



DIPLOMARBEIT

„Pharmakologisches Profil der neu synthetisierten Chalkon-Derivate GB9 und GB13 an isolierten Präparaten von Meerschweinchen“

Verfasserin

Maria Riess

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl:

A 449

Studienrichtung:

Pharmazie

Betreuer:

A.o. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Christian Studenik für seine kompetente Betreuung, seine freundliche Beratung und für sein Verständnis bedanken: Sie waren stets zur Stelle, wenn Probleme auftauchten und dabei haben Sie niemals die Geduld oder Ihre gute Laune verloren.

Auch Frau Pakiza Rawnduzi gilt mein besonderer Dank. Sie erwies sich stets als fachkundiger Berater – egal ob sie uns in die Materie einführte oder uns half technische Schwierigkeiten zu meistern.

Auch meiner Studienkollegin und Freundin Danijela möchte ich gern ein Dankeschön aussprechen:

Du hast dich mit mir gemeinsam allen Schwierigkeiten gestellt, mich motiviert und mich gemästet. Auf dich war immer Verlaß und wenn ich einmal einen Durchhänger hatte, hast du mich mit deinem fröhlichen Gemüt aufgemuntert und das nicht nur beim praktischen Teil dieser Arbeit sondern auch beim Schreiben.

Auch meinen Freund Nandi möchte ich an dieser Stelle erwähnen.

Nicht nur weil er mir bei der graphischen Gestaltung meiner Diplomarbeit half, sondern vor allem dafür, daß er sich in allen Lebensbereichen als meine große Stütze erwiesen hat. Auf ihn kann ich mich immer verlassen und erschreckenderweise kennt er mich teilweise besser als ich mich selbst.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie bedanken.

Bei meinen Eltern dafür, daß sie mich auch in einer Zeit, in der ich mich nur sehr wenig dem Studium widmete, niemals aufgaben sondern an mich glaubten.

Bei meinem Bruder dafür, daß er so ist, wie er ist – der gescheiteste und hilfsbereiteste Mensch, den ich kenne.

Bei meiner Schwester dafür, daß sie so unglaublich stark ist und so viel mehr von mir erwartet als von einem Durchschnittsmenschen.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINFÜHRUNG

1.1. Zielsetzung	1
1.2. Chalkon	1
1.2.1. Geschichte der Chalkone	1
1.2.2. Struktur und Biosynthese	2
1.2.3. Vorkommen	3
1.2.4. Wirkung	4
1.2.4.1. Antioxidative Wirkung	4
1.2.4.2. Kardioprotektive Wirkung	5
1.4.2.3. Kardiovaskuläre Wirkung	6
1.4.2.4. Chemoprotektive Wirkung	6
1.4.2.5. Blutzuckersenkende Wirkung	7
1.4.2.6. Andere Wirkungen	7

2. MATERIAL UND METHODIK

2.1. Versuchstiere	8
2.2. Präparate	8
2.2.1. Isolierung der Arteria pulmonalis	8
2.2.2. Isolierung der Aorta	9
2.2.3. Isolierung des rechten Vorhofs	10
2.2.4. Isolierung der Papillarmuskeln	11
2.2.5. Isolierung des terminalen Ileum	11
2.3. Physiologische Nährlösung	13
2.3.1. Nährlösung für rechten Vorhof, Papillarmuskel, Arteria pulmonalis, terminales Ileum und Aorta	13
2.4. Versuchsanordnung	14
2.4.1. Versuchsassaparatur A	14
2.4.2. Versuchsassaparatur B	16
2.4.3. Kraftwandler	18
2.4.4. Gasversorgung	18
2.5. Versuchsablauf	19
2.5.1. Versuchsablauf bei der Arteria pulmonalis	19
2.5.2. Versuchsablauf bei der Aorta	20
2.5.3. Versuchsablauf beim terminalen Ileum	20

