



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Pharmakologisches Screening von zwei neuen Wirkstoffen
(SWS 83 HCl und SWS 84 HCl) an isolierten Organen von
Meerschweinchen

Verfasserin

Fatemeh Ektefaei

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreuer: Ao. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Diplomarbeitsbetreuer, Ao. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik, für die verständnisvolle und freundliche Betreuung während meiner Diplomarbeit und den motivierenden Beistand bei den letzten Prüfungen bedanken. Es herrscht dort eine sehr familiäre Atmosphäre.

Mein größter Dank gilt zu allererst meinen Eltern, die mir die Ausbildung ermöglicht haben. Während der gesamten Studiendauer haben sie mich sowohl finanziell als auch moralisch unterstützt meinen Weg zu gehen.

Weiters möchte ich mich bei meiner Familie, meinem Mann und meinem Bruder da sie nicht nur mein Studium zum größten Teil finanziert haben, sondern auch ständig ein sehr großes Interesse an meiner Arbeit zeigten und mich so gut es ging unterstützten. Spezieller Dank gilt dabei meinem Mann, der mich während meines gesamten Studiums motiviert hat und mich auch an schlechten Tagen sowie bei Prüfungsstress wieder aufheitern konnte.

Ein großes Dankeschön auch allen meinen Freunden und Studienkollegen, die meine Studienzeit in Wien unvergesslich gemacht haben und mich während meines Studiums in allen Lebenslagen unterstützt haben.

Weiters möchte ich Ao. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker vom Department für Pharmazeutische Chemie für die Bereitstellung der Testsubstanzen danken. Hier gilt ein besonderer Dank Dipl.Ing. (FH) Mario Gabriel, der die beiden Substanzen für diese Diplomarbeit synthetisiert.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Ziel der Arbeit.....	6
3. Material und Methoden	7
3.1 Versuchstiere.....	7
3.2 Versuchssubstanzen	8
3.2.1 SWS 83 HCL	8
3.2.2 SWS 84 HCL	9
3.2.3 Herstellung der Testlösung	9
3.3 Physiologische Nährlösung	11
3.3.1 Kaliumchloridlösung für Pulmonalarterie, Aorta und Darm	12
3.4 Organentnahme	12
3.5 Präparierung und Isolierung der Organe	13
3.5.1 Präparierung und Isolierung der Musculus papillaris (Papillarmuskel)	15
3.5.2 Präparierung und Isolierung des Atrium cordis dexter (rechte Vorhof).....	16
3.5.3 Präparierung und Isolierung der Aorta descendens (Aorta).....	17
3.5.4 Präparierung und Isolierung der Arteria pulmonalis (Lungenarterie).....	17
3.5.5 Präparierung und Isolierung des Terminales Ileum (Dünndarm).....	18
3.6 Versuchsanordnung und Apparatur.....	19
3.6.1 Apparatur A.....	20
3.6.2 Apparatur B.....	21
3.6.3 Der Kraftwandler	23
3.6.4 Gasversorgung	24
3.7 Versuchsablauf und Wirkungen	24
3.7.1 Untersuchung der Wirkung der Testsubstanz auf die isolierten Meerschweinchenorgane.....	24
3.7.1.1 Versuchspräparat rechter Vorhof	24
3.7.1.2 Versuchspräparat Papillarmuskel	25
3.7.1.3 Versuchspräparat Darm	26
3.7.1.4 Versuchspräparat Aorta	27
3.7.1.5 Versuchspräparat Lungenarterie.....	27
3.7.2 Untersuchung der Abspaltung von H ₂ S bei SWS 83 HCl	28
3.8 Datenauswertung	28
3.8.1 Atrium dexter	28

3.8.2 Musculus papillaris	28
3.8.3 Aorta, Arteria Pulmonalis und Terminales Ileum.....	29
3.9 Statistik	29
4. Ergebnisse	30
4.1. Wirkung von SWS 83 HCl auf verschiedene isolierte Organe von Meerschweinchen.....	30
4.1.1. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Aorta descendens.....	30
4.1.2. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Arteria pulmonalis.....	34
4.1.3. Wirkung von SWS 83 HCl auf das terminale Ileum.....	37
4.1.4. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Atrium cordis dexter.....	40
4.1.5. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Musculus papillaris	43
4.2. Wirkung von SWS 84 HCl auf verschiedene isolierte Organe von Meerschweinchen.....	46
4.2.1. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Aorta descendens.....	46
4.2.2. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Arteria pulmonalis.....	49
4.2.3. Wirkung von SWS 84 HCl auf das terminale Ileum.....	52
4.2.4. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Atrium cordis dexter.....	55
4.2.5. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Musculus papillaris	58
5. Diskussion	61
5.1. Wirkung von SWS 83 HCl auf verschiedene isolierte Organe von Meerschweinchen.....	62
5.2. Wirkung von SWS 83 HCl auf verschiedene isolierte Organe von Meerschweinchen.....	62
6. Zusammenfassung.....	65
7. Literaturverzeichnis.....	67
8. Lebenslauf	71

1. Einleitung

H₂S oder auch Schwefelwasserstoff ist ein wasserlösliches Gas. Sowie brennbar und farblos. Man erkennt es auch an seinem Geruch nach verfaulten Eiern (Wang, 2002).

Durch die Zersetzung von schwefelhaltigen Aminosäuren oder durch die Reaktion von Schwermetallsulfiden mit Säuren kann so ein Geruch entstehen. Schwefelwasserstoff hat einen Gewöhnungseffekt. In sehr geringere Konzentration wird dieser stechende Geruch vom Menschen wahrgenommen. In höheren jedoch nicht mehr, da die Geruchsrezeptoren blockiert werden.

Kommt es zu einer akuten H₂S-Intoxikation, so sind der Atemtrakt sowie das zentrale Nervensystem betroffen. Somit kann bei der Inhalation höherer Dosen zum Bewusstseinsverlust und zentrale Atemlähmung führen. Bei einer geringeren Dosis können Schwäche, Hyperpnoe oder Krämpfen auftreten (Forth et. al., 2009).

Sollte eine Vergiftung durch H₂S zustande kommen, so wird nach Symptomen therapiert. Beispielsweise wird gezielte Beatmung angewendet. Sollte die Beatmung fehlschlagen, so kann auch Diethylaminophenol verwendet werden (Oberdisse et.al.,2001).

Früher dachte man, H₂S sei ein giftiges Gas und schädlich für die Umwelt. Heute weiß man, dass es auch in Säugetieren, wie zum Beispiel beim Menschen, produziert wird. Somit wird es heute auch als Signalmolekül im Nerven -und kardiovaskulären System anerkannt (Kamoun, 2004, Fiorucci et. al., 2006).

Der gesamte Wirkungsbereich bzw. Wirkungsmechanismus von H₂S konnte noch nicht festgestellt werden. Man weiß aber, dass H₂S in hoher Konzentration Enzyme durch Sulfid- oder Disulfidbildung blockieren kann. Kommt es zu Stoffwechselvorgängen, so entsteht Hydrogensulfid-Anion durch Deprotonierung von Schwefelwasserstoff. Das III-wertige Eisen der Cytochromoxidase sowie die Enzyme der oxidativen Phosphorylierung werden durch das Hydrogensulfid-Anion blockiert (Schmidt und Estler, 2007).

Synthetisierung von H₂S erfolgt endogen. Dies geschieht in unterschiedlichen Geweben von zwei Enzymen, die Cystathionin-β-Synthase (CBS) und Cystathionin-γ-Lyase (CSE), die

Pyridoxal-5'-Phosphat abhängig sind. Cystein ist dabei das Substrat für CBS und CSE. Es wird über die Nahrung aufgenommen und kann aus endogenen Proteinen frei gesetzt werden. In bestimmten Regionen kann man diese Enzyme in höheren Mengen finden. Im Nervensystem und Gehirn ist CBS das vorherrschende H₂S-produzierende Enzym. Aber auch in der Niere und Leber wird es stark exprimiert. Vor allem in der Leber findet man auch CSE, sowie in vaskulären und nicht -vaskulären glatten Muskelzellen. Durch Stickstoffmonoxid (NO) und Kohlenstoffmonoxid (CO) kann die Aktivität von CBS inhibiert werden (puranik et. al.,2006). Nicht so viel bekannt ist von CSE. Nur dass Endotoxine die Aktivität von CSE steigern (Ishii et.al., 2004).

Produziert wird H₂S im Gewebe in mikromolaren Konzentrationen (10-100µM) und löst eine große Anzahl von zytoprotektiven Effekten auf das kardiovaskuläre System aus. Und auch ohne spezifischen Transporter penetriert H₂S als Gas die Zellmembranen sehr schnell (Lefer, 2007).

H₂S hat antioxidative Eigenschaften, metabolische Effekte (Blackstone et. al., 2005) und beeinflusst Funktion der Mitochondrien und es besteht die Möglichkeit zur Hemmung der Apoptose von verschiedenen Zelltypen (Kimura 2004). Zusätzlich verhindert das Gas die Interaktion zwischen Endothelzellen und Leukozyten (Zarnado et. al., 2006). Außerdem ist H₂S ein wichtiges antiinflammatorisches Molekül. Es kommt auch zur Verringerung des Blutdrucks, denn durch H₂S kommt es zur vasodilatierenden Wirkung und die Blutgefäße entspannen sich (Elrod et. al., 2007, Pryor et. al., 2006).

Vergleicht man Stickstoffmonoxid (NO) und Kohlenstoffmonoxid (CO) so ist H₂S ebenso ein wichtiges Signalmolekül. Seine Aufgabe in der kardiovaskulären Regulation wird deshalb auch von vielen Forschungsteams untersucht (Wang, 2002). Laut Lefer hat H₂S alle positiven Eigenschaften, die auch NO besitzt, ausgenommen die Fähigkeit zur Bildung toxischer Metabolite (Lefer, 2007). NO hat diese Fähigkeit, weil es ein hoch reaktives Molekül ist. Mit Superoxid kann NO leicht interagieren und dies führt zur Bildung von Peroxynitrit (ONOO) (Elrod et. al., 2006).

Erstaunlich ist auch, dass der blutdrucksenkende und gefäßprotektive Effekt von Knoblauch (*Allium sativum*) durch Bildung von H₂S zustande kommt. Dabei werden organische Polysulfide aus dem Knoblauch mithilfe von roten Blutkörperchen in Schwefelwasserstoff

umgewandelt. Somit kann man H_2S als potenten Vasodilatator bezeichnen. Zu beachten ist jedoch, dass die Entspannung der vaskulären glatten Muskelzellen auf eine K_{ATP} -Kanal vermittelte Hyperpolarisation zurückzuführen ist (Benavides et. al., 2007).

Eine mögliche Beteiligung des K_{ATP} -Kanals am Wirkmechanismus von H_2S wurde erstmal von Zhao et. al. Berichtet. Sie haben auch zeigen können, dass kardioprotektive Effekte verhindert werden, und zwar durch eine Vorbehandlung mit beispielsweise Glibenclamid, einem K_{ATP} -Kanal Blocker (Zhao et. al., 2001).

Bei Studien an Aortenringen von Ratten, hat man gesehen, dass K_{ATP} -Kanäle nicht die einzigen Angriffspunkte von H_2S sind. Es sieht so aus, als wären NO- und CO-bezogene Faktoren ebenfalls wichtig bei dem physiologischen Wirkmechanismus (Kubo et. al., 2007). Auch bei einer Interaktion von H_2S mit dem NO-System zeigen Studien eine blutdruckregulierende Eigenschaft von H_2S (Ali et. al., 2006). Zusätzlich zeigt Wang et. al. eine Verbindung zwischen NO und H_2S bei der Relaxation von pulmonalen Rattenaorten (Wang et. al., 2008).

In Versuchen mit Aortenringen von Ratten, weiß man, dass H_2S als schneller Vasokonstriktor wirkt. Dabei war die Sauerstoffkonzentration während den Versuchen sehr intensiv. Somit hängt der vaskuläre Effekt von H_2S sehr stark von der Sauerstoffkonzentration in der Umgebung ab (Koenitzer et. al., 2007). Ein wichtiger Faktor sind auch intrazelluläre pH-Wert Änderungen und diese hängen mit der Gefäßrelaxation zusammen (Lee et. al., 2007).

Huang et. al. Bewiesen, dass das Hinzufügen eines H_2S -Donators, in dem Fall Natriumhydrogensulfid (NaHS), bei einer biochemisch künstlich hervorgerufenen Hypertonie, zu einer Besserung der Symptome führt (Huang et. al., 2008).

Injiziert man H_2S -Donatoren direkt ins tierische Gewebe, so stellt man eine temporäre Blutdrucksenkung fest (Zhao et. al., 2001, Wang, 2002).

Die Unterform der pulmonalen Hypertonie, und zwar die pulmonale arterielle Hypertonie (PAH) gehört zu den Orphan Diseases. Bei einem mittleren pulmonalarteriellen Blutdruck von $> 25 \text{ mmHg}$ ist sie als "ruhig" gekennzeichnet. Bei einem Blutdruck von $> 30 \text{ mmHg}$ jedoch als "belastend". Die Auslöser so einer Hypertonie sind jedoch unbekannt. Aus

pathophysiologischer Sicht kommt es zu einer Proliferation von glatten Muskelzellen und Endothel, dabei sind die vasokonstriktorisches Faktoren dominant und die Thrombogenität ist erhöht. Durch diese Eigenschaften kommt es zu einer Verringerung der Gefäßlumens, und auf diese folgt eine Druckerhöhung im kleinen Kreislauf, eine Erhöhung der Nachlast im rechten Ventrikel und endet mit einem Rechtsherzversagen. Da PAH eine schwere Erkrankung ist, sind auch ihre Prognosen schlecht. 30-50% der Patienten überleben nur 5 Jahre. Transplantation ist derzeit die einzige Chance zur Heilung (Mutschler et. al., 2008).

Es wäre jedoch möglich, den Blutfluss zu verbessern, indem, mittels einer Pharmakotherapie, das Lumen der pulmonalen Gefäße durch Vasodilatoren vergrößert wird. Aus diesem Grund wäre eine Behandlung durch eine Therapie mit H₂S-freisetzenden Substanzen möglich. Derzeit gibt es aber nur folgende Therapiemöglichkeiten, wo bei die Erfolgsquote nur eingeschränkt ist (Mutschler et. al., 2008):

- PDE₅-Hemmer wie Sildenafil
- Bosentan, ein Endothelinantagonist
- Iloprost, ein Prostacyclinderivat

Ebenfalls wären zur Therapie der essentiellen Hypertonie H₂S-freisetzende Substanzen verwendbar. Die essentielle Hypertonie ist auch öfters zu finden als die pulmonale.

Ein Wert von bis zu 130/85 mmHg definiert den Blutdruck laut WHO als normal. Ab 140/90mmHg gilt er als Hypertonie. Der Bereich dazwischen gilt als "normal hoch". Bei 95% der Betroffenen handelt es sich um eine primären oder essentielle Hypertonie. Als Ursache werden genetische –und Umweltfaktoren angenommen. Die genauen Ursachen sind jedoch unbekannt. Bei den restlichen 5% der Betroffenen handelt es sich um die sekundäre Hypertonie. Hier weiß man, dass die Ursachen meistens endokriner oder renaler Art sind und können direkt behandelt werden (Forth et. al., 2009).

Ist die Hypertonie noch als leicht bis moderat definierbar, so empfiehlt man eine Änderung der Lebensgewohnheiten an erster Stelle. Dadurch ist es sogar nicht nötig eine Pharmakotherapie einzuleiten. Beispiele für Maßnahmen wären:

- Gewichtsabnahme
- Alkoholabstinenz
- Fett -und kochsalzarme Ernährung

- Stressreduzierung
- Rauchabstinenz

Falls kein Erfolg sichtbar ist, so wäre eine Pharmakotherapie nötig, wo 5 verschiedene Substanzklassen eingesetzt werden:

- β -Blocker
- ACE-Hemmer
- Diuretika
- AT_1 -Rezeptorblocker
- Kalziumantagonisten

Aktuelle Studien zeigen, dass es zu Beginn einer Behandlung der Hypertonie, eine Gleichwertigkeit zwischen der Monotherapie und einer schwach-dosierten Kombinationstherapie aus β -Blockern mit Diuretikum oder ACE-Hemmer gibt. Diese Gleichwertigkeit betrifft aber nur die Wirksamkeit und Nebenwirkungen. Kann jedoch der erwartete Effekt mit der Monosubstanz nicht eintreten, so sollte man so bald wie möglich eine Kombinationstherapie aus zwei bis drei Substanzen einleiten.

Dadurch erhöht sich der Erfolg dieser Therapie und zugleich werden unerwünschte Nebenwirkungen durch die schwächere Dosis der Kombinationspartner begrenzt (Forth et. al., 2009).

2. Ziel der Arbeit

In dieser Diplomarbeit sollen potentielle Wirkungen an bestimmten isolierten Organen von Meerschweinchen aufgedeckt werden. Dabei geht es um die Wirkungen der neu synthetisierten schwefelwasserstoff- oder carbonylsulfidfreisetzenden Verbindungen SWS 83 HCl und SWS 84 HCl.

Es werden Präparate von Lungenarterie, Aorta und Dünndarm vorbereitet und mit den beiden Testsubstanzen in Kontakt gebracht um einen Effekt an der glatten Muskulatur festzustellen. Eine Wirkung auf die Herzmuskelpräparate wäre bei diesen Untersuchungen nicht wünschenswert. Deshalb soll durch Testung der beiden Substanzen am Papillarmuskel sowie am rechten Vorhof eine Chronotropieänderung (Schlagfrequenzänderung) bzw. Inotropieänderung (Kontraktilitätsänderung) ausgeschlossen werden.

3. Material und Methoden

3.1. Versuchstiere

Bei den Versuchen wurden Meerschweinchen vom TRIK Stamm von der Reptilientierhandlung Hubmann aus Graz verwendet. Dies bedeutet, dass sie nicht durch Inzucht vermehrt wurden. Sie sind alle weiblich und haben ein Gewicht von 250-600 g. Sie sind maximal 30 Tage alt.

Für die Versuche verwendete man isolierte Organe dieser Meerschweinchen. Dies geschieht aus dem Grund, weil die Beschaffenheit ihrer Organe, besonders die Ionenverhältnisse am Herzen, eine große Ähnlichkeit mit denen der Menschen hat. Noch dazu, ist man von der Größe her, durch Versuchsaapparaturen beschränkt.

Die Meerschweinchen wurden 24 Stunden vor der Tötung nüchtern gehalten um eine konstanten Ruhetonus der glatten Muskulatur des terminalen Ileum (untere Dünndarm) zu erreichen. Getötet werden die Meerschweinchen per Genickschlag, damit ein schmerzloser und schneller Tod durchgeführt wurde.

Abbildung 1: Meerschweinchen



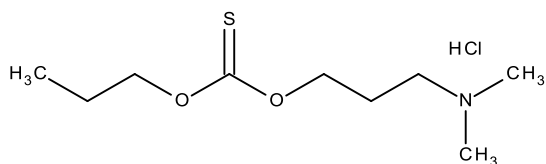
3.2. Versuchssubstanzen

Die Testsubstanzen wurden vom Department für Medizinische/ Pharmazeutische Chemie an der Universität Wien zur Verfügung gestellt. Dank diesen Substanzen können die folgenden Versuchsreihen durchgeführt werden.

3.2.1. SWS 83 HCl

SWS 83 HCl ist die erste, zu testende Substanz. Ihr Molekulargewicht beträgt 241,78 g/mol und ihr systematischer Name ist wie folgt:

Abbildung 2: Chemische Struktur von SWS 83 HCl



Propyl [2-(Dimethylamino)propoxy]methanthioat-Hydrochlorid

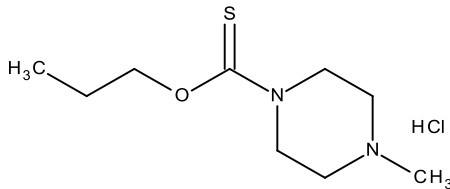
SWS 83 HCl

MG: 241,78 g/mol

3.2.2. SWS 84 HCl

SWS 84 HCl ist die zweite Substanz, die getestet wurde. Ihr Molekulargewicht beträgt 238,78g/mol und ihr systematischer Name ist wie folgt:

Abbildung 3: Chemische Struktur von SWS 84 HCl



Propyl 4-Methyl-1-piperazinethiocarboxylat-Hydrochlorid
SWS 84 HCl

MG: 238,78 g/mol

3.2.3. Herstellung der Testlösung

Die Herstellung der Testlösung für die schwefelwasserstoff- bzw. carbonylsulfidfreisetzenden Verbindungen beginnt mit dem Lösen der entsprechenden Substanzmenge in Wasser (Aqua destillata) und dann wurde im Kühlschrank aufbewahrt. Diese wird jeden Tag frisch vorbereitet. Je Versuch benötigt man 100µl von so einer Testlösung. Zu beachten ist, dass die Einwaage der Substanz sich nach dem Fassungsvermögen des Organbades richtet, d.h. Organbäder standen es von einem Fassungsvermögen von 8 oder 25 ml zur Verfügung, eingewogen werden eine entsprechende Menge an Substanz, je nachdem, welche Fassungsvermögen verwendet wurde.

In der Tabelle 1 sieht man zusammengefasst die Berechnung der Einwaage.

