amine carcinogens by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography, *J Chromatogr A*, **763**, 179-185 (1997)
- [226] Dufresne C., Isolation by ion-exchange methods, in *Natural products isolation*, Bd. 4 (Hrg.: R. J. P. Cannell), Humana Press, Totowa, NJ, 141-164 (1998)
- [227] Anasthas H.M., Gaikar V.G., Adsorption of acetic acid on ion-exchange resins in non-aqueous conditions, *Reactive Funct Polymers*, **47**, 23-35 (2001)
- [228] Mohammed N.A., Daher A.M., Preparation of high-purity zirconia from Egyptian zircon: an anion-exchange purification process, *Hydrometallurgy*, **65**, 103-107 (2002)
- [229] Taylor R., Krishna R., Modelling reactive distillation, *Chem Eng Sci*, **55**, 5183-5229 (2000)
- [230] Schoenmakers H.G., Bessling B., Reactive and catalytic distillation from an industrial perspective, *Chem Eng Processing*, **42**, 145-155 (2003)
- [231] Schmitt M., Hasse H., Althaus K., Schoenmakers H., Götze L., Moritz P., Synthesis of n-hexyl acetate by reactive distillation, *Chem Eng Processing*, **43**, 397-409 (2004)
- [232] Saha B., Chopade S.P., Mahajani S.M., Recovery of dilute acetic acid through esterification in a reactive distillation column, *Catalysis Today*, **60**, 147-157 (2000)
- [233] Huss R.S., Chen F., Malone M.F., Doherty M.F., Reactive distillation for methyl acetate production, *Computers Chem Eng*, **27**, 1855-1866 (2003)
- [234] Harmer M.A., Sun Q., Solid acid catalysis using ion-exchange resins, *Appl Catalysis A*, **221**, 45-62 (2001)
- [235] Di Girolamo M., Marchionna M., Acidic and basic ion exchange resins for industrial applications, *J Mol Catal A*, **177**, 33-40 (2001)
- [236] Elder D.P., A complex solution, *Chem Ind*, 209-214 (2001)
- [237] Bellamy S.A., The use of ion exchange and polymeric resins in pharmaceutical applications in Europe, *Reactive Polymers*, **24**, 117-119 (1995)

- [238] Korkisch J., Urubay S., Ion exchange in non-aqueous solvents. Adsorption behaviour of uranium and other elements in strong-base anion-exchange resin from organic acid-organic solvent media, *Talanta*, **11**, 721-746 (1964)
- [239] Pietrzyk D.J., Ion-exchange resins in non-aqueous solvents - I. Sorption rates of p-Nitroaniline and the effects of small amounts of water, *Talanta*, **13**, 209-223 (1966)
- [240] Pietrzyk D.J., Ion-exchange resins in non-aqueous solvents - II. Sorption of p-Nitroaniline and other weak bases in water-organic solvent mixtures, *Talanta*, **13**, 225-232 (1966)
- [241] Pietrzyk D.J., Ion-exchange resins in non-aqueous solvents - III. Solvent-uptake properties of ion-exchange resins and related adsorbents, *Talanta*, **16**, 169-179 (1969)
- [242] Thomas J.D.R., Some aspects of ion-exchange in non-aqueous and mixed solvents, *J Chromatogr*, **102**, 209-215 (1974)
- [243] Khong P.W., Lewis K.G., Acetyl migration in Urs-12-ene-3 α ,24-diol, *Aust J Chem*, **28**, 201-206 (1975)
- [244] Drefahl G., Huneck S., Über Aminoverbindungen aus α - und β -Boswelliasäure und Ursolsäure, *Chem Ber*, **94**, 1145-1151 (1961)
- [245] Safayhi H., Schweizer S., Ammon H.P.T., Procedure for the isolation of tetra- and pentacyclic triterpenic acids by precipitation with calcium and/or magnesium salts, Ger. Offen., 10035591 (2002)
- [246] Schweizer S., Isolierung und Charakterisierung genuiner und nicht-genuiner Triterpene aus dem Weihrauchharz und deren Wirkung auf die Leukotrienbiosynthese *in vitro*, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen (2000)
- [247] Stahl E.H., Dünnschichtchromatographie - Ein Laboratoriumshandbuch, 2. Aufl., Springer, Berlin (1967)
- [248] Kraus L., Koch A., Hoffstetter-Kuhn S., Dünnschichtchromatographie, Springer, Berlin (1996)
- [249] Hahn-Deinstrop E., Dünnschicht-Chromatographie - Praktische Durchführung und Fehlervermeidung, Wiley-VCH, Weinheim (1998)
- [250] Fried B., Sherma J., Practical thin-layer chromatography. A multidisciplinary approach, CRC, Boca Raton, FL, USA (1996)
- [251] Poole C.F., Planar chromatography at the turn of the century, *J Chromatogr A*, **856**, 399-427 (1999)
- [252] Poole C.F., Thin-layer chromatography: challenges and opportunities, *J Chromatogr A*, **1000**, 963-984 (2003)
- [253] Jork H., Funk W., Fischer W., Wimmer H., Dünnschichtchromatographie - Reagenzien und Nachweismethoden. Band 1a. Physikalische und chemische Nachweismethoden: Aktivierungsreaktionen, Reagenzfolgen, Reagenzien II, VCH, Weinheim (1993)
- [254] Lin L., Zhang J., Wang P., Wang Y., Chen J., Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods, *J Chromatogr A*, **815**, 3-20 (1998)
- [255] Sherma J., Thin-layer chromatography in food and agricultural analysis, *J Chromatogr A*, **880**, 129-147 (2000)
- [256] Nyiredy S., The bridge between TLC and HPLC: overpressured layer chromatography (OPLC), *Trends Anal Chem*, **20**, 91-101 (2001)
- [257] Nyiredy S., Progress in forced-flow planar chromatography, *J Chromatogr A*, **1000**, 985-999 (2003)
- [258] Han J., Wang D., Wang D., Wang Y., Zhou M., Li L., Zhang H., Coupling development and elution, a new thin-layer chromatography technique, *J Chromatogr A*, **1002**, 213-219 (2003)
- [259] Wilson I.D., The state of the art in thin-layer chromatography-mass spectrometry: a critical appraisal, *J Chromatogr A*, **856**, 429-442 (1999)
- [260] Williams C.M., Mander L.M., Chromatography with silver nitrate, *Tetrahedron*, **57**, 425-447 (2001)
- [261] Lawrence B.M., The use of silver nitrate impregnated silica gel layers in the separation of monoterpene hydrocarbons, *J. Chromatogr.*, **38**, 535-537 (1968)
- [262] Cubero J.M., Mangold H.K., Chromatography on absorbent layers impregnated with silver nitrate, *Microchem J*, **9**, 227-236 (1965)
- [263] Kohli J.C., Badaisha K.K., Improved procedure for the thin-layer chromatography of terpenoids on silver ion-silica gel layers, *J. Chromatogr.*, **320**, 455-456 (1985)
- [264] Aizetmüller K., Concalvez L.A.G., Dynamic impregnation of silica stationary phases for the argentation chromatography of lipids, *J. Chromatogr.*, **519**, 349-358 (1990)

- [265] Li T.-S., Li J.-T., Li H.-Z., Modified and convenient preparation of silica impregnated with silver nitrate and its application to the separation of steroids and triterpenes, *J Chromatogr A*, **715**, 372-375 (1995)
- [266] Bidlingmaier B., Unger K.K., von Doehren N., Comparative study on the column performance of microparticulate 5- μ m C18-bonded and monolithic C18-bonded reversed-phase columns in high-performance liquid chromatography, *J Chromatogr A*, **832**, 11-16 (1999)
- [267] McCalley D.V., Comparison of conventional microparticulate and a monolithic reversed-phase column for high-efficiency fast liquid chromatography of basic compounds, *J Chromatogr A*, **965**, 51-64 (2002)
- [268] Ishizuka N., Minakuchi H., Nakanishi K., Soga N., Tanaka N., Designing monolithic double-pore silica for high-speed liquid chromatography, *J Chromatogr A*, **797**, 133-137 (1998)
- [269] Ishizuka N., Minakuchi H., Nakanishi K., Hirao K., Tanaka N., Chromatographic characterization of macroporous monolithic silica prepared via sol-gel process, *Colloids Surfaces A*, **187-188**, 273-279 (2001)
- [270] Ishizuka N., Kobayashi H., Minakuchi H., Nakanishi K., Hirao K., Hosoya K., Ikegami T., Tanaka N., Monolithic silica columns for high-efficiency separations by high-performance liquid chromatography, *J Chromatogr A*, **960**, 85-96 (2002)
- [271] Castellari M., Sartini E., Fabiani A., Arfelli G., Amati A., Analysis of wine phenolics by high-performance liquid chromatography using a monolithic type column, *J Chromatogr A*, **973**, 221-227 (2002)
- [272] van Nederkassel A.M., Aerts A., Dierick A., Massart D.L., Heyden Y.V., Fast separations on monolithic silica columns: method transfer, robustness and column ageing for some case studies, *J Pharm Biomed Anal*, **32**, 233-249 (2003)
- [273] Sperlingová I., Dabrowská L., Stránský V., Tichý M., A rapid HPLC method for the determination of carboxylic acids in human urine using a monolithic column, *Anal Bioanal Chem*, **378**, 536-543 (2004)
- [274] Mahato S.B., Kundu A.P., ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids - a compilation and some salient features, *Phytochem*, **37**, 1517-1575 (1994)
- [275] Reynolds W.F., Enriquez R.G., Choosing the best pulse sequences, acquisition parameters, postacquisition strategies, and probes for natural product structure elucidation by NMR spectroscopy, *J Nat Prod*, **65**, 221-244 (2002)
- [276] Kessler H., Gehrke M., Griesinger C., Zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Grundlagen, und Übersicht über die Experimente, *Angew Chemie*, **100**, 507-554 (1988)
- [277] Christie W.W., Lipid Analysis - Literature Service (Version vom 14.12.2003), lipid.co.uk/infores/lit_surv.html (Zugriff am 12.1.2004)
- [278] Lockwood G.B., Techniques for gas chromatography of volatile terpenoids from a range of matrices, *J Chromatogr A*, **936**, 23-31 (2001)
- [279] Yamauchi K., Tanabe T., Kinoshita M., Trimethylsulfonium Hydroxide: A New Methylating Agent, *J Org Chem*, **44**, 638-639 (1979)
- [280] Yamauchi K., Nakagima T., Kinoshita M., Methylation of Nucleosides with Trimethylsulfonium Hydroxide - Effects of Transition Metal Ions, *J Org Chem*, **45**, 3865-3868 (1980)
- [281] El-Hamdy A.H., Christie W.W., Preparation of methyl esters of fatty acids with trimethylsulfonium hydroxide. An appraisal, *J. Chromatogr.*, **630**, 438-441 (1992)
- [282] Metcalfe L.D., Wang C.N., Rapid preparation of fatty acid methyl esters using organic base-catalyzed transesterification, *J Chromatograph Sci*, **19**, 530-535 (1981)
- [283] Ishida Y., Wakamatsu S., Yokoi H., Ohtani H., Tsuge S., Compositional analysis of polyunsaturated fatty acid oil by one-step thermally assisted hydrolysis and methylation in the presence of trimethylsulfonium hydroxide, *J Anal Appl Pyrolysis*, **49**, 267-276 (1999)
- [284] Asperger A., Engewald W., Fabian G., Advances in the analysis of natural waxes provided by thermally assisted hydrolysis and methylation (THM) in combination with GC-MS, *J Anal Appl Pyrolysis*, **52**, 51-63 (1999)

- [285] Asperger A., Engewald W., Fabian G., Thermally assisted hydrolysis and methylation – a simple and rapid online derivatization method for the gas chromatographic analysis of natural waxes, *J Anal Appl Pyrolysis*, **61**, 91-109 (2001)
- [286] Tanczos I., Schöflinger M., Schmidt H., Ball J., Cannizzaro reaction of aldehydes in TMAH thermochemolysis, *J Anal Appl Pyrolysis*, **42**, 21-31 (1997)
- [287] Tanczos I., Rendl K., Schmidt H., The behavior of aldehydes - produced as primary pyrolysis products - in the thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide, *J Anal Appl Pyrolysis*, **49**, 319-327 (1999)
- [288] Pulchan K.J., Helleur R., Abrajano T.A., TMAH thermochemolysis characterization of marine sedimentary organic matter in a Newfoundland fjord, *Org. Geochem.*, **34**, 305-317 (2003)
- [289] Filley T.R., Minard R.D., Hatcher P.G., Tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis: proposed mechanisms based upon the application of ¹³C-labeled TMAH to a synthetic model lignin dimer, *Org. Geochem.*, **30**, 607-621 (1999)
- [290] Fabbri D., Helleur R., Characterization of the tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of carbohydrates, *J Anal Appl Pyrolysis*, **49**, 277-293 (1999)
- [291] Aparicio R., Aparicio-Ruiz R., Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques, *J Chromatogr A*, **881**, 93-104 (2000)
- [292] van den Berg A.J., Boon J.J., Pastorova I., Spetter L.F.M., Mass spectrometric methodology for the analysis of highly oxidized diterpenoid in old master paintings, *J Mass Spectr.*, **35**, 512-533 (2000)
- [293] Nakanishi O., Highly sensitive determination of lipid components including polyunsaturated fatty acids in individual zooplankters by one-step thermally assisted hydrolysis and methylation-gas chromatography in the presence of trimethylsulfonium hydroxide, *J Anal Appl Pyrolysis*, **68-69**, 187-195 (2003)
- [294] Lehtonen T., Peuravuori J., Pihlaja K., Comparison of quaternary methyl-, ethyl- and butylammonium hydroxides as alkylating reagents in pyrolysis-GC/MS studies of aquatic fulvic acid, *J Anal Appl Pyrolysis*, **68-69**, 315-329 (2003)
- [295] Hardell H.-L., Nilvebrant N.-O., A rapid method to discriminate between free and esterified fatty acids by pyrolytic methylation using tetramethylammonium acetate or hydroxide, *J Anal Appl Pyrolysis*, **52**, 1-14 (1999)
- [296] Büchele B., Simmet T., Analysis of 12 different pentacyclic triterpenic acids from frankincense in human plasma by high-performance liquid chromatography and photodiode array detection, *J Chromatogr B*, **795**, 355-362 (2003)
- [297] Evershed R.P., Van Bergen P.F., Peakman T.M., Leigh-Firbank E.C., Horton M.C., Edwards D., Biddle M., Kjolbye-Biddle B., Rowley-Cowny P.A., Archaeological frankincense, *Nature*, **390**, 667-668 (1997)
- [298] Die Bezeichnungen "polar", "mittelpolar" und "unpolar" sind hierbei relativ zu verstehen; im Gegensatz zu anderen organischen Säuren sind alle Säuren aus dem Weihrauch sehr unpolar.
- [299] Dupont G., Dulou R., Devillers P., Sur la préparation de l'acide déhydroabiétique et du déhydroabiétinate de méthyle, *Bull Soc Chim*, **16**, 315-317 (1949)
- [300] Dupont G., Dulou R., Leon V., Nouvelle méthode de déshydrogénation catalytique des esters abiétiques ou résiniques., *Bull Soc Chim*, **21**, 239-241 (1951)
- [301] Ayer W.A., Macaulay J.B., Metabolites of the honey mushroom, *Armillaria mellea*, *Can J Chem*, **65**, 7-14 (1987)
- [302] Hongjie Z., Handog S., Diterpenoids from *Rabdosia kunmingensis*, *Phytochem*, **28**, 3405-3409 (1989)
- [303] Lee C.-K., Fang J.-M., Cheng Y.-S., Abietanes from leaves of *Juniperus chinensis*, *Phytochem*, **35**, 983-986 (1994)
- [304] Audier H.E., Bory S., Fétizon M., Anh N.-T., Spectres de masse de terpènes. III. Influence des liaisons éthyléniques sur la fragmentation des diterpènes, *Bull Soc Chim*, 4002-4010 (1966)
- [305] Krohn K., Rao M.S., Raman N.V., Khalilullah M., High-performance thin layer chromatographic analysis of anti-inflammatory triterpenoids from *Boswellia serrata* Roxb., *Phytochem Anal*, **12**, 374-376 (2001)
- [306] Alternativ kann jeder andere Farbstoff verwendet werden, der einen vergleichbaren Farbton ergibt.

