

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. Oktober 2009 (01.10.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2009/117987 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

C07J 63/00 (2006.01) *A61P 1/04* (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2009/000385

(22) Internationales Anmeldedatum:
25. März 2009 (25.03.2009)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

10 2008 015 607.8 26. März 2008 (26.03.2008) DE
10 2008 017 496.3 4. April 2008 (04.04.2008) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **UNIVERSITÄT TÜBINGEN** [DE/DE]; Wilhelmstrasse 5, 72074 Tübingen (DE). **MEDEON PHARMACEUTICALS GMBH** [—/DE]; Senheimer Strasse 25a, 13465 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **WERZ, Oliver** [DE/DE]; Auf der Morgenstelle 8, 72076 Tübingen (DE). **KAPP, Joachim-Friedrich** [DE/DE]; Senheimer Strasse 25a, 13465 Berlin (DE). **MARTIN, Roland** [DE/DE]; Curschmannstrasse 35, 20251 Hamburg (DE).

(74) Anwälte: **SEUSS, Thomas** et al.; Jungblut & Seuss, Max-Dohrn Strasse 10, 10589 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)

(54) Title: USE OF BOSWELLIA ACIDS AND SYNTHETIC BOSWELLIA ACID DERIVATIVES FOR INHIBITING MICROSOMAL PROSTAGLANDIN E₂ SYNTHASE AND CATHEPSIN G

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON BOSWELLIASÄUREN UND SYNTHETISCHEN BOSWELLIASÄUREDERIVATEN ZUR HEMMUNG DER MIKROSOMALEN PROSTAGLANDIN E₂ SYNTHASE UND DES CATHEPSIN G

(57) Abstract: The present invention relates to new boswellia acid derivatives. The present invention furthermore relates to the use of preparations with boswellia acid derivatives or synthetic derivatives, especially with boswellia acid derivatives, which are esterified or etherified at the C3-OH function, for inhibiting the inducible microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 and/or for inhibiting cathepsin G. Furthermore, the invention relates to the use of boswellia acids or synthetic derivatives for the preparation of a drug for the treatment of PGE₂- and/or cathepsin G-induced pathological conditions.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft neue Boswelliasäurederivate. Die vorliegende Erfindung betrifft ferner die Verwendung von Zubereitungen mit Boswelliasäuren bzw. synthetischer Derivate insbesondere Boswelliasäure-Derivate, die an der C3-OH-Funktion verestert oder verethert sind, zur Hemmung der induzierbaren mikrosomalen Prostaglandin E₂ Synthase-1 und/oder zur Hemmung des Cathepsin G. Ferner betrifft die Erfindung Verwendung von Boswelliasäuren bzw. synthetischer Derivate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von PGE₂- und/oder Cathepsin G-vermittelter krankhafter Zustände.



WO 2009/117987 A2

**Verwendung von Boswelliasäuren und
synthetischen Boswelliasäurederivaten zur Hemmung
der mikrosomalen Prostaglandin E₂ Synthase und des Cathepsin G**

Beschreibung

- 5 Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von natürlich vorkommenden Boswelliasäuren und synthetischen Boswelliasäurederivaten, insbesondere solche mit einer Estergruppe an Pos. C3, vorzugsweise solche mit endständiger Carboxylfunktion, zur Hemmung der induzierbaren mikrosomalen Prostaglandin E₂ Synthase-1 und zur Hemmung des Cathepsin G. Ferner betrifft die Erfindung die
- 10 Verwendung von Boswelliasäuren und synthetischen Boswelliasäurederivate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von PGE₂- und/oder Cathepsin G-vermittelter Erkrankungen und krankhafter Zustände. Diese Patentanmeldung nimmt folgende Prioritäten in Anspruch: DE 102008015607.8 (Anmeldetag: 25.03.2008) und DE 102008017496.3 (Anmeldetag: 04.04.2008).
- 15 Akute und chronische entzündliche Erkrankungen gehen mit einer erhöhten Aktivität von entzündungsrelevanten Zellen wie z.B. Monozyten, Granulozyten, Lymphozyten und endothelialen Zellen einher, die vermehrt Prostaglandin E₂ (PGE₂) und/oder lysosomale Enzyme, dazugehörend Cathepsin G, Elastase und Proteinase-3, freisetzen. Diese Proteasen und das PGE₂ sind für die Entstehung und
- 20 Aufrechterhaltung entzündlicher Symptomatik (Schmerz, Schwellung, Rötung, Überwärmung und Funktionsverlust) verantwortlich bzw. wirken fördernd darauf ein.

- Die PG-Biosynthese wird durch die initialen Schritte der Umwandlung von Arachidonsäure zu PGH₂ durch die Cyclooxygenase (COX)-1 oder -2 eingeleitet (Fig. 1). Gewisse PGs, dazu gehörend das PGE₂, sind Mediatorstoffe bei
- 25 Entzündungen (v.a. rheumatoide Arthritis), Schmerz und Fieber, und sind des Weiteren bei Krebserkrankungen (Lunge, Kolon, Endometrium) beteiligt, andere PGs dagegen erfüllen wichtige physiologischen Funktionen [1, 2]. Hemmstoffe der COX-1 und -2 unterbinden damit die Synthese aller PGs und weisen aufgrund des Mangels physiologisch wichtiger PGs beträchtliche Nebenwirkungen (Magen, Niere) auf [3].
- 30 Die induzierbare mikrosomale Prostaglandin E₂ Synthase-1 (mPGES-1) ist Mitglied

BESTÄTIGUNGSKOPIE

der MAPEG Familie und katalysiert die Umwandlung von PGH_2 zu PGE_2 [4]. PGE_2 weist im Gegensatz zu den physiologisch notwendigen PGs ausgeprägte pathophysiologische Eigenschaften (Entzündung, Schmerz, Fieber, Krebserkrankungen, Angiogenese) auf, obwohl es im Magen und in der Niere ebenfalls zur Homöostase beiträgt. Seit Entdeckung der induzierbaren mPGES-1 im Jahre 1999 ist man deshalb bestrebt, potente und selektive Hemmstoffe gegen die mPGES-1 zu entwickeln, um die PGE_2 Synthese selektiv zu inhibieren, ohne dabei die Bildung der physiologisch wichtigen PGs zu unterdrücken [4, 5]. Dies macht die mPGES-1 zu einem interessanten Arzneistoff-Target v.a. bei chronisch entzündlichen Erkrankungen (rheumatoide Arthritis), die mit Schmerz oder auch mit Fieber einhergehen, aber auch bei diversen Krebserkrankungen. Allerdings ist bislang kein Inhibitor der mPGES-1 als Arzneimittel zur Therapie zugelassen, und die Anzahl verfügbarer Hemmstoffe (wie z.B. MK-886) ist derzeit noch äußerst gering und die Substanzen befinden sich noch in klinischer Prüfung. Die Motivation der pharmazeutischen Forschung sichere und selektive Hemmstoffe der mPGES-1 zu finden ist enorm.

Cathepsin G gehört zur Familie der Cathepsine, sogenannte lysosomale Proteasen mit mehr als 12 Mitgliedern (Cathepsin-A, -B, -D, -E, -G, -L, -K, -S etc.). Sie sind Serin-, Cystein-, oder Aspartat-Proteasen und spielen eine wesentliche Rolle im Immunsystem, indem sie allesamt durch Hydrolyse extrazellulärer Matrixproteine eine molekulare Machinerie zum Eindringen invasiver Zellen darstellen [6].

Cathepsin G ist eine neutrale Serinprotease, ähnlich Chymotrypsin und des weiteren mit Chymase und Tryptase, Elastase und Proteinase-3 verwandt [7]. Cathepsin G wird quasi ausschließlich in Neutrophilen und Makrophagen exprimiert, in azurophilen Granula gespeichert und nach Degranulierung freigesetzt. Es spaltet seine Substrate nach Met, Leu, Phe, Lys, Arg, preferentiell nach aromatischen Resten. Zu den Substraten gehören neben den extrazellulären Matrixproteinen [8, 9] auch Chemokine, Rezeptoren und Integrine [7].

Primäre physiologische Funktion des Cathepsin G ist die intrazelluläre und extrazelluläre Vernichtung von Mikroorganismen. Pathophysiologische Prozesse die im Zusammenhang mit Cathepsin G stehen sind die Vermittlung des Gewebumbaus an verletzten Stellen, die Aktivierung von Thrombozyten (Aggregation and

Sekretion) via PAR-4 [10], die Aktivierung von Neutrophilen via Formyl-Peptid-Rezeptor [11], und die Induktion von Leukozytenmigration und -infiltration in Gewebe. Cathepsin-knock-out Mäuse zeigen reduzierte Entzündungsanzeichen und sind resistent gegenüber Arthritis-Induktion durch Anti-Kollagen Antikörper. Insgesamt fördert Cathepsin also allgemein Entzündungsvorgänge. Dementsprechend ergeben sich therapeutische Indikationen für Cathepsin G Inhibitoren, dazu gehörend Asthma, COPD (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung), Emphyseme, Reperfusion injury, Psoriasis und rheumatoid Arthritis [12]. Hemmstoffe des Cathepsin G zur Therapie von Erkrankungen sind bislang nicht als Arzneimittel zugelassen.

Zusammenfassend spielen also sowohl Cathepsin G als auch die mPGES-1 Schlüsselrollen bei entzündlichen Erkrankungen, die jedoch hinsichtlich der Wirkungsweisen völlig unterschiedlich sind. Dies impliziert, dass die kombinierte / gleichzeitige Unterdrückung beider Enzyme zu einem additiven oder auch synergistischen Effekt führen kann. Substanzen, die eine duale Hemmung des Cathepsin G und der mPGES-1 bewirken, sind bislang nicht bekannt.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, erstmalig Substanzen zu identifizieren, die das Cathepsin G und die PGE₂ Synthese in einer additiven und/oder synergistischen Weise hemmen und somit entzündlicher Prozesse blockieren. Dabei sollen die Nachteile der bekannten Verfahren (Einsatz von steroidal Antirheumatika (Glukokorticoide) und von NSAIDs oder sog. Coxiben, nämlich Hemmstoffe der COX Enzyme) umgangen werden und Wirkstoffe, insbesondere Naturstoffe und deren synthetische Derivate, identifiziert werden, die zu Herstellung eines Arzneistoffes zur therapeutischen Behandlung von Cathepsin G- und/oder PGE₂-vermittelten Erkrankungen, insbesondere von chronischen Entzündungen wie rheumatoide Arthritis, entzündliche Darmerkrankungen und Asthma, verwendet werden können, um bei einer hohen Effizienz geringe Nebenwirkungen aufzuweisen.

Diese Aufgabe wird durch die Verwendung von Boswelliasäuren und deren synthetischen Derivaten gelöst, wie es im Anspruch 1 beschrieben ist. Bevorzugte Ausführungen sind in abhängigen Ansprüchen genannt.

Die o.g. Aufgabe wird dadurch gelöst, dass in der vorliegenden Erfindung Boswelliasäuren und deren synthetische Derivate als Hemmstoffe der katalytischen

Aktivität der mPGES-1 und des Cathepsin G in zellfreien Systemen identifiziert werden konnten (Tabelle 2, Fig. 2-6, 8). Auch hemmen Boswelliasäuren und synthetische Derivate die Biosynthese von PGE₂ im LPS-stimulierten Humanblut (Fig. 7). Damit sind Boswelliasäuren und deren Derivate direkte Hemmstoffe der mPGES-1 bzw. Hemmstoffe der PGE₂ Synthese.

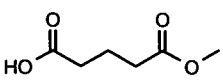
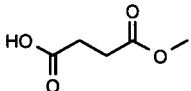
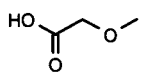
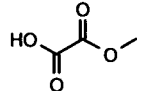
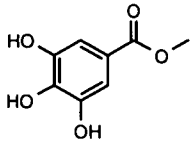
Weiterhin zeigt die Erfindung, dass Boswelliasäuren und die synthetischen Derivate Cathepsin G-vermittelte funktionelle Zellantworten inhibieren. So wird die fMLP-induzierte Invasion von Neutrophilen durch Matrigel hindurch unterbunden (Fig. 9). Bislang sind weder Boswelliasäuren noch deren synthetischen Derivate als Cathepsin G Inhibitoren oder als duale Hemmstoffe des Cathepsin G und der PGE₂ Synthese beschrieben worden.

In einer Ausführung der Erfindung werden natürlich vorkommende gereinigte Boswelliasäuren verwendet. In einer bevorzugten Ausführung der Erfindung wird die gereinigte β -Boswelliasäure (β -BA) verwendet. Diese kann z.B. nach dem Verfahren von Jauch et al. [13] aus Weihrauchharzen halbsynthetisch gewonnen werden.

In einer weiteren Ausführung werden synthetische Boswelliasäurenderivate verwendet, die eine vergleichbare oder bessere Hemmwirkung auf die mPGES-1- und/oder Cathepsin G-Aktivität als die natürlich vorkommenden Boswelliasäuren haben. Für die synthetischen Boswelliasäurenderivate sind bislang keine biologischen oder pharmakologischen Wirkungen beschrieben worden und die Substanzen sind an sich unbekannt. Die synthetischen Strukturvariationen an den natürlichen Boswelliasäuren führen überraschenderweise hinsichtlich der Muttersubstanzen zu höherer Wirksamkeit.