Tabelle 1: Verwendete Einwaagen

Substanz	Molekulargewicht	Volumen Organbad	Einwaage Substanz (100 $\mu\text{mol/l}$)
SWS 83 HCl	241,48 g/mol	8 ml	0,19 mg
		25 ml	0,60 mg
SWS 84 HCl	238,78g/mol	8 ml	0,19 mg
		25 ml	0,59 mg

Man leitet eine Kontrollphase von mindestens 45 Minuten ein. Danach erfolgt die Substanzzugabe. Die geschieht alle 45 Minuten nach einem kumulativen Schema. Bei der letzten Substanzzugabe wird dann eine Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ im Organbad erreicht. Durch die Intervalle von 45 Minuten wird eine steady-state Einstellung im Organbad gewährleistet. Überträgt man das auf den menschlichen Körper, so spricht man von einer konstanten Plasmaspiegelkonzentration. Das Pipettiermuster bei der Substanzzugabe sieht wie folgt aus:

Tabelle 2: Pipettierschema der kumulativen Substanzgabe

Zugegebenes Volumen [μl]	Endkonzentration in Organbad [$\mu\text{mol/l}$]
1	1
2	3
7	10
20	30
70	100

3.3. Physiologische Nährlösung

Tyrode, eine physiologische Nährlösung, benannt nach dem Pharmakologen Maurice Vejeux Tyorde, entspricht einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung. Von dieser Lösung werden in der Früh jeden Tag frisch 2 Liter hergestellt und dies nach den Vorschriften von Reiter (1967). Essentiell ist diese Lösung für die versuchsfolgen, da die Versuchsorgane in dieser Lösung länger überleben konnte.

Bevor die Versuchen begonnen wurden, musste jeden Morgen diese Tyrodelösung hergestellt werden und Für die Herstellung wurden folgende fertig bereitete Lösungen verwendet: Kaliumchlorid, Natriumchlorid, Natriumhydrogencarbonat, Kaliumhydrogenphosphat und Magnesiumsulfat. Diese werden in einem 2 Liter Kolben gemischt, danach wird Glucose als Feststoff hinzugegeben und mit 1,5L destilliertem Wasser verdünnt. Für 20 Minuten wird dann mit Oxy mix oder Carbogen einer Gasmischung (95% O₂ und 5% CO₂), begast und darauf die Kalziumchlorid-Lösung tropfenweise und langsam zugesetzt. Dies wird gemacht, um ein Ausfallen schwer löslicher Kalziumsalze zu verhindern. Am Ende füllt man den Kolben auf 2L mit destilliertem Wasser auf.

Die Inhaltsstoffe der Elektrolytlösung werden in der Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Zusammensetzung der Tyrode

Substanz	Molare Masse (g/mol)	Stocklösung	ml/Stocklösung/l Tyrode	mmol/l
NaCl	58,442	1000,25g/5l	33,60	115,01
KCl	74,550	50,33 g/5l	35,00	4,73
NaHCO₃	84,010	125,00 g/5l	83,70	24,91
MgSO₄	120,370	147,02 g/5l	1,18	0,29
KH₂PO₄	136,090	62,00 g/250 ml	1,18	2,15
CaCl₂	110,980	34,00 g/250 ml	3,20	3,92
Glucose	180,160	Reinsubstanz	1,98	-

3.3.1. Kaliumchlorid-Lösung für Pulmonalarterie, Aorta und Darm

Diese Lösung ist notwendig, um die Untersuchung der Testsubstanz an Aorta, Darm und Pulmonalarterie durchzuführen. Durch die Lösung wird eine maximale Kontraktion der Präparate gewährleistet und zusätzlich kann auch die vasodilatierende oder spasmolytische Aktivität, die durch die Testsubstanz hervorgerufen wird, festgestellt werden. Für die Kontraktion der Aorta und Pulmonalarterie benötigte man eine 90 mmol Lösung. Dafür wiegte man 0,67 g Kaliumchlorid in einen 100-ml-Messkolben ein und ergänzte sie dann auf 100 ml mit Tyrode. Für die Kontraktion des Darmes benötigte man eine 60 mmol Lösung. Hierfür wurde 0,45 g Kaliumchlorid eingewogen und auch auf 100 ml mit Tyrode aufgefüllt.

3.4. Organentnahme

Jeden Tag, an dem ein Versuch durchgeführt wird, wurde ein Meerschweinchen mit einem gezielten Genickschlag getötet. Danach wurde Bauch- und Brustraum mit einer Schere aufgeschnitten, sodass man das Ileum, das Herz und die Aorta entnehmen konnte. Das Herz wird zuerst herausgeschnitten und sofort in Tyrodelösung getaucht und dann wurde die Aorta vorsichtig herausgeschnitten und in Tyrodelösung gegeben. Als letztes wurde ein Teil des Terminalen Ileum mit Faden fixiert und in Lösung getaucht. Die Organe mussten so schnell wie möglich in eine stets begaste physiologische Nährlösung. Wobei das Herz auch gleich weiter präpariert werden musste. Nun mussten sich die Organe immer in der physiologischen Nährlösung befinden. Die auch permanent begast wurde.

Dabei war es gleichgültig in welchem Arbeitsschritt man gerade ist, sei es die Lagerung der Organe, Präparierung oder der Versuch an sich. Wäre das nicht der Fall, würden die Organe absterben und die Versuche könnten nicht fortgesetzt werden.

Abbildung 4: Sezierbesteck



3.5. Präparierung und Isolierung der Organe

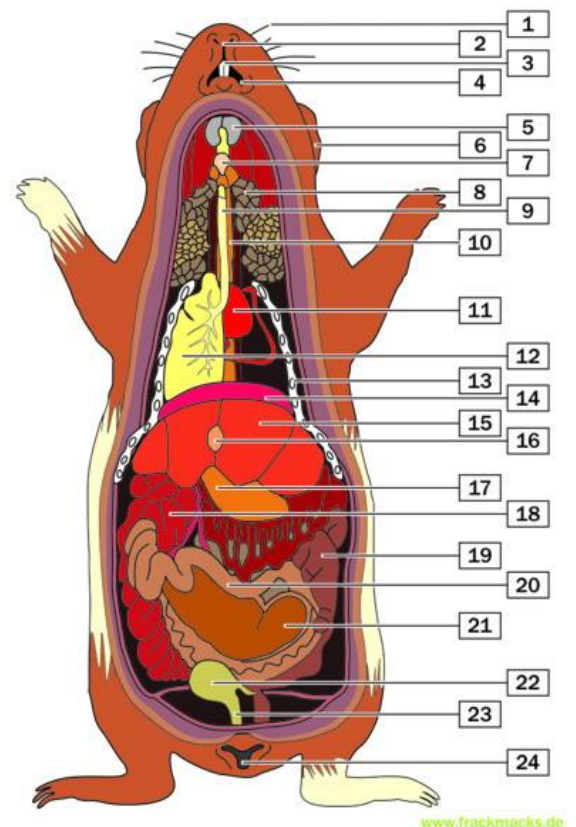
Es werden Glaspetrischalen mit einem Korkboden ausgelegt, der mit einem Gummischlauch am Rand fixiert wird. Auf denen geschieht die Präparierung der Organe unter einem Auflichtmikroskop. Um eine optimale Versorgung zu erzielen, wurde die Petrischale mit Tyrode gefüllt und begast. Die Fixierung der einzelnen Organe erfolgte durch Präpariernadeln. Und um überschüssiges Fett -und Muskelgewebe zu entfernen verwendete man Pinzetten und Federgriffscheren. Zur Verankerung der notwendigen Organe wurden Silberhacken an den Darm, den Vorhof und den Papillarmuskel mit Bindefäden befestigt. Wichtig ist, dass man während des Präpariervorganges sehr vorsichtig arbeitet, denn ein Überdehnen bzw. Verletzen der Organe führt zum Absterben und können im weiteren Verlauf des Versuches nicht verwendet werden.

Abbildung 5: Präparierbesteck mit Auflichtmikroskop



Abbildung 6: Anatomie eines Meerschweinchens

- 1: Schnurr-/Tasthaare
- 2: Nase
- 3: Zähne (obere Schneidezähne)
- 4: Mundhöhle
- 5: Lymphdrüsen
- 6: Ohren
- 7: Kehlkopf
- 8: Speicheldrüsen
- 9: Luftröhre
- 10: Speiseröhre
- 11: Herz
- 12: Lungenflügel
- 13: Rippen/Brustkorb
- 14: Zwerchfell
- 15: Leber (4-teilig)
- 16: Gallenblase
- 17: Magen
- 18: Zwölffingerdarm
- 19: Dickdarm
- 20: Dünndarm
- 21: Blindarm
- 22: Blase
- 23: Harnleiter
- 24: Anus



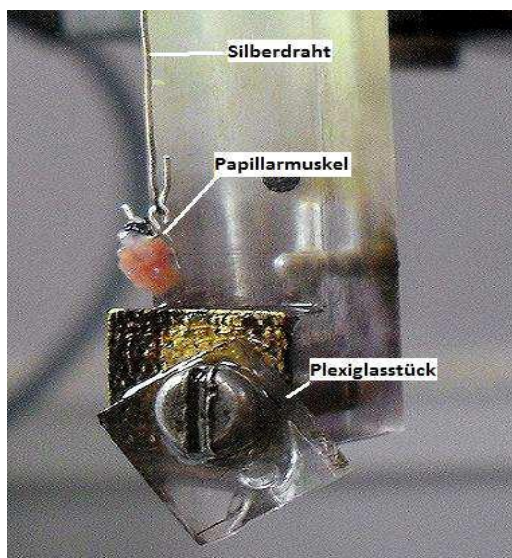
www.frackmacks.de

3.5.1. Präparierung und Isolierung der Musculus papillaris (Papillarmuskel)

Der Papillarmuskel wurde aus dem Herzen entfernt und dazu öffnete man den rechten Ventrikel entlang des Septums, klappte ihn auf und fixierte ihn anschließend mit Präpariernadeln. Mittels eines Blindfadens wurde dann am Ansatz der Papillarmuskelsehne ein Silberhaken befestigt.

Danach schnitt man den Muskel aus der Herzwand. Diese Prozedur konnte auch für den linken Ventrikel wiederholt werden. Da Purkinje-Fasern ein Teil des Erregungsleitungssystems am Herzen sind und störend wirken können, war das Entfernen dieser besonders wichtig. Auch diese Präparate wurden dann in die begaste Tyrode gegeben und in die Versuchsanordnung eingespannt.

Abbildung 7: Präparierter Musculus papillaris



3.5.2 Präparierung und Isolierung des Atrium cordis dexter (rechter Vorhof)

Mit zwei Präpariernadeln wurde das Herz am Korkboden fixiert und anschließend wurde restliches Lungengewebe oder Fettgewebe mit Federgriffscheren entfernt. Um eine unabhängige Schlagkraft des Herzens zu gewährleisten, musste der rechte Vorhof mit dem Sinusknoten entfernt werden.

Darauf wurde der Anfang und Ende des Vorhofes vorsichtig mit zwei Nadeln fixiert. Nun legte man einen Faden unter einen der fixierten Teile und machte einen Knoten, auf den ein Silberhacke eingehängt wurde. Dieser war mit einem zweiten Knoten befestigt. Diesen Vorgang wiederholte man auch auf der anderen Seite des Vorhofs. Am Ende war im Vorhof, an der oberen und unteren Stelle ein Silberhaken eingearbeitet. Das fertige Präparat legte man in die begaste Tyrode und konnte nun in die Versuchsanordnung eingesetzt werden. Man musste hier besonders beachten, dass der rechte Vorhof stets begast wurde, sonst wurde er schnell abgestorben.

Abbildung 8: Atrium dextrum cordis eingespannt in der Apparatur



3.5.3. Präparierung und Isolierung der Aorta descendens (Aorta)

Dann war die absteigende Aorta an der Reihe, die dem Meerschweinchen entnommen wurde. Hierfür war es wichtig die Wirbelsäule durchzubiegen, um dann den Teil der Aorta, der oberhalb des Herzens liegt, abzutrennen. Man hielt sie mit einer Pinzette fest und schnitt sie dann mit einer Schere vom Rückgrat ab. Mit zwei Präpariernadeln wurde sie dann am Korkboden der Petrischale befestigt und auch hier wurde restliches, unnötiges Fett- und Muskelgewebe mit einer Federschere entfernt. Nun schnitt man die Aorta in 2 mm breite Ringe, legte die dann in die begaste Tyrode und spannte es ebenfalls in die Versuchsanordnung ein.

Abbildung 9: Fertig präparierte Aortaringe



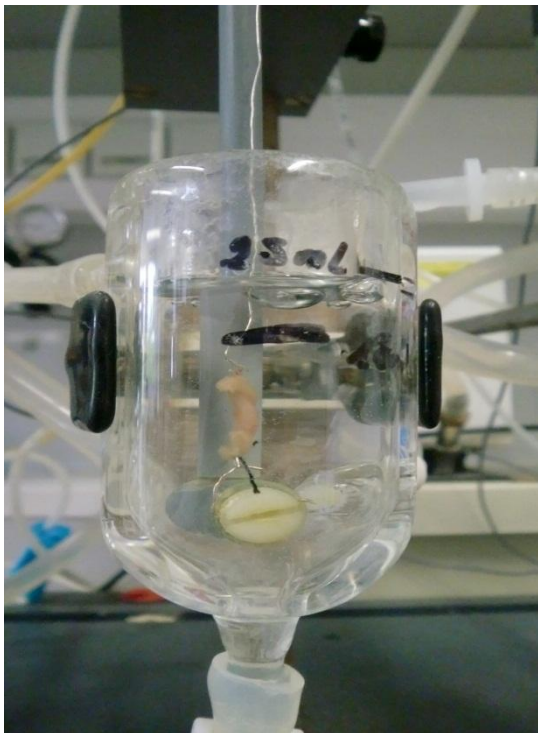
3.5.4. Präparierung und Isolierung der Arteria pulmonalis (Lungenarterie)

Im Anschluss an den Vorhof wurde die Lungenarterie dem Herzen entnommen. Genauer gesagt, nur ein Teil der Arterie und zwar der Truncus pulmonalis, die aus der rechten Herzkammer hervorgeht. Entfernt wurde ein 1cm langes Stück der Arterie und danach wurde restliches Fett- und Muskelgewebe entfernt. Man zerteilte das Stück noch einmal in 3mm breite Ringe. Dieses Präparat war nun für die Versuchsserie bereit. Es kam in die begaste Tyrode hinein und wurde ebenfalls in die Versuchsanordnung eingespannt.

3.5.5. Präparierung und Isolierung des terminalen Ileum (Dünndarm)

Als letztes wurde Bauchraum weiter geöffnet, um den Darm zu entnehmen. Jedoch nur der Dünndarm, da man nur diesen für die Versuche benötigt. Man trennte ihn in der Nähe des Caecums durch und markierte den jejunalen Bereich mit einem Bindfaden. In die begaste Tyrode legte man dann ein 30 cm lang abgeschnittenes Darmstück. Hier ist auf die Gasversorgung besonders zu achten, da sie für den Darm sehr wichtig ist. Von diesem 30 cm langen Stück schnitt man dann 1cm ab und befestigte es am Korkboden der Petrischale mit Präpariernadeln. Das kleine Darmstück wurde anschließend mit einer kleinen Pipette durchgespült, um seinen Inhalt zu entfernen. Beide Enden des Darms werden schräg abgetrennt und wie beim Vorhof, wird dann auf jeder Seite ein Silberhaken mit Hilfe eines Bindfadens angebracht. Die Abschrägung ist deshalb notwendig, um ein Durchströmen des Testsubstanz zu gewährleisten und damit das Darmlumen nach der Anbringung des Hakens offen bleibt. Ob das Lumen wirklich offen geblieben ist, kann man am Schluss mit einer Pipette testen. Auch hier wird dann das fertige Präparat in die begaste Tyrode gegeben und an der Versuchsanordnung fixiert bzw. eingespannt.

Abbildung 10: Darmpräparat im Organbad

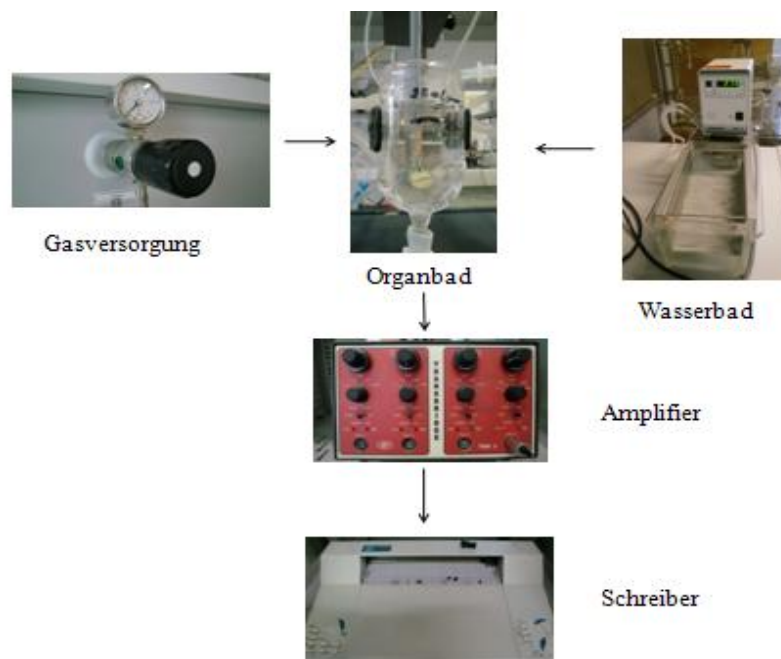


3.6. Versuchsanordnung und Apparatur

Für die Untersuchung der Wirkungen von SWS 83 HCL und SWS 84 HCL gab es 2 verschiedene Versuchsanordnungen, mit denen man arbeiten konnte. Diese zwei Apparaturen unterscheiden sich aufgrund des Fixierungsmechanismus und des Aufbaus. Apparatur A war nur für den Papillarmuskel bestimmt. Mit Apparatur B testete man die restlichen Präparate: Darm, Aorta, Vorhof und Lungenarterie. Aber das Messungsprinzip, sowie das Schema der Versuchsanordnung war bei beiden Apparaturen gleich. Im Zentrum des Apparats hatten wird das isolierte Organ, das am Draht mit Silberhaken befestigt war. Der Draht stand in Verbindung mit einem Kraftwandler. Dieser gab elektrische Impulse an den Amplifier weiter. Der Amplifier verstärkte das Signal und gab es anschließend an den Schreiber, der dann die Messergebnisse auf einem Millimeterpapier aufzeichnete.

War die konstante Einhaltung der physiologischen Bedingungen wie Sauerstoffkonzentration, pH- -Wert und Temperatur bis zum Ende des Versuchs notwendig, um die Reproduzierbarkeit der Versuche garantieren zu können.

Abbildung 11: Versuchsanordnung



3.6.1. Apparatur A

Apparatur A verwendete man ausschließlich für den Papillarmuskel. Im temperierten Wasserbad, wo eine Temperatur von $35,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ herrschte, lag die Papillarmuskelkammer, wo sich 25 ml Tyrode befand. Die Tyrode wurde durch eine Glasfritte von unten mit Oxymix begast. Erst wenn die Tyrode die richtige Temperatur erreicht hat, konnte man den Muskel befestigen. Aus diesem Grund sollte nach dem Befüllen noch ungefähr 10 Minuten gewartet werden, bis der Papillarmuskel eingespannt wurde. Nach der Wartezeit wurde der Muskel mit Hilfe des Hakens auf dem Draht befestigt und die untere Spitze des Muskels klemmte man zwischen Platinelektrode und Plexiglasscheibe ein. Die am Stativ befestigte Organhalterung konnte dann in die Papillarmuskelkammer abgesenkt werden. Der Feintrieb hat uns geholfen die Vorspannung des Organs richtig einzustellen. Die Vorspannung ist für jedes Organ anders und wurde empirisch ermittelt, um reproduzierbare und gleiche Versuchsbedingungen zu ermöglichen. Über den Draht wurden Muskelkontraktionen auf den Kraftwandler übertragen und in elektrische Signale umgewandelt.

Der Papillarmuskel musste über den Anapulse Stimulator elektrisch stimuliert werden, weil er nicht von selbst kontrahiert. Der Kraftwandler hatte eine Verbindung zum Verstärker und am Ende war noch ein Schreiber vorhanden.