2.5.4. Versuchsablauf beim rechten Vorhof	21
2.5.5. Versuchsablauf beim Papillarmuskel	21
2.6. Untersuchte Testsubstanzen	22
2.7. Auswertung und Statistik	24
 3. ERGEBNISSE	
3.1. Wirkungen der Testsubstanz GB9 auf die isolierten Organe	26
3.1.1. Wirkung von GB9 auf die Schlagfrequenz des isolierten Vorhofs	26
3.1.2. Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft isolierter Papillarmuskel	30
3.1.3. Wirkung von GB9 auf die Arteria pulmonalis	33
3.1.4. Wirkung von GB9 auf die Aorta	36
3.1.5. Wirkung von GB9 auf das terminale Ileum	39
3.2. Wirkungen der Testsubstanz GB13 auf die isolierten Organe	42
3.2.1. Wirkung von GB13 auf die Schlagfrequenz rechter Vorhöfe	42
3.2.2. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft isolierter Papillarmuskel	45
3.2.3. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der isol. Arteria pulmonalis	48
3.2.4. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der Aorta	51
3.2.5. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileum	54
3.3. Einfluss des Lösungsmittels DMSO auf die isolierten Organe	57
3.3.1. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis	57
3.3.2. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Aorta	58
3.3.3. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileum	59
3.3.4. Wirkung von DMSO auf die Schlagfrequenz des rechten Vorhofs	60
3.3.5. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels	61
 4. DISKUSSION	
4.1. Struktur-Wirkungsbeziehung	62
4.2. Versuche an den isolierten Organen	64
4.3. Versuche an der Arteria pulmonalis	66
4.4. Versuche am terminalen Ileum	67
4.5. Versuche am rechten Vorhof	68
4.6. Versuche am Papillarmuskel	69
 5. ZUSAMMENFASSUNG	70
 6. LITERATURVERZEICHNIS	73

1. Einführung

1.1. Zielsetzung

Ziel dieser Diplomarbeit war es, zwei Chalkonderivate mit dem Namen GB9 und GB13 auf ihre Effekte hin an isolierten Meerschweinchenorganen zu untersuchen.

GB9 und GB13 wurden auf der Universität Wien synthetisiert und freundlicherweise von Prof. Thomas Erker zur Verfügung gestellt.

In der praktischen Ausführung wurde zunächst der Einfluß der Chalkonderivate auf die Kontraktilität der glatten Muskulatur von Arteria pulmonalis, Aorta, und terminalen Ileum untersucht. Auch beim Papillarmuskel ging es darum festzustellen, ob er durch GB9 und GB13 hinsichtlich seiner Schlagkraft beeinflusst wurde. Einzig beim Vorhof schaute man, ob es durch die Testsubstanzen zu einer Änderung der Schlagfrequenz kam.