Es wurden vor allem Boswelliasäure-Derivate erfolgreich getestet, die an der C3 OH-Funktion verestert oder verethert sind, insbesondere solche die im Rest eine endständige Carboxylfunktion aufweisen.

Tabelle 1 umfasst einige strukturelle Modifikationen von Boswelliasäuren.

No.	Substanz	Substituenten			
		R1	R1a	R2	R3
1.	β -BA	-OH	-H	-H	-COOH
2.	11-Keto- β -BA		-H	=O	-COOH
3.	Acetyl- β -BA		-H	-H	-COOH
4.	Acetyl-11-Keto- β -BA		-H	=O	-COOH
5.	Glutaroyl- β -BA		-H	-H	-COOH
6.	Glutaroyl-11-Keto- β -BA		-H	=O	-COOH
7.	Succinoyl- β -BA		-H	-H	-COOH
8.	Succinoyl-11-Keto- β -BA		-H	=O	-COOH
9.	β -BA-CM-Ether		-H	-H	-COOH
10.	11-Keto- β -BA-CM-Ether		-H	=O	-COOH
11.	Oxaloyl- β -BA		-H	-H	-COOH
12.	Oxaloyl-11-Keto- β -BA		-H	=O	-COOH
13.	Galloyl-11-Keto- β -BA		-H	=O	-COOH
14.	11 α -Hydroxy- β -BA	-OH	-H	-OH (α)	-COOH
15.	11 β -Hydroxy- β -BA	-OH	-H	-OH (β)	-COOH

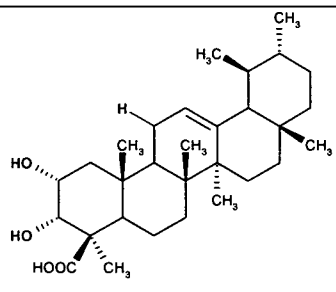
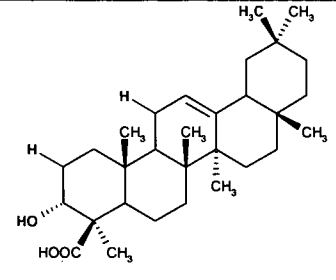
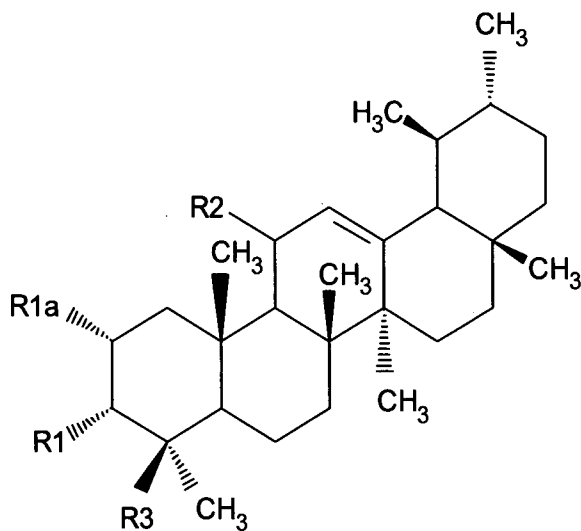
16.	Cis-Diol- β -BA	 The chemical structure of Cis-Diol-β-BA is a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple fused rings. Key features include a carboxylic acid group (HOOC) and a hydroxyl group (HO) on the left side, and a methyl group (CH₃) on the right side. The structure is labeled with various atoms and groups, including H, CH₃, and HOOC.
17.	α -BA	 The chemical structure of α-BA is a complex polycyclic molecule. It features a central core with multiple fused rings. Key features include a carboxylic acid group (HOOC) and a hydroxyl group (HO) on the left side, and a methyl group (CH₃) on the right side. The structure is labeled with various atoms and groups, including H, CH₃, and HOOC.

Tabelle 2 umfasst einige Beispiele der synthetischen Boswelliasäure-Derivate, die einen Hemmeffekt auf die PGE₂-Synthese und/oder Cathepsin G aufweisen.

Substanz	mPGES-1 Hemmung (IC ₅₀ Werte [μM])	Cathepsin G Hemmung
β-BA	5	0.8 ^{a)}
Acetyl-β-BA	30	1.3 ^{a)}
11-Keto-β-BA	10	3.9 ^{a)}
Acetyl-11-Keto-β-BA	3	0.6 ^{a)}
β-BA-CM-Ether	< 1	28,8±7,4 ^{b)}
Oxaloyl-β-BA	0,3	38,1±6,4 ^{b)}
Oxaloyl-11-Keto-β-BA	6	93 ^{b)}
Succinoyl-β-BA	2,5	52,3±12,7 ^{b)}
Succinoyl-11-Keto-β-BA	9	90,2±9,6 ^{b)}
Glutaroyl-β-BA	1	24,5±1,7 ^{b)}
Glutaroyl-11-Keto-β-BA	n.d.	49,1±11,0 ^{b)}
Galloyl-β-BA	< 1	n.d.
Galloyl-11-Keto-β-BA	n.d.	30,9±4,1 ^{b)}
11α-Hydroxy-β-BA	n.d.	62.9± 6,6 ^{b)}
11β-Hydroxy-β-BA	n.d.	82.7±9 ^{b)}
α-BA	n.d.	77,6±13,6 ^{b)}
Cis-Diol-β-BA	n.d.	73,5±14,1 ^{b)}

^{a)} IC₅₀ [μM], ^{b)} % Restaktivität bei 10 μM)

Die Erfindung umfasst daher Boswelliasäure-derivate der Formel I:



(I)

- 5 wobei R1 für einen polaren oder anionischen Substituenten, insbesondere eine Hydroxygruppe oder ein lineares oder verzweigtes Hydroxyalkyl, lineares oder verzweigtes Carboxyalkyl, Hydroxyaryl, Carboxyaryl, Hydroxyheteroaryl, Carboxyheteroaryl, Hydroxyalkylaryl, Carboxyalkylaryl, Hydroxyalkylheteroaryl oder Carboxyalkylheteroaryl steht, das über ein Stickstoff-, Sauerstoff- oder
- 10 Kohlenstoffatom an das Restmolekül geknüpft ist, wobei das Hydroxyaryl, Carboxyaryl, Hydroxyheteroaryl, Carboxyheteroaryl, Hydroxyalkylaryl, Carboxyalkylaryl, Hydroxyalkylheteroaryl oder Carboxyalkylheteroaryl mit einem weiteren Ringsystem kondensiert sein kann, und ein oder mehrere H-Atome substituiert sein können durch eine oder mehrere Gruppen aus der Substanzklasse
- 15 Halogen, O, N, S, OH, NH₂, NO₂, SH, (C₁₋₁₀)Alkyl, (C₂₋₁₀)Alkenyl, (C₂₋₁₀)Alkynyl, OCF₃, (C₁₋₁₀)Alkoxy, (C₁₋₁₀)Alkylamin, (C₁₋₁₀)Alkylthio, (C₁₋₁₀)Alkylsilyl, (C₃₋₁₀)Cycloalkyl, (C₃₋₁₀)Cycloalkenyl, (C₃₋₁₀)Cycloheteroalkyl, (C₃₋₁₀)Cycloheteroalkenyl, COOH, oder das korrespondierende Säureadditionssalz dieser Verbindung, oder R1 für Phosphat oder Sulfat, verknüpft mit substituiertem oder unsubstituiertem Aryl, Heteroaryl,
- 20 Alkylaryl oder Alkylheteroaryl,

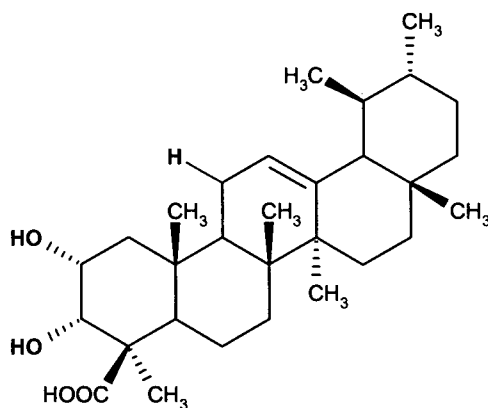
R1a für ein Wasserstoffatom oder einen Rest R1 steht,

R2 für zwei Wasserstoffatome, für ein Wasserstoffatom und eine Hydroxylgruppe oder ein Sauerstoffatom stehen,

R3 für eine Carboxylgruppe, ein Carbonsäuresalz mit einem physiologisch unbedenklichem Gegenion, ein C₁-C₅-Carbonsäureester oder ein ein C₁-C₅-Carbonsäureamid sein.

Soweit nicht anders definiert steht der Begriff Alkyl für eine C₁-C₁₀ Alkylgruppe, die geradkettig oder verzweigt sein kann. Bevorzugte Ausführungsformen sind Methyl-, Ethyl, n-Propyl und iso-Propyl. Soweit nicht anders definiert steht der Begriff Cycloalkyl für eine C₃-C₁₀ Cycloalkylgruppe. Bevorzugte Ausführungsformen sind Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl und Cycloheptyl. Soweit nicht anders definiert steht der Begriff Aryl für eine C₆-C₁₀ Arylgruppe, beispielsweise eine Phenyl oder Naphthylgruppe. Soweit nicht anders definiert steht der Begriff Heteroaryl für eine C₅-C₁₀ Heteroarylgruppe, mit N, S oder O als Heteroatom, beispielsweise Pyridyl-, Oxazolyl-, Thiazolyl-, Chinazolyl, Isochinazolyl, Chromenyl.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung befindet sich in cis-Stellung zu R1 noch eine weitere Hydroxygruppe (R1a = OH, Cis-Diol-β-BA). Diese besondere Ausführungsform ist nachfolgend dargestellt:



In dieser Ausführungsform können beide Hydroxygruppen unabhängig voneinander verestert oder verethert sein. Die oben für R1 genannten Reste können daher auch an der Position der zweiten Hydroxygruppe (R1a) stehen.

Der Rest R2 der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I kann als Sauerstoffatom (in Form einer Ketogruppe) vorliegen. Der Rest R2 kann aber auch

zwei Wasserstoffatome bedeuten oder ein Wasserstoffatom und eine Hydroxygruppe. Die Hydroxygruppe kann α - oder β -ständig sein.

Der Rest R3 der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I kann als Carbonsäuregruppe vorliegen, aber auch als deren Salz, Ester oder Amid vorliegen, beispielsweise als Carbonsäure- Natrium-, Kalium-, Lithium-, Magnesium-, Zink-, Ammonium-, Cyclohexylammoniumsalz oder als Methyl- oder Ethylester oder als Methylamid.

Erfindungsgemäß bevorzugte Reste R1 sind Formyl (-CO-H), Oxalyl (-CO-COOH), Succinyl (-CO-(CH₂)₂-COOH), Glutaroyl (-CO-(CH₂)₃-COOH), -CH₂-COOH, -CH₂-CONH-CH₃, Galloyl (-O-CO-C₆H₂(OH)₃) und -O-CH₂-COOH.

Vom Schutzbegehren ausgenommen sind die natürlich vorkommenden Boswelliasäuren, insbesondere β -Boswelliasäure, Azetyl- β -Boswelliasäure, Azetyl-11-keto- β -Boswelliasäure und 11-keto- β -Boswelliasäure (Ind. J. Chem., 16 b: 176-178, 1978).

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können durch das Vorhandensein von Asymmetriezentren als Stereoisomere vorliegen. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind alle möglichen Stereoisomere sowohl als Racemate, als auch in enantiomerenreiner Form. Der Begriff Stereoisomere umfaßt auch alle möglichen Diastereomere und Regioisomere und Tautomere (z.B. Keto-Enol-Tautomere), in denen die erfindungsgemäßen Verbindungen vorliegen können, die damit ebenfalls Gegenstand der Erfindung sind.

Die bevorzugten Verbindungen der Formel I sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Besonders bevorzugt sind die Verbindungen Nr. 5-13, 16 sowie Verbindungen bei denen R1 für einen Rest der Zusammensetzung -CO-H (Formyl), -CH₂-COOH, oder -CH₂-CONH-CH₃ steht.

Die Erfindung betrifft darüber hinaus die Verwendung von Zubereitungen zur Hemmung der PGE₂ Synthese, insbesondere zur Hemmung der mPGES-1, und / oder des Cathepsin G, wobei diese Zubereitungen mindestens ein Boswelliasäure-Derivate der Formel I enthalten.

Die Erfindung umfaßt ferner die Verwendung von Boswelliasäuren oder ihren synthetischen Derivaten zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von

PGE₂- und/oder Cathepsin G-vermittelten Erkrankungen und krankhaften Zuständen. Bei den PGE₂-vermittelten Erkrankungen handelt es sich insbesondere um akute und chronische Entzündungen, schmerz- und fieberhafte Zustände sowie um Krebserkrankungen. Bei den Cathepsin G-vermittelten krankhaften Zuständen
5 handelt es sich insbesondere um Asthma, COPD (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung), Emphyseme, Reperfusion Injury, und rheumatoide Arthritis. Das Arzneimittel kann ferner ein pharmazeutisches Trägermaterial enthalten.

Völlig überraschend wurde darüber hinaus festgestellt, dass die Boswelliasäurederivate der Formel I für die Herstellung von Arzneimitteln zur
10 Behandlung der Multiplen Sklerose geeignet sind.