Abbildung 12: Schematische Darstellung der Apparatur A

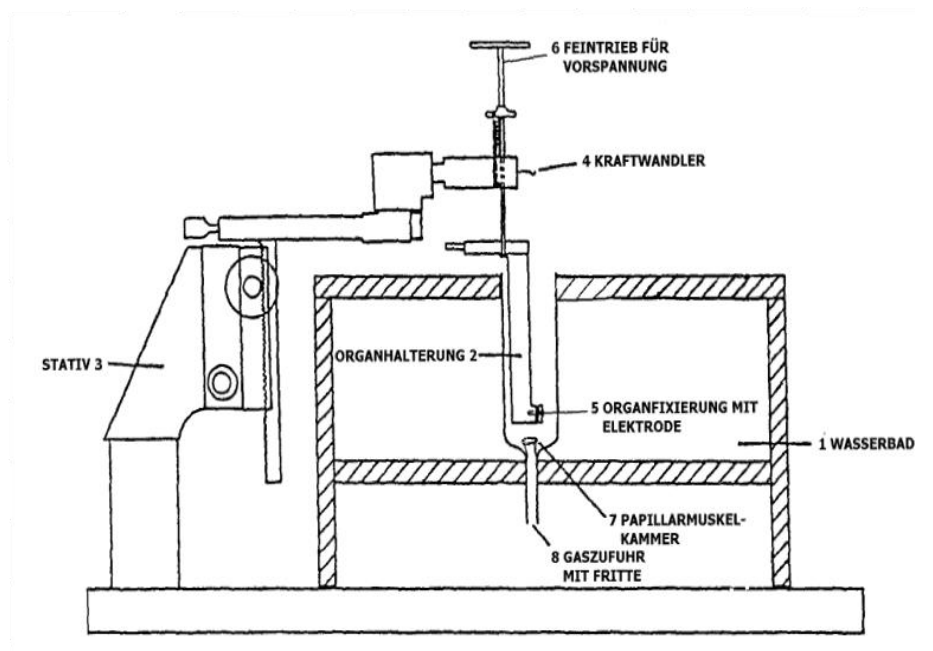
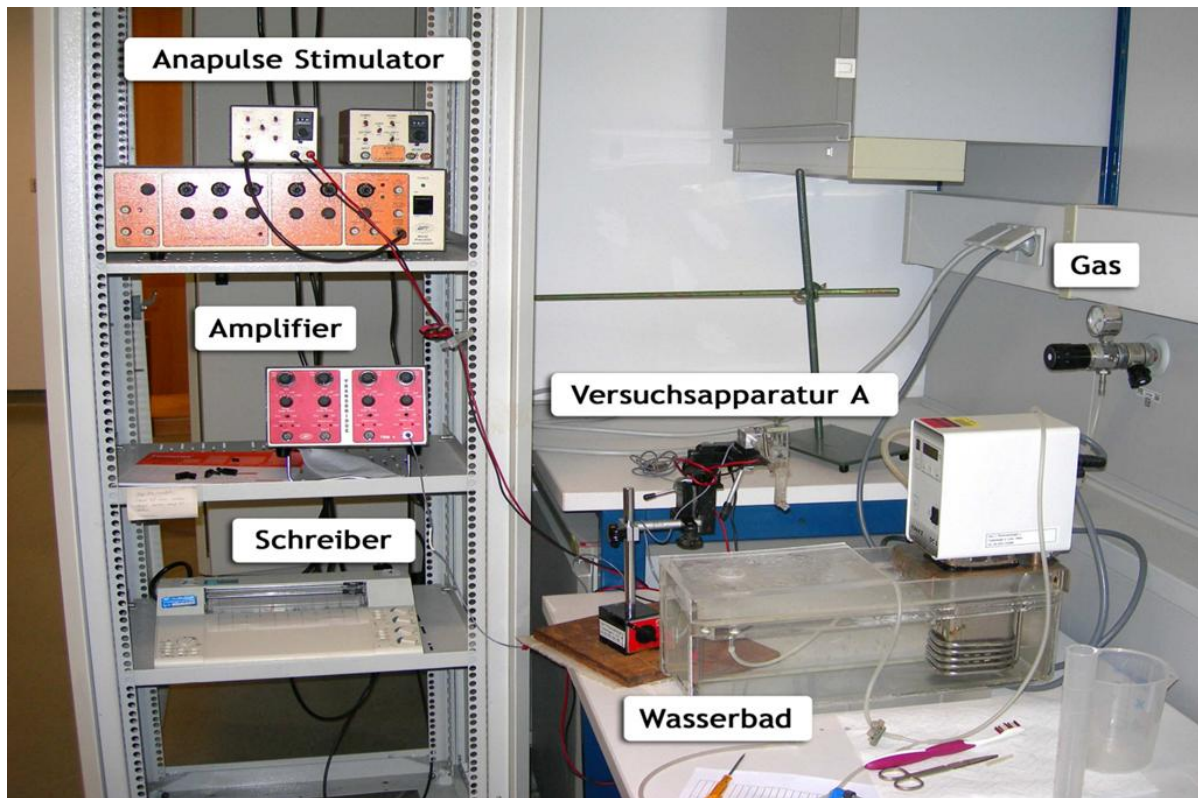


Abbildung 13: Originalabbildung von Versuchsassparatur A

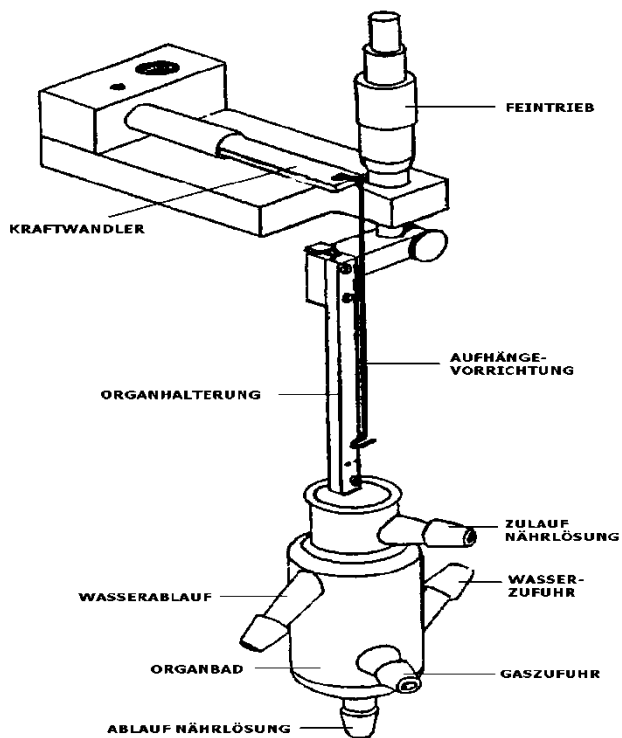


3.6.2. Apparatur B

Apparatur B wurde für Vorhof, Aorta, Darm und Lungenarterie eingerichtet. Hier jedoch wurde das Organbad von einem Plexiglasmantel umgeben. Durch diesen floss dann das temperierte Wasserbad von $37,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Das Fassungsvermögen der begasten Organbäder betrug 8 ml oder 25 ml, und nach diesen richtete sich auch die Einwaage der Testsubstanz.

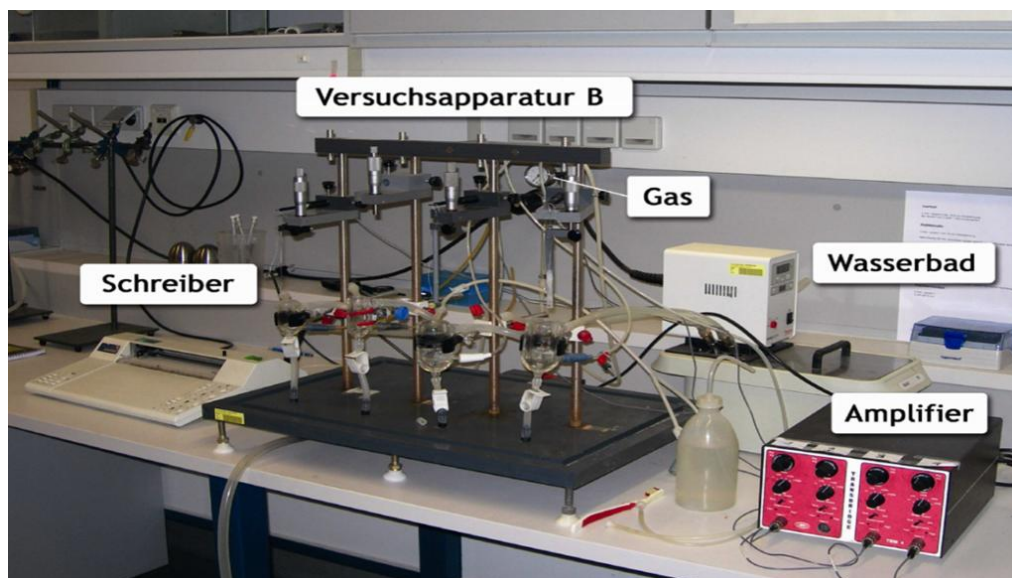
Da am Darm und Vorhof bereits 2 Silberhaken befestigt waren, konnten diese nun in die Aufhänge-Vorrichtung eingespannt werden. Auch die Aorta und Lungenarterie konnten direkt, ohne zusätzliche Haken, in die Aufhänge-Vorrichtung eingehängt werden, da sie nach dem Präpariervorgang als Ringe vorhanden waren. Die erforderliche Vorspannung des Organs kommt nun mit Hilfe des Feintrieb eingestellt werden.

Abbildung 14: Schematische Darstellung der Apparatur B



Die Muskelkontraktionen konnten dann vom Schreiber aufgezeichnet werden, nachdem sie in Stromimpulse umgewandelt wurden. Den originalen Versuchsaufbau sieht man in Abbildung 13.

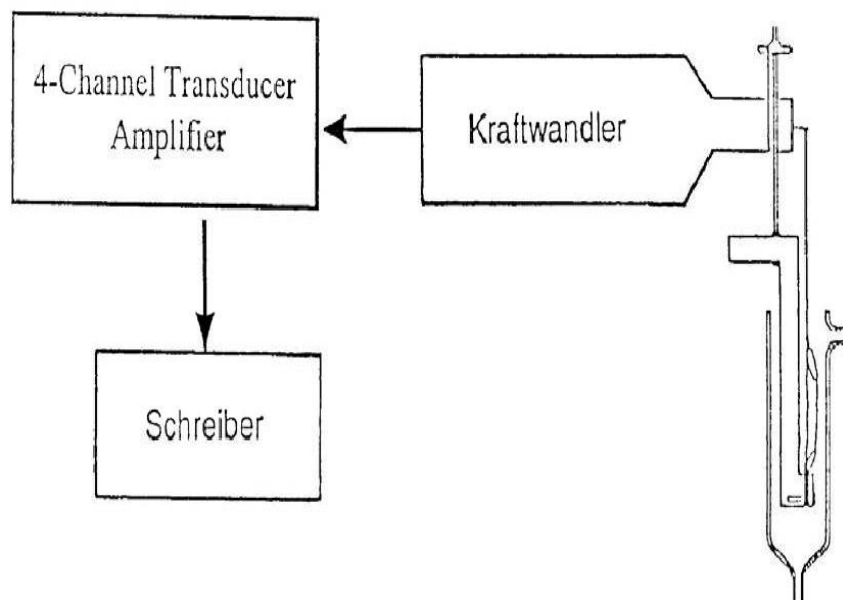
Abbildung 15: Originalabbildung von Versuchsaapparatur B



3.6.3. Der Kraftwandler

Der Kraftwandler ist ein wichtiger Bestandteil der Versuchsanordnung. Er war nämlich die Verbindung zwischen der Apparatur und dem Verstärker. Seine Aufgabe war die Umwandlung mechanischer Signale in elektrische. Denn elektrische Signale konnten gemessen werden. Die Messung erfolgte mittels eines Dehnungsmessstreifens. Mit der Änderung der Kontraktionskraft änderte sich auch der Widerstand. Dies bewirkt ebenfalls eine Änderung des angelegten Stromflusses. Kontraktionsänderungen wurden über einen Verstärker (4-Channel Transducer Amplifier, Firma WPI) zum Flachbettsschreiber (Flatbed Recorder Modell BD 112, Firma Kipp & Zonen) überbracht, der die entstandenen Impulse aufzeichnete. Der bereits erwähnte Kraftwandler funktioniert nach der Wheatstoneschen Brücke.

Abbildung 16: Schema der Signalgewinnung



3.6.4. Gasversorgung

Eine konstante Gasversorgung ist unentbehrlich, wenn man eine optimale Versorgung der Organe erreichen will. Die verwendete Gasmischung setzte sich aus 95% O₂ und 5% CO₂ zusammen und man benötigte sie auch, um den pH-Wert konstant zu halten und die Testsubstanz homogen im Organbad zu verteilen. Den Zugang zu den Organbädern hatte das Gas durch ein Schlauchsystem. Eine Glasfritte, die sich am Einlasspunkt befand, sorgte durch feine Zerstäubung für eine passende Dosierung des Gases. Die Begasung dürfte auf keinen Fall Lücken aufweisen und musste stets aufrechterhalten werden.

3.7. Versuchsablauf und Wirkungen

Vor dem Versuchsstart, musste man sicher gehen, dass die Apparaturen sauber waren. Aus diesem Grund wurden die Organbäder, sowie die zugehörigen Halterungen, zwei bis dreimal mit Aqua destillata (destilliertes Wasser) gespült und falls nötig, mit einer Bürste gereinigt. Danach spülte man auch mit Tyrode und darauf füllte man die Organbäder mit Tyrode.

3.7.1. Untersuchung der Wirkung der Testsubstanz auf die isolierte Meerschweinchenorgane

3.7.1.1. Versuchspräparat - rechter Vorhof

In Kapitel 3.5.2. wurden die Präparierung sowie die Isolierung bereits erwähnt. Mittels der angebrachten Silberdrahthaken wurde das Organ nun in die Apparatur I eingesetzt und in das Organbad auf 35,5°C temperiert. Beim Einspannen sollte man jedoch darauf achten, den Vorhof nicht zu überdehnen, da es sonst die Autonomie des Sinusknotens beeinträchtigen würde. Deshalb konnte man zusätzlich die Länge der Silberdrähte so anpassen, sodass das Präparat locker eingespannt werden konnte. Dann wurde das Präparat ins Organbad eingetaucht, und die Geräteeinstellungen konnten nun vorgenommen werden.

Man begann mit dem Einschalten des Schreibers und stelle ihn auf 5 mV und auf eine Geschwindigkeit von 5mm/sec ein. Das "Zero" Drehrad diente dazu, den Nullpunkt auf dem Millimeterpapier einzustellen. Als nächstes wurde der Amplifier eingeschaltet und entriegelt. Der verstellte Schreiber wurde dann mithilfe einer Drehschraube, die sich am Verstärker befindet, in die Nullposition gebracht. Um die Vorspannung des Organs von 10,4 cm zu erreichen, verwendete man wieder den Feintrieb. Diese Einstellung ist notwendig, um für alle Versuche die gleichen Ausgangsbedingungen zu schaffen. Danach stellte man mit der Drehschraube am Verstärker nochmal die Nullposition ein. Falls die eintretenden Amplituden zu klein zum Zählen wären, konnte man den Schreiber auch auf 2 mV oder 1 mV stellen, statt 5 mV.

Nun wo die Vorbereitungsphase zu Ende war, wurde eine 20 minütige Gewöhnungsphase des Präparates an die neue Umgebung eingeleitet. Danach konnte mit den ersten Messungen, in unserem Fall waren es noch Kontrollmessungen, begonnen werden. Hierfür wurde der Schreiber alle 5 Minuten abgesenkt und in einer Dauer von 12 Sekunden erfolgte die Messung. Auf das Millimeterpapier bezogen, ist das eine Länge von 6 Kästchen und ein Kästchen ist 1cm lang. War die Schlagfrequenz bei 4 Messungen konstant, erst dann konnte man dem Präparat die Substanz zugeben. Nachdem man die erste Konzentration zugegeben hat, erfolgte eine Messung alle 5 Minuten, und dies über eine Zeitspanne von 45 Minuten. Dann kommt die Zugabe der nächsten Konzentration.

Bei der Substanzzugabe musste man vorsichtig sein, denn falls Silberdrähte oder der Kraftwandler berührt werden, könnte es zu Fehlaufzeichnungen kommen.

3.7.1.2. Versuchspräparat - Papillarmuskel

In Kapitel 3.5.1. wurden die Präparierung sowie die Isolierung des Papillarmuskels bereits erwähnt. An der vorgesehenen Halterung wurde das Präparat mithilfe eines befestigten Silberhakens eingehängt. Man fixierte es zwischen Plexiglasscheibe und Platinelektrode und senkte es ins Organbad ab. Auch dort befand sich das Organ einige Zeit, um sich an die neue Umgebung zu gewöhnen. Die Vorspannung wurde auf 4 cm, dies entspricht auch 3,92 mN, gestellt. Da die Spannung während des gesamten Versuchs konstant sein musste, stellte man oft während des Versuchs den Feintrieb von Neuem ein.

Im Gegensatz zum Vorhof, hat der Papillarmuskel keine Spontanaktivität. Aus diesem Grund war eine elektronische Reizung nötig und dies geschah mit dem Reizgerät A310 Accupulser der Firma WPI(World Precision Instruments). Es handelte sich um Rechteckimpulse von 10ms und einer Dauer von 3 ms, sowie einer Frequenz von 1 Hz, das 60 Amplituden pro Minute entsprach. Um ein kontinuierliches Schlagen des Muskels sicherzustellen, musste die einlaufende Stromstärke ungefähr 10% über der minimalen Reizschwelle liegen. Falls jedoch während des Versuchs kontinuierlich eine hohe Stromstärke angelegt werden würde, käme es durch die Entleerung des Katecholaminspeichers zu einer starken Abnahme der Amplitude.

Falls ohne die Anwendung von Stromschlägen, trotzdem Aktivität vorliegt, so waren Purkinje-Fasern dafür zuständig. Um den Versuch weiter fortführen zu können, mussten diese Fasern entfernt werden. Es wurden dieselben Einstellung, wie beim Vorhof, vorgenommen. Die Stärke betrug 5mV, die Geschwindigkeit 5 mm/sec und jede 5 Minuten erfolgte eine Aufzeichnung von 5 Amplituden. Um die Länge der Amplituden besser messen zu können, wurde bei jeder Konzentration am Ende mit 20 mm/sec gemessen. Alle 45 Minuten wurde die Substanz nach dem bekannten Schema zugegeben.

3.7.1.3. Versuchspräparat - Darm

Die Präparierung des Darms erfolgte wie im Kapitel 3.5.5. beschrieben wurde. Die zwei Silberhaken dienten dazu, das Präparat in die Apparatur B einzuspannen. Es wurde dann ins Organbad abgesenkt und die Einstellungen der nötigen Geräte wurden vorgenommen. Die Reihenfolge war wie beim Vorhof.

Jedoch nur die Vorspannung betrug 5 cm, und dies entspricht 4,92 mN. Es folgte eine 20 minütige Equilibrierungsphase, wo die Kontraktionen der Darmmuskulatur erkennbar waren. Auch hier nahm man den Feintrieb zur Hilfe, um den Schreiber vor Versuchsbeginn auf Null zu stellen. Der Schreiber wurde dann abgesenkt und mittels eines Ablaufschlauchs wurde die Nährlösung aus dem Organbad entfernt. Man ersetzte die Tyrode durch eine exakte 25 ml Kaliumchloridlösung. Von dieser Lösung sind 60 mmol vorhanden und sie wurde wie in Kapitel 3.3.1 hergestellt. Nachdem man die Lösung zugegeben hat, konnte man sofort eine Kontraktion des Darmes beobachten. Es erfolgte jedoch sehr schnell eine Abnahme der Kontraktion und sie schwankte dann zirka bei der

Hälfte der maximalen Kontraktion. Eine maximale Kontraktion, außer bei Herzorganen, ist notwendig, um eine spasmolytische oder dilatierende Wirkung der Testsubstanzen erzielen zu können. Es kam dann zu einer 45 minütigen Gleichgewichtseinstellung, die abgewartet werden musste. Betrachtete man das Millimeterpapier, so zeigte sich das in Form von Geraden. Falls der Darm pro Zeiteinheit kontinuierlich an Spannung verlor, so war man in einer instabilen Phase und das Präparat konnte nicht mehr verwendet werden. Sonst begann man mit der Zugabe der Testsubstanzen und steigerte die Konzentration alle 45 Minuten.

3.7.1.4. Versuchspräparat - Aorta

Hier hatte man den Vorteil, dass die Aorta bereits nach der Präparierung in Form eines Ringes vorhanden war. Somit konnte sie direkt in die Apparatur B zwischen zwei Drähte eingehängt werden. Jedoch mit Vorsicht, denn die Präparate sollte nicht gedehnt werden. Es erfolgte die Absenkung ins Organbad und die Einschaltung der Geräte, sowie die Nullpunkteinstellung. Bei der Aorta betrug die Vorspannung 10 cm bei 10 mV, was 19,6 mN entspricht. Man fuhr mit der 20 minütigen Gleichgewichtseinstellung in der Nährlösung fort und schaltete den Schreiber auf 5 mV um. Danach kam die Nullpunkteinstellung mithilfe des Feintriebs. Man ließ dann die Tyrode ab und ersetzte sie durch eine 90 mmol Kaliumchloridlösung, die in Kapitel 3.3.1. hergestellt wurde. Eine Kontraktion war zu erkennen und diese sollte nach mindestens 45 Minuten in der Form einer Geraden sichtbar sein, um einen Erfolg des Versuchs zu erzielen. Es konnte anschließend alle 45 Minuten die Testsubstanz nach dem Pipettiermuster zugegeben werden.

3.7.1.5. Versuchspräparat - Lungenarterie

So wie die Aorta wurde die Arteria pulmonalis eingehängt, in das Organbad, mit der Tyrode transferiert, mit der Ausnahme, dass bei 5 mV, was 9,81 mN entspricht, gearbeitet wurde. Auch die Messung der Kontraktionsabnahme sowie die Substanzzugabe nach Erreichung des „Steady State“, war gleichzustellen mit der der Aorta.

3.7.2. Untersuchung der Abspaltung von H₂S bei SWS 83 HCl

Hier wurde mit Acetylcholinesterase ein Versuch durchgeführt. Dies war notwendig, um Herauszufinden, ob die Abspaltung von H₂S aus SWS 83 HCl ein enzymatisch gesteuerter Vorgang ist. Denn für die Abspaltung im menschlichen Körper sind höchstwahrscheinlich Esterasen verantwortlich.