- [307] Fernandez M.A., Tornos M.P., Garcia M.D., de las Heras B., Villar A.M., Saenz M.T., Anti-inflammatory activity of abietic acid, a diterpene isolated from *Pimenta racemosa* var. *grisea*, *J Pharm Pharmacol*, **53**, 867-872 (2001)
- [308] Cullen R.T., Cherrie B., Soutar C.A., Immune responses to colophony, an agent causing occupational asthma, *Thorax*, **47**, 1050-1055 (1992)
- [309] Keira T., Aizawa Y., Karube H., Niituya M., Shinohara S., Kuwashima A., Harada H., Takata T., Adverse effects of colophony, *Ind Health*, **35**, 1-7 (1997)
- [310] Sadhra S., Foulds I.S., Gray C.N., Koh D., Gardiner K., Colophony - uses, health effects, airborne measurement and analysis, *Ann Occup Hyg*, **38**, 385-396 (1994)
- [311] Gafvert E., Allergenic components in modified and unmodified rosin. Chemical characterization and studies of allergenic activity, *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, **184**, 1-36 (1994)
- [312] Gafvert E., Shao L.P., Karlberg A.T., Nilsson U., Nilsson J.L., Allergenicity of rosin (colophony) esters (II). Glyceryl monoabietate identified as contact allergen, *Contact Dermatitis*, **31**, 11-17 (1994)
- [313] Hausen B.M., Jensen S., Mohnert J., Contact allergy to colophony. (IV). The sensitizing potency of commercial products. An investigation of French and American modified colophony derivatives, *Contact Dermatitis*, **20**, 133-143 (1989)
- [314] Hausen B.M., Krohn K., Budianto E., Contact allergy due to colophony (VII). Sensitizing studies with oxidation products of abietic and related acids, *Contact Dermatitis*, **23**, 352-358 (1990)
- [315] Hausen B.M., Krueger A., Mohnert J., Hahn H., König W.A., Contact allergy due to colophony (III). Sensitizing potency of resin acids and some related products, *Contact Dermatitis*, **20**, 41-50 (1989)
- [316] Karlberg A.T., Contact allergy to colophony. Chemical identifications of allergens, sensitization experiments and clinical experiences, *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, **139**, 1-43 (1988)
- [317] Karlberg A.T., Bergstedt E., Boman A., Bohlinder K., Liden C., Lars J., Nilsson G., Wahlberg J.E., Is abietic acid the allergenic component of colophony?, *Contact Dermatitis*, **13**, 209-215 (1985)
- [318] Karlberg A.T., Bohlinder K., Boman A., Hacksell U., Hermansson J., Jacobsson S., Nilsson J.L., Identification of 15-hydroperoxyabietic acid as a contact allergen in Portuguese colophony, *J Pharm Pharmacol*, **40**, 42-47 (1988)
- [319] Karlberg A.T., Boman A., Nilsson J.L., Hydrogenation reduces the allergenicity of colophony (rosin), *Contact Dermatitis*, **19**, 22-29 (1988)
- [320] Sadhra S., Foulds I.S., Gray C.N., Oxidation of resin acids in colophony (rosin) and its implications for patch testing, *Contact Dermatitis*, **39**, 58-63 (1998)
- [321] Shao L.P., Gafvert E., Karlberg A.T., Nilsson U., Nilsson J.L., The allergenicity of glycerol esters and other esters of rosin (colophony), *Contact Dermatitis*, **28**, 229-234 (1993)
- [322] Ehrin E., Karlberg A.T., Detection of rosin (colophony) components in technical products using an HPLC technique, *Contact Dermatitis*, **23**, 359-366 (1990)
- [323] Ziegler K., Späth A., Schaaf E., Schumann W., Winkelmann E., Die Halogenierung ungesättigter Substanzen in der Allylstellung, *Liebigs Ann Chem*, **551**, 80-119 (1943)
- [324] Ruzicka L., Jeger O., Ingold W., Zur Kenntnis der Triterpene 91. Umsetzungen in den Ringen A und B bei β -Boswellinsäure, *Helvetica Chimica Acta*, **27**, 1859-1867 (1944)
- [325] Finucane B.W., Thomson J.B., Triterpenoids- Part VIII. Allylic Oxidation by N-Bromosuccinimide, *J.Chem Soc Perkin I*, 1856-1862 (1972)
- [326] Gribble G.W., Leese R.M., Evans B.E., Reactions of sodium borohydride in acidic media. IV. Reduction of diarylmethanols and triarylmethanols in trifluoroacetic acid, *Synthesis*, 172-176 (1977)
- [327] Di Filippo M., Izzo I., Vece A., De Riccardis F., Sodano G., Enantioselective synthesis of a trans-ethenyl-hydrindene, a useful steroid CD-ring diene precursor, *Tetrahedron Letters*, **42**, 1155-1157 (2001)
- [328] Harrison C.-A., Leineweber R., Moody C.J., Williams J.M.J., Cyclopenta[b]indoles. Part 1. Synthesis of cyclopenta[b]indoles by formal [3 + 2] addition of indolylmethyl cations to alkenes, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I: Organic and Bio-Organic Chemistry*, 1127-1130 (1995)

- [329] Beckmann M., Meyer T., Schulz F., Winterfeldt E., Face-selective and endo-selective cycloadditions with enantiomerically pure cyclopentadienes, *Chem. Ber.*, **127**, 2505-2509 (1994)
- [330] Schinzer D., Feßner K., Ruppelt M., Total synthesis of *rac*-Sesquiterpenoid AE1, *Liebigs Ann Chem*, 139-143 (1992)
- [331] Nowitzki O., Muennich I., Stucke H., Hoffmann H.M.R., Samarium diiodide-mediated pinacolization of diketones. II. Synthesis of polycyclic frameworks containing a cyclobutane-1,2-diol and a cyclopentane-1,2-diol, *Tetrahedron*, **52**, 11799-11810 (1996)
- [332] Bensasson C.S., Hanson J.R., Le Huerou Y., The microbiological hydroxylation of 3.alpha.,5-cycloandrostanes by *Cephalosporium aphidicola.*, *Phytochemistry*, **52**, 1279-1282 (1999)
- [333] Freixa Z., Pereira M.M., Bayon J.C., Silva A.M.S., Salvador J.A.R., Beja A.M., Paixao J.A., Ramos M., Diastereoselective hydroformylation of Δ^4 -steroids with rhodium-phosphite catalysts, *Tetrahedron: Asymmetry*, **12**, 1083-1087 (2001)
- [334] Hanson J.R., Hitchcock P.B., Liman M.D., Nagaratnam S., Facial selectivity in the hydroboration of androst-4-enes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2183-2187 (1995)
- [335] Dailey O.D., A new synthetic route to (+-)Strigol, *J Org Chem*, **52**, 1984-1989 (1987)
- [336] Allan G.G., The stereochemistry of the boswellic acids, *Phytochemistry*, **7**, 963-973 (1968)
- [337] Persönliche Mitteilung, J. Jauch
- [338] Loganathan D., Trivedi G., Chary K.V.R., A two-dimensional NMR strategy for the complete ^1H chemical shift assignment of extended proton spin systems in triterpenoids, *Magn Res Chem*, **28**, 925-930 (1990)
- [339] Die Auswertung von β -ABA und β -KBA erfolgte zusätzlich unabhängig durch einen zweiten Auswerter (Dr. J. Jauch); Diskrepanzen wurden durch Diskussionen beseitigt.
- [340] Eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen OH-Sauerstoff an C-31 und H-3 könnte der Grund für die Ausrichtung der beiden Protonen an C-24 sein. Der Abstand zwischen den potenziellen Bindungspartnern ist mit 2,19 Å ausreichend gering dafür. Allerdings verhindert der Winkel von nur etwa 129° zwischen der OH-Bindung an C-3 und der Verbindungslinie zwischen H(C-3-OH) und O(C-24-OH) eine effektive Wasserstoffbrückenbindung. (Alle Angaben nach der Berechnung durch *HyperChem*.)
- [341] Bei der Angabe H-11 = 1.69 ppm wurden möglicherweise die beiden Nachkommastellen vertauscht, d. h. statt 1.69 ppm wurde wahrscheinlich eine Verschiebung von 1.96 ppm gemessen. Diese Vermutung wird durch Abb. 2 im zitierten Artikel gestützt, in der im Bereich von 1.69 ppm keine Angabe "H-11" zu finden ist, dafür aber im Bereich von ca. 1.90-2.00 ppm zwei H-Atome H-8 und H-8'. Da C-8 aber ein quartäres C-Atom ist, sind damit wahrscheinlich die beiden H-Atome an H-11 gemeint.
- [342] Erhardt W., Götz E., Bödecker N., Seybold S., Zander. Handwörterbuch der Pflanzennamen, 16. Aufl., Ulmer, Stuttgart (2000)
- [343] Integrated Taxonomic Information System (ITIS) on-line database, <http://www.itis.usda.gov/> (Zugriff am 28.1.2004)
- [344] HyperChem, Version 7.02 für Windows, Hypercube Inc., Gainesville, FL (USA)
- [345] Schulte E., Weber K., Schnelle Herstellung der Fettsäuremethylester aus Fetten mit Trimethylsulfoniumhydroxid oder Natriummethylat, *Fat Sci Technol*, **91**, 181-183 (1989)
- [346] Kuehler T.C., Lindsten G.R., Preparative reversed-phase flash chromatography, a convenient method for the workup of reaction mixtures, *J Org Chem*, **48**, 3589-3591 (1983)
- [347] Evans M.B., Dale A.D., Little C.J., The preparation and evaluation of superior bonded phases for reversed-phase, high-performance liquid chromatography, *Chromatographia*, **13**, 5-10 (1980)
- [348] WINNMR, Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten
- [349] NPNMR von S. Seip, Version 1.3 <http://members.aol.com/npnrmr>
- [350] MestRe-C von Sardina F.J. et al., Version 3.5.1, <http://www.mestrec.com>
- [351] Die Verdünnung der Stammlösung muss mit einem Methanol-Anteil von mind. 10 % in MTBE, besser 20-25 % erfolgen (d. h. MTBE:MeOH 4:1-3:1), da TMSH sonst aufgrund der schlechten Löslichkeit in MTBE ausfällt. Der TMSH-Niederschlag wird zwar im GC-Injektor rückstandsfrei zu gasförmigen Produkten zersetzt und stört die Analyse nicht, kann aber die GC-Spritze verstopfen.

- [352] Da die Fettsäuren als solche injiziert werden, aber im Injektor in die Methylester umgesetzt und als solche auf der GC-Säule getrennt werden, errechnet sich die exakte Probenmenge aus der Gleichung: analysierteProbenmenge[μg]=injizierteProbenmenge[μg]/Mr*(Mr+14). Also werden bei DhAbiA (Mr 300,436) 2,0934 μg und bei AbiA-(Isomeren) mit Mr=302,452 2,09275 μg absolut analysiert - ein in der Praxis irrelevanter Unterschied.
- [353] De Carvalho M.G., Rumjanek V.M., Lopes M.S., De Carvalho A.G., Diterpenes from *Pinus taeda*, *Phytochem*, **49**, 1101-1106 (1998)
- [354] Anderson K.B., Ede R.M., Franich R.A., Kroese H.W., Lloyd J.A., Meder R., Preparation of dehydroabietic acid and "dihydroabietic lactone" by disproportionation of tall oil rosin with trifluoroacetic acid, *Synth Comm*, **28**, 1375-1380 (1998)
- [355] Bardyshev I.I., Diterpenoid carboxylic acid anhydrides of the abietane, pimarane, and isopimarane series, *Russ J Org Chem*, **35**, 41-55 (1999)
- [356] Tkachev A.V., Denisov A.Y., Oxidative decarboxylation by hydrogen peroxide and a mercury(II) salt: a simple route to nor-derivatives of acetyloleanolic, acetylursolic and dehydroabietic acids, *Tetrahedron*, **50**, 2591-2598 (1994)
- [357] Li W.S., McChesney J.D., Preparation of potential antiinflammatory agents from dehydroabietic acid, *J Pharm Sci*, **81**, 646-651 (1992)
- [358] Fisher S., Kunin R., Routine exchange capacity determinations of ion exchange resins, *Anal Chem*, **27**, 1191-1194 (1955)
- [359] Sailer E.-R., Untersuchungen zum molekularen Wirkungsmechanismus und zu den Struktur-Wirkungsbeziehungen der Boswelliasäuren als Hemmstoffe der 5-Lipoxygenase, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen (1995)
- [360] Zur räumlichen Anordnung der Protonen an C-24 siehe vergleichende NMR-Spektroskopie der Boswelliasäuren in Kap. 3.5.2.
- [361] Winking M., Sarikaya S., Rahmanian A., Jodicke A., Böker D.K., Boswellic acids inhibit glioma growth: a new treatment option?, *J Neurooncol*, **46**, 97-103 (2000)
- [362] Die Angabe "85 %ig" findet sich sowohl auf den Etiketten der Proben als auch in einer Studienarbeit desjenigen Lehrstuhls, von dem Die Proben erhalten wurden (Müller C., Petri A., Isolierung, Umsetzung und Aufreinigung von Boswelliasäuren aus indischem Weihrauchharzextrakt, Studienarbeit, Fachhochschule Mannheim, 2004). Laut Datenblatt der Firma Biomex GmbH (schreiben vom 7.3.2003) ist der Extrakt aber 80%ig. Diese Diskrepanz schränkt die Schlussfolgerungen zu Proben 24-27 in Kap. 3.1.4 nicht ein.
- [363] Persönliche Mitteilung (E-Mail), Frances Cook (Kew Gardens), 14.11.2003
- [364] Persönliche Mitteilung (E-Mail), Frances Cook (Kew Gardens), 14.11.2003
- [365] Persönliche Mitteilung (E-Mail), Frances Cook (Kew Gardens), 14.11.2003
- [366] Persönliche Mitteilung (E-Mail), Frances Cook (Kew Gardens), 14.11.2003
- [367] Persönliche Mitteilung (E-Mail), Frances Cook (Kew Gardens), 14.11.2003
- [368] Jauch J., Bergmann J., An Efficient Method for the Large-Scale Preparation of 3-O-Acetyl-11-oxo- β -boswellic Acid and Other Boswellic Acids, *Eur J Org Chem*, 4752-4756 (2003)