1.2. Chalkone

1.2.1. Geschichte der Chalkone

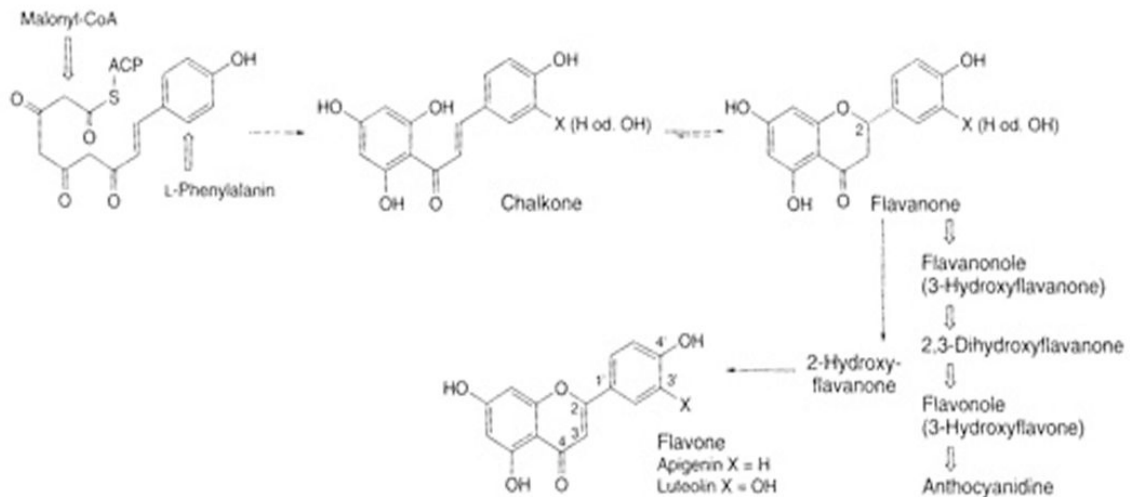
Das Chalkon (1,3-Diphenyl-2propen-1-on) selbst wurde erstmals im Jahr 1881 von L. Claisen durch Kondensation des Acetophenons mit Benzaldehyd hergestellt. Seitdem haben sich mehrere Studien mit verschiedenen niedermolekularen Chalkonen beschäftigt und deren chemische sowie photochemische Eigenschaften untersucht. Dank ihrer Doppelbindungen eignen sich diese Verbindungen für Epoxydationen, Bromierungen und Hydroxylierungen. Als Enole sind sie Ausgangssubstanzen für Michael-Addition u.s.w. Auch in der Polymerchemie sind einige Beispiele mit Chalkongruppen in der Seitenkette oder als Hauptketten-Polychalkone bekannt.

Als thermisch stabile, aber lichtempfindliche Materialien eignen sie sich gut für Anwendungen im Offset-Druck oder als photovernetzbare Harze. Auch die NLO-Eigenschaften der Oligomere mit Chalkoneinheiten werden in letzter Zeit untersucht.

Eine wichtige Anwendung finden die Chalkone als Synthesebausteine für 5-, 6-, und 7-Ringheterocyclen (Karpouk 2004).

1.2.2. Struktur und Biosynthese

Abbildung 1: Biosynthese Chalkone



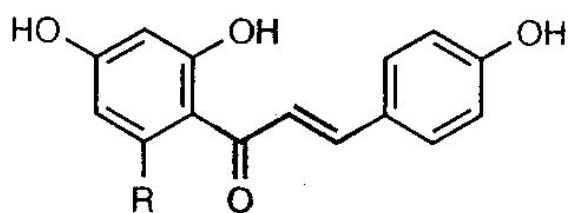
An der Biosynthese der Flavonoide sind Metabolite verschiedener Herkunft beteiligt. Der Phenyl-Ring stammt aus Zimtsäure, einem Metaboliten des L-Phenylalanins. Der Benzopyran-Chromophor dagegen wird durch intramolekulare Cyclisierung eines Triketids gebildet, das vermutlich durch sukzessive Verlängerung der Acyl-Kette des Coenzym-A-Derivats der 4-Hydroxyzimtsäure um jeweils eine Acetat-Einheit, die von Malonyl-Coenzym A stammt, biosynthetisiert wird.

Bereits die m-ständigen OH-Gruppen am Benzopyran-Chromophor des als Zwischenprodukt auftretenden Tetrahydroxychalkons (X = H in oberer Abbildung) deuten auf den Polyketid Weg seiner Bildung hin.

Zusätzliche OH-Gruppen werden vermutlich nachträglich durch enzymatische Hydroxylierung eingeführt.

Die meisten enzymatisch synthetisierten Chalkone cyclisieren zu den entsprechenden Flavanonen (2,3-Dihydroflavone) (Gossauer 2006).

Abbildung 2: Tetrahydroxychalkon



R = H: Isoliquiritigenin

R = OH: Isosalipurpol

Die Chalkone stehen in naher chemischer Nachbarschaft zu den Flavanonen. Insgesamt sind über 25 natürlich vorkommende Chalkone bekannt. Sie liegen meist als Glykoside mit gelber bis oranger Färbung vor. Die Verbreitung beschränkt sich auf wenige Pflanzenfamilien.