Dies geschah, indem die Aorta in die Apparatur eingespannt wurde. Es kam eine 45 minütige Equilibrierungsphase. Danach spritzte man 0,5 mg Enzym gelöst in 100 µl destilliertem Wasser, entspricht auch einer Enzymaktivität von 118 Einheiten, ins Organbad ein. Nach einer weiteren Wartezeit von 45 Minuten gab man dann SWS 83 HCl in einer Konzentration von 100 µmol/l dazu und man wartete wieder 45 Minuten.

3.8. Datenauswertung

3.8.1. Atrium cordis dexter

Am Vorhof überprüfte man die Schlagfrequenz des Herzens, auch Chronotropie genannt. Man bekam bei den Versuchen die Anzahl der Herzschläge für 12 Sekunden, wie es auch in Kapitel 3.7 angedeutet wurde. Der erhaltene Wert musste mit 5 multipliziert werden, um die Zahl der Schläge pro Minute zu erfahren. Weil es nach der Zugabe der Testsubstanz zu einer Veränderung der Herzschlaganzahl kam, konnte von einer negativen, positiven oder auch neutralen chronotropen Wirkung gesprochen werden.

3.8.2. Musculus papillaris

Hier testete man die Kontraktionskraft, oder auch als Inotropie bezeichnet, des Papillarmuskels. Dabei diente ein Lineal zur Vermessung der einlaufenden Amplituden. Danach multipliziert man die resultierenden cm mit dem Faktor 0,4, falls der Versuch bei 2 mV durchgeführt wurde. Der Faktor betrug aber 0,98, wenn bei 5 mV gearbeitet wurde.

3.8.3. Aorta, Arteria pulmonalis und terminales Ileum

Spasmolytische oder vasodilatierende Aktivitäten der Testsubstanzen wurden hier und den Organen untersucht. Um die möglich zu machen, war eine maximal Vorkontraktion der Organe von Nöten. Dies geschah mit einer Kaliumchlorid-Lösung. Als die Zugabe der Substanz erfolgte, zeichnete man den Zeitpunkt dieser Zugabe am Millimeterpapier ein. So konnte jede Veränderung nach der Substanzzugabe berechnet werden. Sobald die Substanzzugabe und die Plateauphase zu Ende war, maß man den Abstand vom Nulllinie und multiplizierte ihn mit dem Faktor 0,98 bei 5 mV. Bei 2 mV oder 10 mV benutzte man jedoch den Faktor 0,2 oder 2.

3.9. Statistik

Die Berechnung des Mittelwerts, des Standardfehlers des Mittelwerts (SEM) und EC_{50} erfolgte mithilfe des Programms "Sigma Plot 9.0". Da man auch die Irrtumswahrscheinlichkeiten der Versuchsreihen ausrechnen wollte, nahm man den "Student T-Test" zur Hand. Die signifikanten Werte lauteten $< 5\%$, was auch $P < 0,05$ entspricht, und $< 1\%$, das $P < 0,01$ entspricht. Hoch signifikante Werte waren $< 0,1\%$, das mit $P < 0,001$ gleichzustellen ist.

4. Ergebnisse

Für die Versuchsreihen als Organe wurden wie schon in den vorangegangenen Kapiteln erwähnt, rechte Vorhof, die Lungenarterie, der Darm, die Aorta und der Papillarmuskel herangezogen, wobei im Durchschnitt pro Testsubstanz und pro Organ fünf Versuche durchgeführt wurden.

Die einzelnen Ergebnisse der Testsubstanzen SWS 83 HCl und SWS 84 HCl an den jeweiligen Organe vorgeführt und näher erläutert.

4.1. Wirkung von SWS 83 HCl auf verschiedene isolierte Organe von Meerschweinchen

4.1.1. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Aorta descendens

Wie in Kapitel 3.5.3. beschrieben, wurde eine potentielle vasodilatierende Wirkung der Testsubstanz SWS 83 HCl auf die glatte Muskulatur der Aorta untersucht. Vier Versuche wurden zu diesem Zweck durchgeführt.

Die Arithmetischen Mittelwert jeder Konzentration wurden aus der erhaltenen Messergebnissen berechnet und ein Kontrollwert von $9,75 \pm 0,64$ mN bestimmt. Eine sehr schwache vasodilatierende Wirkung zeigte die Substanz auf die Gefäß der Aorta. Infolgedessen konnte erneut keine EC_{50} erreicht werden.

Es kam zu einer weiteren sehr leichten Kontraktion der Aorta nach der Zugabe von $1 \mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz, die aber nach Zugabe der restlichen Konzentrationen relativ konstant bleibt.

Tabelle 4: Ergebnisse von SWS 83 HCl an der Aorta descendes

SWS 83 HCl [μmol/l]	f_c ± SEM [mN]	f_c ± SEM [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	9,75 ± 0,64	0,00 ± 0,00	4	-
1	9,41 ± 0,63	-3,48 ± 1,86	4	n.s.
3	8,82 ± 0,67	-9,51 ± 3,36	4	n.s.
10	8,27 ± 0,71	-15,15 ± 4,57	4	n.s.
30	7,70 ± 0,58	-20,84 ± 4,33	4	0,05
100	7,13 ± 0,59	-26,66 ± 4,66	4	0,05

Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 17 präsentiert in Form einer Graphik den Einfluss der Testsubstanz SWS 83 HCl auf die Aorta descendens und zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft der Isolierten Aorta nach kumulativer Zugabe von SWS 83 HCl und widerspiegelt die schwach ausgeprägte vasodilatierende Eigenschaft der Substanz. Die x-Achse bezeichnet die Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft und die senkrechten Balken deren Standardfehler stellen die Punkte entlang der Konzentrations-wirkungskurve.

Abbildung 17: Dosis-Wirkungskurve von SWS 83 HCl an der Aorta descendens

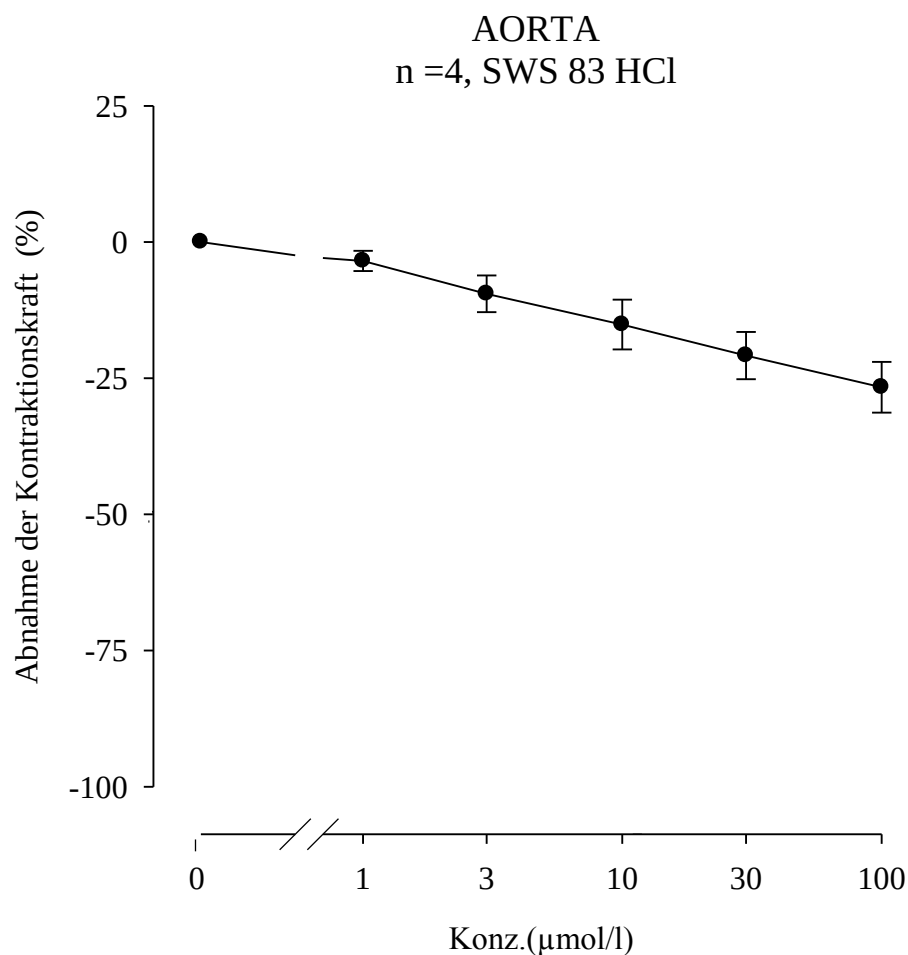
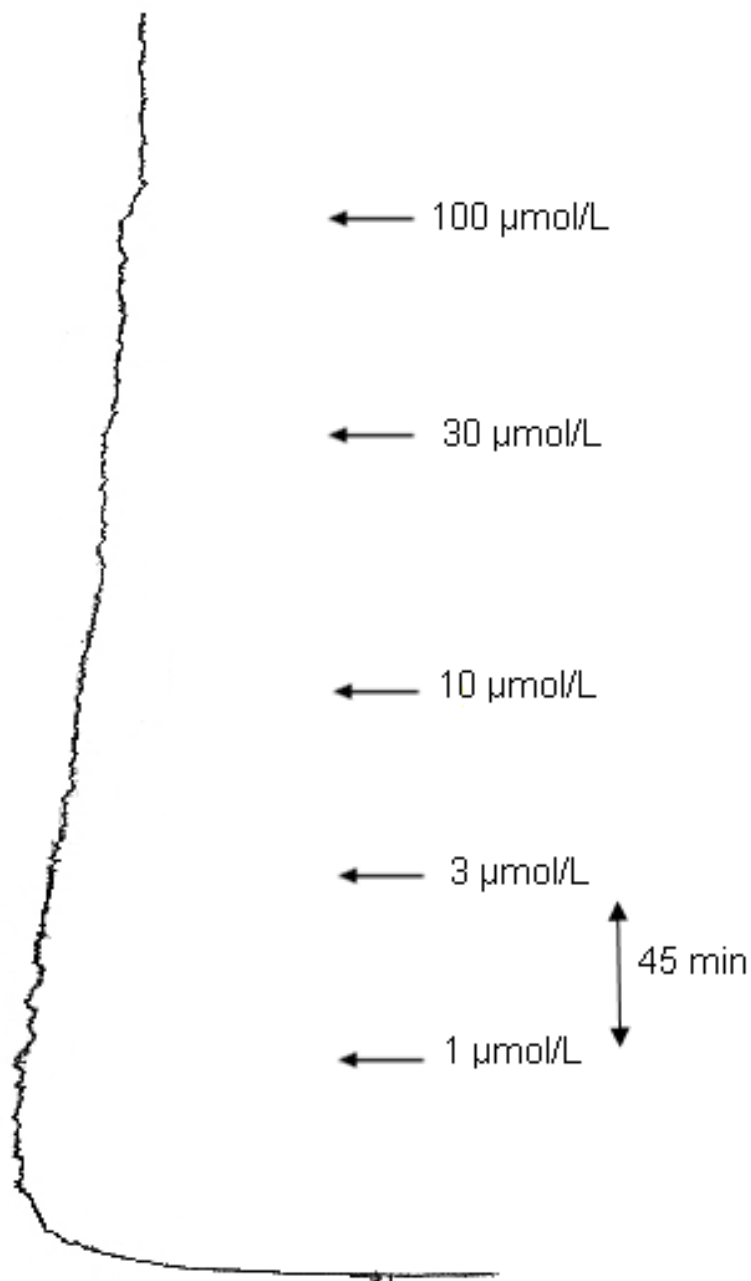


Abbildung 18 stellt die Originalaufzeichnung des Schreibers der Wirkung von SWS 83 HCl auf die Aorta descendens und dadurch zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft der Aorta descendens. In diese Abbildung markieren die Pfeile den Zeitpunkt der Zugabe von Substanz. Die Abstände zwischen den einzelnen Substanzzugaben betrugen jeweils 45 Minuten.

Abbildung 18: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 83 HCl auf die Aorta descendes



4.1.2. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Arteria pulmonalis

Die Wirkung von Testsubstanz SWS 83 HCl wurde auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis gemäß Kapitel 3.7.1.5 getestet.

Die arithmetischen Mittelwerte jeder Konzentration wurden für die Auswertung berechnet und ein Kontrollwert von $7,26 \pm 0,88$ mN bestimmt.

Aus der Tabelle ist abzulesen, dass die Testsubstanz zu einer geringen Abnahme der Kontraktionskraft führt und der gewünschte Effekt trat nicht ein und eine EC_{50} konnte nicht erreicht werden.

Tabelle 5: Ergebnisse von SWS 83 HCl an der Arteria pulmonalis

SWS 83 HCl [μmol/l]	$f_c \pm SEM$ [mN]	$f_c \pm SEM$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$7,26 \pm 0,88$	$0,00 \pm 0,00$	4	-
1	$7,60 \pm 1,19$	$-0,6 \pm 2,11$	4	n.s.
3	$7,40 \pm 1,17$	$-3,57 \pm 1,61$	4	n.s.
10	$7,13 \pm 1,10$	$-6,33 \pm 1,12$	4	n.s.
30	$6,87 \pm 0,97$	$-9,13 \pm 2,32$	4	n.s.
100	$6,43 \pm 0,81$	$-14,39 \pm 2,80$	4	n.s.

Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 19 zeigt den Einfluss von SWS 83 HCl auf die Arteria pulmonalis graphisch. Es kommt zu einer leichten Abnahme der Kontraktionskraft, das heißt die Substanz besitzt einen leichten vasodilatierenden Effekt und eben der gewünschte Effekt trat nicht ein und eine EC_{50} konnte nicht erreicht werden. Die x-Achse bezeichnet die Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %.

Abbildung 19: Dosis-Wirkungskurve von SWS 83 HCl an der Arteria pulmonalis

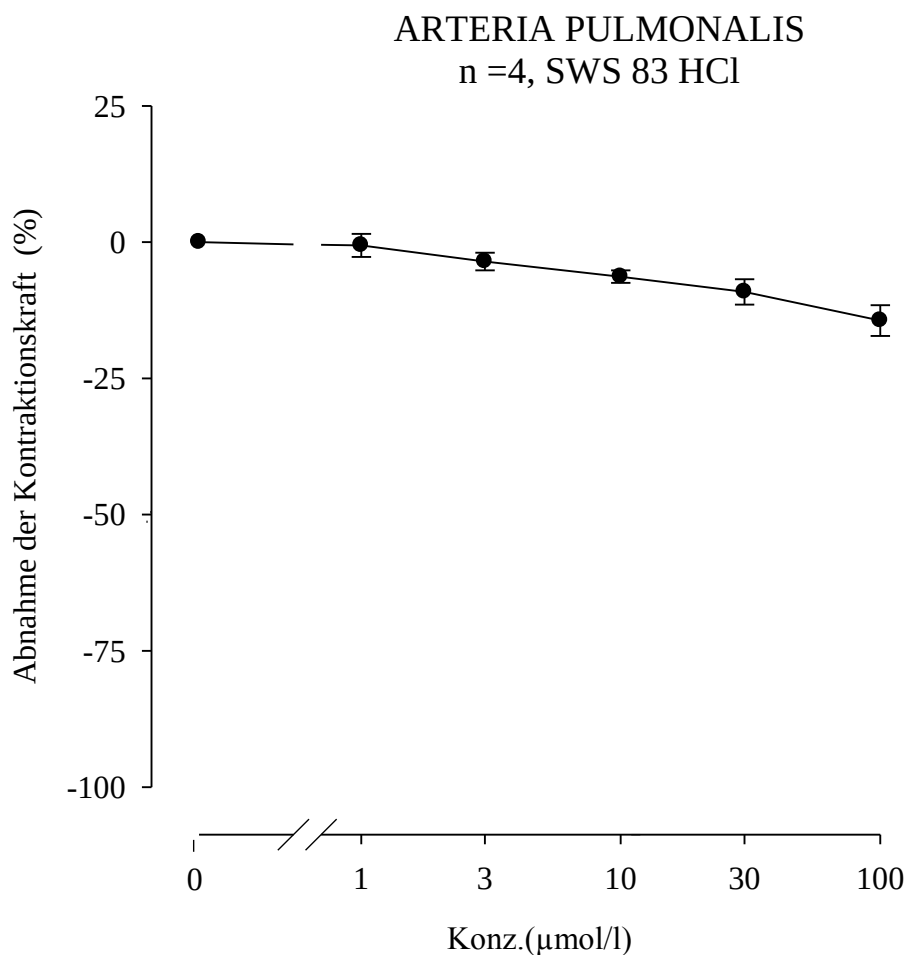
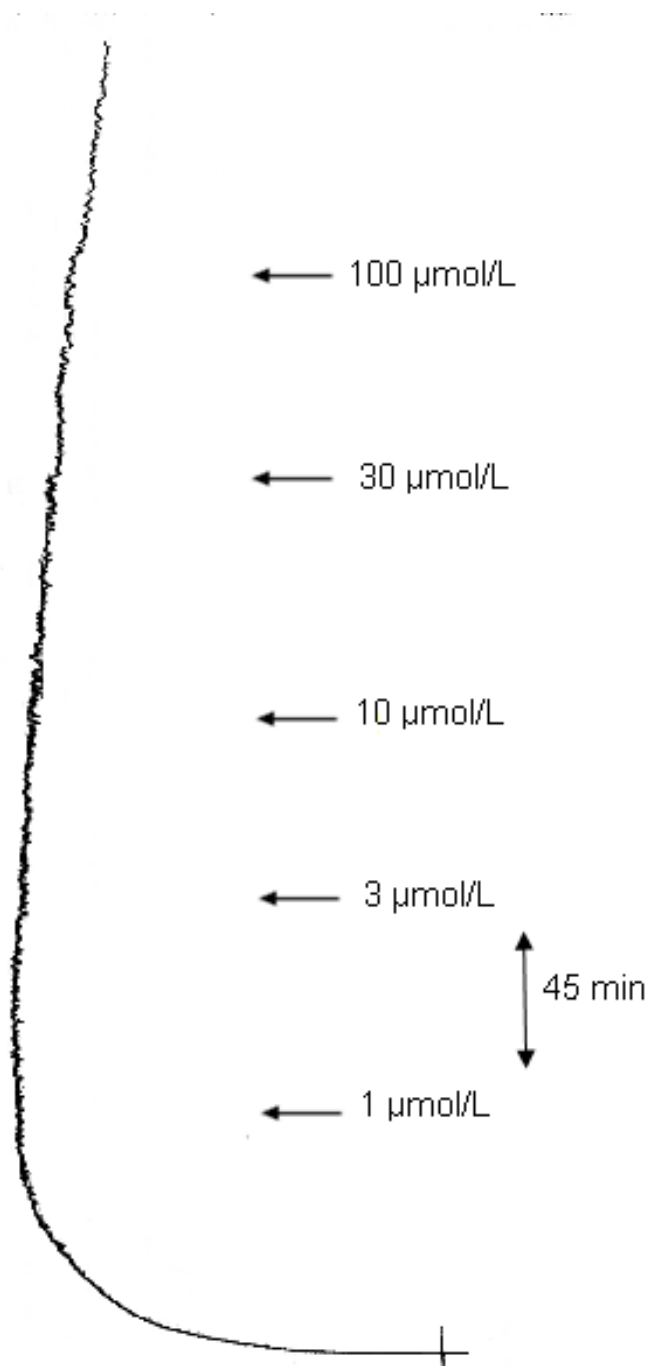


Abbildung 20 zeigt die kontinuierliche Aufzeichnung der Kontraktionskurve mittels Schreiber. Die zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft durch Wirkung von SWS 83 HCl auf der Arteria pulmonalis. In dieser Abbildung markieren die Pfeile den Zeitpunkt der Zugabe von Substanz. Die Abstände zwischen den einzelnen Substanzzugaben betrugen jeweils 45 Minuten.

Abbildung 20: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 83 HCl auf die Arteria pulmonalis



4.1.3. Wirkung von SWS 83 HCl auf das terminale Ileum

Vier Versuche mit SWS 83 HCl wurden nach Vorschriften in Kapitel 3.7.1.3. durchgeführt um eine vasodilatierende Wirkung bzw. spasmolytische Wirkung am terminalen Ileum zu finden.

Die arithmetischen Mittelwerte jeder Konzentration wurden für die Auswertung berechnet und ein Kontrollwert von $5,56 \pm 0,66$ mN bestimmt.

Eine kontinuierliche Abnahme der Kontraktionskraft ist aus der Tabelle ersichtlich, aber ein EC_{50} -Wert konnte nicht erreicht werden.

Tabelle 6: Ergebnisse von SWS 83 HCl am terminalen Ileum

SWS 83 HCl [μmol/l]	$f_c \pm SEM$ [mN]	$f_c \pm SEM$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$5,56 \pm 0,66$	$0,00 \pm 0,00$	4	-
1	$4,98 \pm 0,69$	$-11,56 \pm 2,79$	4	n.s.
3	$4,79 \pm 0,71$	$-15,15 \pm 2,86$	4	n.s.
10	$4,55 \pm 0,65$	$-19,04 \pm 3,17$	4	n.s.
30	$4,52 \pm 0,48$	$-18,22 \pm 4,73$	4	n.s.
100	$3,66 \pm 0,46$	$-34,00 \pm 2,25$	4	0,05

Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 21 zeigt die graphische Darstellung der Abnahme der Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileum nach Zugabe von SWS 83 HCl. Diese geringfügige Kontraktionskraftabnahme ist auf eine leichte vasodilatierende Wirkung von SWS 83 HCl zurückzuführen. Das heißt die Substanz besitzt einen schwach spasmolytischen Effekt und eben der gewünschte Effekt trat nicht und eine EC50 konnte nicht erreicht werden. Die x-Achse bezeichnet die Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %.