Anhang A: Beschreibung der verwendeten Harzproben

Die „Sicherheit der Speziesangabe“, d. h. die Verlässlichkeit der Speziesangabe durch den Lieferanten, wird der Speziesbezeichnung in eckiger Klammer nachgestellt. Sie wurde wie folgt mit einer Zahl von 0-3 bewertet:

- [0]: **unsicher**: keine Angabe, Angabe fragwürdig oder offensichtlich falsch
 [1]: **wahrscheinlich**: angegeben (Handelsprobe, Fachhandel oder Fachmann), aber keine Angaben zur Sicherheit der botanischen Zuordnung
 [2]: **relativ sicher**: angegeben (Fachhandel oder Fachmann), aber nicht gesichert
 [3]: **sicher**: angegeben und durch Fachmann gesichert.

Die Speziesbezeichnung der Harzproben ist immer die vom Hersteller/Händler angegebene, auch wenn sie nicht zu den allgemein akzeptierten Bezeichnungen gehört (z. B. *B. thurifera* statt korrekt *B. serrata*). Eine Liste der derzeit akzeptierten *Boswellia*-Spezies einschließlich gebräuchlicher Synonymen zeigt Tab. 3 (S. 5).

Harz von *Boswellia serrata* Indisch Granen (Eggebrecht)

Probe Nr. 1

Harz

- Bezeichnung: „Weihrauch Gummi Olibanum indisch Granen“, Art.-Nr. 22-126
 Kurzbezeichnung: *Bser Gr1*
 Lieferant: Gerhard Eggebrecht Vegetabilien und Harze, Doppelreihe 1a, 25361 Süderau
 Art: *Boswellia serrata* [2] Herkunft: Indien
 Aussehen: Vorwiegend 2-4 mm große unregelmäßig geformte, gelbe bis gelbbraunliche Brocken mit vereinzelt braunen bis schwarzen Brocken; spröde und an Bruchstellen vorwiegend matt und uneben
 Verunreinigungen: Vereinzelt Äste, Rindenteile, weitere z. T. nicht identifizierbare Bestandteile
 Geruch: Uncharakteristisch, wenig intensiv, nicht weihrauchtypisch; frisch angebrochene oder verriebene Brocken intensiver, aber weiterhin nicht weihrauchartig

Rohextrakt

- Aussehen: Homogenes, feines, gelbes bis gelbbraunes/blass-ockerfarbenes, mattes Pulver
 Geruch: Intensiv; eher angenehm, charakteristisch nach Weihrauch, dunkel, etwas kirchlich; mit leichtem Säurestich

Säurefraktion und Neutralkomponenten

- Säurefraktion: Homogenes gelb-bräunliches Pulver (intensiver als RE) ähnlich Staubzucker (z. T. glänzende Partikel); schwacher, uncharakteristischer Geruch
 Neutralkomponenten: Homogene, zähe, gelbbraunliche Masse; intensiv harziger, dunkler Geruch mit starken, n. i. Komponenten (muffig, holzartig)

Harz von *Boswellia serrata* Indien 1. Wahl (Eggebrecht)

Probe Nr. 2

Harz

Bezeichnung:	„Weihrauch Gummi olibanum Indisch 1. Wahl“, Art.-Nr. 22-127
Kurzbezeichnung:	<i>Bser IW11</i>
Lieferant:	Gerhard Eggebrecht Vegetabilien und Harze, Doppelreihe 1a, 25361 Süderau
Art:	<i>B. serrata</i> [2] Herkunft: Indien
Aussehen:	Meist 4-10 mm große hellgelbe bis braune Brocken, daneben kleine Bruchstücke und größere Tränen; Oberfläche i.d.R. bestäubt, bei frisch angebrochenen Brocken z. T. glänzend und glatt, bei dunklen eher matt und brüchig; vereinzelt Einschlüsse und Anhaftungen
Verunreinigungen:	Vereinzelt andere Pflanzenteile und pflanzenfremde Teile
Geruch:	Harzig, typisch weihrauchartig (nach Kirchenweihrauch)

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes feines blassgelbes Pulver mit vereinzelt glänzenden Bestandteilen, das etwas zum Verkleben neigt
Geruch:	Intensiv, angenehm, harmonische Mischung aus aromatischen, Weihrauch- und Harznoten, wenig nach Kirche

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes feines, z. T. glänzendes blass-gelbes Pulver; praktisch geruchlos
Neutralkomponenten:	Homogene, zähe, gelbbraune Masse; intensiver, weihrauchartiger Geruch mit intensiv dunklen, sakralen und harzigen Noten

Harz von *Boswellia sacra* Oman weiß No. 1 (Eggebrecht)

Probe Nr. 3

Harz

Bezeichnung:	„Weihrauch arabisch Gummi olibanum Oman weiß No. 1“, Art.-Nr. 22-123
Kurzbezeichnung:	<i>Bsac Om1</i>
Lieferant:	Gerhard Eggebrecht Vegetabilien und Harze, Doppelreihe 1a, 25361 Süderau
Art:	<i>B. sacra</i> [2] Herkunft: Oman
Aussehen:	Zu etwa gleichen Teilen hellgelbe bis braune große (>15 mm) und kleinere Brocken, Tränen und gebrochene Stränge (5-15 mm), wenig sehr kleine Stücke von gleicher Farbe; Bruchflächen heller Brocken eher glatt und glänzend, bei dunklen eher matt und uneben
Verunreinigungen:	Vereinzelt an Harzbrocken anhaftende Rindenteile
Geruch:	Aromatisch, dunkel, harzig, Richtung Bitterorangen; wenig weihrauchartig

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines fast weißes (leicht gelbes) Pulver
Geruch:	Sehr intensiv, angenehm und aromatisch würzig; daneben schwache, aber eindeutige harz- und weihrauchartige Noten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

- Säurefraktion: Homogenes, feines, blassgelb-braunes Pulver; sehr schwacher und uncharakteristischer Harzgeruch, daneben leichte Lösungsmittelnote (Lösungsmittelreste von der Extraktion)
- Neutralkomponenten: Homogene zähe gelbe Masse; intensiv harziger, weihrauchartiger Geruch mit aromatischen Noten wie beim Rohextrakt, aber intensiver

Boswellia carteri Tränen No. 1 (Eggebrecht)

Probe Nr. 4

Harz

- Bezeichnung: „Weihrauch arabisch Gummi olibanum Somalia Tränen No. 1“ (Etikett), „Weihrauch arabisch Gummi olibanum Somalia 1. Wahl“ (Katalog), Art Nr. 22-120
- Kurzbezeichnung: *Bcar T1*
- Lieferant: Gerhard Eggebrecht Vegetabilien und Harze, Doppelreihe 1a, 25361 Süderau
- Art: *B. carteri* [2] Herkunft: Somalia
- Aussehen: Großteil 3-8 mm, z. T. bis 20 mm große unregelmäßige Splitter, Bruchstücke, kleine und große intakte Tränen und gebrochene kleine Harzstränge; hell (gelbe, hellbraun, bis dunkelbraun; Oberflächen matt und staubig, vereinzelt glänzende Einschlüsse/Anlagerungen, vereinzelt durchsichtige Stücke; frische Bruchstellen zumeist uneben und matt
- Verunreinigungen: Vereinzelt an Brocken anhaftende Rindenteile, daneben Spuren anderer n. i. Pflanzenteile und pflanzenfremder Teile (kl. Steinchen, blaue Fasern)
- Geruch: Aromatisch-frisch mit dominierenden Zitrusnoten Richtung Zitrone, wenig harzartige oder aromatische Noten

Rohextrakt

- Aussehen: Feines homogenes weißes Pulver mit ganz leichtem Gelbstich, das nicht zum Verklumpen neigt
- Geruch: Intensiver als Rohextrakt; neben intensiven Zitrusnoten (s.o.) auch aromatische und harzartige Komponenten; harmonischer als der Rohextrakt, aber wenig nach Kirchenweihrauch

Säurefraktion und Neutralkomponenten

- Säurefraktion: Homogenes feines, fast weißes Pulver, praktisch geruchlos
- Neutralkomponenten: Intensiv duftende zähflüssige, klare, gelbe Masse; Geruch wie Rohextrakt, nur intensiver

Boswellia papyrifera Eritrea Erbsen (Eggebrecht)

Probe Nr. 5

Harz

- Bezeichnung: „Weihrauch Gummi olibanum Eritrea Erbsen“ [Zusatz „Erbsen“ ist auf dem Etikett durchgestrichen und fehlt im Katalog], Art-Nr. 22-140
- Kurzbezeichnung: *Bpap Er1*

Lieferant:	Gerhard Eggebrecht Vegetabilien und Harze, Doppelreihe 1a, 25361 Süderau
Art	<i>B. papyrifera</i> [2] Herkunft: Eritrea
Aussehen:	Meist 3-6 mm, selten >10 mm große intakte Tränen, Kügelchen, gebrochene Harzstränge und unregelmäßige Brocken von dunkelgelber Farbe mit deutlichem Bernstein- bis Orangeton. Frische Bruchkanten immer matt, z. T. unregelmäßig, z. T. glatt
Verunreinigungen:	Jeweils in Spuren: anhaftende Rindenteile und andere n. i. Pflanzenteile
Geruch:	Aromatisch-frische Noten dominieren, dazu leichte Harz- und Zitrusnoten (Zitrone, Orangenschale)

Rohextrakt

Aussehen:	Feines homogenes hellgelbes Pulver, das etwas zum Verkleben neigt
Geruch:	Wie das zerriebene Harz

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver, z. T. glänzend; geruchlos
Neutralkomponenten:	Homogene, klare, gelbe, viskose Masse; intensiver Geruch wie beim Extrakt

Harz von *Boswellia sacra* Oman MA1 (Dr. Mohsin Al-Aameri) Probe Nr. 6

Harz

Bezeichnung:	Harz von <i>B. sacra</i>
Kurzbezeichnung:	<i>Bsac MA1</i>
Lieferant:	Dr. Mohsin Al-Amri Ministry of Agriculture, Rumais Research Station, Muscat, Oman
Art:	<i>B. sacra</i> [3] Herkunft: Oman
Aussehen:	Meist 15-25 mm, bis 40 mm große Harzbrocken, Tränen, runde Stücke und wenig Harzstränge; Farben von schmutzig-gelb oder gelbbraun (Großteil) bis braun; frische Bruchstellen glatt und glitzernd
Verunreinigungen:	In Spuren: an Brocken anhaftende Rindenteile
Geruch:	Harz- und weihrauchartig mit dunklen und aromatischen Noten

Rohextrakt

Aussehen:	Feines homogenes weißes Pulver mit kaum wahrnehmbarem Gelbstich und sehr schwacher Neigung zum Verklumpen
Geruch:	Intensiv; sehr frisch, würzig und aromatisch mit Harznoten Richtung Nadelwald und Menthol-/Eukalyptusnoten, dazu eine weihrauchartige Komponente

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver, z. T. glänzend; geruchlos
Neutralkomponenten:	Wie beim Rohextrakt, nur intensiver

Harz von *Boswellia frereana* und *B. bhau-dajiana* (Caelo)

Probe Nr. 7

Harz

Bezeichnung:	Olibanum in granis, Weihrauch
Kurzbezeichnung:	<i>B. f-b Cal</i>
Lieferant:	Caesar & Loretz GmbH (Caelo), 40721 Hilden
Art	<i>B. carteri</i> und <i>B. bhau-dajiana</i> [2] Herkunft: k. A.
Aussehen:	Meist unregelmäßige Brocken von 3-5 mm, daneben bis 12 mm große Tropfen, Tränen und Harzstränge; fast ausschließlich hellgelbe bis gelbe und vereinzelt gelbbraune oder milchigweiße Farbtöne; frische Bruchkanten uneben und matt
Verunreinigungen:	Vereinzelt an Brocken anhaftende Rindenteile, andere n. i. Pflanzenteile und pflanzenfremde Teile (Fasern)
Geruch:	Angenehm-frisch und aromatisch mit dominierenden Zitrusnoten (Orangenschale, Zitrone); wenig harz- oder weihrauchartig

Rohextrakt

Aussehen:	Feines, homogenes, hellgelbes Pulver, das etwas zum Verkleben neigt
Geruch:	Wie beim zerriebenen Harz, nur intensiver

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, leicht hellgelbes Pulver, praktisch geruchlos
Neutralkomponenten:	Homogene, klare, gelbe, viskose Masse, intensiv duftend wie der Rohextrakt

Harz von *Boswellia frereana* (Hr. Giama)

Probe Nr. 8

Harz

Bezeichnung:	Harz von <i>Boswellia frereana</i> , in Somalia: <i>maydi</i>
Kurzbezeichnung:	<i>Bfre G1</i>
Lieferant:	Hr. Giama, Bremerhaven
Art:	<i>B. frereana</i> [3] Herkunft: Somalia
Aussehen:	Meist kleine Splitter von 2-4 mm, vereinzelt 5-15 mm große intakte Brocken und ca. 10 % Pulver; ausschließlich gelbe Farbtöne, selten leichter Orangeton
Verunreinigungen:	In Spuren n. i. Pflanzenteile
Geruch:	Angenehm harzig-aromatisch, wenig ausgeprägte Zitrusnote