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine chronische Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS). Hierbei werden im Gehirn und Rückenmark vielfache entzündliche Entmarkungsherde gebildet, die vermutlich durch den Angriff körpereigener Abwehrzellen auf die Myelinscheiden der Nervenzellenfortsätze
15 verursacht werden. Die Erkrankung ist nicht heilbar, der Verlauf kann durch verschiedene Maßnahmen günstig beeinflusst werden. Zu den gängigen pharmazeutischen Behandlungsmöglichkeiten zählen die Behandlung mit Interferonen (z.B. Betaferon®) und die Behandlung mit Glukokortikoiden (z.B. Methylprednisolon). Die Erfindung betrifft daher auch die Verwendung von
20 Zubereitungen enthaltend mindestens ein Boswelliasäurederivat der Formel I zur Behandlung von Multipler Sklerose (MS).

Zur therapeutischen Behandlung von PGE₂- und/oder Cathepsin G-vermittelten Erkrankungen sind Plasmakonzentrationen von ca. 0,1 - 15 µM, insbesondere 1-10 µM Boswelliasäuren bzw. synthetischer Derivate erstrebenswert, das könnte
25 etwa die p.o. Gabe von etwa 100-1000 mg/Tag sein. Gleiches gilt für die Behandlung der MS.

Die Verabreichung von Boswelliasäuren bzw. synthetischer Derivate oder diese enthaltenden pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Behandlung von Erkrankungen kann beispielsweise oral oder parenteral erfolgen.

Erfindungsgemäß werden die erfindungsgemäßen Verbindungen in Abhängigkeit vom Bedarf verabreicht. Hilfreich ist hierbei, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen wenig toxisch sind, so dass die Dosierung in Abhängigkeit von der
30

Schwere der Krankheit und der Dauer der Behandlung vom Arzt variiert werden kann. Die die erfindungsgemäßen Verbindungen werden hierbei bei humaner Anwendung in einer Dosierung von 1 bis 1000 mg, bevorzugt 50 bis 750 mg, besonders bevorzugt 100 bis 500 mg verabreicht. Die genannten Dosen können ein-
5 bis viermal täglich verabreicht werden.

Die genannte Dosis kann in verschiedenen Zubereitungen, z.B. in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Lösungen, Emulsionen, Inhalationspräparaten, Aerosolen oder Suppositorien, erfolgen. Dabei kann die Verabreichung oral, bukkal, parenteral, intraperitoneal, rektal, intramuskulär, subkutan, intraarteriell, intravenös,
10 inhalativ oder intranasal erfolgen, wobei Zubereitungen für die orale Verabreichung bevorzugt sind. Derartige Zubereitungen sind prinzipiell bekannt, spezielle Boswelliasäure-Zubereitungen werden beispielsweise auch in der EP 0854709 B2 genannt.

Formulierungen

Die vorliegende Erfindung lehrt auch eine pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung. Optional können ein oder mehrere physiologisch verträgliche Hilfsstoffe und/oder Trägerstoffe mit der Verbindung gemischt und die Mischung galenisch zur lokalen oder systemischen Gabe, insbesondere oral, parenteral, zur Infusion, zur Injektion hergerichtet sein. Die
15 Auswahl der Zusatz- und/oder Hilfsstoffe wird von der gewählten Darreichungsform abhängen. Die galenische Herrichtung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung erfolgt in fachüblicher Weise. Freie Carbonsäuregruppen können auch in Form ihrer Salze mit physiologisch verträglichen Gegenionen, wie z.B. Mg^{++} , Ca^{++} , Na^+ , K^+ , Li^+ oder Ammoniumderivaten, wie Cyclohexylammonium vorliegen.
20 Aminogruppenhaltige Verbindungen können auch in Form eines Ammoniumsalzes vorliegen, z.B. als Chlorid, Bromid, Mesylat, Tosylat, Oxalat, Orotat oder als Tartrat. Geeignete feste oder flüssige galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Dragees, Tabletten, Mikrokapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder Lösungen zur Injektion (i.v., i.p., i.m., s.c.)
25 oder Vernebelung (Aerosole), Zubereitungsformen zur Trockenpulverinhalation, transdermale Systeme sowie Präparate mit retardierter Wirkstofffreigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-,
30

Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler Verwendung finden. Als Hilfsstoffe seien beispielsweise Magnesiumkarbonat, Titandioxyd, Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Zellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche
5 Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuss- oder Sesamöl, Polyethylenglykole und Lösungsmittel wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole, beispielsweise Glycerin genannt.

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist dadurch herstellbar, dass mindestens eine erfindungsgemäß verwendete Substanz in definierter Dosis
10 mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und ggf. weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen mit definierter Dosis gemischt und zu der gewünschten Darreichungsform hergerichtet ist.

Als Verdünnungsmittel kommen Polyglykole, Ethanol, Wasser und Pufferlösungen in Frage. Geeignete Puffersubstanzen sind beispielsweise N,N-Dibenzylethylen-diamin,
15 Diethanolamin, Ethylendiamin, N-Methylglukamin, N-Benzylphenethylamin, Diethylamin, Phosphat, Natriumbikarbonat und Natriumkarbonat. Es kann aber auch ohne Verdünnungsmittel gearbeitet werden.

Vorzugsweise wird die pharmazeutische Zusammensetzung in Dosierungseinheiten herstellt und verabreicht, wobei jede Einheit als aktiven Bestandteil eine definierte
20 Dosis der erfindungsgemäßen Verbindung enthält.

Für die klinische Anwendung ist die Herstellung von Infusionslösungen eine weitere bevorzugte Ausführungsform.

Für die Behandlung eines Erwachsenen, 50 – 100 kg schweren, beispielsweise 70 kg schweren, Patienten sind beispielsweise Tagesdosen von 1 – 4.000 mg Wirkstoff,
25 vorzugsweise 5 – 2.000 mg, indiziert. Unter Umständen können jedoch auch höhere oder niedrigere Tagesdosen angebracht sein. Die Verabreichung der Tagesdosis kann sowohl durch Einmalgabe in Form einer einzelnen Dosierungseinheit oder aber mehrerer kleinerer Dosierungseinheiten als auch durch Mehrfachgabe unterteilter Dosen in bestimmten Intervallen erfolgen.

Ein Vorteil der vorliegenden Erfindung liegt darin, dass für das Arzneistofftarget mPGES-1 mit den Boswelliasäuren bzw. synthetischer Derivate Strukturen

identifiziert wurden, die zur Hemmung der Aktivität der mPGES-1 führen. Damit könnte nun selektiv die Synthese des PGE₂ gehemmt werden, ohne dabei, wie bislang mittels Inhibitoren der COX-1 und -2, auch die Synthese anderer (physiologisch wichtiger) PGs zu hemmen. Dies hat zur Folge, dass die Therapie PGE₂-vermittelter Erkrankungen mittels Boswelliasäuren bzw. synthetischer Derivate im Vergleich zu COX-1/2 Inhibitoren weniger Nebenwirkungen aufweist.

Ein weiterer Vorteil der vorliegenden Erfindung liegt darin, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen zusätzlich auch das Cathepsin G hemmen. Damit treten synergistische oder zumindest additive Effekte hinsichtlich der Therapie von entzündlich/degenerativen Erkrankungen und von Krebserkrankungen auf.

Ein weiterer Vorteil der Erfindung liegt darin, dass durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Einsatz bzw. die Dosis von Glukokortikoiden oder nicht-steroidalen Antiphlogistika (Cyclooxygenaseinhibitoren) reduziert und die Dauer der Einnahme verkürzt werden, die wegen ihrer unspezifischen Blockade der Synthese aller Prostaglandine (NSAIDs) bzw. genomischen Effekten (Glukokortikoiden) zu erheblichen Nebenwirkungen führen.

Die Erfindung kann genutzt werden, um alle Formen von Erkrankungen, die mit einer erhöhten Produktion von PGE₂ und/oder Cathepsin G Aktivität einhergehen, zu behandeln. Dabei handelt es sich primär um entzündliche Erkrankungen (u.a. rheumatoide Arthritis), fieberige und schmerzhaft Zustände, sowie Krebserkrankungen, bei denen PGE₂ eine Rolle spielt oder um Asthma, COPD, Emphyseme, Reperfusion Injury, und rheumatoide Arthritis bei denen Cathepsin G eine Rolle spielt. Der Begriff der Behandlung umfasst auch die Prophylaxe.

Weitere Vorteile, Merkmale und Anwendungsmöglichkeiten der Erfindung werden nachstehend anhand der Ausführungsbeispiele mit Bezug auf die Zeichnungen beschrieben. In den Zeichnungen zeigen:

Figur 1: Biosyntheseweg des PGE₂

Figur 2: Konzentrations-Wirkungs-Kurven von 11-Keto-Boswelliasäure (**A**) und β -Boswelliasäure (**B**) bezüglich mPGES-1-Aktivität in mikrosomalen Fraktionen von Interleukin-1-stimulierten A549 Zellen. (Mittelwerte + Standardfehler, n = 4-6)

Figur 3: Konzentrations-Wirkungs-Kurven von 3-O-Acetyl-11-Keto-Boswelliasäure (A) und 3-O-Acetyl- β -Boswelliasäure (B) bezüglich mPGES-1-Aktivität in mikrosomalen Fraktionen von Interleukin-1-stimulierten A549 Zellen. (Mittelwerte + Standardfehler, n = 4-6)

5 **Figur 4:** Konzentrations-Wirkungs-Kurven von 3-O-Oxaloyl- β -Boswelliasäure (A) und 3-O-Oxaloyl-11-Keto-Boswelliasäure (B) bezüglich mPGES-1-Aktivität in mikrosomalen Fraktionen von Interleukin-1-stimulierten A549 Zellen. (Mittelwerte + Standardfehler, n = 4)

10 **Figur 5:** Konzentrations-Wirkungs-Kurven von 3-O-Succinoyl- β -Boswelliasäure (A) und 3-O-Succinoyl-11-Keto-Boswelliasäure (B) bezüglich mPGES-1-Aktivität in mikrosomalen Fraktionen von Interleukin-1-stimulierten A549 Zellen. (Mittelwerte + Standardfehler, n = 4)

Figur 6: Hemmung der mPGES-1-vermittelten Synthese von PGE₂ (Prozentuale Aktivität gegenüber der Kontrolle mit DMSO als Solvent) in der mikrosomalen Fraktion von Interleukin-1-stimulierten A549 Zellen (Mittelwerte + Standardfehler, n = 15 2-3). 1 = DMSO; 2 = MK-886; 3 = 3-O-Glutaroyl-11-Keto- β -Boswelliasäure; 4 = 3-O-Carboxymethyl- β -Boswelliasäure; 5 = 11 α -Hydroxy- β -Boswelliasäure; 6 = 3-O-Glutaroyl- β -Boswelliasäure.

Figur 7: Hemmung der mPGES-1-vermittelten Synthese von PGE₂ in LPS-stimuliertem humanen Vollblut (Prozentuale Aktivität gegenüber der Kontrolle mit DMSO als Solvent; Mittelwert + Standardfehler, n = 3). 1 = Positivkontrolle (DMSO); 20 2 = 30 μ M MK-886; 3 = 20 μ M Indometacin; 4 = 10 μ M 3-O-Acetyl-11-Keto-Boswelliasäure; 5 = 10 μ M 11-Keto-Boswelliasäure; 6 = 10 μ M 3-O-Acetyl- β -Boswelliasäure; 7 = 10 μ M β -Boswelliasäure; 8 = 10 μ M 3-O-Oxaloyl- β -Boswelliasäure; 9 = 10 μ M 3-O-Oxaloyl-11-Keto- β -Boswelliasäure -. 25

Figur 8: Hemmung des Cathepsin G (Prozentuale Aktivität gegenüber der Kontrolle mit DMSO als Solvent; Mittelwerte + Standardfehler, n = 3-4). 1 = Positivkontrolle (DMSO); 2 = 3-O-Acetyl-11-Keto-Boswelliasäure; 3 = Keto-Boswelliasäure; 4 = β -Boswelliasäure; 5 = 3-O-Acetyl- β -Boswelliasäure; 6 = 3-O-Glutaroyl- β -Boswelliasäure; 7 = 3-O-Glutaroyl-11-Keto- β -Boswelliasäure; 8 = 3-O-Succinoyl- β -Boswelliasäure; 9 = 3-O-Carboxymethyl- β -Boswelliasäure; 10 = 3-O-Oxaloyl- β -Boswelliasäure; 11 = 3-O-Galloyl-11-Keto- β -Boswelliasäure; 12 = 11 α -Hydroxy- β - 30

Boswelliasäure; 13 = 11 β -Hydroxy- β -Boswelliasäure; 14 = Cis-Diol- β -Boswelliasäure; 15 = α -Boswelliasäure. Alle Substanzen wurden bei einer Konzentration von 10 μ M eingesetzt.

Figur 9: Hemmung der fMLP-induzierten Neutrophilenmigration durch Matrigel (Prozentuale Aktivität gegenüber der Kontrolle (fMLP und DMSO als Solvent); Mittelwerte + Standardfehler, n = 3-4). 1 = Negativkontrolle; 2 = DMSO; 3 = synthetischer Cathepsin G Inhibitor (JNJ-10311795); 4 = 3-O-Acetyl- β -Boswelliasäure; 5 = 3-O-Acetyl-11-Keto-Boswelliasäure.