Abbildung 21: Dosis-Wirkungskurve von SWS 83 HCl am terminalen Ileum

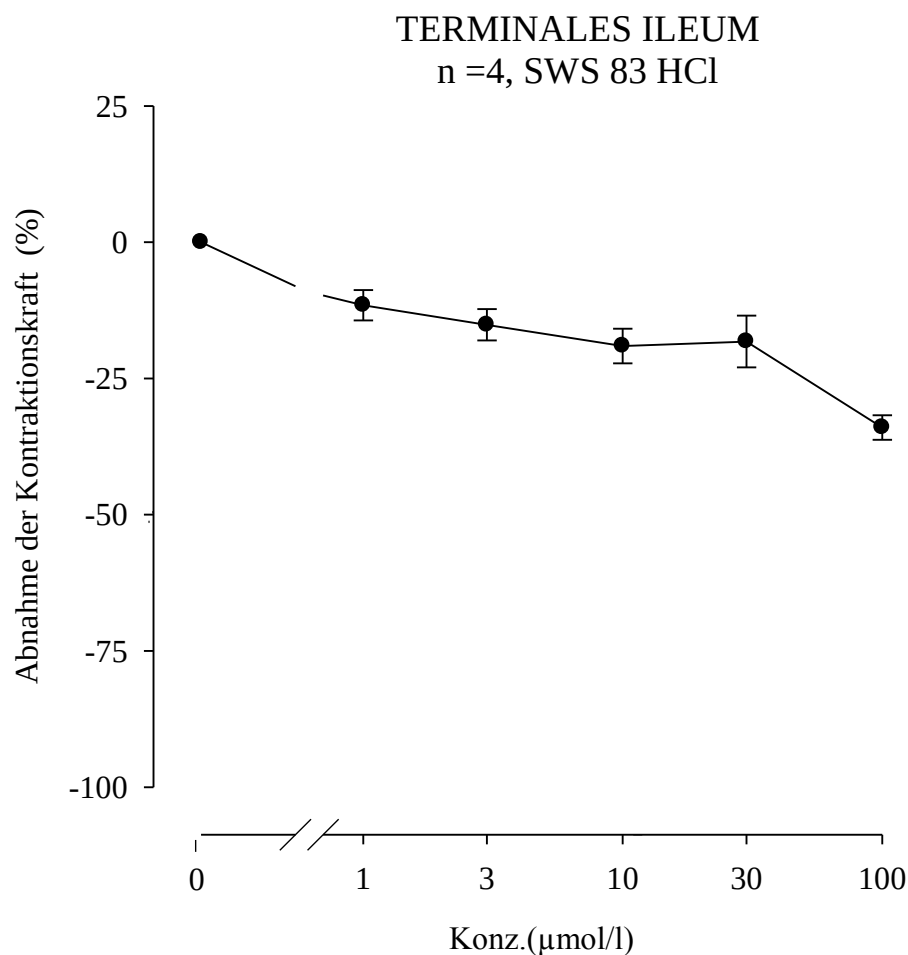
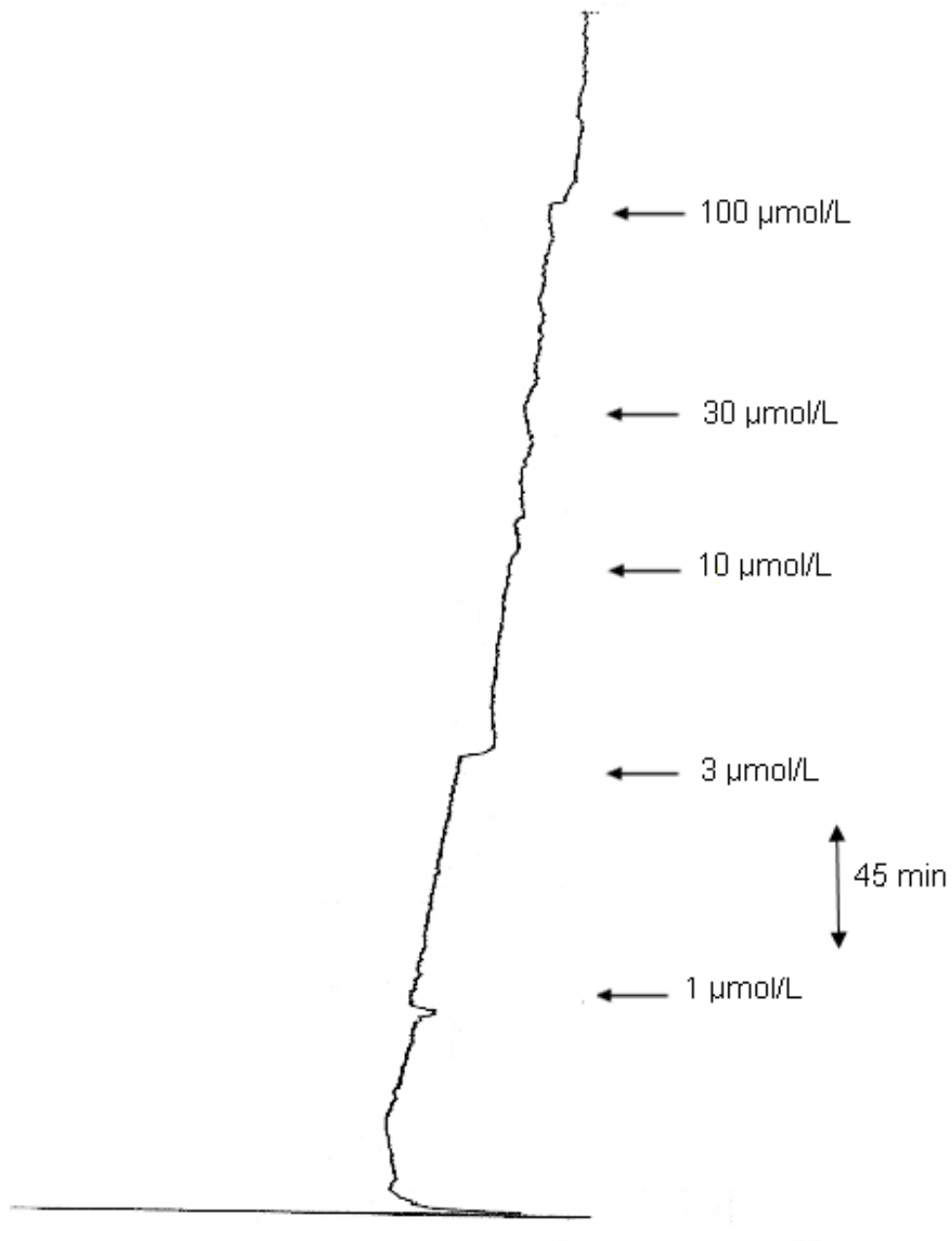


Abbildung 22 stellt den Effekt von SWS 83 HCL auf das terminale Ileum graphisch dar. In diese Abbildung markieren die Pfeile den Zeitpunkt der Zugabe von Substanz. Die Abstände zwischen den einzelnen Substanzzugaben betrugen jeweils 45 Minuten.

Abbildung 22: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 83 HCl auf das terminale Ileum



4.1.4. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Atrium cordis dexter

Die Wirkung von SWS 83 HCl wurde in 3 Versuchsreihen auf die Schlagfrequenz spontan schlagender Vorhöfe untersucht. Der exakte Versuchsablauf wurde bereits in Kapitel 3.7.1.1. beschrieben.

Die arithmetischen Mittelwerte wurde aus den aufgezeichneten Schlägen pro Minute alle drei Versuchen für die Auswertung ermittelt. Ein Kontrollwert von $185,00 \pm 12,58$ Schläge/min wurde berechnet, bei dem noch keine Substanz erfolgt war.

Es war nicht feststellbar eine signifikante Wirkung auf die Chronotropie. Es kam zu einer leichten negative chronotropen Wirkung und wurde es auch kein EC_{50} erreicht.

Tabelle 7: Ergebnisse von SWS 83 HCl an der Atrium cordis dexter

SWS 83 HCl [μmol/l]	f ± SEM [mN]	f ± SEM [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$185,00 \pm 12,58$	$0,00 \pm 0,00$	3	-
1	$191,67 \pm 17,64$	$13,30 \pm 3,15$	3	n.s.
3	$185,00 \pm 20,21$	$-0,48 \pm 4,54$	3	n.s.
10	$191,67 \pm 17,69$	$3,30 \pm 3,15$	3	n.s.
30	$180,00 \pm 17,56$	$-3,08 \pm 2,73$	3	n.s.
100	$150,00 \pm 18,03$	$-19,38 \pm 4,89$	3	0,05

Abkürzungen in der Tabelle:

- fc = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 23 veranschaulicht die Wirkung von SWS 83 HCl auf den rechten Vorhof. Substanz besitzt einen sehr schwachen vasodilatierenden Effekt und eben der gewünschte Effekt trat nicht und eine EC_{50} konnte nicht erreicht werden. Die x-Achse bezeichnet die Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %. Die Balken geben die Größe des Standardfehlers an und die Punkte symbolisieren die Mittelwerte der jeweiligen Konzentrationen.

Abbildung 23: Dosis-Wirkungskurve von SWS 83 HCl am Atrium cordis dexter

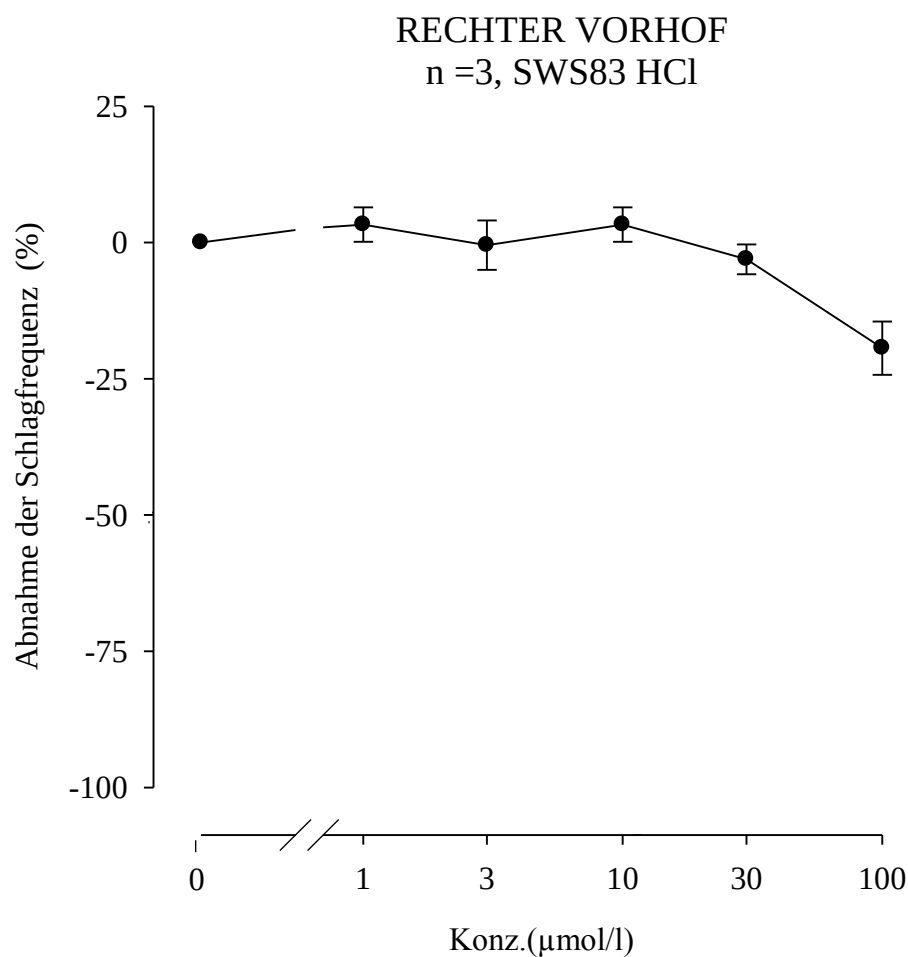
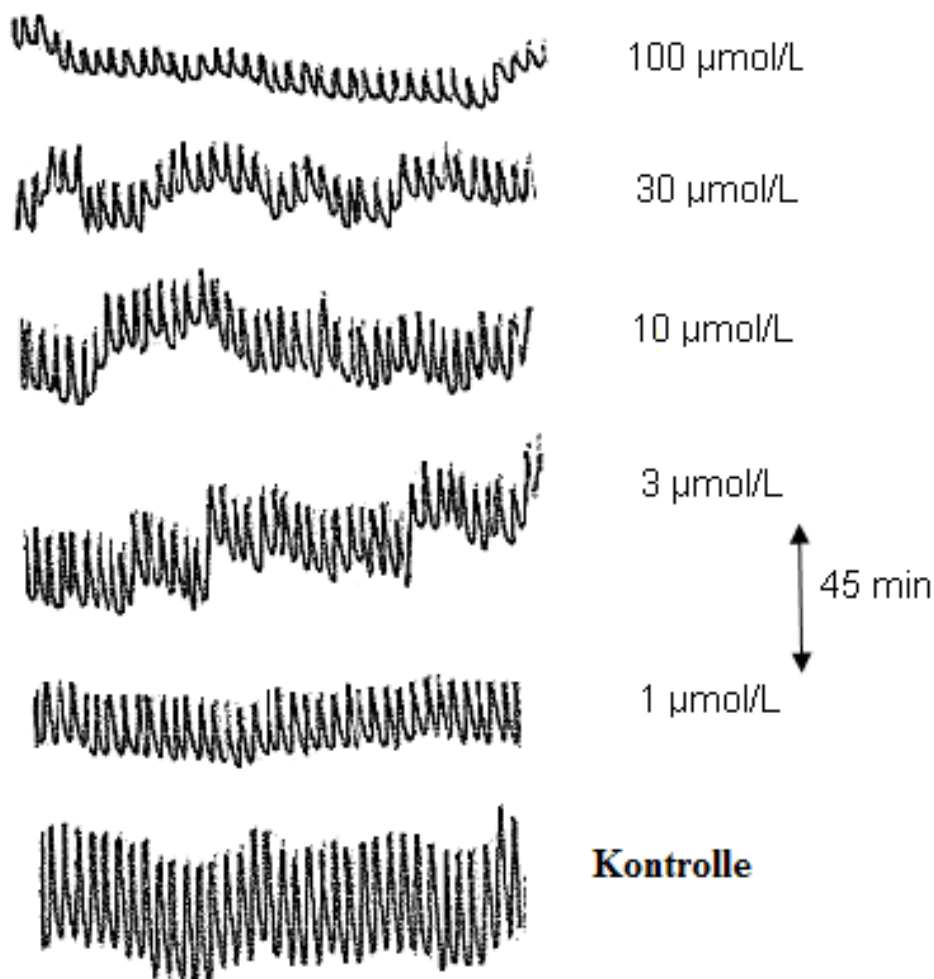


Abbildung 24 zeigt die Änderung der Schlagfrequenz des rechten Vorhofs und die Anzahl der Herzschläge in 12 Sekunden bei den jeweiligen Konzentrationen und einem Verlauf von 45 Minuten mittels Schreiber, die nach kumulativer Testsubstanzgabe aufgenommen wurde. Durch Multiplikation der Amplituden mit dem Korrekturfaktor 5 erhält man die Schlagfrequenz pro Minute.

Abbildung 24: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 83 HCl auf die Atrium cordis dexter



4.1.5. Wirkung von SWS 83 HCl auf die Musculus papillaris

Der Einfluss der Substanz SWS 83 HCl wurde auf die Inotropie an den 5 Präparaten des Papillarmuskels überprüft. Näheres zur Durchführung der Versuche ist in Kapitel 3.7.1.2. zu beschreiben.

SWS 83 HCl wurde in Abständen von je 45 Minuten in den jeweiligen Konzentrationen kumulativ in das Organbad injiziert.

Ein Kontrollwert von $1,11 \pm 0,18$ mN wurde berechnet. Nach der ersten Substanzgabe wurde eine starke negativ inotrope Wirkung festgestellt, es wurde allerdings EC_{50} -Wert von 37 $\mu\text{mol/l}$ erreicht.

Tabelle 8: Ergebnisse von SWS 83 HCl an der Musculus papillaris

SWS 83 HCl [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [mN]	$f_c \pm \text{SEM}$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$1,11 \pm 0,18$	$0,00 \pm 0,00$	5	-
1	$1,03 \pm 0,19$	$-5,58 \pm 9,35$	5	n.s.
3	$0,90 \pm 0,14$	$-15,12 \pm 10,04$	5	n.s.
10	$0,70 \pm 0,14$	$-31,43 \pm 14,01$	5	0,05
30	$0,55 \pm 0,14$	$-47,41 \pm 11,92$	5	0,05
100	$0,32 \pm 0,14$	$-63,43 \pm 13,72$	5	0,01

Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 25 zeigt die starke negativ inotrope Wirkung auf den Papillarmuskel durch die Testsubstanz SWS 83 HCL .Es wurde ein EC_{50} -Wert bei $37 \mu\text{mol/l}$ erreicht. Die x-Achse zeigt die zugegebenen Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse die Änderung der Kontraktionskraft in %.

Die Punkte entlang der Konzentrations-Wirkungskurve stellen die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft dar und die senkrechten Balken deren Standardfehler.

Abbildung 25: Dosis-Wirkungskurve von SWS 83 HCl am Musculus papillaris

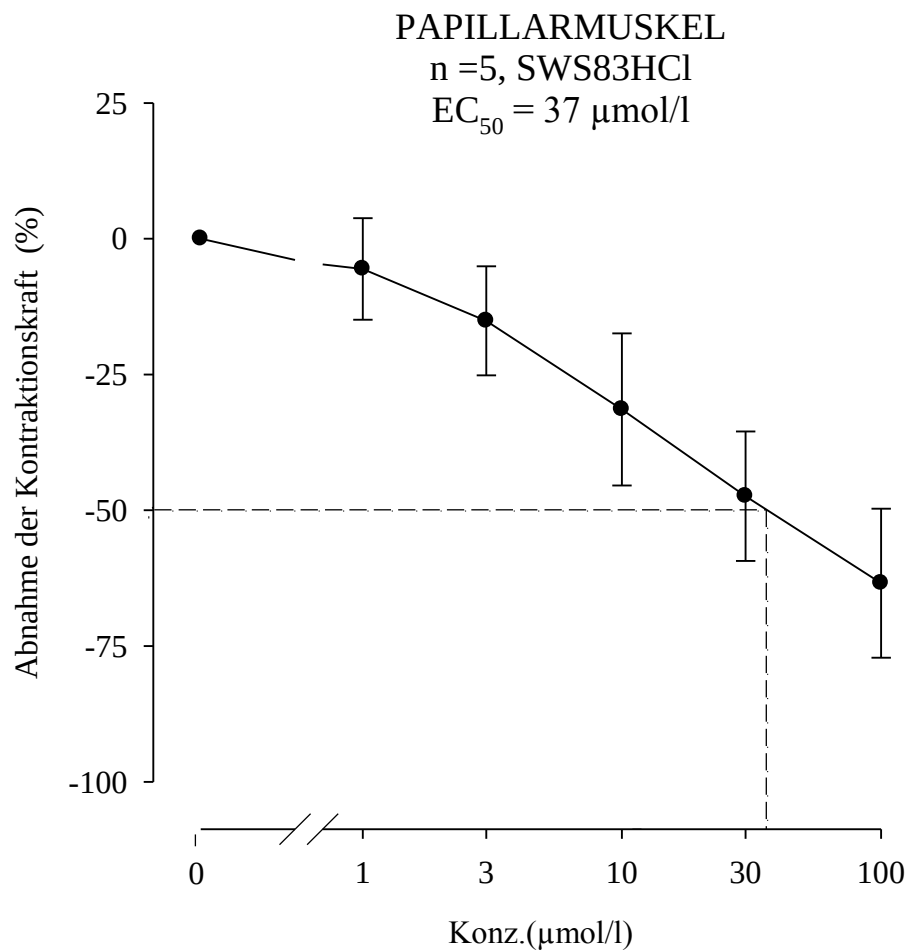
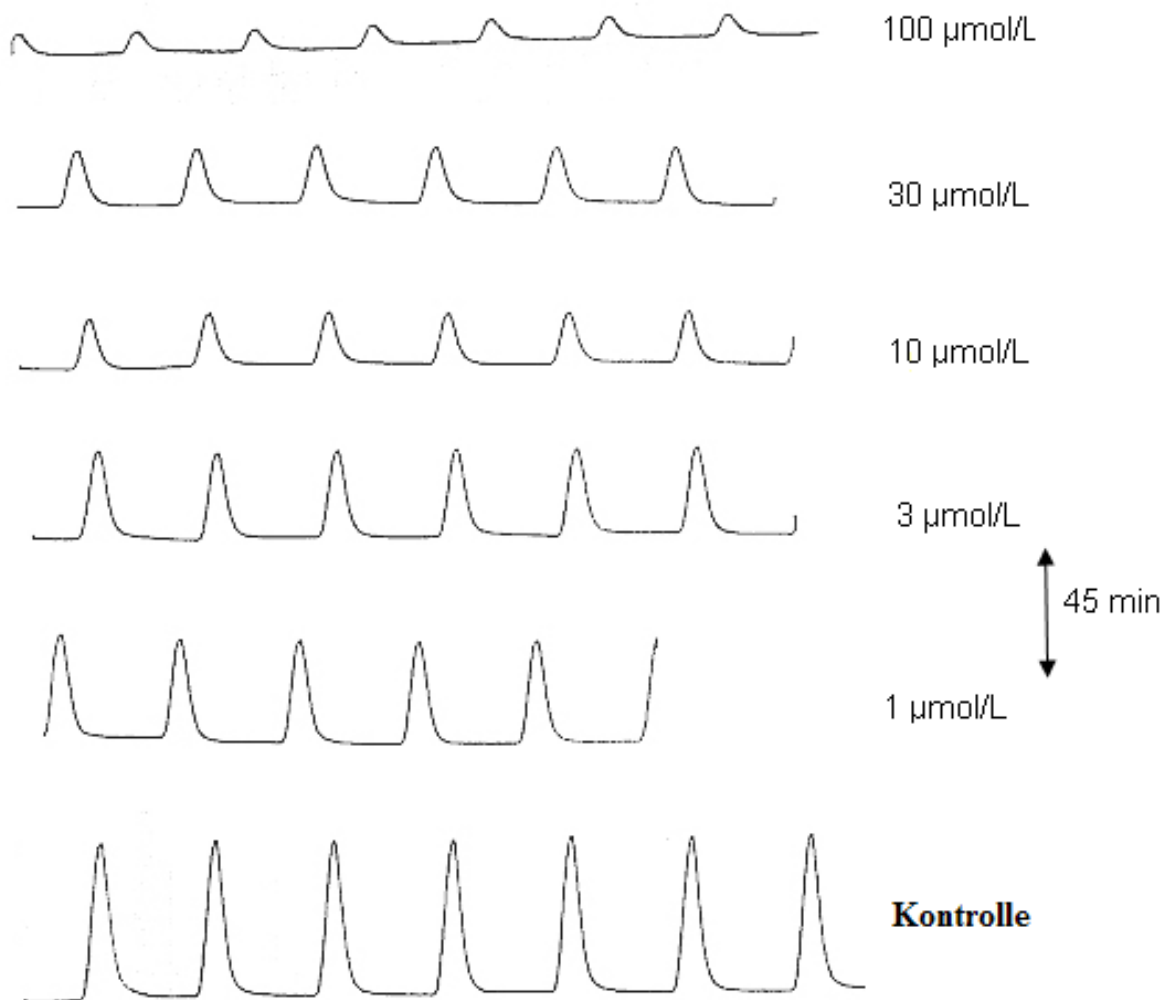


Abbildung 26 zeigt die Originalregistrierung des Schreibers, aus der die stark negativ inotrope Wirkung von SWS 83 HCL auf die Größe der Amplitude ersichtlich wird. Ein cm der Amplitude entspricht 0,98 mN.