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes feines weißes bis helles Pulver, das sehr wenig zum Verkleben neigt
Geruch:	Mittelmäßig intensiv; harmonische Mischung aus aromatischen und eher harzigen Noten, wenig Frischenoten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Inhomogene, zähe, gelbbraune Masse; intensiv duftend (uncharakteristische holzige und muffige Noten)
Neutralkomponenten:	Homogenes, feines, weißes Pulver; Geruch wie Rohextrakt, nur intensiver

Harz von *Boswellia carteri* (Hr. Giama)

Probe Nr. 9

Harz

Bezeichnung:	Harz von <i>Boswellia carteri</i> , in Somalia: <i>beeyo</i>	
Kurzbezeichnung:	<i>Bcar G1</i>	
Lieferant:	Hr. Giama, Bremerhaven	
Art:	<i>B. carteri</i> [3]	Herkunft: Somalia
Aussehen:	Überwiegend 3-5 mm große hellgelbe bis gelbbraune Tropfen neben einigen unregelmäßigen, eher dunklen Brocken von 10-20 mm	
Verunreinigungen:	In Spuren an Brocken anhaftende Rindenteile	
Geruch:	Vorwiegend aromatische und frische Zitrusnoten mit wenig Harznoten	

Rohextrakt

Aussehen:	Feines homogenes hellgelbes Pulver, das leicht verklebt	
Geruch:	Intensive Nadelwald-Komponenten dominieren, daneben Harznoten und aromatische, dunkle Noten; kaum Weihrauch- oder Zitrusnoten	

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines hellgelbes Pulver; geruchlos	
Neutralkomponenten:	Homogene, klare, hellgelbe viskose Masse, Geruch wie beim Rohextrakt	

Harz von *B. frereana* (Prof. M. Thulin)

Probe Nr. 10

Harz

Bezeichnung:	Resin, <i>B. frereana</i>	
Kurzbezeichnung:	<i>Bfre MT1</i>	
Lieferant:	Prof M. Thulin, Uppsala Universitet, Dep. of Systematic Botany, Evolutionary Biology Centre (EBC), Uppsala/Schweden	
Art:	<i>B. frereana</i> [3]	Herkunft: Somalia
Aussehen:	Vorwiegend meist 2-6 mm, bis 30 mm große hellgelbe Brocken mit leichtem Orangeton; Bruchkanten glatt und glänzend	
Verunreinigungen:	In der gesamten Probe (ca. 10 g) 1 am Brocken anhaftendes Rindenteil	
Geruch:	Intensiv harzig, sehr aromatisch und würzig mit leichter Weihrauchnote	

Rohextrakt

Aussehen:	Feines homogenes weißes Pulver mit sehr leichtem hellgelben Ton, das zum Verkleben neigt	
Geruch:	Intensiv; sehr angenehm und frisch; vorwiegend Nadelwaldnoten, Harznoten schwach ausgeprägt; kaum weihrauchartige Noten	

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Fast homogene hochviskose, gelbbraune Masse; Geruch wie beim Rohextrakt	
Neutralkomponenten:	Homogenes feines, weißes Pulver, intensiv duftend wie Extrakt und Säurefraktion	

Olibanum aus Yemen (P. u. M. Kenn)

Probe Nr. 11

Harz

Bezeichnung:	Weihrauchharz aus Yemen	
Kurzbezeichnung:	<i>Olib PMK1</i>	
Lieferant:	P. und M. Kenn, 56220 Bassenheim	
Art:	k. A. [0]	Herkunft: Yemen, Markt
Aussehen:	Meist 4-10 mm, wenige bis 30 mm große hellgelbe Brocken von unregelmäßiger Form, daneben wenige Stücke von gelbbrauner oder brauner Farbe	
Verunreinigungen:	Vereinzelt anhaftende Rindenteile; in Spuren andere n. i. Pflanzenteile	
Geruch:	Intensiv nach Kirchenweihrauch mit dunklen und aromatischen Noten	

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes feines, hellgelbes Pulver, das zum Verkleben neigt	
Geruch:	Sehr intensive Mischung aus aromatischen, harzigen und Nadelwald-Noten; wenig Zitrus- oder Weihrauchnoten	

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver; starker Geruch nach modernem Holz	
Neutralkomponenten:	Homogenes, feines, mattweißes Pulver; rel. intensiver, ausgewogener Geruch: aromatisch, frisch, Nadelwald; insgesamt dem Rohextrakt sehr ähnlich	

Harz von *Boswellia serrata* (Oneness World)

Probe Nr. 12

Harz

Bezeichnung:	Olibanum aus Indien (<i>Boswellia serrata</i>)	
Kurzbezeichnung:	<i>Bser OW1</i>	
Lieferant:	Oneness-World, Kreuzstr. 4, 80331 München (Handelsprobe)	
Art:	<i>B. serrata</i> [1]	Herkunft: Indien
Aussehen:	Homogene Mischung von 3-5 mm großen hellgelb-braunen, unregelmäßig geformten Brocken	
Verunreinigungen:	In Spuren sehr kleine, n. i. Pflanzenteile	
Geruch:	Unveränderte Probe zeigt neben schwachen, uncharakteristischen Harznoten eindeutige Note nach div. Räuchermischungen; diese sind höchstwahrscheinlich vom Ladeninneren auf die Probe übergegangen, da dort regelmäßig Räucherstäbchen und -mischungen verbrannt werden.	

Rohextrakt

Aussehen:	Feines, schmutzig weißes, nichtverklumpendes Pulver mit Stich ins Hellbraun-ockerfarbene	
Geruch:	Schwach, harzig, nach Wald (Rinde, vermodernde Blätter); keine Weihrauch- oder Zitrusnoten	

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver; praktisch geruchlos	
Neutralkomponenten:	Homogenes, hellgelbes Pulver; intensiv duftend wie der Rohextrakt	

Harz von *B. thurifera* (Oneness World)

Probe Nr. 13

Harz

Bezeichnung:	Olibanum aus Somalien
Kurzbezeichnung:	<i>Bthur OWI</i>
Lieferant:	Oneness-World, Kreuzstr. 4, 80331 München (Handelsprobe)
Art:	<i>B. serrata</i> [1] Herkunft: Somalia
Aussehen:	Meist 3-6 mm große unregelmäßige gelbe Stücke, daneben bis 20 mm große Tränen, Tropfen oder Bruchstücke mit hellbraunen Farbtönen
Verunreinigungen:	Vereinzelt an Brocken anhaftenden, aber auch lose Rindenteile und andere n. i. Pflanzenteile
Geruch:	Schwach harz- und weihrauchartig; es nicht genau erkennbar, ob auch eine Fehlnote wie bei der anderen Probe aus dem Oneness-Shop darunter ist (s. Probe 12, <i>Bser OWI</i>). Frisch verriebene Brocken riechen intensiver nach Harz und Weihrauch und aromatisch

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, weißes bis hellgelbes Pulver, das kaum zum Verkleben neigt
Geruch:	Mäßig intensiv; angenehm und harmonisch; Harz- (Richtung Weihrauch-) und dunkle aromatische Noten, wenig würzige und keine Zitrusnoten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver; praktisch geruchlos
Neutralkomponenten:	Homogenes, feines, weißes bis hellgelbes Pulver, intensiver Geruch; frisch, nach Fichtenwald und etwas harzig

Harz von *B. serrata* (BGBM)

Probe Nr. 14

Harz

Bezeichnung:	<i>Boswellia serrata</i> STACHH. Komplette Beschriftung: „142 Burseraceae, 4149 Boswellia serrata Stachh., „Weihrauch“, Ostindien, Singapore, 1884/85 ded. Jacobs.“
Kurzbezeichnung:	<i>Bser BGBMI</i>
Lieferant:	— (aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums, Berlin-Dahlem (BGBM))
Art:	<i>B. serrata</i> [1] Herkunft: Indien
Aussehen:	Überwiegend 5-10 mm große, rötlichbraune (am Bruch dunkelorange) Tränen, daneben längliche und unregelmäßig geformte Stücke
Verunreinigungen:	An Harzbrocken anhaftende Rindenteile (selten)
Geruch:	Schwach nach Harz und Weihrauch

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, gelbbraunes Pulver, das nicht zum Verkleben neigt
Geruch:	Schwach; etwas muffig, holz- und harzartig; keine Zitrus- oder Frischenoten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: Homogenes, feines, gelbbraunes Pulver, z. T. glänzend; fast geruchlos (uncharakteristisch)

Neutralkomponenten: Homogenes, feines, hellgelbes mattes Pulver; schwacher Geruch, uncharakteristisch: Holz- und Rindennoten, etwas harzig und etwas wie Nadelwald

Byzantinischer Weihrauch mit *B. sacra* (BGBM)

Probe Nr. 15

Produkt

Bezeichnung: „Harz von *Boswellia sacra* Flueckiger parfümiert mit Citruslimon-Öl. Handelsware gekauft im Oktober 2000 in Griechenland [...] H. W. Lack“

Kurzbezeichnung: *Bsac BAI*

Lieferant: — (aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums, Berlin-Dahlem (BGBM))

Art: *B. sacra* [1] Herkunft: Griechenland

Aussehen: Rechteckige bis rautenförmige Stücke von 5-10 mm mit weißem Puder an der Außenseite und intensiver Rotfärbung im Inneren; Bruchflächen uneben und matt

Verunreinigungen: Keine

Geruch: Intensiv parfümiert und seifenartig mit starken blumigen und Zitrusnoten (nicht harzig oder weihrauchartig)

Rohextrakt

Aussehen: Homogenes, feines, intensiv hellrotes Pulver, das zum Verkleben neigt

Geruch: Wie das unverarbeitete Produkt, nur intensiver

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: Homogene, feine, hellgelbe Masse; leichter, aber deutlich wahrnehmbarer Geruch wie Originalprobe, nur milder und angenehmer

Neutralkomponenten: Homogene, klare, intensiv rote Masse; sehr intensiver Geruch wie bei der Originalprobe

Harz von *B. sacra* (YP1309, BGBM)

Probe Nr. 16

Harz

Bezeichnung: „Plants of Yemen
Bursaceae, resin of *Boswellia sacra* Flueck.
Yemen, gov. Hadhramout, tributary E of Wadi Ais Chered, NW of Mogged, 14°53'31.3" N, 49°45'21.0" E e. 150 m. Gravelly-rocky slopes and along the runnels in the broad flat wadi bed.
Population of 200-300 smaller and larger trees (few old trees to 5 m tall), scattered or in small groups.

5.3.2002; Leg. N. Kilian, P. Hein & M.A. Hubaishan YP 1309. Det. id.“

Kurzbezeichnung: *Bsac YP1309*

Lieferant:	— (aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums, Berlin-Dahlem (BGBM))	
Art:	<i>B. sacra</i> [3]	Herkunft: Yemen
Aussehen:	Meist 3-4 mm, selten bis 8 mm große in sich inhomogene Brocken in gelben und braunen Farbtönen	
Verunreinigungen:	Vereinzelte n. i. Pflanzenteile	
Geruch:	Harzartig, weihrauchartig, dunkel, nach Kirchenweihrauch	

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes feines praktisch weißes Pulver mit sehr leichtem Gelbstich, das nicht zum Verkleben neigt	
Geruch:	Dunkle, harzige, muffige, weihrauchartige und aromatische Noten	

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, weißes bis hellgelbes Pulver, z. T. glänzend; geruchlos	
Neutralkomponenten:	Homogenes, feines, mattweißes Pulver; intensiv duftend: angenehm frisch und fast medizinisch nach Campher/Menthol/Borneol, wenig aromatisch, weihrauch- oder harzartig	

Harz von *B. sacra* (NK 6066, BGBM)

Probe Nr. 17

Harz

Bezeichnung:	B. sacra N. Kilian 6066, acc 28.7.2000	
Kurzbezeichnung:	Bsac NK6066	
Lieferant:	— (aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums, Berlin-Dahlem (BGBM))	
Art:	<i>B. sacra</i> [3]	Herkunft: Yemen
Aussehen:	Inhomogen: neben wenig Pulver ca. ein halbes Dutzend Stücke von unterschiedlicher Länge (nur ca. 0,6 g Probe); gelbbraune bis braune Färbung, z. T. glasartige Konsistenz (durchsichtig, spröde)	
Verunreinigungen:	An einem der Brocken haftet etwas Rinde	
Geruch:	Angenehm harzartig, weihrauchartig und aromatisch	

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, weißes Pulver, das nicht verklumpt	
Geruch:	Intensiv; dunkel, harz- und weihrauchartig, etwas nach modernem Holz, fast muffig, keine frischen oder Zitrusnoten	

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Inhomogen; zähe weiße, z. T. klare farblose Masse; praktisch geruchlos	
Neutralkomponenten:	Homogene, klare, farblose, zähe Masse; rel. intensiv duftend, aber eher unspezifisch aromatisch und harzig, wenig nach Weihrauch	

Harz von *Boswellia socotrana* (YP2583, BGBM)

Probe Nr. 18

Harz

- Bezeichnung: Harz von *Boswellia socotrana*, YP2583
 Kurzbezeichnung: *Bsoc* YP2583
 Lieferant: — (aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums, Berlin-Dahlem (BGBM))
 Art: *B. socotrana* [3] Herkunft: Yemen
 Aussehen: Meist 2-5 mm große, z. T. größere, zusammengesetzte Stücke in allen Tönen von hellgelb bis braun; einige kleine Stücke glasartig klar und durchsichtig, beim Brechen spröde; frische Bruchflächen glatt und glänzend
 Verunreinigungen: Vereinzelt n. i. Pflanzenteile
 Geruch: Angenehm aromatisch mit würziger Note

Rohextrakt

- Aussehen: Homogenes, feines, praktisch weißes Pulver, das nicht verklumpt
 Geruch: Intensiv; dunkel, harzartig (wenig nach Weihrauch), etwas nach vermodernem Holz; würzige, n. i. Noten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

- Säurefraktion: Homogenes, feines, hellgelbes Pulver; praktisch geruchlos
 Neutralkomponenten: Homogenes, feines, weißes Pulver; sehr intensiv duftend, vorwiegend nach Nadelwald, wenig aromatische oder Weihrauchnoten

Harz von *Boswellia socotrana* (YP2312, BGBM)

Probe Nr. 19

Harz

- Bezeichnung: Harz von *Boswellia socotrana* (YP2312)
 Kurzbezeichnung: *Bsoc* YP2312
 Lieferant: — (aus der Harzsammlung des Botanischen Gartens und Botanischen Museums, Berlin-Dahlem (BGBM))
 Art: *B. socotrana* [3] Herkunft: Yemen, Insel Socotra
 Aussehen: Unregelmäßige 2-12 mm große Brocken in allen Farbtönen von gelb bis braun
 Verunreinigungen: Vereinzelt Blattfragmente und andere n. i. Pflanzenteile
 Geruch: Angenehm aromatisch und würzig; wenig nach Harz oder Weihrauch

Rohextrakt

- Aussehen: Homogenes, feines, weißes Pulver mit leichtem hellgelben Stich, das nicht verklumpt
 Geruch: Intensiv nach Harz und modernem Holz; wenig aromatisch oder würzig

Säurefraktion und Neutralkomponenten

- Säurefraktion: Homogenes, feines, hellgelbes Pulver; mäßig starker Geruch nach Rinde
 Neutralkomponenten: Homogenes, feines, weißes Pulver; mäßig starker Geruch: aromatisch, etwas harzig, frisch und nach Rinde

Olibanum „Aden“ (Schreibmayr)

Probe Nr. 20

Harz

Bezeichnung:	Weihrauch „Aden“ Art. Nr. 305209
Kurzbezeichnung:	<i>Olib Adn1</i>
Lieferant:	J. G. Schreibmayr, Senserstr. 15, 81371 München (Handelsprobe)
Art:	k. A. [0] Herkunft: k. A.
Aussehen:	Meist 3-6 mm große unregelmäßige Brocken von hellen Gelb- bis Gelbbraun-Tönen, z. T. bis dunkelbraun und intakte Tropfen
Verunreinigungen:	Vereinzelt Rindenteile, andere Pflanzenteile und pflanzenfremde Teile (Steinchen, Faden)
Geruch:	Harzig und aromatisch, aber vorwiegend nach Kirchenweihrauch; Fremdgeruch evtl. von Ladenumgebung (Kirchenfachhandel!) hineindiffundiert.