10 Ausführungsbeispiele

Synthetische Darstellung der Boswelliasäurederivate

3-O-Oxaloyl- β -BA

150 mg β -BA (0,33 mmol) werden in 3,3 ml absolutem THF gelöst und langsam zu 288 μ l Oxalylchlorid (3,3 mmol) getropft. Man rührt 30 min. bei Raumtemperatur und gießt anschließend auf 50 ml Eiswasser. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 20 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen. Trocknung mit MgSO₄ und entfernen des Lösungsmittels im Vakuum liefert 140 mg (79%) reine Oxalyl- β -BA.

3-O-Oxaloyl- β -KBA

250 mg β -KBA (0,53 mmol) werden in 5,3 ml absolutem THF gelöst und langsam zu 463 μ l Oxalylchlorid (5,3 mmol) getropft. Man rührt 30 min. bei Raumtemperatur und gießt anschließend auf 50 ml Eiswasser. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 20 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen. Trocknung mit MgSO₄ und entfernen des Lösungsmittels im Vakuum liefert 263 mg (91 %) reine Oxalyl- β -KBA.

3-O-Succinoyl- β -BA

100 mg β -BA (0,22 mmol) werden in 2,2 ml absolutem Pyridin gelöst. Man gibt 220 mg Bernsteinsäureanhydrid (2,2 mmol) und 32,6 mg 4-Pyrrolidinopyridin (0,22 mmol) zu und erhitzt 7 Stunden am Rückfluss. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit

20 ml Diethylether und wäscht dreimal mit je 10 ml 1N HCl. Die organische Phase wird mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der bräunliche Rückstand an Kieselgel chromatografiert (Pentan/Diethylether 2:1 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 87 mg (73%).

3-O-Succinoyl- β -KBA

100 mg β -KBA (0,21 mmol) werden in 2,1 ml absolutem Pyridin gelöst. Man gibt 210 mg Bernsteinsäureanhydrid (2,1 mmol) und 31,1 mg 4-Pyrrolidinopyridin (0,21 mmol) zu und erhitzt 7 Stunden am Rückfluss. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit 20 ml Diethylether und wäscht dreimal mit je 10 ml 1N HCl. Die organische Phase wird mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der bräunliche Rückstand an Kieselgel chromatografiert (Pentan/Diethylether 2:1 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 88 mg (71%).

3-O-Glutaroyl- β -BA

742 mg β -BA (1,6 mmol) werden in 16 ml absolutem Pyridin gelöst. Man gibt 1,83 g Glutarsäureanhydrid (16 mmol) zu und 237 mg 4-Pyrrolidinopyridin (1,6 mmol) und kocht 7 Stunden lang am Rückfluss. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionsmischung mit 150 ml Diethylether verdünnt und dreimal mit je 100 ml 1N HCl gewaschen. Die organische Phase wird mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und mit MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird an Kieselgel chromatographiert (Pentan/Diethylether 2:1 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 694 mg (75%).

3-O-Glutaroyl- β -KBA

607 mg β -KBA (1,3 mmol) werden in 13 ml absolutem Pyridin gelöst. Man gibt 1,49 g Glutarsäureanhydrid (13 mmol) zu und 193 mg 4-Pyrrolidinopyridin (1,3 mmol) und kocht 7 Stunden lang am Rückfluss. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionsmischung mit 150 ml Diethylether verdünnt und dreimal mit je 100 ml 1N HCl gewaschen. Die organische Phase wird mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und mit MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels

im Vakuum wird an Kieselgel chromatographiert (Pentan/Diethylether 2:1 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 570 mg (75%).

3-O-Carboxymethyl- β -BA

256 mg 60%ige NaH-Dispersion in Paraffinöl (entsprechend 6,4 mmol NaH) werden mit 3 ml absolutem THF gewaschen und anschließend mit 3 ml absolutem THF dispergiert. Unter heftigem Rühren tropft man dazu eine Lösung von 300 mg β -BA (0,66 mmol) in 2 ml THF und tropft anschließend eine Lösung von 242 mg Chloressigsäure (2,56 mmol) in 1,6 ml THF zu. Danach wird über Nacht am Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wird vorsichtig mit 1N HCl bis zu einem pH-Wert von 2-3 angesäuert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 30 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und mit $MgSO_4$ getrocknet. Nach entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird an Kieselgel chromatographiert (Dichlormethan/Methanol 15:1 v/v). Ausbeute 119 mg (35%).

15 3-O-Carboxymethyl- β -KBA

256 mg 60%ige NaH-Dispersion in Paraffinöl (entsprechend 6,4 mmol NaH) werden mit 3 ml absolutem THF gewaschen und anschließend mit 3 ml absolutem THF dispergiert. Unter heftigem Rühren tropft man dazu eine Lösung von 300 mg β -KBA (0,64 mmol) in 2 ml THF und tropft anschließend eine Lösung von 242 mg Chloressigsäure (2,56 mmol) in 1,6 ml THF zu. Danach wird über Nacht am Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wird vorsichtig mit 1N HCl bis zu einem pH-Wert von 2-3 angesäuert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 30 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und mit $MgSO_4$ getrocknet. Nach entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird an Kieselgel chromatographiert (Dichlormethan/Methanol 15:1 v/v). Ausbeute 206 mg (49%).

2 α -Hydroxy- β -BA (Diol)

1,01 g β -BA (2,22 mmol) werden in 14 ml absolutem Pyridin auf $-18^\circ C$ (Eis/Kochsalz) gelöst. Unter heftigem Rühren werden langsam 740 μl Trifluormethansulfonsäureanhydrid (4,44 mmol) zugetropft. Man rührt weitere 45 min. bei dieser Temperatur und tropft danach noch mal 740 μl

Trifluormethansulfonsäureanhydrid zu. Man lässt über Nacht auftauen, versetzt die braune Reaktionsmischung mit 100 ml Diethylether und säuert mit 1 N HCl bis zu einem pH-Wert von 2-3 an. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase wird mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung neutral gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand wird in 23 ml Dioxan aufgenommen und mit 2,26 ml 5 N NaOH (11,3 mmol) versetzt und 90 min. lang zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen säuert man mit 1 N HCl an (pH 2-3) und extrahiert dreimal mit je 50 ml Diethylether. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung neutral gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet und im Vakuum einrotiert. Der erhaltene bräunlich-gelbe Rückstand wird an Kieselgel chromatographisch gereinigt (Pentan/Diethylether 10 : 1 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 538 mg (55%) an 2,3-Dehydro- β -BA.

100 mg 2,3-Dehydro- β -BA (0,23 mmol) werden zusammen mit 318 mg K_2CO_3 in 7 ml einer Mischung aus tBuOH und Wasser (1:1 v/v) gelöst. Man gibt 25,8 mg DABCO (0,23 mmol) und 757 mg $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (2,3 mmol) zu und versetzt die erhaltene gelbe Lösung mit 72 μl einer 4%igen OsO_4 -Lösung in Wasser (12 μmol). Man erwärmt über Nacht auf 40 °C. Nach dem Abkühlen gibt man 697 mg festes Na_2SO_3 (5,75 mmol) zu und rührt 90 min bei RT. Man versetzt mit 1 N HCl bis pH 5 und schüttelt dreimal mit je 20 ml Diethylether aus. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit MgSO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird durch Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Pentan/Diethylether 1 : 2 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 77,5 mg (70%) an 2 α -Hydroxy- β -BA.

2 α -Hydroxy- β -KBA (Diol)

750 mg β -KBA (1,60 mmol) werden in 10 ml absolutem Pyridin auf -18 °C (Eis/Kochsalz) gelöst. Unter heftigem Rühren werden langsam 532 μl Trifluormethansulfonsäureanhydrid (3,20 mmol) zugetropft. Man rührt weitere 45 min. bei dieser Temperatur und tropft danach noch mal 532 μl Trifluormethansulfonsäureanhydrid zu. Man lässt über Nacht auftauen, versetzt die braune Reaktionsmischung mit 100 ml Diethylether und säuert mit 1 N HCl bis zu einem pH-Wert von 2-3 an. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige

Phase wird mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung neutral gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand wird in 16 ml Dioxan aufgenommen und mit 1,65 ml 5 N NaOH (8,1 mmol) versetzt und 90 min. lang zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen säuert man mit 1 N HCl an (pH 2-3) und extrahiert dreimal mit je 50 ml Diethylether. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung neutral gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet und im Vakuum einrotiert. Der erhaltene bräunlich-gelbe Rückstand wird an Kieselgel chromatographisch gereinigt (Pentan/Diethylether 4 : 1 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 446 mg (62%) an 2,3-Dehydro- β -KBA.

150 mg 2,3-Dehydro- β -KBA (0,33 mmol) werden zusammen mit 458 mg K_2CO_3 in 10,0 ml einer Mischung aus tBuOH und Wasser (1:1 v/v) gelöst. Man gibt 37,2 mg DABCO (0,33 mmol) und 1,09 g $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (3,3 mmol) zu und versetzt die erhaltene gelbe Lösung mit 104 μl einer 4%igen OsO_4 -Lösung in Wasser (17 μmol). Man erwärmt über Nacht auf 40 °C. Nach dem Abkühlen gibt man 1,0 g festes Na_2SO_3 (8,3 mmol) zu und rührt 90 min bei RT. Man versetzt mit 1 N HCl bis pH 5 und schüttelt dreimal mit je 20 ml Diethylether aus. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit MgSO_4 getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird durch Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Pentan/Diethylether 1 : 5 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 151,0 mg (91%) an 2 α -Hydroxy- β -KBA.

11 α -Hydroxy- β -BA und 11 β -Hydroxy- β -BA (Allylalkohole)

121 mg NaBH_4 (3,2 mmol) werden in 3,5 ml absolutem Diglyme gelöst. Man gibt 278 mg LiBr (3,2 mmol) zu und rührt 30 min bei RT und gibt dann 300 mg β -KBA (0,64 mmol) und erhitzt 1 h zu Sieden. Nach dem Abkühlen wird mit 5 ml Eiswasser verdünnt, man gibt 10 ml Diethylether zu und säuert mit 1 N HCl bis pH 4 an. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase noch zweimal mit je 20 ml Diethylether. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung neutral gewaschen und mit MgSO_4 getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel im Vakuum (Wasserbad des Rotationsverdampfers max.

25 °C), wobei nicht ganz zur Trockene eingengt wird, um eine Eliminierung der 11-OH-Gruppe zum Dien zu vermeiden! Das erhaltene Rohprodukt wird durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Pentan/Diethylether 1 : 1 + 0,1% Essigsäure).

- 5 Ausbeute: 83,1 mg 11 α -Hydroxy- β -BA und 141 mg 11 β -Hydroxy- β -BA (insges. 73%).

3-O-Galloyl- β -BA

- 10 Zu einer Suspension aus 980 mg Gallulssäuretribenzylether (2,22 mmol) in 15 ml absolutem Dichlormethan und 15 μ l absolutem DMF werden 250 μ l Oxalylchlorid (2,5 mmol) getropft. Man rührt 2 h bei RT und entfernt danach das Lösungsmittel im Vakuum und trocknet das erhaltene Säurechlorid noch 1 h im Vakuum. Anschließend gibt man 55 mg DMAP (0,45 mmol) zu und tropft eine Lösung von 205 mg β -BA (0,45 mmol) in 9 ml absolutem Pyridin zu. Man rührt 2 Tage bei RT, gibt dann 0,3 ml Wasser zu und rührt nochmals 2 h bei RT. Man versetzt mit 150 ml 1 N HCl und
- 15 extrahiert die Mischung dreimal mit je 70 ml Dichlormethan. Die vereinigten Extrakte werden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird mittels Flashchromatographie gereinigt (Pentan/Diethylether 4: 1 + 1% Essigsäure). Ausbeute: 184 mg (47%) 3-O-(Tri-O-benzylgalloyl)- β -BA

20

- 128 mg 3-O-(Tri-O-benzylgalloyl)- β -BA (0,15 mmol) werden in 6 ml THF gelöst. Nach Zugabe von 30 mg Pd/C (10%ig) wird 3 h bei Atmosphärendruck hydriert. Man filtriert über Celite und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer im Vakuum. Reinigung durch Flashchromatographie an Kieselgel (Pentan/Diethylether 1 : 1 v/v +
- 25 1% Essigsäure). Ausbeute: 81,1 mg 3-O-Galloyl- β -BA (87%).

3-O-Galloyl- β -KBA

- Zu einer Suspension aus 1,394 g Gallulssäuretribenzylether (3,16 mmol) in 21 ml absolutem Dichlormethan und 21 μ l absolutem DMF werden 356 μ l Oxalylchlorid
- 30 (3,56 mmol) getropft. Man rührt 2 h bei RT und entfernt danach das Lösungsmittel im

Vakuum und trocknet das erhaltene Säurechlorid noch 1 h im Vakuum. Anschließend gibt man 78 mg DMAP (0,64 mmol) zu und tropft eine Lösung von 300 mg β -BA (0,64 mmol) in 12,8 ml absolutem Pyridin zu. Man rührt 2 Tage bei RT, gibt dann 0,5 ml Wasser zu und rührt nochmals 2 h bei RT. Man versetzt mit 200 ml 1 N HCl und extrahiert die Mischung dreimal mit je 70 ml Dichlormethan. Die vereinigten Extrakte werden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird mittels Flashchromatographie gereinigt (Pentan/Diethylether 4 : 1 + 1% Essigsäure). Ausbeute: 426 mg (75%) 3-O-(Tri-O-benzylgalloyl)- β -KBA

120 mg 3-O-(Tri-O-benzylgalloyl)- β -KBA (0,13 mmol) werden in 6 ml THF gelöst. Nach Zugabe von 30 mg Pd/C (10%ig) wird 3 h bei Atmosphärendruck hydriert. Man filtriert über Celite und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer im Vakuum. Reinigung durch Flashchromatographie an Kieselgel (Pentan/Diethylether 1 : 1 v/v + 1% Essigsäure). Ausbeute: 66,2 mg 3-O-Galloyl- β -KBA (85%).