Abbildung 26: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 83 HCl auf die Musculus papillaris



4.2. Wirkung von SWS 84 HCl auf verschiedene isolierte Organe von

Meerschweinchen

4.2.1. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Aorta descendens

Durch die Testsubstanz SWS 84 HCl wurde die gewünschte vasodilatierende Wirkung näher untersucht, indem man Fünf Versuchen durchgeführte.

Dabei wurde eine ganz schwache dilatierende Wirkung festgestellt und dadurch besitzt SWS 84 HCl kaum einen Effekt auf die Aorta. Ein EC_{50} –Wert konnte nicht erreicht werden. Der Kontrollwert von $5,90 \pm 1,42$ mN wurde festgelegt.

Tabelle 9: Ergebnisse von SWS 84 HCl an der Aorta descendens

SWS 84 HCl [μmol/l]	$f_c \pm SEM$ [mN]	$f_c \pm SEM$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$5,90 \pm 1,42$	$0,00 \pm 0,00$	5	-
1	$5,75 \pm 1,54$	$-4,26 \pm 2,97$	5	n.s.
3	$5,59 \pm 1,67$	$-9,07 \pm 5,67$	5	n.s.
10	$5,51 \pm 1,76$	$-11,60 \pm 7,07$	5	n.s.
30	$5,33 \pm 1,77$	$-15,01 \pm 7,65$	5	0,05
100	$4,99 \pm 1,72$	$-21,21 \pm 8,32$	5	0,05

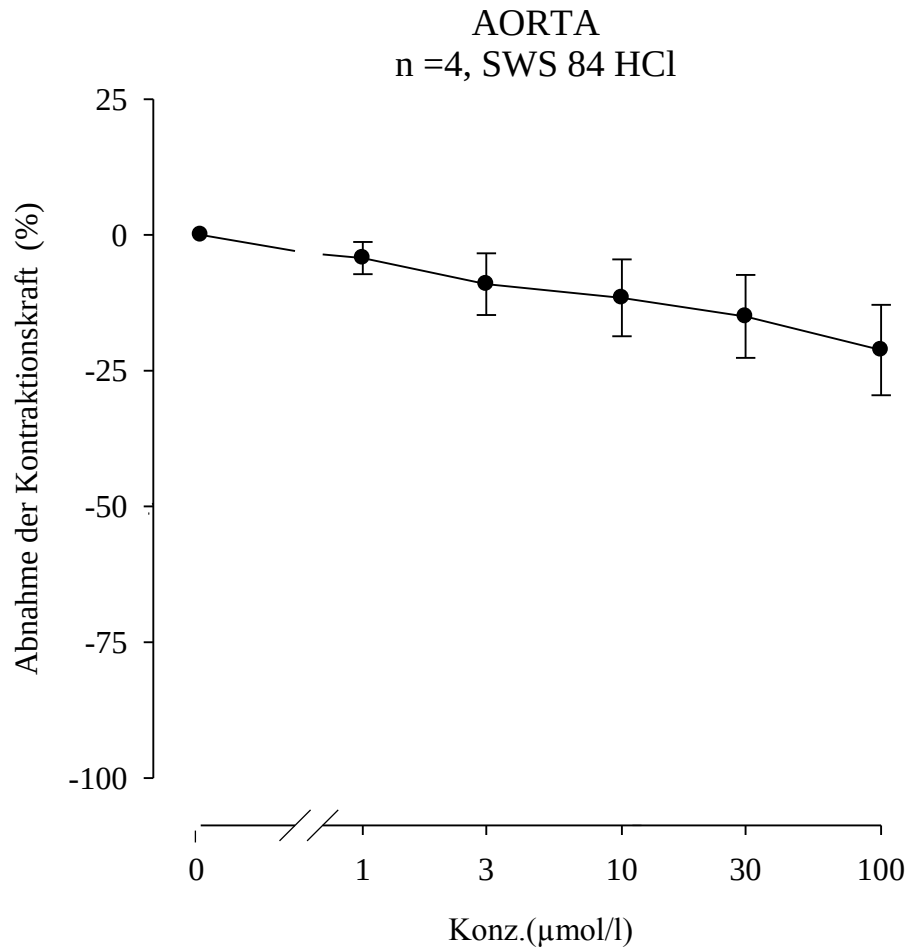
Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 27 veranschaulicht die Wirkung von SWS 84 HCl auf die Aorta. Eine sehr leichte vasodilatierende Wirkung wurde es gefunden. Es wurde auch kein EC_{50} -Wert erreicht. Die x

Achse zeigt die zugegebenen Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse die Änderung der Kontraktionskraft in %. Die Punkte entlang der Konzentrations-Wirkungskurve stellen die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft dar und die senkrechten Balken deren Standardfehler.

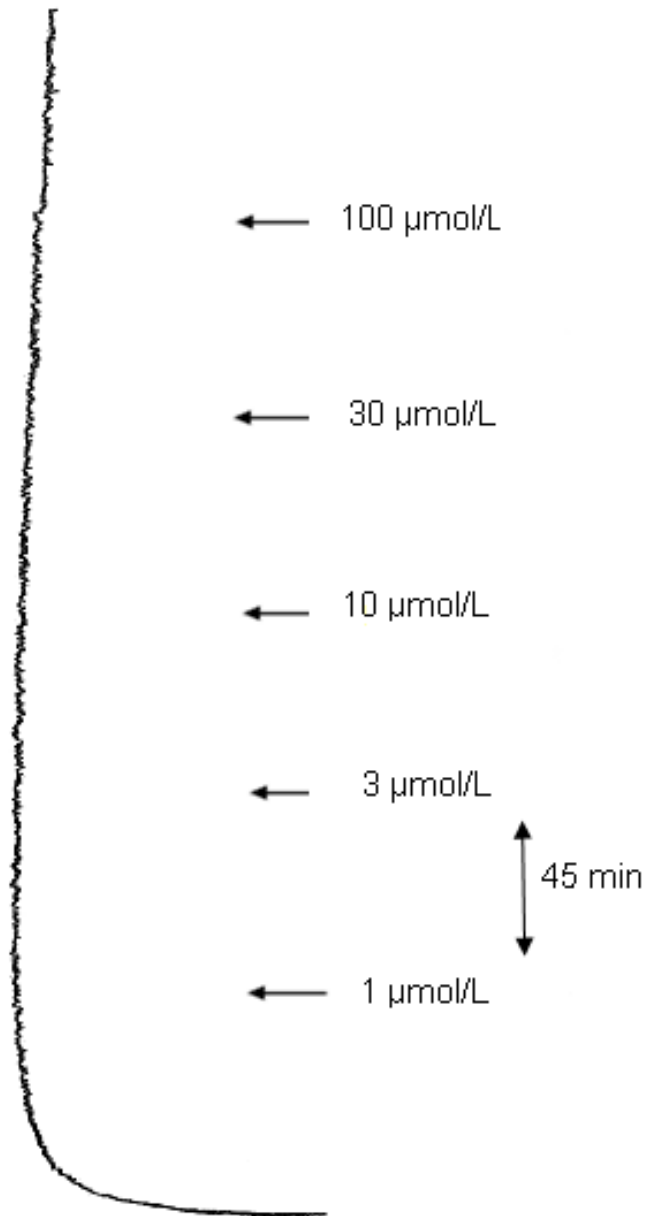
Abbildung 27: Dosis-Wirkungskurve von SWS 84 HCl an der Aorta descendes



In Abbildung 28 ist die Originalregistrierung des Schreibers der Wirkung von SWS 84 HCl auf die Aorta zu sehen. Bei der kumulativen Substanzgabe im Intervall von 45 Minuten

präsentiert diese Abbildung den Verlauf der Kontraktionskurve der Aorta.

Abbildung 28: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 84 HCl auf die Aorta descendes



4.2.2. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Arteria pulmonalis

Man erwartet sich eine vasodilatierende Wirkung an der Lungenarterie. In Kapitel 3.7.1.5. wurde bereits der genaue Versuchsablauf beschrieben.

Die arithmetischen Mittelwerte jeder Konzentration wurden für die Auswertung berechnet und ein Kontrollwert von $11,46 \pm 1,66$ mN bestimmt.

Es wurden 4 Versuchen durchgeführt und zum jeweiligen Referenzwert das Verhältnis berechnet. Keine dilatierenden Eigenschaften besitzt die SWS 84 HCL auf die Lungenarterie, das heißt der gewünschte Effekt trat nicht und ein EC_{50} konnte nicht erreicht werden.

Tabelle 10: Ergebnisse von SWS 84 HCl an der Arteria pulmonalis

SWS 84 HCl [μmol/l]	$f_c \pm SEM$ [mN]	$f_c \pm SEM$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$11,46 \pm 1,66$	$0,00 \pm 0,00$	4	-
1	$11,54 \pm 1,78$	$-0,12 \pm 1,22$	4	n.s.
3	$11,59 \pm 1,89$	$-0,02 \pm 2,75$	4	n.s.
10	$11,64 \pm 1,85$	$0,68 \pm 2,06$	4	n.s.
30	$11,76 \pm 1,78$	$2,24 \pm 0,87$	4	n.s.
100	$11,27 \pm 1,75$	$-2,01 \pm 2,24$	4	n.s.

Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 29 stellt die Wirkung von SWS 84 HCl auf die Arteria pulmonalis graphisch dar. Die x-Achse stellt die jeweiligen Konzentrationen in μmol/l, während die y-Achse die

Abnahme der Kontraktionskraft in % zeigt.

Abbildung 29: Dosis-Wirkungskurve von SWS 84 HCl an der Arteria pulmonalis

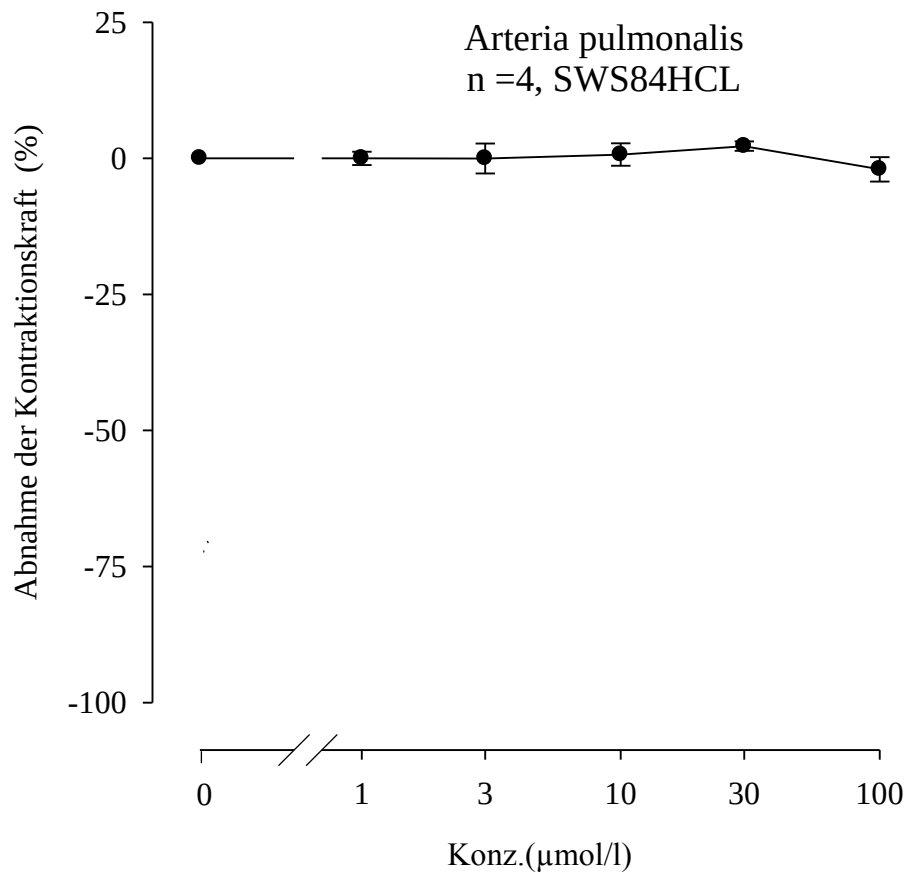
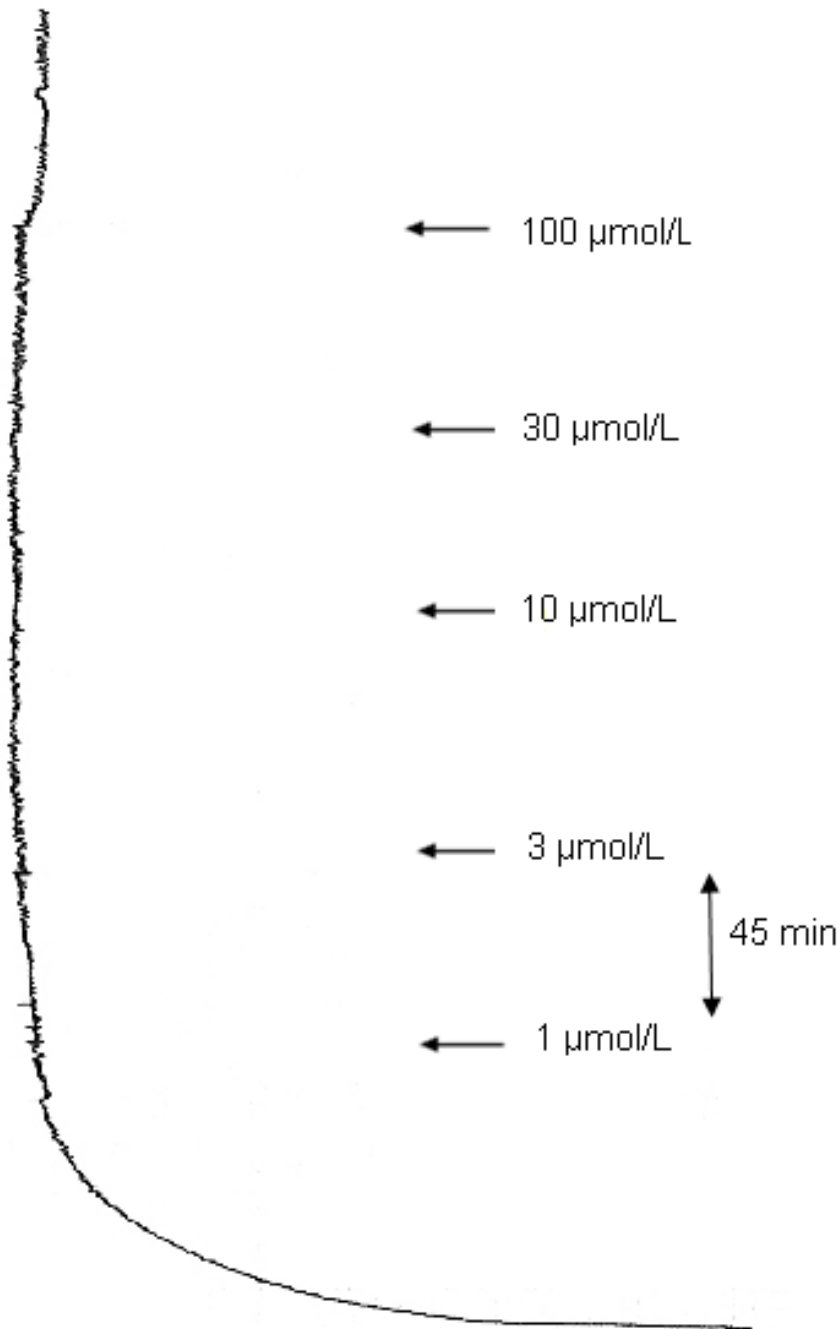


Abbildung 30 zeigt die Originalaufzeichnung des Schreibers der Wirkung von SWS 84 HCl auf die Arteria pulmonalis. Die Zeitpunkt der Injektion der Testsubstanz sind durch die Pfeile

in dieser Abbildung erkennbar, die stets in einem Intervall von 45 Minuten erfolgte.

Abbildung 30: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 84 HCl auf die Arteria pulmonalis



4.2.3. Wirkung von SWS 84 HCl auf das terminale Ileum

Die vasodilatierende Wirkung von SWS 84 HCl wurde im Rahmen von 5 Versuchsdurchgängen auf das terminale Ileum untersucht. In Kapitel 3.7.1.3. wurde der genaue Versuchsablauf beschrieben.

Ein Kontrollwert von $8,19 \pm 1,82$ mN sowie eine kontinuierliche Abnahme der Kontraktionskraft ist aus der Tabelle erkennbar, aber konnte nicht ein EC_{50} -Wert erreicht werden.

Eine leichte vasodilatierende Wirkung von SWS 84 HCL war bereits nach Zugabe von $1\mu\text{mol/l}$ sichtbar. Nach $100\mu\text{mol/l}$ ist eine deutliche Kontraktionskraftabnahme ersichtlich.

Tabelle 11: Ergebnisse von SWS 84 HCl am terminalen Ileum

SWS 84 HCl [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [mN]	$f_c \pm \text{SEM}$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$8,19 \pm 1,82$	$0,00 \pm 0,00$	5	-
1	$7,85 \pm 1,76$	$-4,70 \pm 1,85$	5	n.s.
3	$7,19 \pm 1,58$	$-12,82 \pm 3,20$	5	n.s.
10	$6,96 \pm 1,70$	$-16,97 \pm 3,98$	5	0,05
30	$6,18 \pm 1,52$	$-26,49 \pm 5,73$	5	0,05
100	$5,11 \pm 1,48$	$-40,59 \pm 8,61$	5	0,01

Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 31 stellt den Wirkung von SWS 84 HCl bei unterschiedlichen Konzentrationen auf den Dünndarm graphisch dar. Eine leichte Spasmolytische Aktivität von SWS 84 HCl

sowie eine leichte Abnahme der Kontraktionskraft ist ersichtlich. Die x-Achse stellt die jeweiligen Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft in % zeigt.