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, leicht hellgelbes mattes Pulver
Geruch:	Intensiv; angenehm und harmonisch mit frischen, aromatischen und an Nadelwald erinnernden Noten, daneben schwächere Harznoten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, leicht hellgelbes z. T. glänzendes Pulver; geruchlos
Neutralkomponenten:	Homogene, hellgelbe, zähe Masse; intensiver Duft nach Nadelwald- und frischen Noten, weniger nach Harz

Medikament H15 (Gufic Ltd., Bombay, Indien)

Probe Nr. 21

Harz

Bezeichnung:	H15 Ayurvedica tablets (ayurvedic medicine), each tablet contains <i>Boswellia serrata</i> extract 400 mg, excipients q.s. Dosage: As directed by the physician. Gufic Chem, Private Limited, Udyam Baug, Belgaum, Karnataka (India), Mfg. Lic. No. AUS 345, B. No. 495, 10 tablets, Mfd. Jun. 2000, exp. May 2004
Kurzbezeichnung:	<i>Bser H15-1</i>
Lieferant:	– (Spende von Dr. Gerhardt, Klinikum Mannheim der Universität Heidelberg)
Art:	<i>B. serrata</i> [3] Herkunft: Indien
Aussehen:	Runde Tabletten mit einem Durchmesser von 12 mm und 5 mm Höhe, gleichmäßige und einheitliche Erscheinung; durchgehende Spalte zum Zerteilen in der Mitte einer der beiden flachen Seite. Weitgehend homogene, blass ockerfarbene Farbe mit gelegentlichen braunen Einschlüssen von > 1 mm
Verunreinigungen:	Keine
Geruch:	Schwach harzig, muffig, weihrauchartig

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, nichtklumpendes Pulver mit leichtem schmutzig-gelbbraun-ockerfarbenem Ton
Geruch:	Mäßig intensiv; harz- und weihrauchartig, eher dunkel und wenig aromatisch

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: Homogenes, feines, leicht hellgelbes Pulver, z. T. glänzend; geruchlos
 Neutralkomponenten: Rel. homogene zähe gelbbraune Masse; intensiv duftend (harzig, aromatisch, Weihrauch, Holz)

Medikament Sallaki (Gufic Ltd., Bombay, Indien)

Probe Nr. 22

Harz

Bezeichnung: Sallaki 400 (ayurvedic medicine), each tablet contains: Boswellia serrata extract 400 mg., excipients q.s. Dose: as directed by the physician. Gufic Health Care Limited, Udyam Baug, Belgaum, Karnataka (India), Mfg. Lic. No. L-AUS-92, B. No. 101, 10 tablets, Mfd. Nov. 1997, exp. Oct 2000, max. retail price Rs. 17.55 incl. of all taxes
 Kurzbezeichnung: *Bser Sal-1*
 Lieferant: – (Spende von Dr. Gerhardt, Klinikum Mannheim der Universität Heidelberg)
 Art: *B. serrata* [3] Herkunft: Indien
 Aussehen: Etwas dunkler als H15-Tabletten (s. Probe 22), aber ansonsten identisch
 Verunreinigungen: Keine
 Geruch: Schwach harzig, muffig, weihrauchartig

Rohextrakt

Aussehen: Homogenes, feines, nichtklumpendes Pulver; schmutzigweiß mit kaum wahrnehmbarem Gelbstich
 Geruch: Dunkel und harmonisch mit harzigen, weihrauchartigen und aromatischen Noten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: Homogenes, feines, leicht hellgelbes Pulver, z. T. glänzend; geruchlos
 Neutralkomponenten: Homogenes, leicht klebriges, hellgelbes Pulver; mäßig intensiv duftend: weihrauchartig, dunkel, wenig aromatisch

Nahrungsergänzungsmittel mit *B. sacra*-Extrakt (HWS)

Probe Nr. 23

Harz

Bezeichnung: Weihrauch zur ergänzenden Versorgung mit wichtigen Nährstoffen; L.-Nr. 17
 Kurzbezeichnung: *Bsac HWS1*
 Lieferant: HWS GesmbH, A-5571 Mariapfarr (Handelsprobe)
 Art: *B. sacra* [1] Herkunft: k. A.
 Aussehen: Linsenförmige Tabletten mit einem Durchmesser von 10 mm, 5-6 mm maximaler Höhe und einem 2-3 mm breiten Rand. Homogener, blasser, ockerfarbener Branton mit häufigen, unregelmäßig verteilten, braunen bis schwarzen Einschlüssen
 Verunreinigungen: Keine
 Geruch: Intensiver, angenehmer Geruch (harzartig, nach Kirchenweihrauch)

Rohextrakt

Aussehen: Homogenes, feines, nichtklumpendes hellgelbes Pulver
 Geruch: Mäßig intensiv; harz- und weihrauchartig, dunkel, etwas aromatisch und kirchlich

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: Homogenes, feines, hellgelbes Pulver, z. T. glänzend; ganz leichte Note nach Weihrauch und Holz
 Neutralkomponenten: Homogenes, feines, hellgelbes Pulver mit schwachem Geruch nach Harz und Kirchenweihrauch

Getrockneter Extrakt aus *B. serrata* (Biomex) Probe Nr. 24-27

Extrakte

Bezeichnung: „*Boswellia serrata* Extrakt ca. 85 %ig^[362] ...
 ... Lieferdatum Oktober 2000 [ohne Chargenbezeichnung]“ (Probe Nr. 24, *BII*)
 ... Lieferdatum Oktober 2001 Lot BSE-005 / B-1“ (Probe Nr. 25, *BI2*)
 ... Lieferdatum Oktober 2002 Batch Nr. BSE 018/0011/B-2“ (Probe Nr. 26, *BI3*)
 ... Lieferdatum Februar 2003 Batch Nr. BSE-018/0211/B-2“ (Probe Nr. 27, *BI4*)

Kurzbezeichnung: *Bser BII* bis *BI4*
 Lieferant: Geschenk Prof. Trasch, FH Mannheim
 Hersteller/Importeur: Biomex GmbH, Augustaanlage 37, 66165 Mannheim

Art: *B. serrata* [1] Herkunft: Indien

Aussehen: Bei allen Chargen handelt es sich um säurereiche Zubereitungen, die durch Extraktion des Harzes mit Ethylacetat und anschließender Verteilung zwischen Methanol und Hexan hergestellt werden (s. Erläuterungen auf S. 54). Alle Proben sind sehr feine, homogene, fast weiße Pulver ohne erkennbare Beimischungen oder Fremdkörper. Probe 27 (*BI4*) ist deutlich dunkler (bräunlich-gelb) als die anderen Proben. Da sich die Extrakte nicht vollständig in Et₂O, MeOH und DCM lösen, werden sie wie Harze behandelt.

Verunreinigungen: Keine
 Geruch: Praktisch geruchlos mit leichter harziger Note

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: *BII-BI3*: homogenes feines hellbraunes Pulver; *BI4* etwas dunkler. Keine der Säurefraktionen neigt zum Verkleben; vereinzelt glänzende Körner bei allen Proben
 Neutralkomponenten: Schwacher Geruch: muffig, nach moderndem Holz und wenig nach Weihrauch

Räuchermischung „Palästina“ (J.G. Schreibmayr) Probe Nr. 28

Räuchermischung

Bezeichnung: Weihrauch Palästina Art. Nr. 305208
 Kurzbezeichnung: *MPal JGS1*

Lieferant:	J. G. Schreibmayr, Senserstr. 15, 81371 München (Handelsprobe)
Art:	k. A. [0] Herkunft: k. A.
Aussehen:	2-6 mm große Harzstücke in unregelmäßiger, z. T. runder Form; intensive gelbe, rote, grüne und blaue Färbung einzelner Stücke. Daneben Teile anderer Pflanzen (Holzsplinter, Blüten). Beim Weihrauchanteil dominieren gelbe bis gelbbraune Farbtöne
Verunreinigungen:	Entfällt (absichtliche Beimischung farbiger und geruchsaktiver Komponenten zum Erzielen eines bestimmten Geruchseindrucks)
Geruch:	Sehr intensiv. Kaum Weihrauchnoten, eher kirchlich und seifenartig mit vorwiegend blumigen Noten

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, blass-grauviolettes Pulver, das z. T. vom Einrotieren verklumpt, aber trocken ist
Geruch:	Sehr intensiv; durchdringende und unangenehme blumig-seifenartige Noten im Vordergrund, die alles andere überdecken

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver, z. T. glänzend. Leichter Geruch wie bei der Originalprobe, aber nicht nach Weihrauch
Neutralkomponenten:	Homogene, klare, zähe, kobaltblaue Masse, die intensiv wie die Originalprobe, aber nicht nach Weihrauch riecht

Harz von Boswellia ameero (K63482, Kew)

Probe Nr. 29

Harz

Bezeichnung	Resin from <i>B. ameero</i> Aus der Beschreibung der EBC: „Cat. No.: 63482 42.00 BURSERACEAE Boswellia amero [...]“ Donor: Pharm Soc GB; Donor No. 33 D 2 Donor date: 23/12/1896“ Weitere Informationen zur Probe ^[363] : “in Proc. Roy. Soc. Edinb. xi. (1882) 505. 63482 Boswellia ameero Balf. f. This sample was donated in 1896 by Dr IB Balfour who was responsible for naming the species in 1882. Several plant specimens of <i>B. ameero</i> collected by Balfour Feb to March 1880 in Socotra are in the herbarium at Kew. However I cannot link the resin sample to any herbarium specimen.“
Kurzbezeichnung:	<i>Bame K63482</i>
Lieferant:	Harzsammlung in der Economic Botany Collections (EBC) in Kew Gardens, GB
Art:	<i>B. ameero</i> [3] Herkunft: Yemen, Insel Socotra
Aussehen:	Ein Brocken, ca. 10 x 22 mm max. Ausdehnung; inhomogene Farbe und Konsistenz, vorwiegend orange-gelb-braun; Bruchstellen glatt und glänzend
Verunreinigungen:	Kleine schwarze, n. i. Einschlüsse
Geruch:	Angenehm aromatisch mit Minznote und etwas harzig

Rohextrakt

Aussehen: Homogenes, feines, hellgelbes, nichtklumpendes Pulver
 Geruch: Mäßig intensiv: harzartig, aromatisch und Richtung Kaugummi

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: Homogene, orange-braune bis bernsteinfarbene, zähe Masse mit sehr schwachem und uncharakteristischem Geruch (etwas harzig)
 Neutralkomponenten: Homogenes, lockeres, weißes Pulver mit leichtem Gelbstich, z. T. glänzend. Intensiver aromatisch und harziger Geruch, ein wenig nach Rinde und weiteren n. i. Komponenten.