Als Zwischenstufe für die Biosynthese der Flavonoide ist das oben dargestellte 2',4,4',6 – Tetrahydroxychalkon eine der zentralen Vorstufen (Dingermann et al. 2004).

1.2.3. Vorkommen

Chalkone gehören zur Gruppe der Polyphenole bzw. im engeren Sinn zu den Flavonoiden und sind somit sekundäre Pflanzenstoffe.

Dabei handelt es sich um Stoffe, welche nicht unmittelbar im Energiestoffwechsel von Pflanzen erforderlich sind, sondern unterschiedlichste Funktionen im Sekundärstoffwechsel übernehmen. Sie können u.a. zur UV-Protektion, als Abwehrstoffe gegen Schädlinge und Krankheiten sowie als Wachstumsregulatoren dienen.

Weiterhin sind sie für wesentliche Eigenschaften wie Farbe oder Geschmack der jeweiligen Pflanze oder Frucht mitbestimmend.

Insgesamt existieren etwa 60.000 – 100.000 dieser Substanzen, die auch als Phytochemicals bezeichnet werden (Wollersen 2004).

Chalkone sind in folgenden Pflanzen(teilen) enthalten: Süßholzwurzel (Isoliquiritosid), Saflorblüte (Carthamuschalkon), Katzenpfötchenblüte (Isosalipurposid), Hopfenzapfen (Xanthohumol), Kavarrhizom (Flavokavin A), in Äpfeln (Phloridzin und Phloretin), im Zimt (Methylhydroxy – Chalkon – Polymer), in der Sophora flavescens (Kushenol D, Kuraridin, Kuraridinol), in den Wurzeln der Glycyrrhiza uralensis (Isoliquiritigenin) und in der Dalbergia odorifera T. (Isoliquiritigenin).

Während die Chalkone bei der Saflorblüte und bei der Katzenpfötchenblüte die gelbe Farbe bedingen, dienen sie im Hopfenzapfen und im Kavarrhizom hauptsächlich der analytischen Kennzeichnung.

1.2.4. Wirkung

1.2.4.1. Antioxidative Wirkung

Antioxidantien sind niedermolekulare Substanzen, die auch bei geringer Konzentration im Verhältnis zu oxidierbaren Molekülen deren Oxidation durch reaktive Sauerstoffspezies auf direktem oder indirektem Wege verhindern oder zumindest verzögern.

Die Fähigkeit der Polyphenole, durch Abgabe von Wasserstoffatomen aus den phenolischen Hydroxylgruppen Radikale abzufangen und dabei selber stabile Radikale zu bilden und so die Radikalkettenreaktion zu unterbrechen, stellt den Schwerpunkt ihrer antioxidativen Wirkung dar (Bernsmann 2002).

Sauerstoffradikale sind nicht in jedem Fall als schädigende Substanzen zu betrachten, sondern nehmen im Organismus auch physiologische Aufgaben wahr. Verschiebt sich das Gleichgewicht jedoch zugunsten oxidativer Prozesse (oxidativer Streß), können schwerwiegende Funktionsstörungen entstehen, die sich in verschiedenen Krankheitsbildern, wie Krebs und Herz-Kreislauf-Krankheiten, äußern können.

Gegen derartige schädliche Effekte hat der Organismus im Laufe der Evolution antioxidative Schutzmechanismen entwickelt, welche die von freien Radikalen verursachten Schäden verhindern können. Körpereigene antioxidative Schutzmechanismen sind Enzyme, wie Katalasen oder Peroxidasen, spezielle Proteine, Thiole wie Glutathion, Harnsäure u.a. (Bernsmann 2002).