Abbildung 31: Dosis-Wirkungskurve von SWS 84 HCl am terminalen Ileum

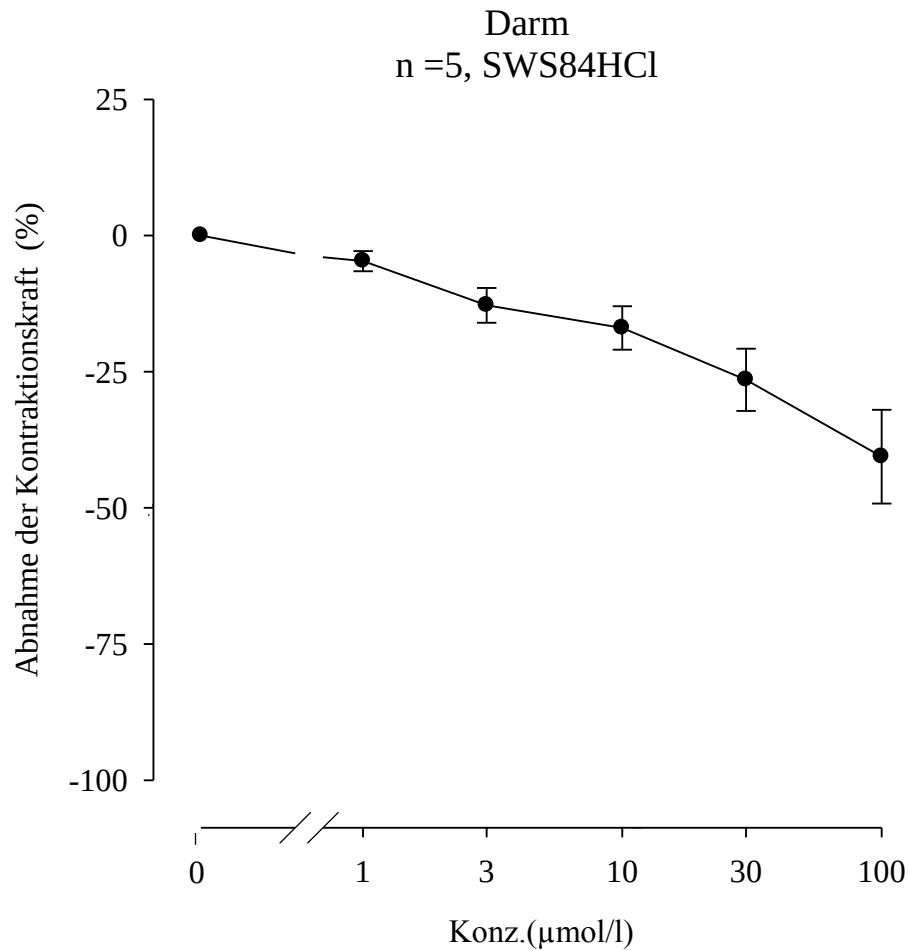
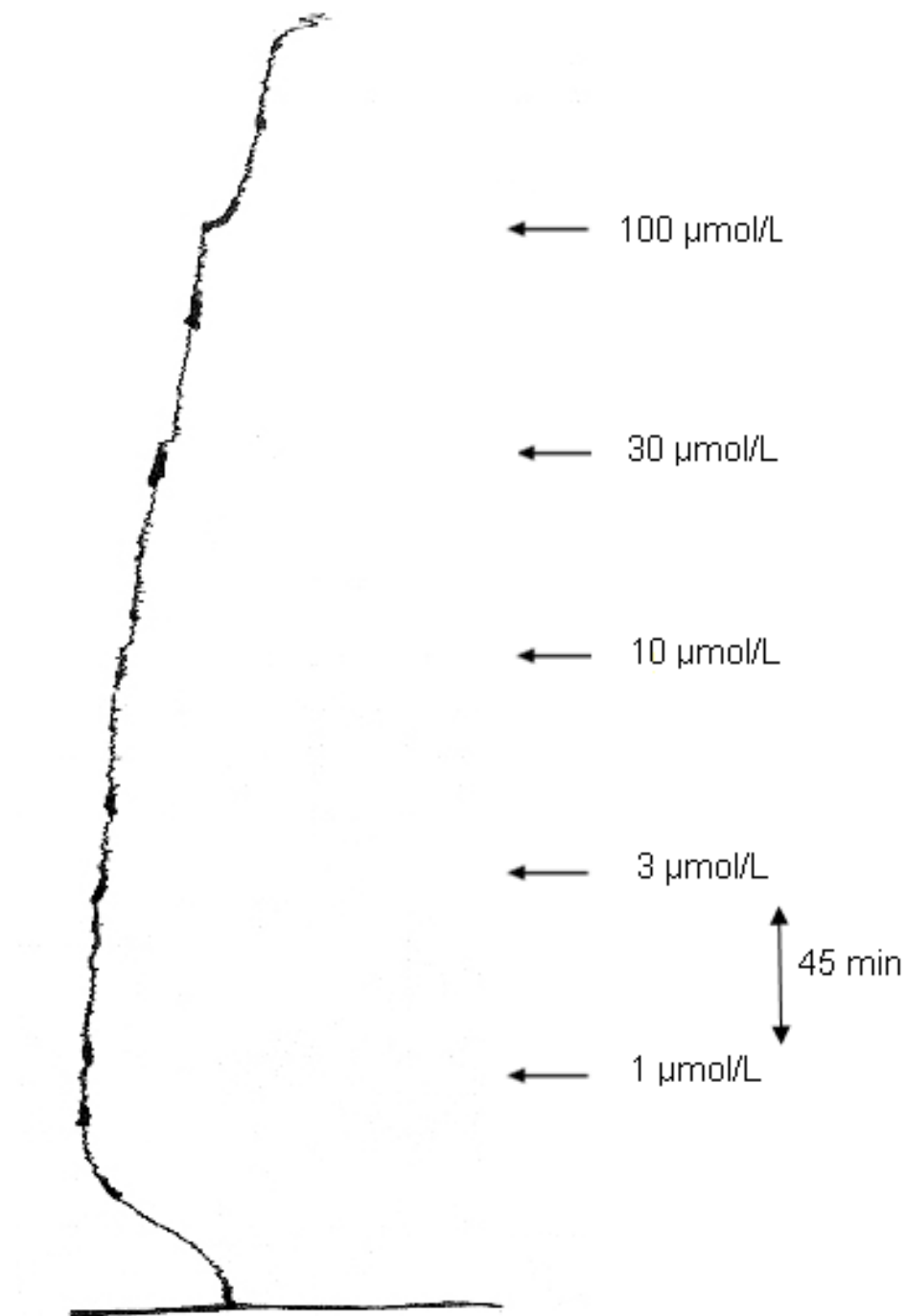


Abbildung 32 zeigt die kontinuierliche Aufzeichnung der kontraktionskurve mittels Schreiber. Der Zeitpunkt der Injektion der Testsubstanz SWS 84 HCL ist durch die Pfeile in dieser

Abbildung erkennbar, die stets in einem Intervall von 45 Minuten erfolgte.

Abbildung 32: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 84 HCl auf das terminale Ileum



4.2.4. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Atrium cordis dexter

In 3 verschiedenen Versuchen wurde die chronotrope Wirkung bzw. potentielle Änderung der Schlagfrequenz durch die Testsubstanz SWS 84 HCl auf den rechten Vorhof untersucht.

Die arithmetischen Mittelwerte wurde aus den aufgezeichneten Schlägen pro Minute alle drei Versuchen für die Auswertung ermittelt. Ein Kontrollwert von $230,00 \pm 5,00$ Schläge/min wurde berechnet, bei dem noch keine Substanz erfolgt war.

Die kumulative Substanzzugabe von SWS 84 HCl zeigte ähnlich wie die zuvor untersuchte Testsubstanz SWS 83 HCl kaum einen Einfluss auf die Chronotropie. Es war nicht feststellbar eine signifikante Wirkung auf die Chronotropie, und wurde es auch kein EC_{50} erreicht.

Tabelle 12: Ergebnisse von SWS 84 HCl an der Atrium cordis dexter

SWS 84 HCl [μmol/l]	f ± SEM [mN]	f ± SEM [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$230,00 \pm 5,00$	$0,00 \pm 0,00$	3	-
1	$230,00 \pm 5,00$	$0,00 \pm 0,00$	3	n.s.
3	$231,67 \pm 6,67$	$-0,72 \pm 0,72$	3	n.s.
10	$231,67 \pm 9,28$	$-0,06 \pm 1,23$	3	n.s.
30	$226,67 \pm 7,26$	$-2,17 \pm 1,29$	3	n.s.
100	$223,33 \pm 1,67$	$-3,47 \pm 2,43$	3	n.s.

Abkürzungen in der Tabelle:

- fc = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

Abbildung 33 verdeutlicht die fehlende chronotrope Wirkung der Testsubstanz von SWS 84

HCL am rechten Vorhof. Man könnte daraus auf einen möglichen Verlust der Qualität des Organs über die Dauer der Untersuchungen schließen. Die x-Achse bezeichnet die Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %. Die Balken geben die Größe der Standardfehler an und die Punkte symbolisieren die Mittelwerte der jeweiligen Konzentrationen.

Abbildung 33: Dosis-Wirkungskurve von SWS 84 HCl an der Atrium cordis dexter

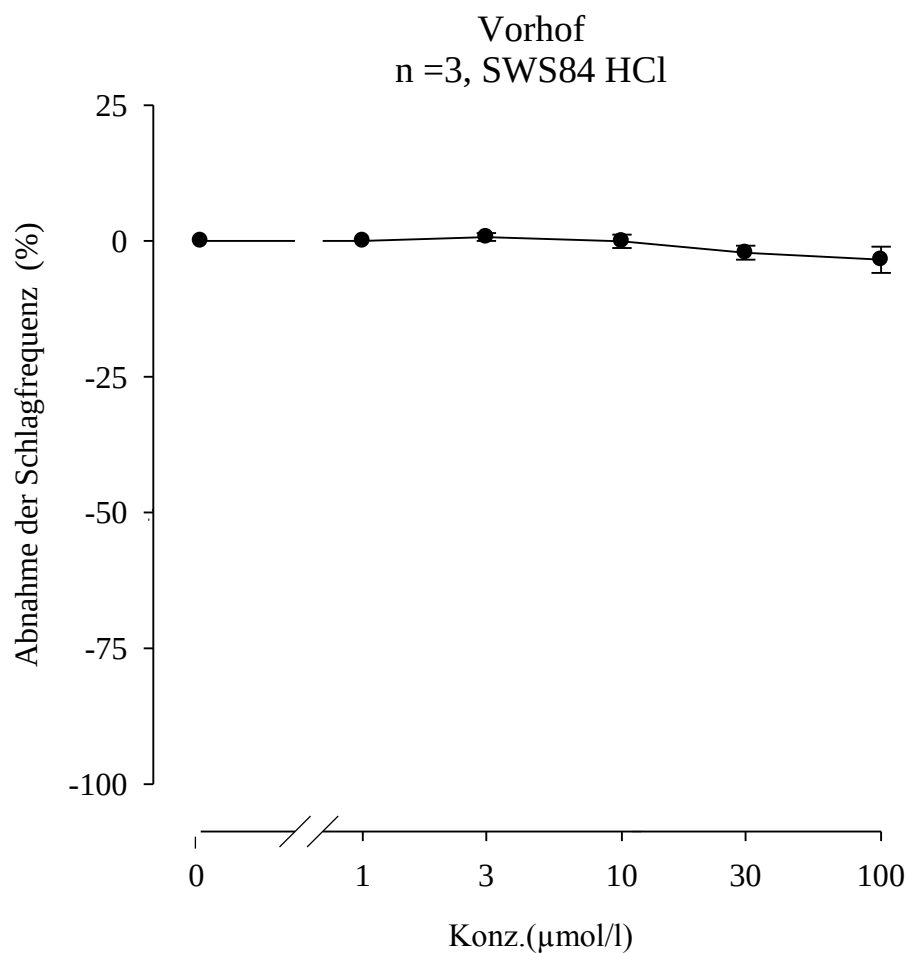
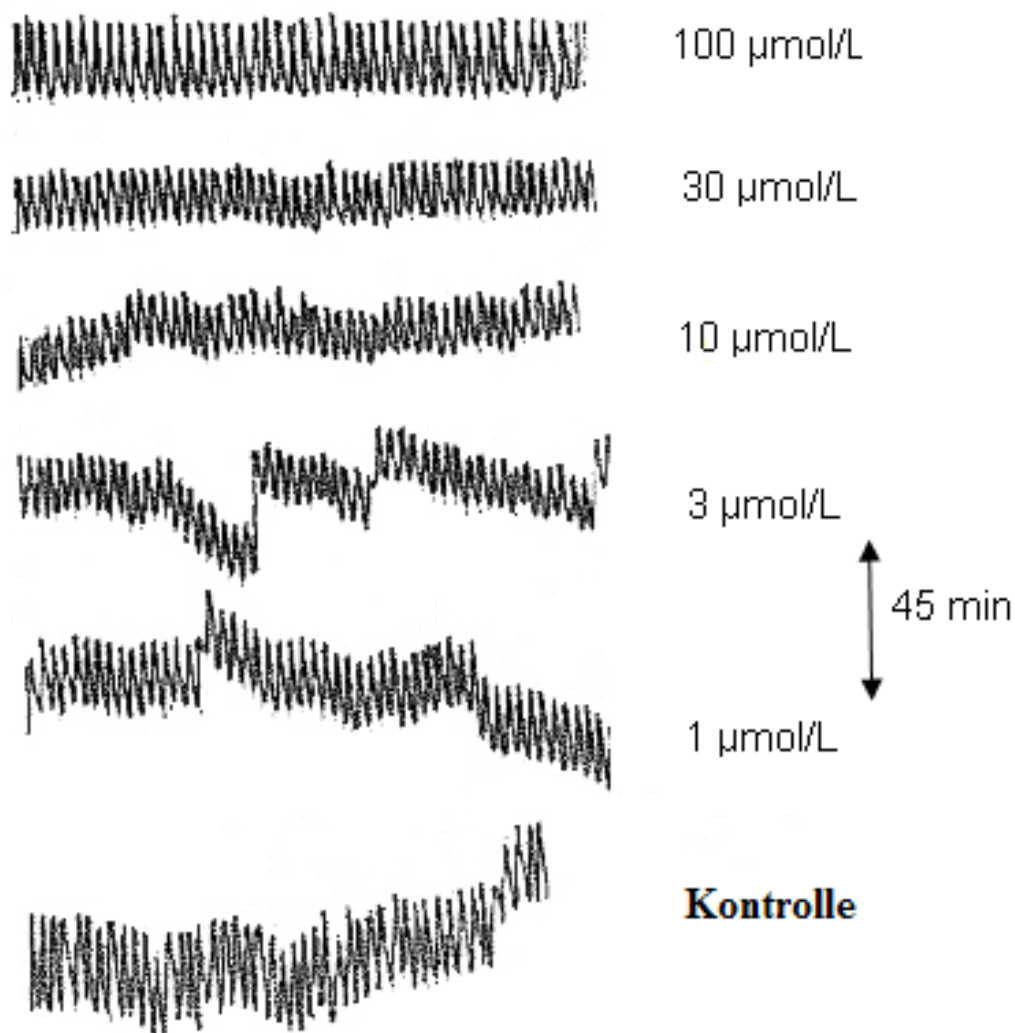


Abbildung 34 zeigt die Änderung der Schlagfrequenz des rechten Vorhofs und die Anzahl der

Herzschläge in 12 Sekunden bei den jeweiligen Konzentrationen und einem Verlauf von 45 Minuten mittels Schreiber, die nach kumulativer Testsubstanzgabe aufgenommen wurde. Durch Multiplikation der Amplituden mit dem Korrekturfaktor 5 erhält man die Schlagfrequenz pro Minute.

Abbildung 34: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 84 HCl auf die Atrium cordis dexter



4.1.5. Wirkung von SWS 84 HCl auf die Musculus papillaris

Eine mögliche chronotrope Wirkung der Testsubstanz SWS 84 HCl wurde in 5 Versuchsreihen am Papillarmuskel untersucht. Der genaue Versuchsablauf wurde bereits in Kapitel 3.7.1.2. beschrieben.

Ein Kontrollwert von $2,44 \pm 1,21$ Schläge/min wurde berechnet. Nach der ersten Substanzgabe war eine starke negativ chronotrope Wirkung erkennbar und der EC_{50} -Wert von $95 \mu\text{mol/l}$ konnte ermittelt werden.

Tabelle 13: Ergebnisse von SWS 84 HCl an der Musculus papillaris

SWS 84 HCl [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [mN]	$f_c \pm \text{SEM}$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$2,44 \pm 1,21$	$0,00 \pm 0,00$	5	-
1	$2,27 \pm 1,05$	$-3,97 \pm 4,12$	5	n.s.
3	$1,83 \pm 0,87$	$-21,59 \pm 12,64$	5	0,05
10	$1,46 \pm 0,76$	$-38,48 \pm 11,85$	5	0,01
30	$1,61 \pm 0,95$	$-42,14 \pm 6,17$	5	0,01
100	$1,63 \pm 1,08$	$-50,70 \pm 12,35$	5	0,01

Abkürzungen in der Tabelle:

- f_c = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und %
- SEM = Standardfehler des Mittelwertes in mN und %

In Abbildung 35 wurde die starke negativ inotrope Wirkung der Testsubstanz SWS 84 HCL auf den Papillarmuskel gezeigt. Der EC_{50} -Wert wurde bei 95 $\mu\text{mol/l}$ erreicht.

Die x-Achse zeigt die zugegebenen Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ und die y-Achse die Änderung der Kontraktionskraft in %. Die Punkte entlang der Konzentrations-Wirkungskurve stellen die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft dar und die senkrechten Balken deren Standardfehler.

Abbildung 35: Dosis-Wirkungskurve von SWS 84 HCl am Musculus papillaris

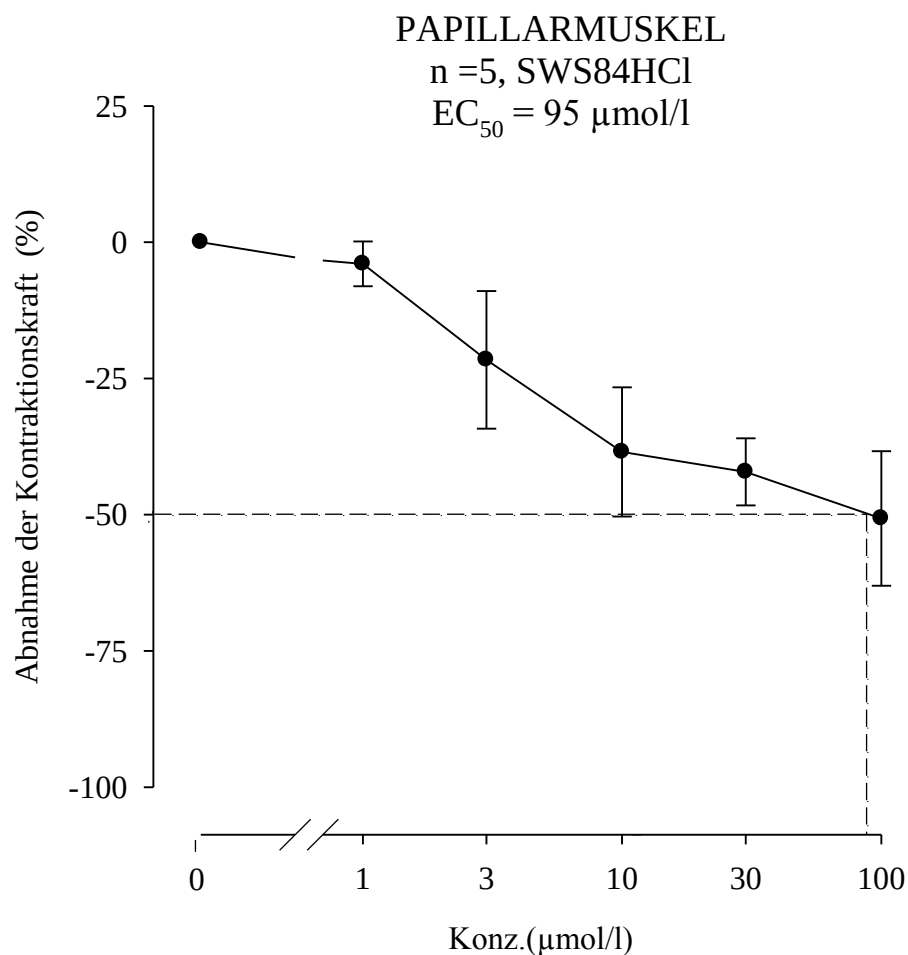
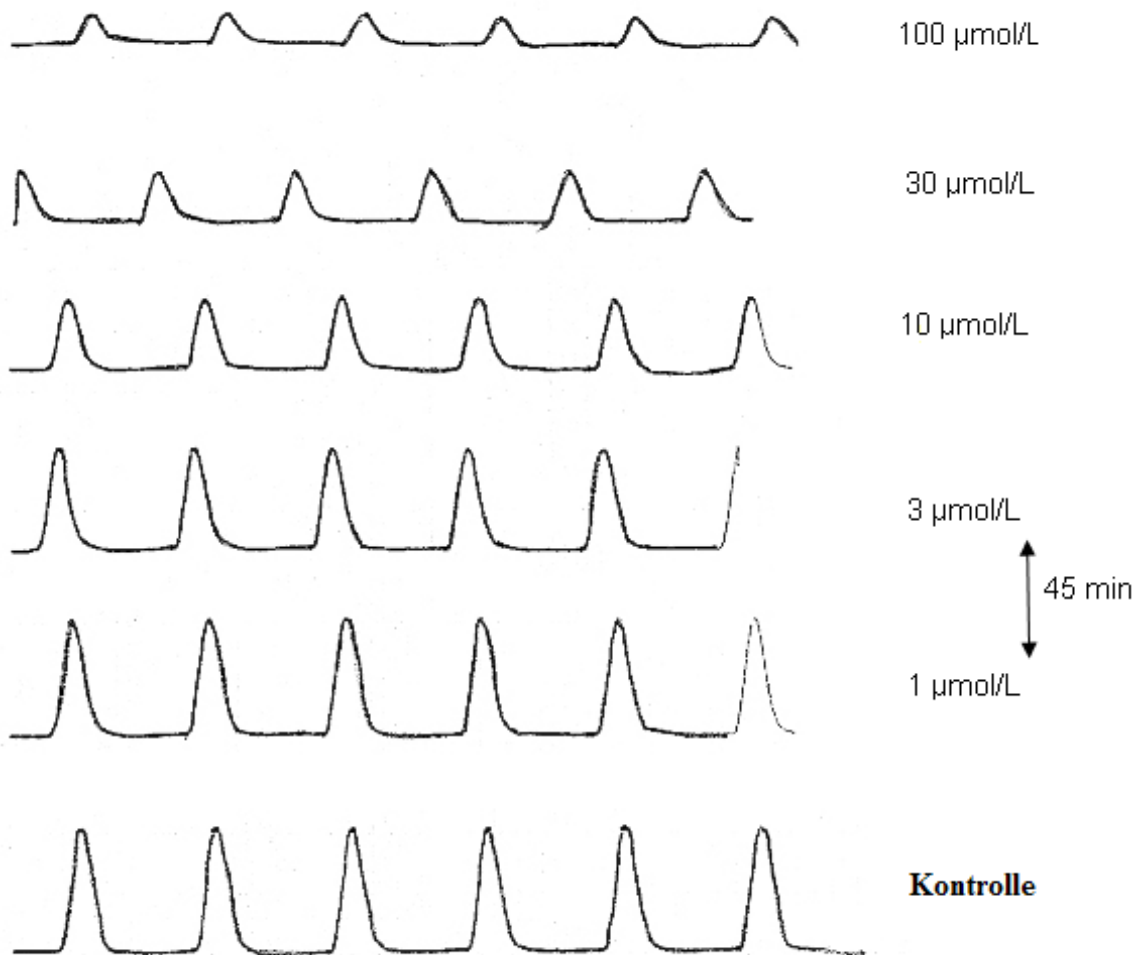


Abbildung 36 veranschaulicht die Originalaufzeichnung des Schreibers der stark negative inotropen Wirkung auf den Papillarmuskel durch Testsubstanz SWS 84 HCl. In diese Abbildung markieren die Pfeile den Zeitpunkt der Zugabe von Substanz. Die Abstände zwischen den einzelnen Substanzzugaben betrugen jeweils 45 Minuten.