Harz von *Boswellia ameero* (K63154, Kew)

Probe Nr. 30

Harz

Bezeichnung: Resin from *Boswellia ameero* BALF. F.
 „Cat. No.: 62154 Location: Bottles, boxes etc. [...]
 Geography description: Socotra Donor: Balfour Prof. Bayley
 Donor No. 4 Donor date: 00/00/1880 Part(s) held: Exudate
 Notes: Label source: Ameero of Wellstia ?“
 Weitere Informationen zur Probe^[364]: „63154 *Boswellia ameero* Balf. f.
 The old label note with the sample says No 4. Ameero of Wellstead (?),
Boswellia sp. The sample was donated in 1880 by Prof. Bayley Balfour who
 was responsible for naming the species in 1882. Several plant specimens of
B. ameero collected by Balfour Feb to March 1880 are in the herbarium
 (Comm. Aug 1880).“

Kurzbezeichnung: *Bame K63154*
 Lieferant: Harzsammlung in der Economic Botany Collections (EBC) in Kew Gardens, GB
 Art: *B. ameero* [3] Herkunft: Yemen, Insel Socotra
 Aussehen: Fünf unregelmäßig geformte Brocken von 5-10 x 10 mm von gelb-orange-
 brauner Farbe
 Verunreinigungen: Rinde (wenig, anhaftend)
 Geruch: Schwach aromatisch harzartig, wenig weihrauchartig

Rohextrakt

Aussehen: Homogenes, feines, hellgelbes nichtklumpendes Pulver
 Geruch: Intensiv harz- und balsamartig (wenig nach Weihrauch), aromatisch und dunkel

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion: Inhomogene, gelb-orange-braune/bernsteinfarbene, zähe Masse mit sehr schwachem und uncharakteristischem Geruch
 Neutralkomponenten: Homogene, gelb-orange, zähe Masse; mittelmäßig intensiver harziger, aromatischer Geruch

Harz von *Boswellia sacra* (K72998, Kew)

Probe Nr. 31

Harz

Bezeichnung:	Resin from <i>B. sacra</i> FLUECK. „Cat. No.: 72998 [...]	
	Collector: Fison T	Collection date: 00/00/1993
	Donor: Gillett J	Common name(s): Incense
	Part(s) held: Resin (TDWG Use: MATERIALS)	Uses: Resin use: Incense User: Man
	Notes: Bought in market. Probably the same as B (Cat no 72997) but more rubbish - bits of leaf, bark and sand, possibly either sample is <i>Boswellia frereana</i> “	
	Weitere Informationen zur Probe ^[365] : „72998 <i>Boswellia sacra</i> Flueck. Bought by Mr T. Fison in Harzeisa c.1993 as incense. Donated by Jan Gillett (a taxonomist who worked on Burseraceae at Kew). Donor No is JBG 5594. It was Jan Gillet who was responsible for the note saying there is the possibility that it is the gum of <i>Boswellia frereana</i> which is also sold in N. Somaliland [as well as <i>B. sacra</i>]“	
Kurzbezeichnung:	<i>Bsac K72998</i>	
Lieferant:	Harzsammlung in der Economic Botany Collections (EBC) in Kew Gardens, GB	
Art:	<i>B. sacra</i> [3]	Herkunft: Somalia (Hargeisa)
Aussehen:	Zwei größere (ca. 10 x 20 mm) braune bis dunkelbraune Stücke mit leichtem orange-rötlichen Stich und ein kleineres (2 x 2 mm) ähnliches Stück	
Verunreinigungen:	Rinde, andere Pflanzenteile	
Geruch:	Harzartig und etwas aromatisch; weihrauchartig	

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, weißes Pulver mit leichtem Gelbstich, z. T. glänzend
Geruch:	Intensiv, harmonisch mit aromatischen, harzigen und würzigen Noten

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Inhomogene, gelb-orange Masse, z. T. zähflüssig; schwacher, uncharakteristischer, n. i. Geruch
Neutralkomponenten:	Homogenes, mattweißes Pulver mit intensivem Geruch (aromatische Noten, Nadelwald)

Harz von *Boswellia carteri* (K73308, Kew)

Probe Nr. 32

Harz

Bezeichnung:	Resin from <i>B. carteri</i> BIRDW. syn <i>B. sacra</i> FLUECK. „Cat. no: 73308 [...] 9.1986.2 [...]	
	Donor: Joseph Bernstein Inc.	Common name(s): Frankincense [...]
	Notes: Supplied by Joseph Bernstein Inc., New York. Lundy Pentz, Mary Baldwin College, Virginia.“	
	Weitere Informationen zur Probe ^[366] : „73308 <i>Boswellia carteri</i> Birdw. [the name needs updating to <i>B. sacra</i> the currently accepted name]	

The Entry Book describes: Somalia Frankinsense donated by Dr Pentz (Dr Lundy Pentz, Dept Biol., Mary Baldwin College, Staunton, Virginia 24401, USA.) on a visit to Kew on 12.6.86. He added the following information. This sample is of commercial frankinsense from suppliers to the perfumery industry specifically Joseph Bernstein Inc, from New York, N.Y. It is sold under the name Somalian Frankinsense and the suppliers do not know the botanical origin of the resins. Our TLC methods (described in the article from Perfumer and Flavourist [presumably Hairfield, et al. Perf. Flav. 9:33, 1984]) identifies the Somalian Frankinsense as perfectly matching the Kew Samples of *Boswellia carteri*.

[Note there is no record saying which samples of *B. carteri* it was compared to] Photographs of chromatograms of EcBot samples of *B. carteri*, *B. papyrifera* and *B. serrata* are available in archives (42.1983.1), unfortunately no details are given in the Entry Book on the particular specimens they were compared to“.

Kurzbezeichnung:	<i>Bcar K73308</i>	
Lieferant:	Harzsammlung in der Economic Botany Collections (EBC) in Kew Gardens, GB	
Art:	<i>B. carteri</i> [3]	Herkunft: Somalia
Aussehen:	Ca. 2 Dutzend kleine (ca. 2 mm Länge) gelbe bis dunkelbraune unregelmäßige Brocken, Tropfen und Tränen	
Verunreinigungen:	Wenige Rindenteile, Spuren n. i. weiterer Verunreinigungen	
Geruch:	Nach Rinde/Holz	

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver , z. T. glänzend
Geruch:	Intensive Harz- und Rinden-/Holznoten und etwas nach Weihrauch

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Inhomogene, gelb-braune, zähe Masse, die nach Rinde und feuchtem Holz riecht
Neutralkomponenten:	Homogenes, feines, weißes Pulver mit leichtem Gelbstich. Intensiver angenehm harziger und weihrauchartiger Geruch, daneben dunkle, aromatische, frische und kirchliche Note.

Harz von *Boswellia papyrifera* (K63171, Kew)

Probe Nr. 33

Harz

Bezeichnung:	Resin from <i>Boswellia papyrifera</i> HOCHST. „Cat. no.: 63171 [...] EBN: 9.1986.1 Donor: Meer Corporation New York Donor notes: Pentz Lundy Mary Baldwin College Virginia Common name(s): Ethiopian Frankincense Part(s) held: Exudate“ Weitere Informationen zur Probe ^[367] : „63171 <i>Boswellia papyrifera</i> Hochst.
--------------	--

The Entry Book describes: Ethiopian Frankinsense donated by Dr Pentz (Dr Lundy Pentz, Dept Biol., Mary Baldwin College, Staunton, Virginia 24401, USA.) on a visit to Kew on 12.6.86. He added the following information. This sample is of commercial frankinsense from suppliers to the perfumery industry specifically the Meer Corporation, from New York, N.Y. It is sold under the name Ethiopian Frankinsense and the suppliers do not know the botanical origin of the resins. Our TLC methods (Described in the article from Perfumer and Flavourist, [Note: I have not yet tracked down this reference] identifies the Ethiopian Frankinsense as perfectly matching the Kew Samples of *Boswellia papyrifera*.

[Note there is no record saying which samples of *B. papyrifera* it was compared to]. Photographs of chromatograms of EcBot samples of *B. carteri*, *B. papyrifera* and *B. serrata* are available in archives (42.1983.1), unfortunately no details are given in the Entry Book on the particular specimens used.“

Kurzbezeichnung:	<i>Bpap K63171</i>	
Lieferant:	Harzsammlung in der Economic Botany Collections (EBC) in Kew Gardens, GB	
Art:	<i>B. papyrifera</i> [3]	Herkunft: Äthiopien
Aussehen:	Ein einzelner großer (12 x 16 mm) gelbbrauner Brocken mit Anhaftung/Einschluss	
Verunreinigungen:	Rindenteil anhaftend	
Geruch:	Intensiv aromatisch und etwas frisch, fruchtig, Zitrus (Orangenschale), nicht nach Harz oder Weihrauch	

Rohextrakt

Aussehen:	Homogenes, feines, hellgelbes Pulver; matt und zum Verklumpen neigend
Geruch:	Intensiv aromatisch (Zitrus Richtung Orangenschale) und frisch, wenig nach Harz oder Weihrauch

Säurefraktion und Neutralkomponenten

Säurefraktion:	Inhomogene, gelbbraune viskose Masse mit sehr schwachem, uncharakteristischem Geruch
Neutralkomponenten:	Homogene, klare, gelbe, viskose Masse mit intensivem und angenehmem Duft. Es überwiegen aromatische Zitrusnoten (Orangenschale) neben leicht balsamische Noten

Anhang B: Trennschemata zur Isolierung von DhAbiA **38** und AbiA-Isomeren **39**

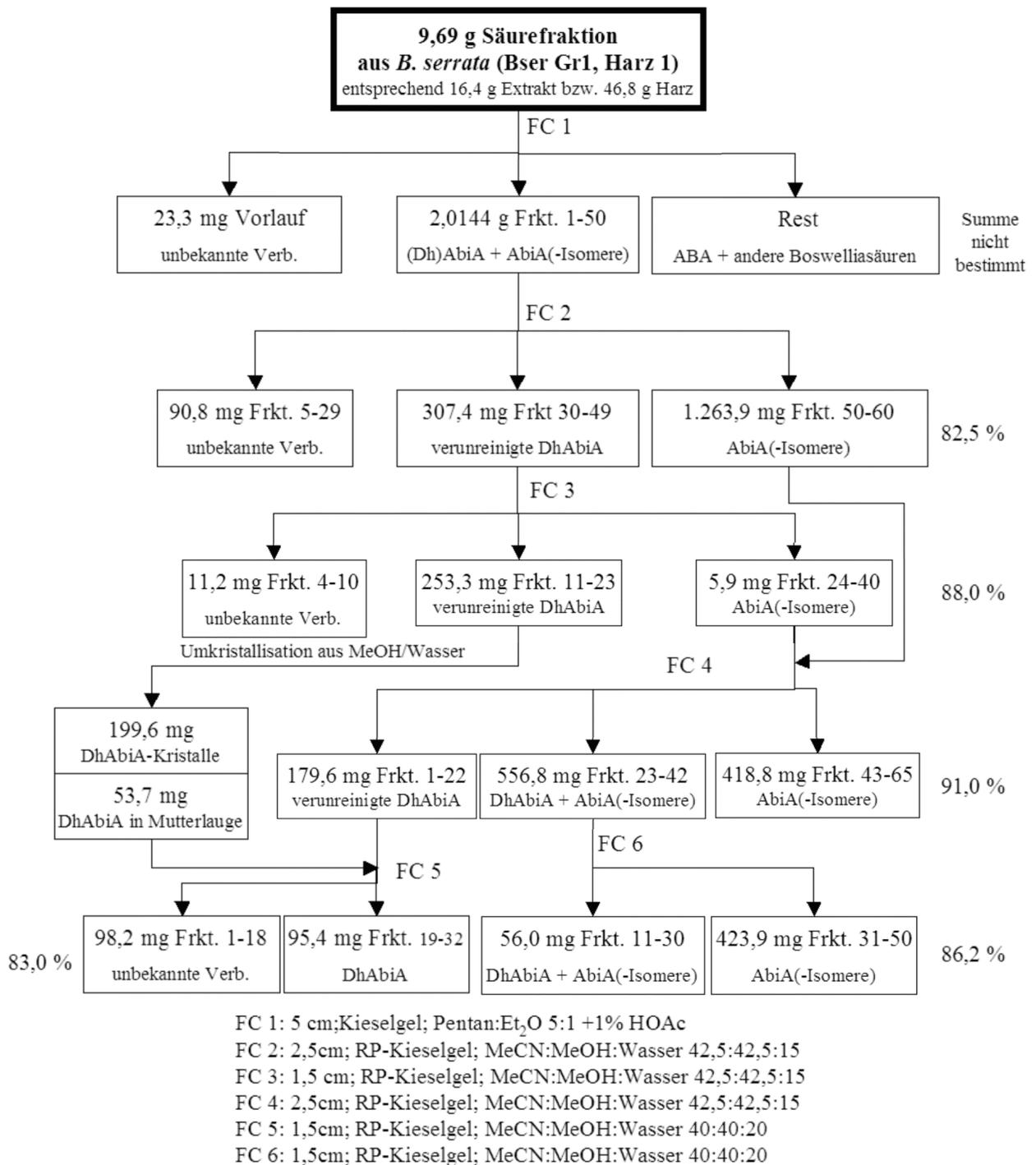


Abb. 80: Fließschema zur Isolierung von DhAbiA **38** und AbiA-Isomeren **39** aus der Säurefraktion von *B. serrata* (Harzprobe1, *Bser Gr1*). Details siehe Kap. 4.5.2.2.

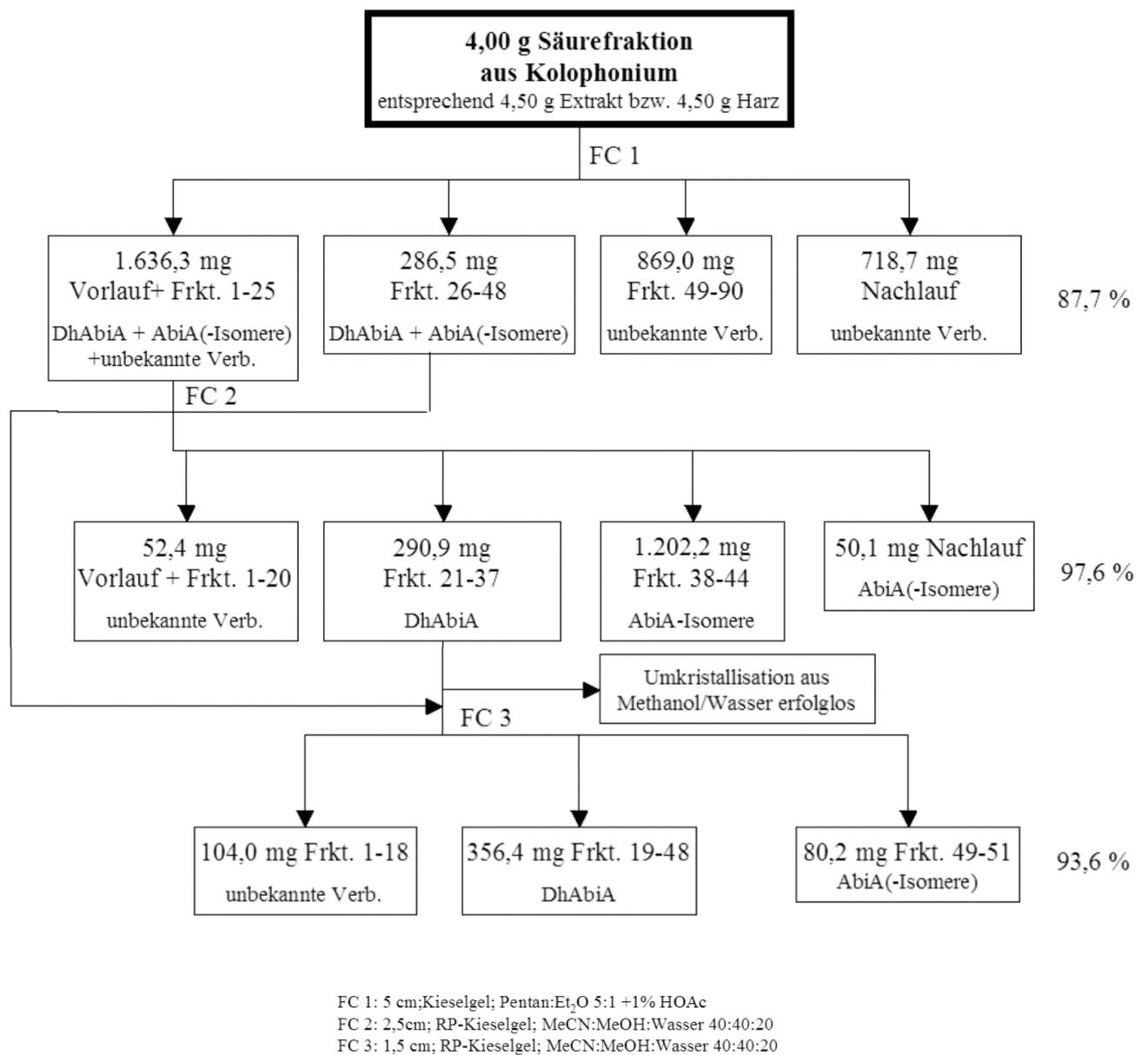


Abb. 81: Fließschema zur Isolierung von DhAbiA 38 und AbiA-Isomeren 39 aus Kolophonium. Details siehe Kap. 4.5.2.3.