Einfluss von Boswelliasäuren und synthetischer Derivate auf die Aktivität der mPGES-1 in mikrosomaler Fraktion von A549 Zellen

A549 Zellen wurden mit Interleukin-1 (1 ng/ml) für 72 Stunden inkubiert. Nach Ernte und Zellzahlbestimmung wurden die pelletierten Zellen auf Trockeneis/Ethanol schockgefroren, durch Zugabe von 1 ml Homogenisierungspuffer (4 °C) wieder aufgetaut und mittels Ultraschall homogenisiert. Nach Zentrifugation 10.000g für 10 min bei 4 °C wurde der erhaltene Überstand bei 174.000 g und 4 °C für 1 h Stunde zentrifugiert um Mitochondrien zu gewinnen. Das Pellet (Mitochondrien) wurde im Homogenisierungspuffer gelöst und mit den Testsubstanzen (Boswelliasäuren bzw. DMSO) für 10 min bei 4°C in 96-well Platten vorinkubiert. Dann wurde PGH2 als Substrat zugegeben und die Reaktion nach 1 min bei 4 °C mittels Stopplösung (enthält u.a. Fe^{2+} , Citronensäure und 11- β -PGE₂ als Standard) beendet. Nach Festphasenextraktion (RP-18-Säulen und Aceton als Elutionsmittel) wurde die Probe mittels HPLC (RP-18, UV-Detektion bei 190 nm) analysiert.

Es zeigt sich, dass die Vorinkubation der mikrosomalen Fraktion von Interleukin-1-stimulierten A549 Zellen zu einer potenten Hemmung der mGPES-1 Aktivität führt, indem die natürlichen vorkommenden BAs (AKBA, KBA, β -BA oder A β -BA) und synthetische Derivate (Oxaloyl-BA, Oxaloyl-KBA, Succinoyl-BA, Succinoyl-KBA, Glutaroyl-BA, Galloyl-KBA und Carboxymethyl-BA) die PGE₂-Synthese aus PGH₂ mit IC₅₀ Werten zwischen ca. 0.03 und 20 μ M konzentrationsabhängig hemmen (Tabelle 2, Fig. 2-5). Die potenteste Verbindung ist dabei die Oxaloyl-BA.

Einfluss von Boswelliasäuren auf die Aktivität der mPGES-1 im humanen Vollblut

Venös entnommenes humanes peripheres Blut gesunder, erwachsener Spender, die 14 Tage vor Blutabnahme keine Medikamente zu sich nahmen, wurde in Heparinröhrchen (20 U/ml) gesammelt. Aliquote (0.8 ml) wurden mit Probenpuffer (10 mM Kaliumphosphat Puffer pH 7.4, 3 mM KCl, 140 mM NaCl und 6 mM D-Glucose) auf 1 ml gefüllt. Nach Vorbehandlung mit den Testsubstanzen (Boswelliasäuren und deren synthetische Derivate, Indometacin, MK-886 oder DMSO als Negativkontrolle) bei RT für 5 min, wurden die Proben mit LPS (10 μ g/ml) für 5 hrs bei 37°C inkubiert. Die dabei stattfindende PGE₂ Bildung wurde abgestoppt (Eiskühlung), die Proben wurden zentrifugiert (2300×g, 10 min, 4°C) und zum Überstand wurde Citronensäure (30 μ l, 2 M) gegeben. Nach weiterer Zentrifugation (2300×g, 10 min, 4°C), erfolgte die Festphasenextraktion und HPLC Analyse des PGE₂. Der PGE₂ Peak (3 ml), wurde durch die Koelution mit authentischem externen Standard festgelegt, das Eluat wurde gesammelt und Acetonitril unter einem Stickstoffstrom entfernt. Der pH wurde durch Zugabe von 10 × PBS buffer pH 7.2 (230 μ l) auf 7.2 gestellt bevor der PGE₂ Gehalt mittels PGE₂ High Sensitivity EIA Kit (Assay Designs, Michigan, MI) nach Angaben des Herstellers bestimmt wurde.

Auch im Vollblut ist eine deutliche Hemmung der PGE₂ Bildung durch natürlich vorkommende BAs (KBA, β -BA oder A β -BA) und durch synthetische Derivate (Oxaloyl-BA, Oxaloyl-KBA) erkennbar (Fig. 7). β -BA und Oxaloyl-KBA sind hierbei die potentesten Verbindungen und hemmen bei einer Konz. von 10 μ M zu fast 50%.

Höhere Konz. (100 μ M) an BAs oder synthetischer Derivate führen zu keiner nennenswerten Steigerung der Hemmung. Für die 50%-ige Hemmung der PGE₂ Synthese durch MK-886 sind mehr als 30 μ M Substanz notwendig sind und der COX Inhibitor Indometacin hemmt bereits bei einer Konz. von 20 μ M zu fast 50%, das heißt, 10 μ M β -BA oder auch Oxaloyl-KBA führen nahezu zur gleichen Hemmung wie 20 μ M Indometacin und sind zusammenfassend potenter als MK-886.

Einfluss von Boswelliasäuren und synthetischer Derivate auf die Aktivität des humanen Cathepsin G

Zur Analyse von rohem Cathepsin G wurde das Enzym frisch aus menschlichen Neutrophilen präpariert. Dazu wurden $2,5 \times 10^7$ Neutrophile/ml mit 10 μ M Cytochalasin B und 2,5 μ M fMLP für 5 min bei 37°C stimuliert. Nach Zentrifugation bei 1200×g für 5 min bei 4°C wurde der resultierende Überstand (enthält ca. 10 μ g Cathepsin G/ml) sofort für die Cathepsin G-Aktivitätsbestimmung verwendet. Für die Analyse von vollständig gereinigtem Cathepsin G, wurde das Enzym aus menschlichen Neutrophilen aufgereinigt (Elastin-Sepharose, und schwacher Kationenaustauscher). Das Testsystem setzt sich aus Cathepsin G (20 μ l Überstand mit ca. 0.2 μ g Cathepsin G) oder alternativ 0.2 μ g gereinigtes Enzym, jeweils in 200 μ l HEPES 0.1 M, NaCl 0.5 M, pH 7.4, 10 % DMSO verdünnt. Als Substrat für Cathepsin G wird das N-Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA (Suc-AAPF-pNA) (1 mM) verwendet. Die Absorption, verursacht durch freies p-Nitrophenol, wurde bei 410 nm und 25°C gemessen.

Die Untersuchungen zeigen, dass die natürlich vorkommenden BAs (AKBA, KBA, β -BA oder A β -BA) und synthetische Derivate (Oxaloyl-BA, Oxaloyl-KBA, Succinoyl-BA, Succinoyl-KBA, Glutaroyl-BA, Galloyl-KBA und Carboxymethyl-BA) bei einer Konz von 10 μ M die Cathepsin G-Aktivität effektiv hemmen (Tabelle 2, Fig. 8).

Chemotaxis- und Migrations-Assay

Die Migration von Neutrophilen entlang eines chemotaktischen Gradienten durch Matrigel wurde mit Ausnahme kleiner Änderungen gemäß der Vorschrift von Steadman et al. [14] durchgeführt. Dazu wurden frisch isolierte Neutrophile (2×10^6) in 1 ml HEPES-gepuffertem RPMI 1640 Medium mit 10 % (vol/vol) fötalem Kälberserum mit den Testverbindungen vorinkubiert. 150 µl der Zellsuspension wurden in das obere Kompartiment einer Boydenkammer (5 µm pore-size filters) im 24-well Format gegeben. Das untere Kompartiment enthält entweder Puffer (Negativkontrolle) oder chemotaktisch wirkendes fMLP (0.1 µM). Die Migration der Neutrophilen (die durch Proteolyse des Matrigels mittels freigesetztem Cathepsin G vermittelt wird) durch Matrigel überzogene Porenfilter wurde nach 40 Minuten gestoppt. Zellen im unteren Kompartiment wurden durch 3,7% Formaldehyd fixiert, mit Gramsviolet angefärbt, gewaschen und der Farbstoff in Essigsäure gelöst. Die Absorption des eluierten Farbstoffs wurde bei 570 nm/620 nm vermessen.

Es zeigt sich, dass fMLP die Migration der Neutrophilen gegenüber Lösungsmittel-behandelten Zellen um Faktor 4,1 erhöht. Vorinkubation der Neutrophilen mit einem synthetischen Cathepsin G Inhibitor (0.5 µM) und auch durch Aβ-BA oder AKβ-BA (jeweils 10 µM) supprimiert die Migration der Neutrophilen (Fig. 9)

Behandlung der Multiplen Sklerose (MS)

1. In-vitro-Studien der Boswelliasäure-derivate der Formel I können mit den in der Literatur (z.B. Aktas et al., J. Neuroimmunol. 2007 Mar; 184 (1-2): 17-26) dargestellten Methoden sowie der dort zitierten Methoden durchgeführt werden. Die Versuche belegen deutlich die Induktion von Apoptose bei Lymphozyten.

2. Ein anerkanntes Tiermodell für MS ist die experimentelle allergische Enzephalomyelitis (EAE) in DBA/1 Mäusen.

EAE-Mäuse enthalten über vier Wochen ein Boswelliasäurederivat (3 x 0,08 mg Oxaloyl-β-BA pro Tag), wobei die Hälfte der Mäuse Plazebo erhält. Individuell werden die Symptome der EAE bewertet (keine Symptome, Lähmung des Schwanzes, Lähmungserscheinungen der Hinterläufe, Lähmungserscheinungen der Hinter- und Vorderläufe, Tod). Ergebnis: Die mit dem Boswelliasäurederivat

behandelten Mäuse zeigen deutlich weniger Symptome der MS als die Mäuse, die Plazebo erhalten haben. Analoge Befunde ergeben sich durch Gabe von, Oxaloyl-11-Keto- β -BA, Succinoyl- β -BA, Succinoyl-11-Keto- β -BA, Glutaroyl- β -BA, Glutaroyl-11-Keto- β -BA, Galloyl- β -BA, Galloyl-11-Keto- β -BA, 11 α -Hydroxy- β -BA, 11 β -Hydroxy- β -BA oder Cis-Diol- β -BA.

3. MS-Patienten erhalten über 52 Wochen ein Boswelliasäurederivat (3 x 2 Kapseln Oxaloyl- β -BA à 350 mg pro Tag), wobei die Hälfte der Patienten Plazebo erhält. Nach 52 Wochen zeigen diejenigen Patienten, die das Boswelliasäurederivat erhalten haben, ein deutlich besseres klinisches Bild als die Patienten, die Plazebo erhalten hatten. Der Befund wird durch Magnetresonanztomografie bestätigt.

Literatur

[1] Smith WL. The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. Biochem J 1989;259:315-24.

[2] Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. Science 2001;294:1871-5.

[3] Rainsford KD. Anti-inflammatory drugs in the 21st century. Subcell Biochem 2007;42:3-27.

[4] Samuelsson B, Morgenstern R, Jakobsson PJ. Membrane prostaglandin E synthase-1: a novel therapeutic target. Pharmacol Rev 2007;59:207-24.

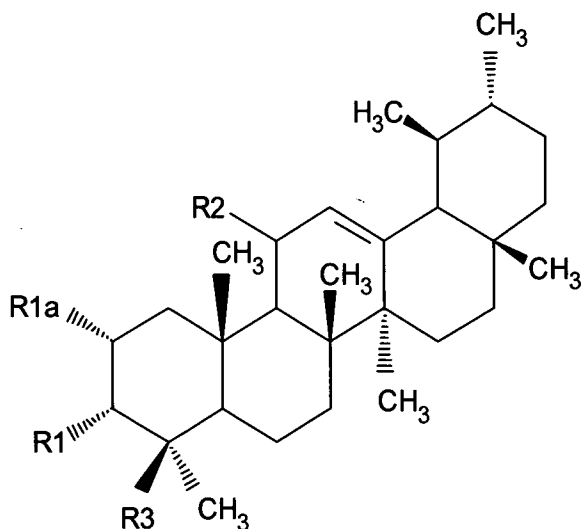
[5] Jachak SM. PGE synthase inhibitors as an alternative to COX-2 inhibitors. Curr Opin Investig Drugs 2007;8:411-5.

[6] Levicar N, Strojnik T, Kos J, Dewey RA, Pilkington GJ, Lah TT. Lysosomal enzymes, cathepsins in brain tumour invasion. J Neurooncol 2002;58:21-32.

[7] Pham CT. Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. Nat Rev Immunol 2006;6:541-50.

[8] Capodici C, Berg RA. Cathepsin G degrades denatured collagen. Inflammation 1989;13:137-45.