Abbildung 36: Originalaufzeichnung der Wirkung der Testsubstanz SWS 84 HCl auf die Musculus papillaris



5. Diskussion

Man untersuchte in dieser Diplomarbeit die Wirkung an isolierten Organen von Meerschweinchen. Dabei wurden zwei neue synthetisierte Schwefelwasserstoff-Donatoren, SWS 83 HCl und SWS 84 HCl, eingesetzt.

Die Resultate hat man bereits in Kapitel 4. ausgewertet. Nun diskutieren und bewerten wir diese Resultate. Man unterscheidet jedoch die Organe mit glatter Muskulatur und Organe mit quergestreifter Muskulatur.

Die beiden Substanzen zeigten eine äußerst geringe Aktivität auf alle isolierten Organe, wobei zumindest beide Substanzen eine negativ inotrope Wirkung auf den Papillarmuskel ausübten, sodass ein EC_{50} -Wert erreicht wurde.

Die folgenden Tabellen sollen einen vergleichenden Überblick über die Effekte geben, um die Ergebnisse der beiden Testsubstanzen besser zu zeigen.

5.1. Wirkung auf glattemuskuläre Organe

Tabelle 14 : Wirkung der Substanzen SWS 83 und SWS 84 auf die glatte Muskulatur

Organpräparat	SWS 83 HCl fc (%) ± SEM bei 100 µmol/l	EC ₅₀ (µmol/l)	SWS 84 HCl fc (%) ± SEM bei 100 µmol/l	EC ₅₀ (µmol/l)
Arteria pulmonalis	-14,39 ± 2,80	-	-2,01 ± 2,24	-
Aorta descendes	-26,66 ± 4,66	-	-21,21 ± 8,32	-
Ileum terminalis	-34,00 ± 2,25	-	-40,59 ± 8,61	-

5.2. Wirkung auf die Herzmuskulatur

Tabelle 15 : Wirkung der Substanzen SWS 83 HCl und SWS 84 HCl auf die Herzmuskulatur

Organpräparat	SWS 83 HCl fc (%) ± SEM bei 100 µmol/l	EC ₅₀ (µmol/l)	SWS 84 HCl fc (%) ± SEM bei 100 µmol/l	EC ₅₀ (µmol/l)
Atrium dexter	-19,38 ± 4,89	-	-3,47 ± 2,43	-
Musculus papillaris	-63,43 ± 13,72	37	-50,70 ± 12,35	95

Die schwache Wirkung der verwendeten SWS-Verbindungen wurde anhand dieser Tabellen ersichtlich.

Nun möchten wir herausfinden, warum die Substanz SWS 83 HCl und SWS 84 HCl keine bedeutsame Wirkung zeigt, trotz des Vorhandenseins eines Schwefelatoms im Molekül, die eine Abspaltung von H₂S hervorbringen sollte.

Im Aufbau der Strukturen findet man möglicherweise die Antwort darauf, welche im Kapitel 3.2.1. für die Substanz SWS 83 HCl und in Kapitel 3.2.2. für die Substanz SWS 84 HCl mit ihren chemischen Formeln genau dargestellt werden.

Es handelt sich um Verbindungen mit einem Schwefelatom bei beiden Substanzen. Mit einem Kohlenstoffatom ist dieser über eine Doppelbindung verbunden, der wiederum beidseitig mit jeweils einem Sauerstoffatom oder zwei Sauerstoffatomen verbunden ist.

Eine Vermutung wäre, dass der Grund in der Molekülstruktur liegt und Schwefel nicht freigesetzt werden kann, da die Bindung zu stark ist. Die Bindungsenergie einer C-N Bindung beträgt 293 kJ/mol und die Carbothio-Gruppe ist an ein Stickstoffmolekül von beiden Seiten gebunden. Bei anderen SWS Verbindungen, wo eine Carbothionat-Gruppe vorliegt, beträgt die Bindungsenergie einer C-O Bindung 335kJ/mol und beweist sich somit stärker im Gegensatz zu C-N. Abhängig ist die Bindungsstärke schlussendlich von der Struktur des Gesamtmoleküls (Mortimer u. Müller, 2003). Diese Vermutung wird auch unterstützt.

Somit kann man sehen, dass die beiden Testsubstanzen eine schlechtere Ausgangssituation hatten. Diese wäre möglicherweise für die erhoffte Wirkung von großer Bedeutung. Eine weitere Vermutung wäre, dass nicht nur H₂S für die dilatierende Wirkung verantwortlich ist. Dass andere Systeme wie z.B. das NO-System beteiligt sind, herrscht Einigkeit, aber man ist sich noch unsicher, ob dies auch wirklich ausschlaggebend ist (Elsey et al. 2010).

Auch heute sind zelluläre Mechanismen der H₂S Wirkung noch nicht vollständig geklärt. Aber 1997 zeigten Hosoki et. al. dass durch H₂S die Aorten von Ratten in vitro relaxiert werden (Hosoki et. al., 1997). 2001 identifizierte Zhao et. al. die Rolle der K_{ATP}-Kanälen als wichtigsten Angriffspunkt (Zhao et. al., 2001). Es wurde auch festgestellt das es eine Beteiligung eines NO-System gibt (Elsey et. al., 2010).

2008 gelang es Linden et. al. H₂S in lebendem Darm -und Hirngewebe von Mäusen zu produzieren, zu detektieren und freizusetzen (Linden et. al., 2008).

Man synthetisierte auch ein H₂S freisetzendes Molekül (Li et. al., 2008). H₂S kann schnell in wässriger Umgebung freigesetzt werden, dass durch Natriumhydrogensulfid (NaHS) geschieht. Heutzutage stehen H₂S- Donatoren als einfach Sulfid Salze zur Verfügung. Li et. al. meinen, dass die Freisetzung von H₂S im Gewebe viel langsamer und in geringeren Mengen stattfindet und aus diesem Grund können diese Salze ihre Aufgabe als physiologische Rolle nicht erfüllen. Die Gruppe erzeugte deshalb eine Verbindung, die H₂S langsam und über eine längere Zeitdauer in vivo sowie in vitro freisetzt. Es stellte sich ein vasodilatierender und

blutdrucksinkender Effekt an der Niere und Aorta von Ratten heraus (Li et. al., 2008).

Auch protektiven Eigenschaften von H_2S im Bereich einer myokardialen Beeinträchtigung wurden in mehreren Studien analysiert (Elrod et. al., 2007). Johansen et. al. zeigten 2006, dass myokardialen Verletzungen in isolierten Herzen von Ratten, die unter einer kardialen Ischämie-Reperfusion standen, durch eine Vorbehandlung mit NaHS vermindert werden konnten (Johansen et. al., 2006). Auch Sivarajah et. al. konnte 2006 zeigen, dass nach der Verabreichung eines H_2S -Donators in vivo eine Reduktion des Myokardinfarkts um 25% erfolgte (Sivarajah et. al., 2006).

Durch Bindung an das Zink Ion im Aktivitätszentrum des Angiotensin-Converting Enzyme (ACE), konnte H_2S das ACE direkt hemmen. Es folgt, dass der blutdrucksenkende Effekt auch über die Hemmung des Bradykinin und der verminderten Angiotensin II Produktion erfolgt, und nicht nur über die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur (Laggner et. al., 2007).

Die Art die Abspaltung kann als weiterer Grund für die schwache Wirkung der beiden SWS Verbindungen diskutiert werden. Hier handelt es sich bei beiden Substanzen um wasserlösliche Verbindungen und somit sollte die H_2S -Freisetzung problemlos hydrolytisch erfolgen können. Es wird allerdings vermutet, dass auch Enzyme oder die sogenannten Esterasen, eine wichtige Rolle bei Wirkstoffabspaltung haben könnten.

Um die Aufgabe von Esterasen in diesem Zusammenhang festzustellen, wären bestimmt weitere Versuche vonnöten. Generell zeigen Enzyme bei Spezies Wirkung, wo es auch eine physiologische Synthetisierung gibt. Daher sollte mehr der Einsatz von Spezies spezifischen Esterasen diskutiert werden. Auch der Einsatz eines Serums mit einer größeren Menge an Esterasen, die zu einer H_2S Abspaltung führen könnte, wäre eine Möglichkeit.

6. Zusammenfassung

Ziel dieser Diplomarbeit wurde die Wirkung von zwei potentiellen Schwefelwasserstoff freisetzenden Verbindungen, SWS 83 HCl und SWS 84 HCl, auf bestimmte isolierte Organe von Meerschweinchen zu untersuchen.

Täglich wurde dafür ein Versuchstier getötet, um dessen Organe entnehmen zu können. Einerseits wurden Organe mit glatter Muskulatur wie Arteria pulmonalis, Aorta descendens und Terminales Ileum, anderseits Organe mit quergestreifter Muskulatur, und zwar der Musculus papillaris und Atrium cordis dexter verwendet. Mit Hilfe von isometrischer Kontraktionsmessung war es möglich die dilatierende Wirkung sowie chronotropen und inotropen Effekte auf die Organpräparate zu untersuchen. Die inotropen Wirkung der Testsubstanz wurde am Papillarmuskel untersucht, währenddessen am rechten Vorhof die Beobachtung des chronotropen Effekts im Vordergrund stand. Und wurde spasmolytische bzw. dilatierende Wirkungen auf Aorta, Dünndarm und Lungenarterie auch beobachtet.

Man präparierte diese fünf Organe in einer Petrischale, die mit physiologischer Nährlösung unter ständige Begasung befüllten und sie anschließend in Versuchsapparatur einspannte. Die Präparate wurden in der Tyrodelösung unter Carbogenzufuhr aufbewahrt, um die Funktionstüchtigkeit der Organe aufrecht zu erhalten.

Eine Vorkontraktion mittels einer KCl-Lösung war bei den Versuchsorganen der glatten Muskulatur erforderlich, um die Vasodilatation, die durch Wirksubstanz ausgelöst wurde, überhaupt sichtbar machen zu können.

In Wasser wurden die Testsubstanzen gelöst und nach einem festgelegten Pipettierschema die kumulative Testsubstanz mittels FinnpiPETTE in fünf verschiedenen Konzentrationen zugegeben. Nach Substanzzugabe kam es zu Veränderungen, die mittels eines Kraftwandlers über einen Verstärker registriert und schließlich mit Hilfe eines Schreibers aufgezeichnet.

Nach Auswertung der Ergebnisse lässt sich mit großer Sicherheit sagen, dass die Testsubstanzen SWS 83 HCl und SWS 84 HCl auf die glattemuskulären Organen (Aorta, Arteria pulmonalis, terminales Ileum) eine sehr leichte Wirkungen verursachen (vasodilatierende bzw. spasmolytische), wobei der EC₅₀-Wert bei allen drei Organen nicht

erreicht wurde. Die zeigen stärkere Wirkungen nur auf Papillarmuskel.

Beim terminalen Ileum hat die SWS 83 HCl stärkere Wirkung im Vergleich zum SWS 84 HCl, aber trotzdem eine schwache Wirkung und EC_{50} -Wert wurde auch nicht erreicht.

Am rechten Vorhof zeigten die beiden Testsubstanzen eine sehr schwache Wirkung. EC_{50} -Wert wurde aber nicht erreicht.

Im Gegensatz zu dem rechten Vorhof zeigte die Testsubstanz SWS 83 HCL eine stark negativ inotrope Wirkung an dem Papillarmuskel wobei der EC_{50} -Wert von 37 $\mu\text{mol/l}$ erreicht wurde.

Die SWS 84 HCl hat auch eine stark negativ inotrope Wirkung an dem Papillarmuskel wobei der EC_{50} -Wert von 95 $\mu\text{mol/l}$ erreicht wurde. Der Testsubstanz SWS 83 HCl hat stärkere Wirkung an dem Papillarmuskel in Vergleich zum SWS 84 HCL.

Am Ende kann man sagen, dass die SWS 83 HCl eine stärkere Wirkung in Vergleich zum SWS 84 HCl besitzt, aber trotzdem besitzen die beiden schwache Wirkungen.

7. Literaturverzeichnis

Ali MY, Ping CY, Mok YY, Ling L, Whiteman M, Bhatia M, Moore PK (2006) Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? Br J Pharmacol 149:625-634

Benavides GA, Squadrito GL, Mills RW, Patel HD, Isbell TS, Patel RP, Darley-Usmar VM, Doeller JE, Kraus DW (2007) Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. Proc Natl Acad Sci USA 104:17977-17982

Blackstone E, Morrison M, Roth MB (2005) H₂S induces a suspended animation- like state in mice. Science 308:518

Elrod JW, Duranski MR, Langston W, Greer JJ, Tao L, Dugas TR, Kevil CG, Champion HC, Lefer DJ (2006) eNOS gene therapy exacerbates hepatic ischemia-reperfusion injury in diabetes: a role for eNOS uncoupling. Circ Res 99:78-85

Elrod JW, Calvert JW, Morrison J, Doeller JE, Kraus DW, Tao L, Jiao X, Scalia R, Kiss L, Szabo C, Kimura H, Chow CW, Lefer DJ (2007) Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function. Proc Natl Acad Sci USA 104:15560-15565

Elsej DJ, Fowkes RC, Baxter GF (2010) Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H₂S). Cell Biochem Funct 28:95-106

Estler CJ, Schmidt H (2007) Pharmakologie und Toxikologie: Für Studium und Praxis. 6.Auflage, F.K. Verlag GmbH

Fiorucci S, Distrutti E, Cirino G, Wallace JL (2006) The emerging role of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. Gastroenterology 131:259- 271

Forth W, Henschler D, Rummel W (2009) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 10.Auflage, Elsevier München

Hobbs AJ (1997) Soluble guanylate cyclase: the forgotten sibling. *Trends Pharmacol Sci* 18:484-491

Hosoki R, Matsuki N, Kimura H (1997) The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 237:527-531

Huang XL, Zhou XH, Wei P, Zhang XJ, Meng XY, Xian XH (2008) Role of endogenous hydrogen sulfide in pulmonary hypertension induced by lipopolysaccharide. *Sheng Li Xue Bao* 60:211-215.

Ishii I, Akahoshi N, Yu XN, Kobayashi Y, Namekata K, Komaki G, Kimura H (2004) Murine cystathionine gamma-lyase: complete cDNA and genomic sequences, promoter activity, tissue distribution and developmental expression. *Biochem J* 381:113-123

Johansen D, Ytrehus K, Baxter GF (2006) Exogenous hydrogen sulfide (H₂S) protects against regional myocardial ischemia-reperfusion injury. Evidence for a role of KATP channels. *Basic Res. Cardiol* 101:53-60

Kamoun P (2004) Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amino Acids* 26:243-254

Kimura Y, Kimura H (2004) Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J* 18:1165-1167

Koenitzer JR, Isbell TS, Patel HD, Benavides GA, Dickinson DA, Patel RP, Darley-Usmar VM, Lancaster JR Jr, Doeller JE, Kraus DW (2007) Hydrogen sulfide mediates vasoactivity in an O₂-dependent manner. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292:1953-1960

Kubo S, Doe I, Kurokawa Y, Nishikawa H, Kawabata A (2007) Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology* 232:138-146

Laggner H, Hermann M, Esterbauer H, Muellner MK, Exner M, Gmeiner BM, Kapiotis S (2007) The novel gaseous vasorelaxant hydrogen sulfide inhibits angiotensin-converting enzyme activity of endothelial cells. *J Hypertens* 25:2100-2104

Lee SW, Cheng Y, Moore PK, Bian JS (2007) Hydrogen sulphide regulates intracellular pH in vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res Commun* 358:1142-1147

Lefer DJ (2007) A new gaseous signaling molecule emerges: Cardioprotective role of hydrogen sulfide. *PNAS*, 104:17907-17908

Li L, Moore PK (2007) An overview of the biological significance of endogenous gases: new roles for old molecules. *Biochem Soc Transact* 35:1138-1141

Li L, Whiteman M, Guan YY, Neo KL, Cheng Y, Lee SW, Zhao Y, Baskar R, Tan, CH, Moore PK (2008) Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide releasing molecule (GYY4137): New insights into the biology of hydrogen sulfide. *Circulation* 117:2351-2360

Linden DR, Sha L, Mazzone A, Stoltz GJ, Bernard CE, Furne JK, Levitt MD, Farrugia G, Szurszewski JH (2008) Production of the gaseous signal molecule hydrogen sulfide in more tissues. *J Neurochem* 106:1577-1585

Mortimer CE, Müller U (2003) *Chemie. Das Basiswissen der Chemie*. Thieme Verlag, 8. Auflage

Müller-Esterl W (2004) *Biochemie. Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, 1. Auflage

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P, Schäfer-Korting M (2008) *Mutschler Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

Oberdisse E, Hackenthal E, Kuschinsky K (2001) *Pharmakologie und Toxikologie*, 3. Auflage, Springer Berlin

Puranik M, Weeks CL, Lahaye D, Kabil O, Taoka S, Nielsen SB, Groves JT, Banerjee R, Spiro TG (2006) Dynamics of carbon monoxide binding to cystathionine beta-synthase. *J Biol Chem* 281: 13433-13438

Pryor WA, Houk KN, Foote CS, Fukuto JM, Ignarro LJ, Squadrito GL, Davies KJ (2006) Free radical biology and medicine: it's a gas, man! *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291:491-511

Sivarajah A, McDonald MC, Thiernemann C (2006) The production of hydrogen sulfide limits myocardial ischemia and reperfusion injury and contributes to the cardioprotective effects of preconditioning with endotoxin, but not ischemia in the rat. *Shock* 26: 154-161

Szabó C (2007) Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature reviews* 6:917-935

Wang R (2002) Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J.* 16:1792-1798

Wang YF, Mainali P, Tang CS, Shi L, Zhang CY, Yan H, Liu XQ, Du JB (2008) Effects of nitric oxide and hydrogen sulfide on the relaxation of pulmonary arteries in rats. *Chin Med J* 121:420-423

Zanardo RC, Brancalone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL (2006) Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *FASEB J* 20:2118-2120

Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R (2001) The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO J.*20:6008-6016

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name :	Fatemeh Ektefaei
Adresse:	Tokiostrasse 5/1/23 A-1220 wien
Geburtsdatum/-Ort:	16.09.1978 /Shiraz-Iran
Staatsbürgerschaft:	Österreich
Familienstand:	Verheiratet
E-Mail:	blummen_2000@yahoo.com
Telefon:	0676/879614990

Schulbildung

1985-1993	Grundschule im Iran
1993-1997	Gymnasium mit Maturaabschluss im Iran
1997-1998	Deutschkurs im Iran

Ausbildung

1998-1999	Übersiedlung nach Österreich
1999-2000	Vorstudienlehrgang & Deutschkurs
2000-2005	Ordentlicher Studentin an der TU Wien (Technische Chemie)
2005-2012	Studium der Pharmazie

Berufserfahrungen

2006	Apotheke „Zur heiligen Martha“ (6 Monate)
------	---

Sprachkenntnisse

Deutsch, Englisch und Persisch (Muttersprache)