Anhang C: Vergleich der NMR-Verschiebungen ausgewählter Boswelliasäuren

Tab. 28: Vergleich der ^{13}C -NMR-Verschiebungen von β -ABA **2** mit Literaturangaben zu dieser Verbindung und dem Strukturanalogon 3-Oxo- β -BA-Me **57**. Zur Diskussion der Diskrepanzen (fett hervorgehoben) siehe Kap. 3.5.1 ab S. 97.

C-Atom	β -ABA 2		β -BA 1		3-Oxo- β -BA-Me 57
	eigene Daten ^[368]	Belsner <i>et al.</i> ^[51]	eigene Daten ^[368]	Culioli <i>et al.</i> ^[50]	Loganathan <i>et al.</i> ^[338]
1	34.55	34.59	33.76	33.9	40.08
2	23.62	23.63	26.13	26.2	35.63
3	73.23	73.42	70.68	70.8	207.78
4	46.69	46.73	47.30	47.4	56.57
5	50.64	50.67	49.02	49.1	57.24
6	19.60	19.64	19.61	19.7	19.61
7	33.08	33.10	33.03	33.1	31.95
8	40.05	40.07	39.94	40.0	38.93
9	46.83	46.85	46.73	46.8	45.61
10	37.43	37.43	37.46	37.5	36.19
11	23.43	23.44	23.35	23.4	22.70
12	124.50	124.59	124.40	124.5	123.07
13	139.60	139.56	139.50	139.6	138.86
14	42.29	42.30	42.21	42.3	41.26
15	26.56	26.57	26.39	26.5	25.60
16	28.14	28.16	28.02	28.1	27.09
17	33.81	33.83	33.76	33.8	32.80
18	59.19	59.22	59.04	59.2	58.18
19	39.77	39.63	39.62	39.7	38.71
20	39.62	39.78	39.53	39.6	38.60
21	31.27	31.29	32.21	31.3	30.24
22	41.53	41.55	41.46	41.5	40.50
23	23.68	23.65	24.16	24.2	19.96
24	182.5	182.3	183.40	183.1	173.23
25	13.29	13.36	13.24	13.3	12.41
26	16.89	16.90	16.84	16.9	15.87
27	23.27	23.28	23.18	23.2	22.12
28	28.77	28.79	28.77	28.8	27.77
29	17.46	17.47	17.44	17.4	16.47
30	21.38	21.37	21.39	21.4	20.34
31	170.3	170.3	—	—	50.98
32	21.31	21.31	—	—	—

Tab. 29: Vergleich der ¹H-NMR-Verschiebungen von β-ABA 2 mit Literaturangaben zu dieser Verbindung und dem Strukturanalogen 3-Oxo-β-BA-Me 57. Zur Diskussion bedeutsamer Diskrepanzen (fett hervorgehoben) siehe Kap. 3.5.1, S. 97.

H- Atome	β-ABA 2				β-BA 1			3-Oxo- β-BA-Me 57	
	eigene Daten ^[368]		Belsner <i>et al.</i> ^[51]		eigene Daten ^[368]		Culioli <i>et al.</i> ^[50]	Loganathan <i>et al.</i> ^[338]	
	α	β	α	β	α	β	k. A. zu α/β	α	β
1	1.22	1.51	1.19	1.48	1.32	1.50	1.33 ; 1.49	1.34	2.02
2	1.64	2.14	2.15	1.64	1.59	2.23	2.24 ; 1.60	2.37	2.95
3	—	5.28		5.30	—	4.08	4.08		—
4	—		—		—	—	—		—
5	1.45	—	1.39		1.49	—	1.50	1.25	
6	1.71	1.81	1.81	1.71	1.70	1.83	1.70 1.83	1.80	1.93
7	1.58	1.40	1.53	1.40	1.55	1.40	1.41 ; 1.58	1.53	1.43
8	—		—		—				—
9	1.58	—	1.57		1.61	—	1.63	1.56	—
10	—		—		—		—		—
11	1.90	1.93	1.69	1.69	1.90	1.94	1.18 ; 1.92	1.99	1.99
12		5.15		5.15		5.14			5.14
13	—		—		—		—		—
14	—		—		—		—		—
15	1.04	1.90	1.83	1.00	1.01	1.84	1.02 1.86	1.02	1.87
16	2.00	0.87	2.01	0.85	2.01	0.87	0.88 ; 2.02	2.00	0.88
17	—		—		—		—		—
18	—	1.33	1.28	—	—	1.33	1.34	—	1.32
19	1.32	—	1.87	---	1.35	—	1.34	1.33	—
20	—	0.91	0.9	—	—	0.92	0.94	—	0.91
21	1.26	1.39		1.37; 1.23	1.27	1.41	1.29 1.41	1.27	1.39
22	1.43	1.27	1.40	1.25	1.41	1.27	1.27 ; 1.45	1.25	1.45
23		1.24		1.24		1.35	1.34		1.37
24	—		—		—		—		—
25		0.90		0.92		0.91	0.91		1.08
26		1.05		1.05		1.05	1.05		1.08
27		1.12		1.12		1.10	1.11		1.05
28		0.80		0.81		0.81	0.83		0.81
29		0.77		0.79		0.79	0.80		0.79
30		0.91		0.92		0.92	0.94		0.92
31	—		—		—		—		3.68
32		2.09		2.10		—	—		—

Anhang D: Testergebnisse mit der monolithischen HPLC-Säule

Tab. 30: Vergleich der Drücke bei Chromolith- und herkömmlichem RP-Material. –: nicht gemessen.

MeOH-Anteil [%]	Flussrate [ml x min ⁻¹]	Druck [MPa]	
		Chromolith	Saphir
65	1,2	–	17,6
85	1,2	–	12,4
90	1,2	0,86	6,60
85	1,5	–	15,1
50	2,0	2,60	–
100	2,0	1,00	–
50	3,0	5,30	–
60	3,0	4,95	–
100	3,0	1,42	–
90	4,0	3,84	–
80	4,0	4,98	–
85	4,0	4,45	–
40	5,0	8,44	–
50	5,0	8,38	–
60	5,0	8,10	–
70	5,0	7,32	–
80	5,0	6,27	–
90	5,0	4,82	–
100	5,0	3,45	–

Tab. 31: Vergleich der HPLC-Übersichtschromatogramme auf Chromolith-Material. *) Elution der unpolaren Komponente (β -ABA 2), d. h. ohne Äquilibrierzeit.

Gradient Nr.	Trennung polarer Verbindungen	Trennung mittelpolarer Verbindungen	Trennung unpolarer Verbindungen	Gesamtdauer* [min]
11	schlecht	gut	gut	20
12	schlecht	gut	schlecht	20
13	schlecht	gut	schlecht	21
14	schlecht	gut	gut	21
15	gut	gut	gut	21
16	schlecht	gut	gut	19
17	schlecht	gut	gut	22
18	gut	gut	gut	22
19	gut	gut	gut	24
20	gut	gut	gut	21 (s. Abb. 27, S. 59)

Anhang E: FAME-GC-MS-Chromatogramme von Harzsäuren aus Kolophonium

Die Chromatogramme zeigen jeweils von unten nach oben: Totalionenstrom (TIC), charakteristische Massenspuren bei $m/z = 121$ (für Abietin- wie Pimarinsäuren), 314 (Dehydroabietinsäuremethylester) und 316 (Methylester von Abietinsäure und deren Isomeren). Zu den Aufnahmebedingungen s. Abschnitt 4.4 (S. 113) und 4.5.2.4 (S. 120). Zur Identifizierung der Peaks siehe Kap. 3.2.1 (S. 60). Chromatogramme 1 und 2 stellten sich als Fehlmessungen heraus und werden nicht gezeigt.

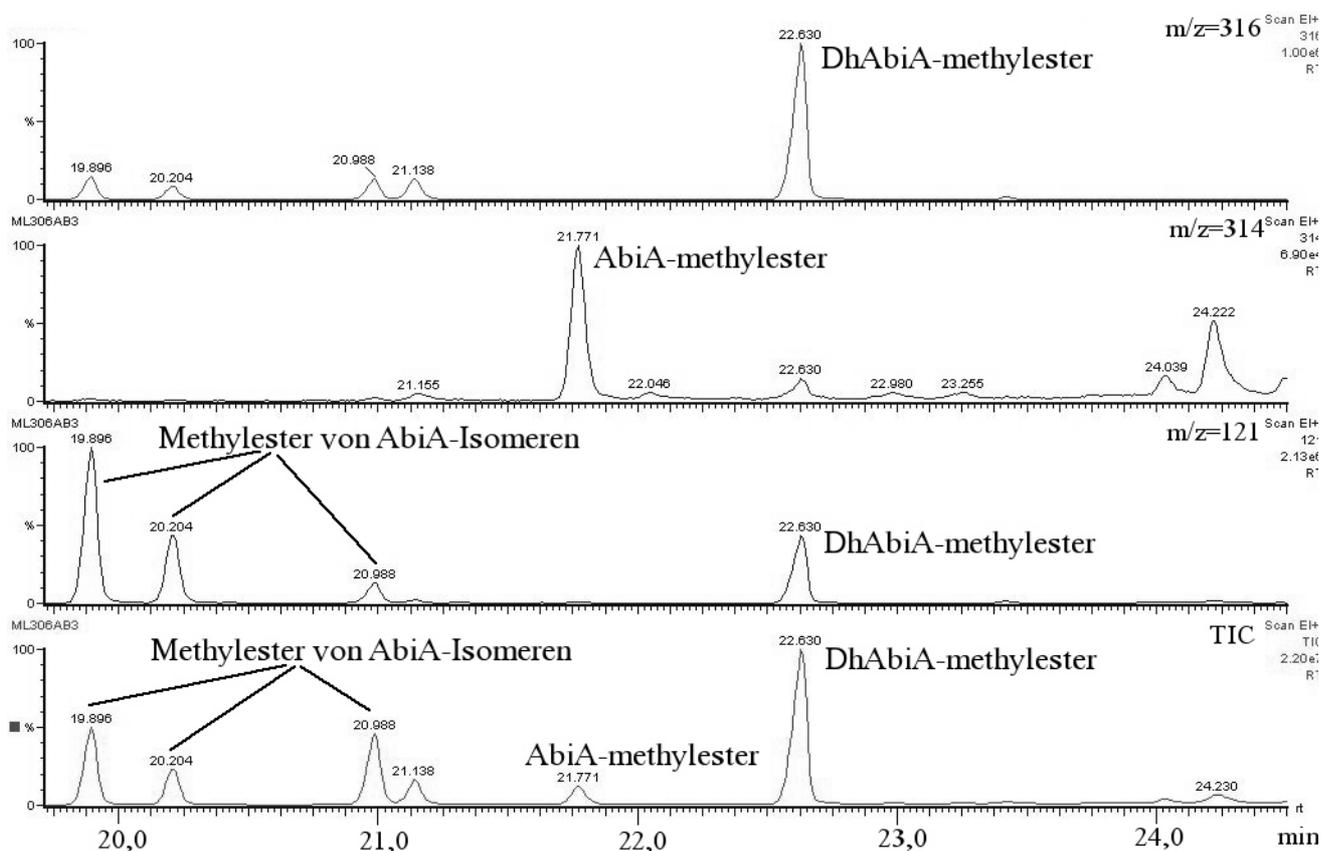


Abb. 82: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren **39** aus Weihrauchharz (Probe 1, *Bser Gr1*), Lauf 3.

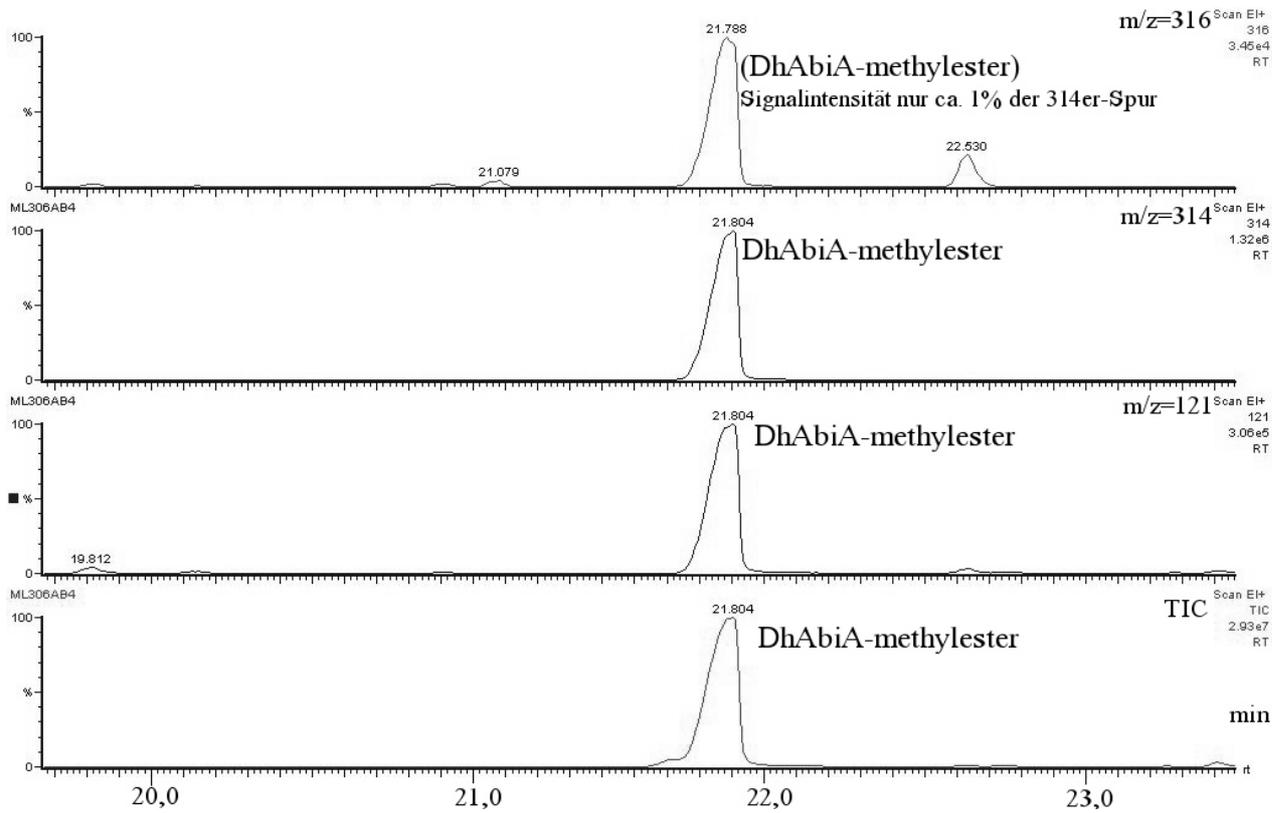


Abb. 83: GC-MS-Chromatogramm des Methylesters von DhAbiA **38** aus Weihrauchharz (Probe 1, *Bser Gr1*), Lauf 4.