- [9] Heck LW, Blackburn WD, Irwin MH, Abrahamson DR. Degradation of basement membrane laminin by human neutrophil elastase and cathepsin G. *Am J Pathol* 1990;136:1267-74.
- [10] Sambrano GR, Huang W, Faruqi T, Mahrus S, Craik C, Coughlin SR.
5 Cathepsin G activates protease-activated receptor-4 in human platelets. *J Biol Chem* 2000;275:6819-23.
- [11] Sun R, Iribarren P, Zhang N, Zhou Y, Gong W, Cho EH, et al. Identification of neutrophil granule protein cathepsin G as a novel chemotactic agonist for the G protein-coupled formyl peptide receptor. *J Immunol* 2004;173:428-36.
- 10 [12] Maryanoff BE. Inhibitors of serine proteases as potential therapeutic agents: the road from thrombin to tryptase to cathepsin G. *J Med Chem* 2004;47:769-87.
- [13] Jauch J, Bergmann J. An efficient method for the large-scale preparation of 3-O-acetyl-11-oxo-beta-boswellic acid and other boswellic acids. *Eur J Org Chem* 2003:4752-6.
- 15 [14] Steadman R, St John PL, Evans RA, Thomas GJ, Davies M, Heck LW, et al. Human neutrophils do not degrade major basement membrane components during chemotactic migration. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:993-1004.

Patentansprüche**1) Verbindungen (Boswelliasäure-derivate) der Formel I:**

(I)

wobei R1 für einen polaren oder anionischen Substituenten, insbesondere eine Hydroxygruppe oder ein lineares oder verzweigtes Hydroxyalkyl, lineares oder verzweigtes Carboxyalkyl, Hydroxyaryl, Carboxyaryl, Hydroxyheteroaryl, Carboxyheteroaryl, Hydroxyalkylaryl, Carboxyalkylaryl, Hydroxyalkylheteroaryl oder Carboxyalkylheteroaryl steht, das über ein Stickstoff-, Sauerstoff- oder Kohlenstoffatom an das Restmolekül geknüpft ist, wobei das Hydroxyaryl, Carboxyaryl, Hydroxyheteroaryl, Carboxyheteroaryl, Hydroxyalkylaryl, Carboxyalkylaryl, Hydroxyalkylheteroaryl oder Carboxyalkylheteroaryl mit einem weiteren Ringsystem kondensiert sein kann, und ein oder mehrere H-Atome substituiert sein können durch eine oder mehrere Gruppen aus der Substanzklasse Halogen, O, N, S, OH, NH₂, NO₂, SH, (C₁₋₁₀)Alkyl, (C₂₋₁₀)Alkenyl, (C₂₋₁₀)Alkynyl, OCF₃, (C₁₋₁₀)Alkoxy, (C₁₋₁₀)Alkylamin, (C₁₋₁₀)Alkylthio, (C₁₋₁₀)Alkylsilyl, (C₃₋₁₀)Cycloalkyl, (C₃₋₁₀)Cycloalkenyl, (C₃₋₁₀)Cycloheteroalkyl, (C₃₋₁₀)Cycloheteroalkenyl, COOH, oder das korrespondierende Säureadditionssalz dieser Verbindung, oder R1 für Phosphat oder Sulfat, verknüpft mit substituiertem oder unsubstituiertem Aryl, Heteroaryl, Alkylaryl oder Alkylheteroaryl,

R1a für ein Wasserstoffatom oder einen Rest R1 steht,

R2 für zwei Wasserstoffatome, für ein Wasserstoffatom und eine Hydroxylgruppe oder ein Sauerstoffatom stehen ,

5 R3 für eine Carboxylgruppe, ein Carbonsäuresalz mit einem physiologisch unbedenklichem Gegenion, ein C₁-C₅-Carbonsäureester oder ein C₁-C₅-Carbonsäureamid sein.

10 2) Verbindungen gemäß Anspruch 1, worin R1 für Formyl (-CO-H), Oxalyl (-CO-COOH), Succinyl (-CO-(CH₂)₂-COOH), Glutaroyl (-CO-(CH₂)₃-COOH), -CH₂-COOH, -CH₂-CONH-CH₃, Galloyl (-O-CO-C₆H₂(OH)₃) oder -O-CH₂-COOH steht.

3) Verbindungen gemäß Anspruch 1, worin R1a für eine Hydroxygruppe steht.

4) Verbindungen gemäß Anspruch 1, worin R2 für ein Sauerstoffatom steht.

15 5) Verbindungen gemäß Anspruch 1, mit einer der folgenden Substituentenkombinationen:

	R1 = O(CH ₂) ₃ COOH	R1a=H,	R2=H,H	R3=-COOH
	R1 =O(CH ₂) ₃ COOH	R1a=H,	R2=O	R3=-COOH
	R1 = O(CH ₂) ₂ COOH	R1a=H,	R2=H,H	R3=-COOH
	R1 =O(CH ₂) ₂ COOH	R1a=H,	R2=O	R3=-COOH
20	R1 =OCH ₂ COOH	R1a=H,	R2=H,H	R3=-COOH
	R1 =OCH ₂ COOH	R1a=H,	R2=O	R3=-COOH
	R1 =OCOCOOH	R1a=H,	R2=H,H	R3=-COOH
	R1 =OCOCOOH	R1a=H,	R2=O	R3=-COOH
	R1 =OCOC ₆ H ₂ (OH) ₃	R1a=H,	R2=H,H	R3=-COOH
25	R1 =OH,	R1a=H,	R2=H, -OH(α)	R3=-COOH
	R1 =OH,	R1a=H,	R2=H, -OH(β)	R3=-COOH
	oder			
	R1 =OH,	R1a=OH,	R2=H,H	R3=-COOH.

30 6) Verwendung von Zubereitungen enthaltend eine natürlich vorkommende Boswelliasäure oder ein synthetisches Derivat hiervon zur Hemmung der

PGE₂ Synthese, insbesondere zur Hemmung der mPGES-1, und / oder des Cathepsin G.

- 5 7) Verwendung von Zubereitungen enthaltend mindestens eine Verbindung der Formel I nach Anspruch 1 zur Hemmung der PGE₂ Synthese, insbesondere zur Hemmung der mPGES-1, und / oder des Cathepsin G.
- 8) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Boswelliasäuren aus Boswellia-Arten gewonnen wurden und gegebenenfalls chemisch modifiziert wurden. .
- 10 9) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche 6-8 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Hemmung der PGE₂ Synthese, insbesondere zur Hemmung der mPGES-1, und / oder des Cathepsin G.
- 10) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche 6-9, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel ferner ein pharmazeutisches Trägermaterial enthält.
- 15 11) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche 6-10 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von PGE₂-vermittelten Erkrankungen und / oder krankhaften Zuständen.
- 20 12) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche 6-10 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Cathepsin G-vermittelten Erkrankungen und / oder krankhaften Zuständen.
- 13) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche 6-10 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von PGE₂- und Cathepsin G-vermittelter Erkrankungen und / oder krankhaften Zuständen.
- 25 14) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche 11-13, dadurch gekennzeichnet, dass die PGE₂-vermittelten Erkrankungen und / oder krankhafte Zustände entzündliche Erkrankungen, z.B. rheumatoide Arthritis, entzündliche Darmerkrankungen, Asthma, fiebrige und schmerzhafte Zustände, sowie Krebserkrankungen sind.

15) Verwendung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Cathepsin G-vermittelten Erkrankungen und / oder krankhafte Zustände Asthma, COPD, Emphyseme, Reperfusion Injury, und rheumatoide Arthritis sind.

5 16) Verwendung nach einem der vorgehenden Ansprüche 6-15, dadurch gekennzeichnet, dass die Plasmakonzentrationen von Boswelliasäuren bzw. synthetischer Derivate nach der Applikation etwa 0,1 - 15 μM , insbesondere 1 - 10 μM beträgt.

10 17) Verwendung von mindestens einer Verbindung gemäß Anspruch 1 oder Anspruch 5 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Multipler Sklerose.