Welche Wirksamkeit Polyphenole nach ihrer Aufnahme in den Gastrointestinaltrakt haben, hängt vor allem davon ab, wo, wie und in welchem Umfang sie resorbiert oder metabolisiert werden. Die Bioverfügbarkeit wurde vor allem an Nagern in vivo oder in vitro mit perfundierten Därmen untersucht.

Nach diesen Untersuchungen konnten die β -glykosidischen Bindungen in Molekülen mit Flavongrundgerüst nicht durch Enzyme des Gastrointestinaltraktes hydrolysiert werden. Dies würde bedeuten, dass die Glykoside im Dünndarm praktisch nicht resorbiert werden.

Dagegen wurden oral verabreichte Flavonoidaglykone und auch polymethoxylierte Aglykone nachweislich vom Dünndarm resorbiert und schließlich in der Leber zu Glucuroniden und Sulfaten konjugiert. Die glykolisierten Flavonoide gelangen in untere Darmabschnitte, in denen Mikroorganismen diese Verbindungen hydrolysieren. Die entstehenden

Flavonoidaglykone können jedoch nicht resorbiert werden, da sie durch die Mikroorganismenflora sofort abgebaut werden.

Da die meisten Flavonoide in den Lebensmitteln aber glykosyliert, glucuroniert, methyliert oder sulfatiert vorliegen, ist die Resorption bei nicht erfolgter Hydrolyse im Magen-Darmtrakt als zu gering anzusehen, um protektive Effekte auszulösen (Bernsmann 2002).

Eine Rangfolge der Polyphenole gemäß ihrer antioxidativen Wirkung kann keineswegs allgemein gültig erstellt werden. Das liegt im wesentlichen daran, dass die einzelnen Polyphenole auf verschiedene Radikale unterschiedlich stark reagieren.

Auch die verwendeten Systeme spielen bei der Einschätzung der antioxidativen Wirkung eine wichtige Rolle. So wurden in rein wässrigen Systemen andere Wirkungsreihenfolgen gefunden, als in lipophilen Systemen.

Weiters konnten auch unterschiedliche Rangfolgen der Polyphenole aufgrund der An- oder Abwesenheit von Biomembranen erklärt werden, nachdem in Modellsystemen die Interaktion der pflanzlichen Sekundärstoffe mit Phospholipid - Doppelschichten gezeigt werden konnte (Bernsmann 2002).

1.2.4.2. Kardioprotektive Wirkung

Ein weiterer therapeutisch genutzter Effekt ist durch die milde Relaxationswirkung auf die glatte Muskulatur bedingt. Diese Wirkung kommt durch eine Hemmung der cAMP-Phosphodiesterase und die Komplexbildung mit Ca^{2+} Ionen zustande. Beide Effekte führen zu einer Erniedrigung der intrazellulären Calciumkonzentration und damit zur Erschlaffung der glatten Muskulatur. Daraus folgt:

Erweiterung der Koronarien und der peripheren Blutgefäße, woraus eine bessere Versorgung des Herzens mit Sauerstoff und Nährstoffen resultiert und in Folge eine geringe Blutdrucksenkung und eine gesteigerte Diurese.

Der daraus resultierende Einsatz der Flavonoide als mildes Herz-Kreislaufmittel ist jedoch nicht endgültig in seiner Wirkung bestätigt, da die therapeutisch zugeführte Substanzmenge schwer von der mit der Nahrung täglich zugeführten Flavonoidmenge zu trennen ist (Teuscher 1999).

1.2.4.3. Kardiovaskuläre Wirkung

In der Pathogenese chronischer Krankheiten wie Arteriosklerose und Veneninsuffizienz wird oxidativen Schäden durch Radikale eine zunehmende Bedeutung beigemessen. Die antioxidativen Eigenschaften der Polyphenole haben daher hinsichtlich möglicher protektiver Effekte, z.B. für Herz-Kreislauf-Krankheiten, starkes Interesse erfahren. Es hat sich z.B. gezeigt, dass Flavonoide als Lebensmittel die Entstehung degenerativer Veränderungen in den Arterien verzögern können.