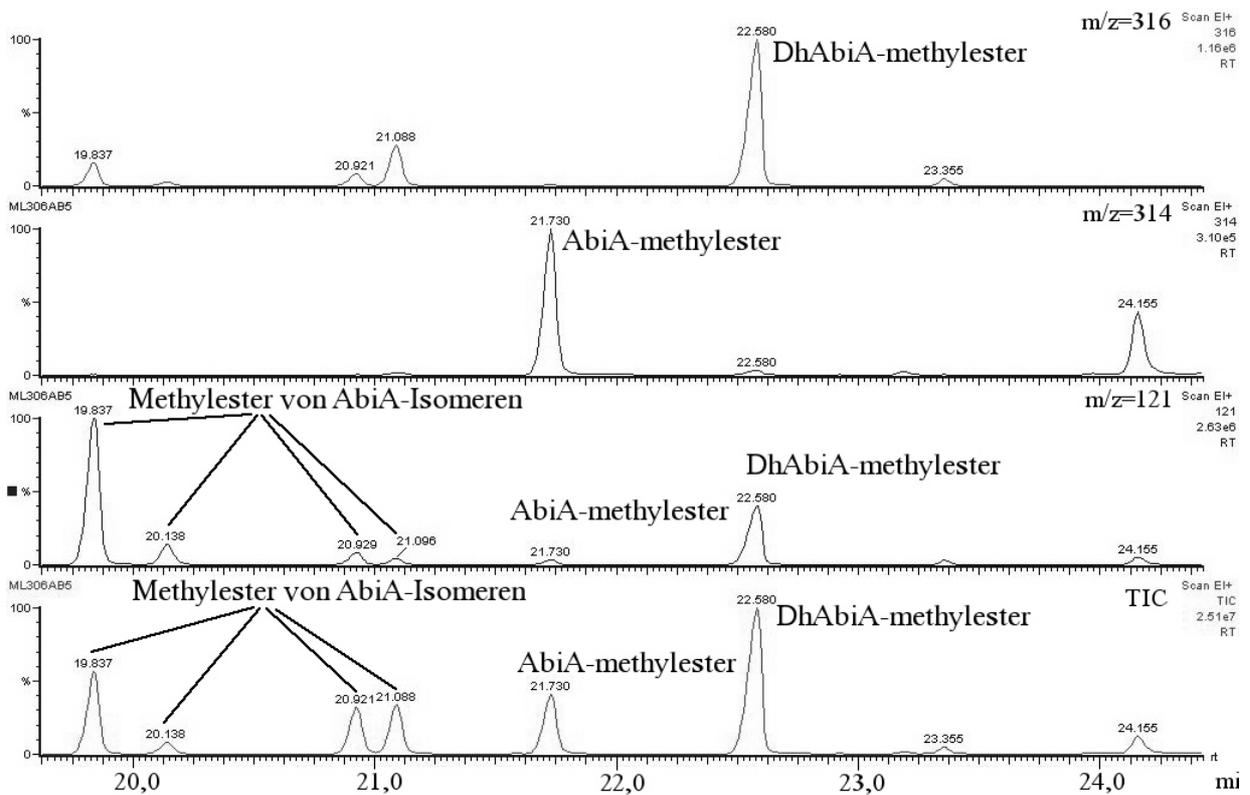


Abb. 84: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren **39** aus Kolophonium (Probe 1, *Bser Gr1*), Lauf 5.

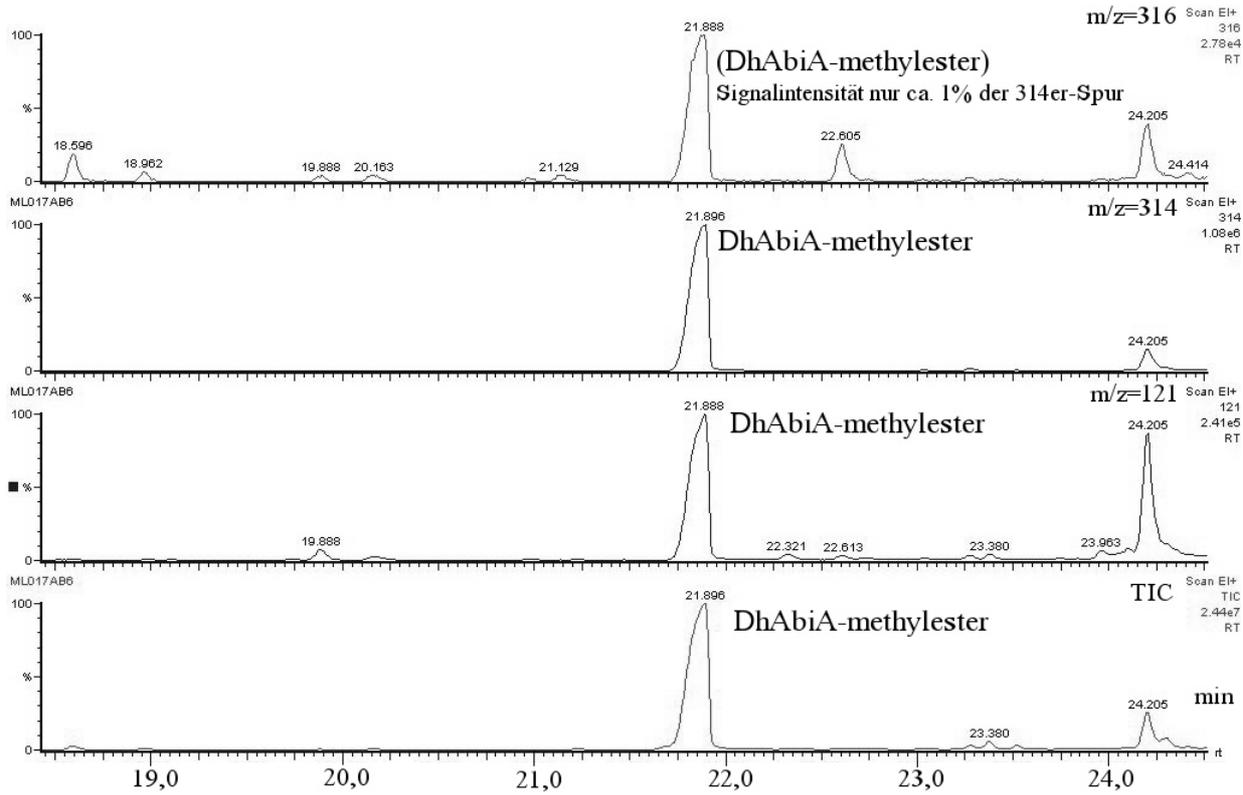


Abb. 85: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von AbiA-Isomeren **39** aus Weihrauchharz (Probe 1, *Bser Gr1*), Lauf 6.

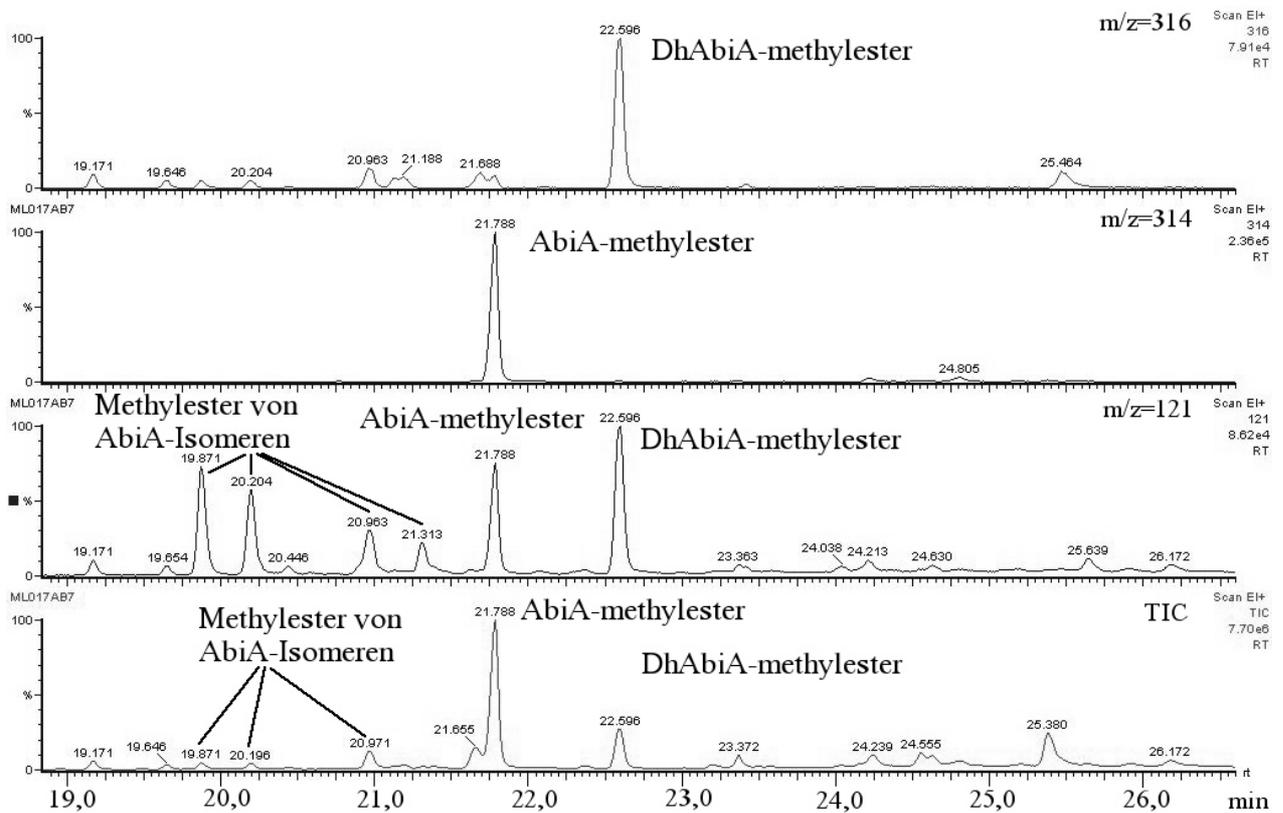


Abb. 86: GC-MS-Chromatogramm der Methylester von technischer AbiA **41**, Lauf 7.

Anhang F: Vergleich von DC-Systemen zur Weihrauchanalytik

Tab. 32: Vergleich von DC-Systemen zur Weihrauchanalytik. Bewertungen: -: schlecht; +: mäßig; ++: gut; +++: sehr gut. * Mischungsverhältnis aus der Literatur übernommen und nicht optimiert. Die Entwicklungszeit wurde bei ≤ 15 min als „sehr gut“, bei ≤ 25 min als „gut“ und bei > 25 min als „mäßig“ bewertet.

	MeCN:Wasser	MeOH:Wasser	Pentan:Et ₂ O + 1 % HOAc	Hexan:EtOAc + 1 % HOAc	Toluol:EtOAc: HCOOH:PE (80-110 °C)
Phase	RP	RP	SiO ₂	SiO ₂	SiO ₂
Überblick	+++	++	++	++	++
bestes Mischungsverhältnis	90:10 (optimiert)	90:10 (optimiert)	2:1 (optimiert)	5:1 (optimiert)	8:2:0,3:1*
Trennung von...					
...BA/ABA	++ - +++	+++	++	++	+++
...KBA/AKBA	+ - +++	+++	++	++	+++
...DhAbiA/AbiA	+++	+++	-	-	-
...BAs/(Dh)AbiA	++ - +++	+	++	++	++
Tailingneigung	wenig	wenig	sehr wenig	mittel	wenig
Entwicklungszeit	++	+ - ++	+++	+++	+
Fleckform	++	++	+ - +++	++	++
Quelle / Kommentar			BA/AKBA kaum getrennt	etwas schlechter als Pentan:Et ₂ O-Mischungen	Hahn-Deinstrop und Koch ^[205] ; Ennet <i>et al.</i> ^[98]
	DCM:MeOH	CHCl ₃ :iPrOH	Aceton in DCM	Hexan:Aceton	DCM:MeOH: Aceton
Phase	SiO ₂	SiO ₂	SiO ₂	SiO ₂	SiO ₂
Überblick	+ - ++	+ - ++	-	-	+
bestes Mischungsverhältnis	30:1 (optimiert)	30:1 (optimiert)	2%*	7:3*	88:10:2*
Trennung von...					
...BA/ABA	++	++	-	++	++
... KBA/AKBA	++	++	-	++	++
... DhAbiA/AbiA	-	-	-	++	-
... BAs/(Dh)AbiA	+	+	+	-	
Tailingneigung	wenig	wenig	keine	mittel	wenig
Entwicklungszeit	+++	++	++	++	++
Fleckform	+ - ++	-	-	-	+
Quelle / Kommentar			Hairfield <i>et al.</i> ^[206]	Krohn <i>et al.</i> ^[305]	Sailer, ^[359] keine Trennung von ABA und DhAbiA/AbiA

Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Arbeit wurden in den folgenden Publikationen veröffentlicht:

Bergmann J., Herdtweck E., Jauch J.: Inhaltsstoffe der Säurefraktion des Weihrauchharzes. (Posterbeitrag), Jahrestagung Chemie der GDCh, Würzburg, 2001

Jauch J., Bergmann, J.: An Efficient Method for the Large-Scale Preparation of 3-O-Acetyl-11-oxo- β -boswellic Acid and Other Boswellic Acids. *Eur J Org Chem*, 4752-4756 (2003)