Fig. 1/9

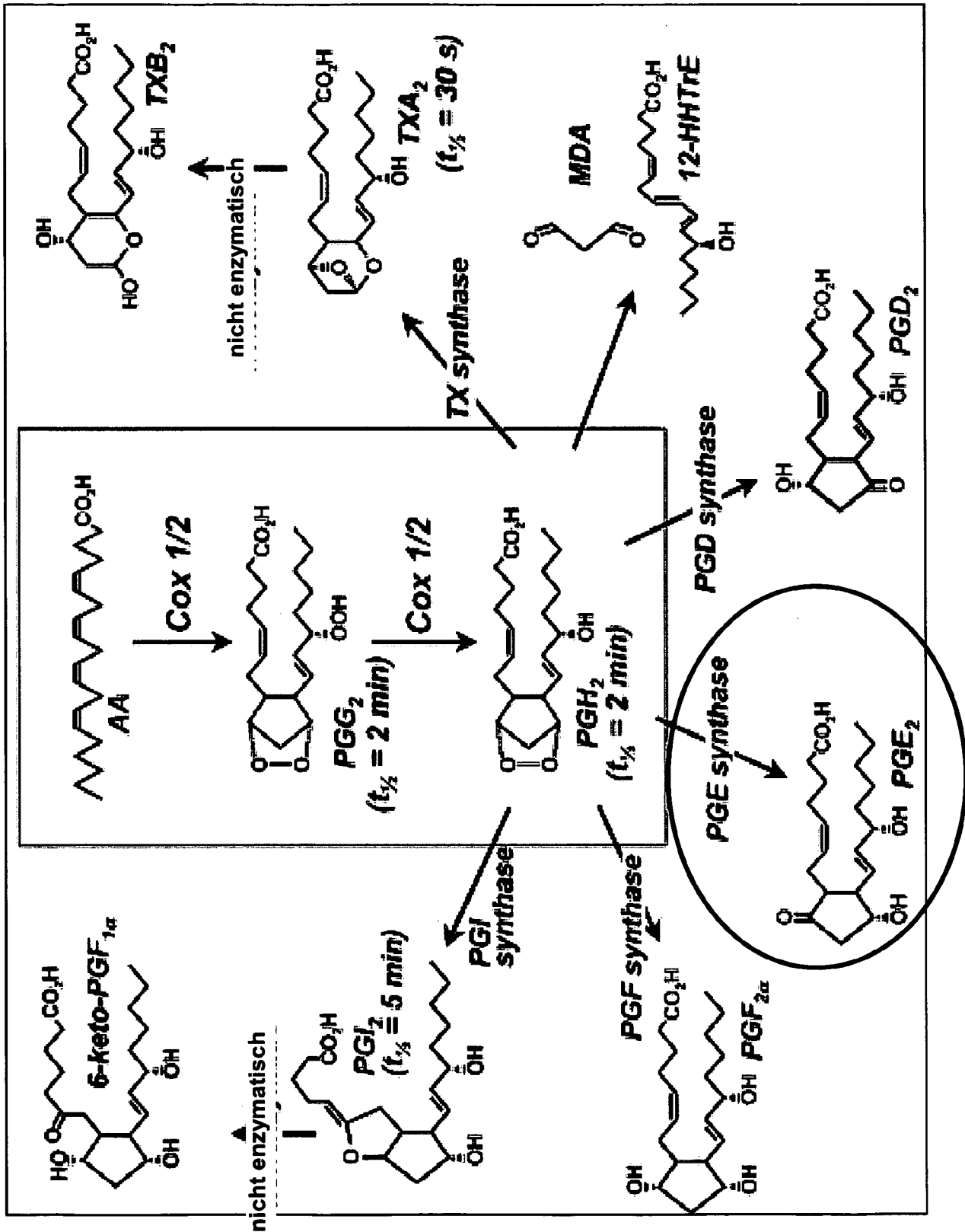


Fig. 2/9

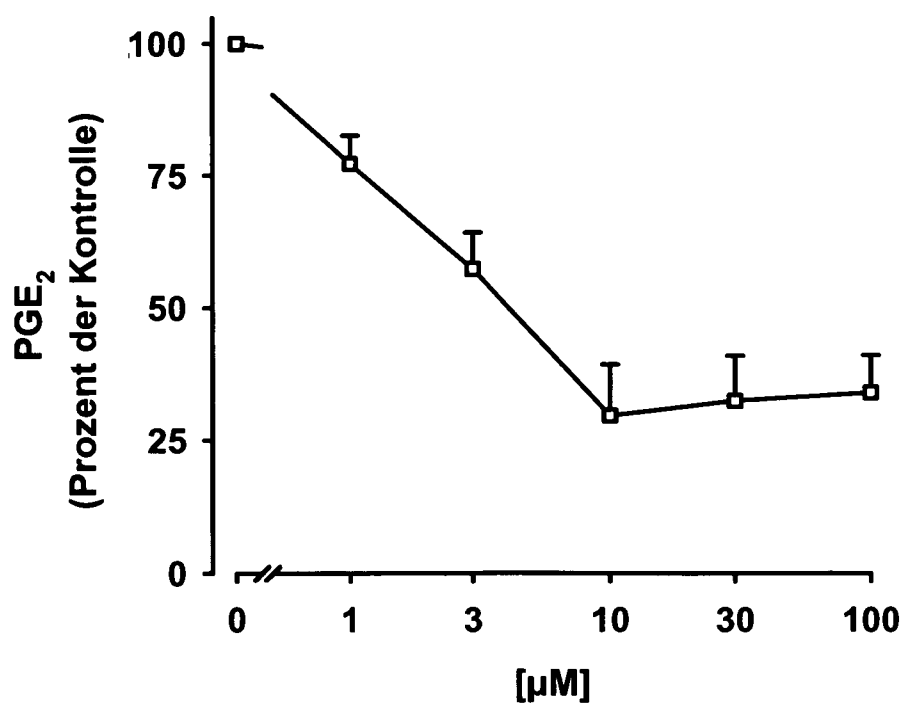
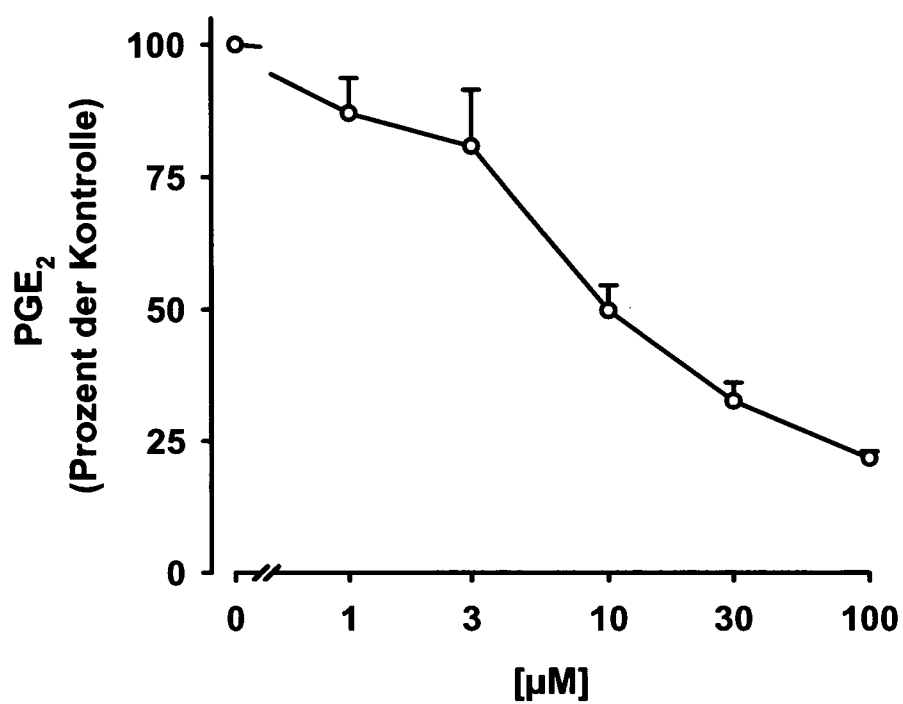


Fig. 3/9

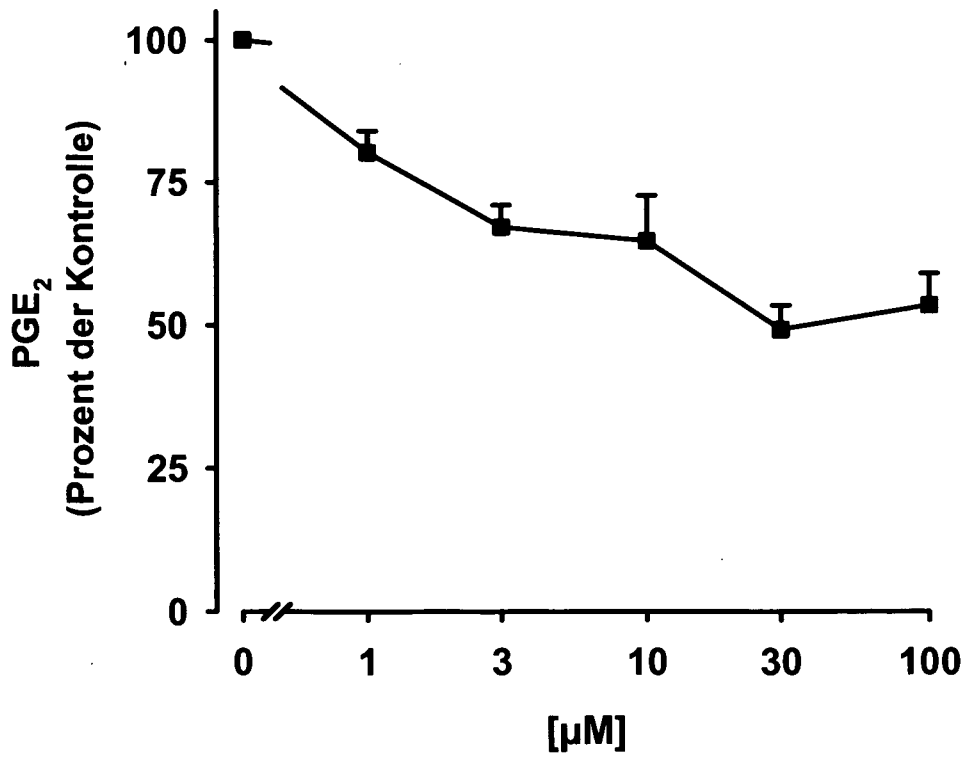
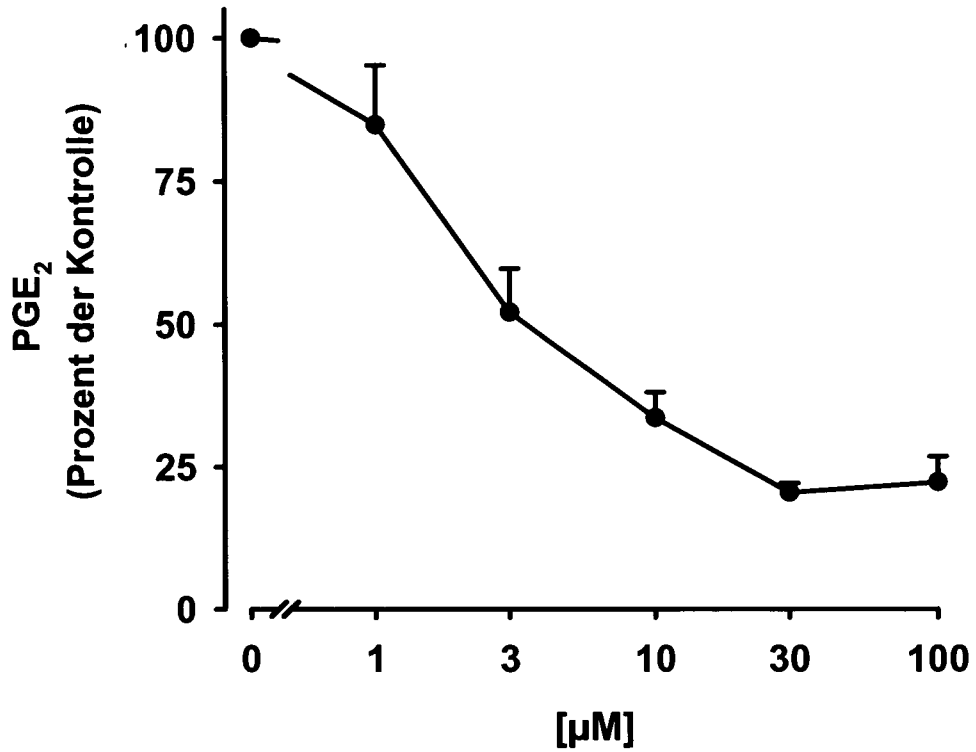


Fig. 4/9

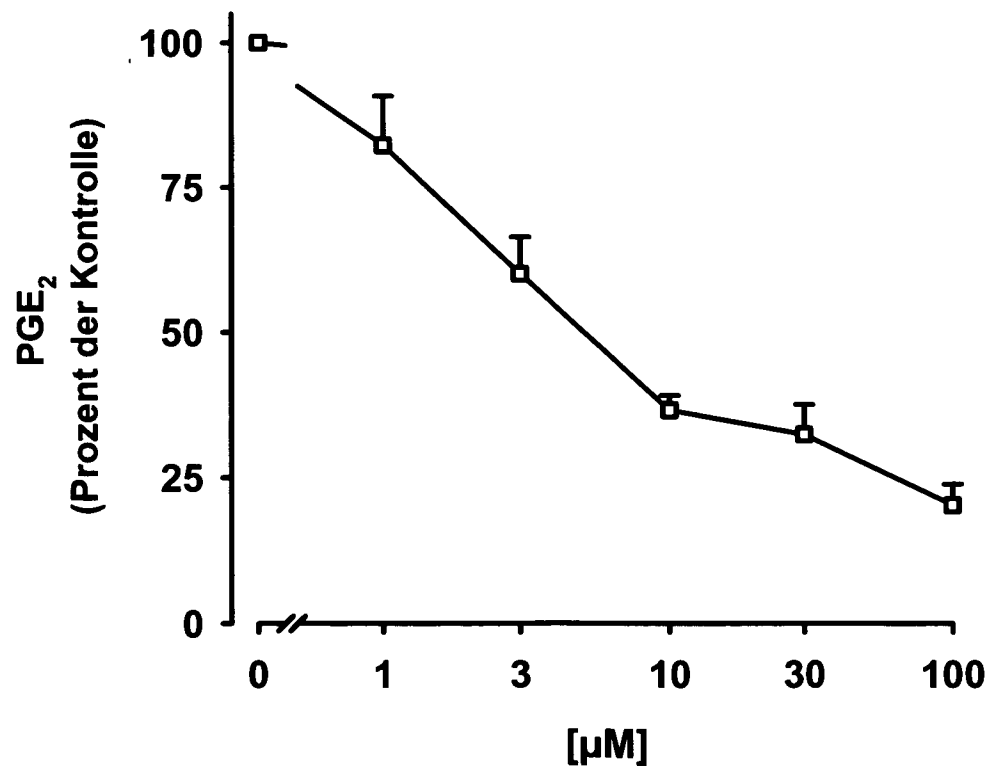
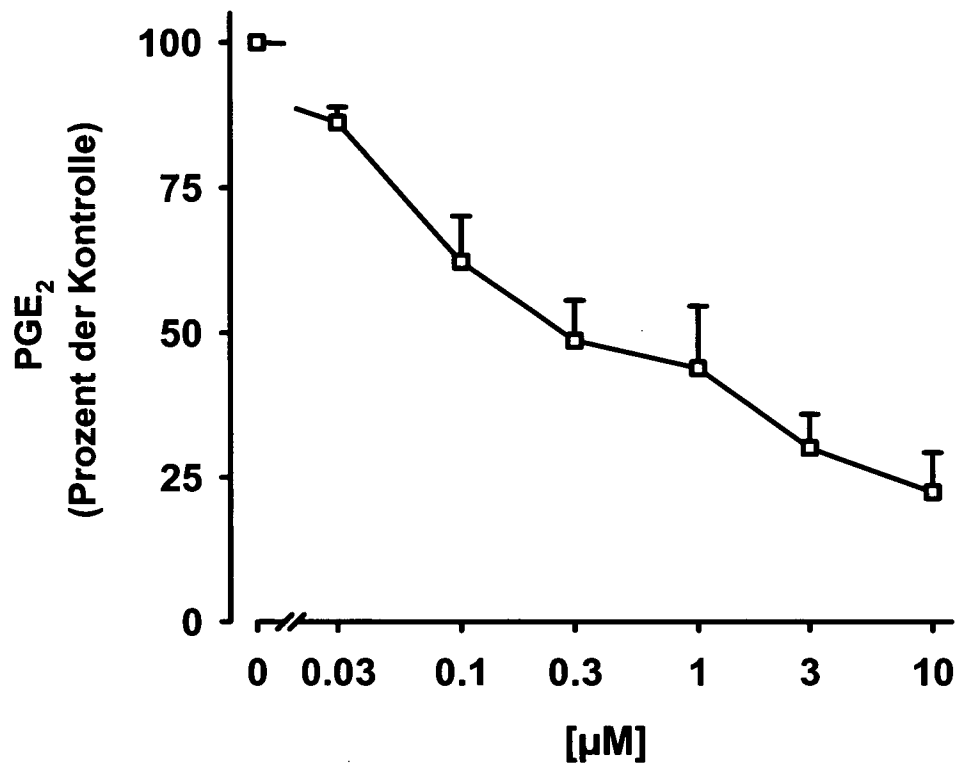


Fig. 5/9

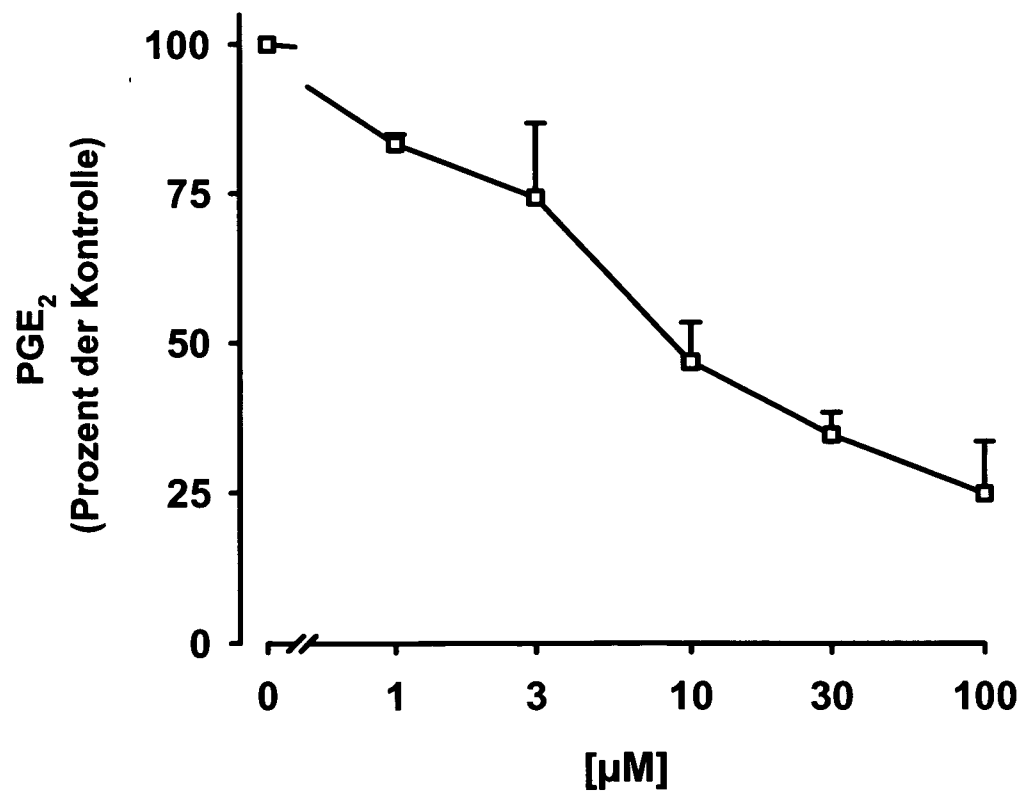
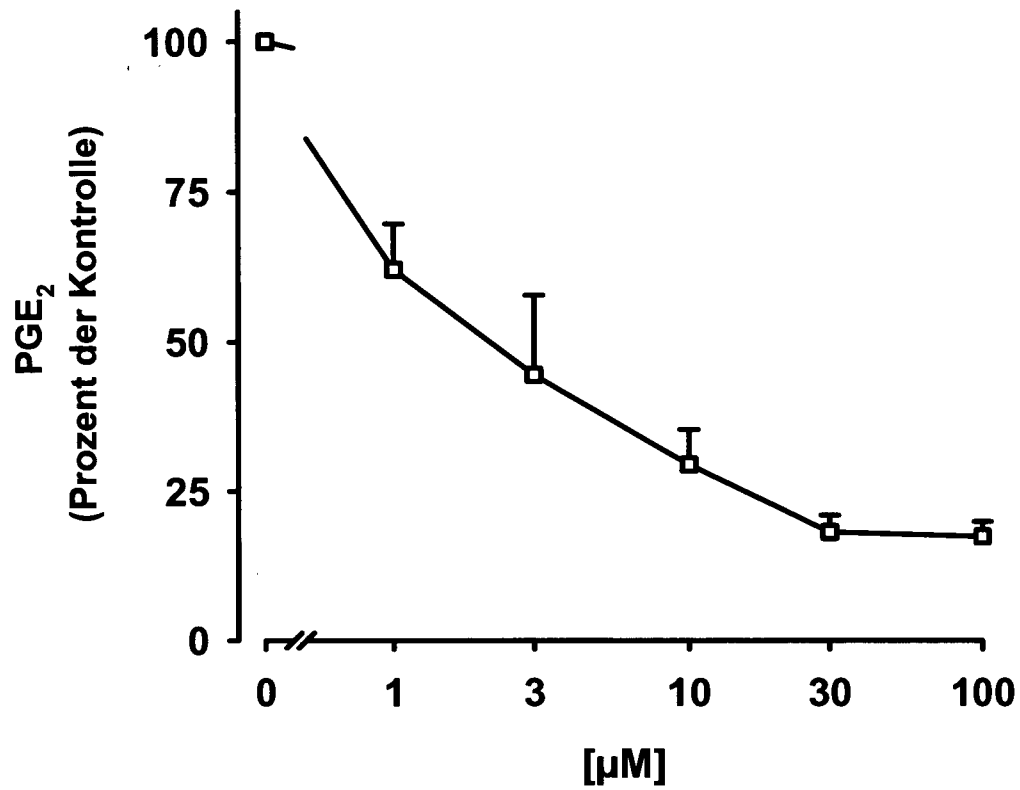


Fig. 6/9

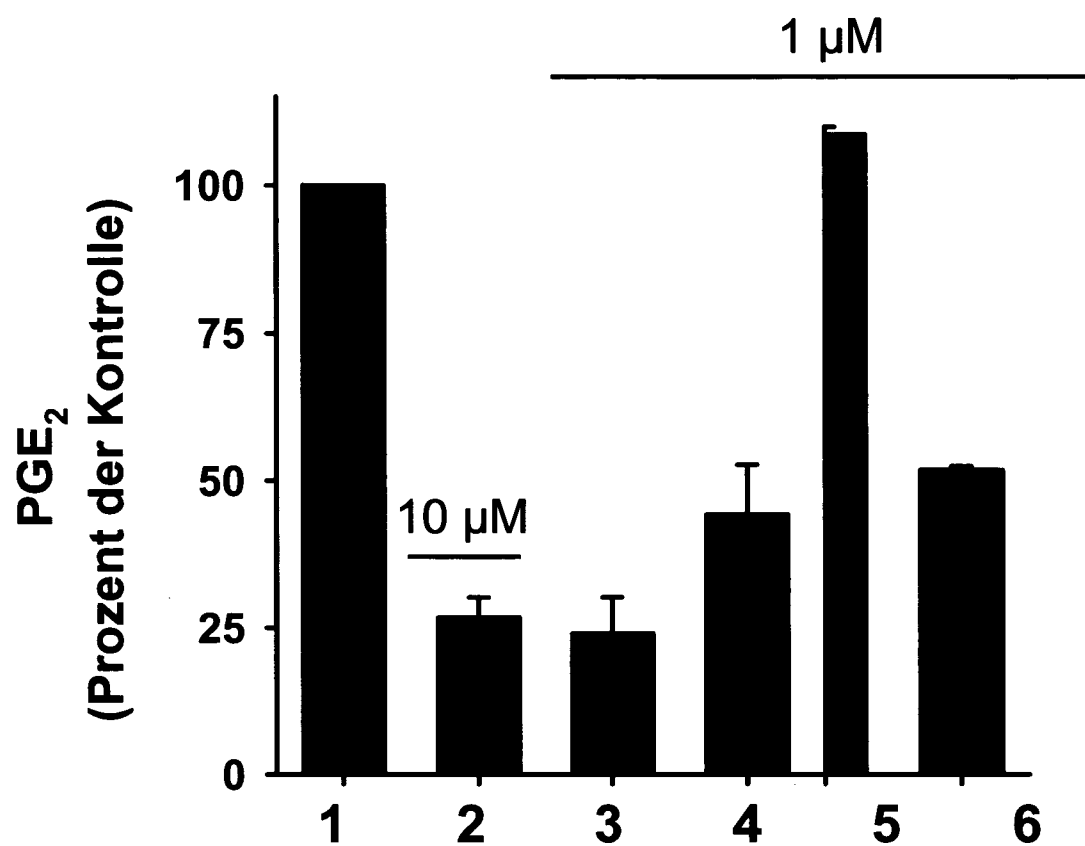


Fig. 7/9

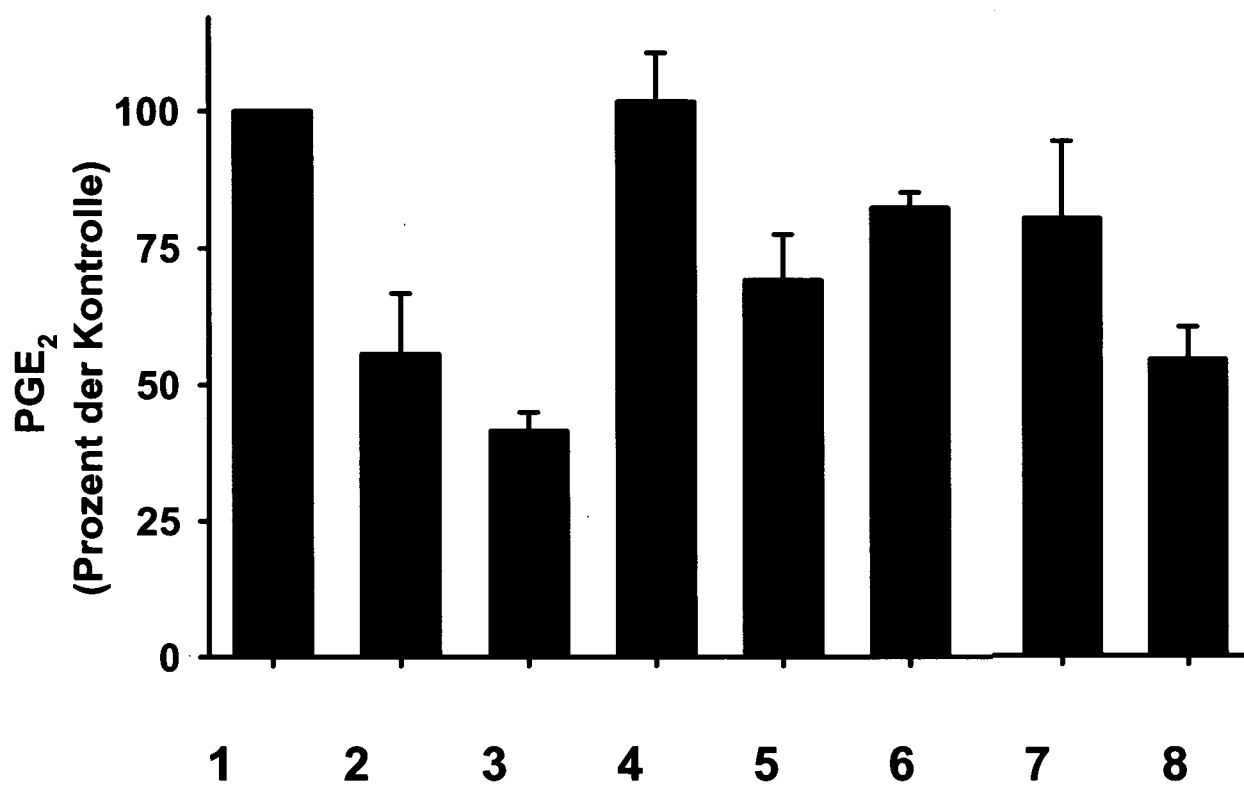


Fig. 8/9

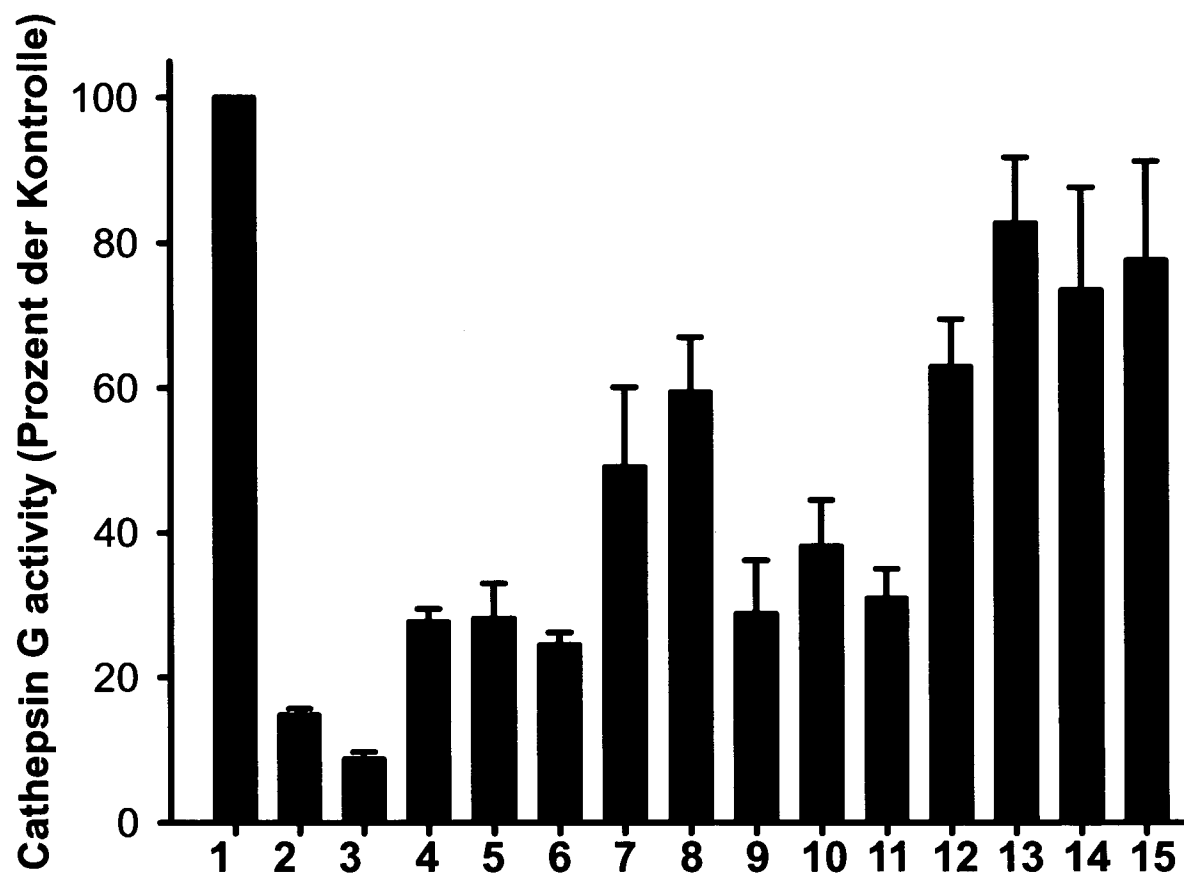


Fig. 9/9