Diese auch als Arteriosklerose bezeichnete Krankheit ist ein langsam fortschreitender Prozeß, der durch das Auftreten von Verengungen der Arterien gekennzeichnet ist. An der Entstehung der Arteriosklerose sind unter anderem Ernährungsfaktoren beteiligt. So stehen hohe Cholesterinwerte in Form von Low-density-Lipoproteinen (LDL) mit einem erhöhten Arterioskleroserisiko in Zusammenhang. Insbesondere oxidiertes LDL wurde als gefährlich erkannt. Flavonoide fangen aufgrund ihrer Radikalfängereigenschaften die Radikale ab, die für die LDL-Oxidation verantwortlich sind. Sie inhibieren die Autooxidation ungesättigter Lipide und verhindern so die Bildung von oxidierten Lipoproteinen (Böhm et al. 1998, Bors et al. 1996, Morton et al. 2000).

1.2.4.4. Chemoprotektive Wirkung

Krebs ist in den Industriestaaten nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache. Die Entstehung von Krebs beruht in der Regel nicht auf einem einzigen Ereignis, sie ist vielmehr ein multifaktorieller Prozeß. Etwa 1/3 aller Krebstodesfälle sind auf falsche Ernährungsgewohnheiten zurückzuführen.

In epidemiologischen Studien wurden die Zusammenhänge zwischen Ernährungsgewohnheiten und Krebserkrankungen betrachtet. Es konnten dabei zahlreiche Hinweise auf krebsvorbeugende Wirkungen pflanzlicher Nahrungsmittel gezeigt werden.

Hauptaugenmerk wurde bei den Naturstoffen auf Polyphenole gelegt.

Im Zuge dieser Untersuchungen zeigte sich das Xanthohumol, ein im Bier vorkommendes prenyliertes Chalkon aus Hopfen, *humulus lupulus*, als besonders aktiv. Es erwies sich in verschiedenen Testmodellen zur Krebsprävention als sehr gut einsetzbar (Gerhäuser et al. 2002).

1.2.4.5. Blutzuckerspiegelsenkende Wirkung

Die Substanz, die den Blutzuckerspiegel senken kann, wurde in amerikanischen Studien analysiert und Methylhydroxy – Chalkon – Polymer, kurz MHCP genannt. MHCP wirkt direkt am Insulinrezeptor der Körperzellen. Durch das „Andocken“ des Insulins an den Rezeptoren wird die Aufnahme des Zuckers aus dem Blut in die Zellen ermöglicht.

Das MHCP beeinflusst vermutlich diese Signalübertragung, indem es auf bestimmte Enzyme, die an dieser beteiligt sind, einwirkt. Dadurch wird die Aufnahme des Blutzuckers in die Körperzellen verbessert.

Zusätzlich wirken sich die Signale der Insulinrezeptoren auch auf den Fettstoffwechsel des Körpers aus. Deshalb hat der verbesserte Einfluß des MHCP auf die Signalübertragung auch eine deutliche Auswirkung auf den Cholesterinspiegel (Baumbach und Müller 2008).

1.2.4.6. Andere Wirkungen

Polyphenolen wurden in entsprechenden Versuchen folgende Eigenschaften zugesprochen:

- antientzündlich durch Modulation der Eicosanoid-Biosynthese
- antihypertensiv und antiarrhythmisch über Relaxation glatter Muskelzellen
- antiviral durch Hemmung der Transkriptase
- das Immunsystem stärkend (Einsatz bei der Chemotherapie von Infektionen, weil Histaminfreisetzung aus isolierten Mastzellen und die Reaktion von Lymphozyten beeinträchtigt wird).
- Förderung der Abheilung von Magen- oder Darmgeschwüren bzw. Schutzwirkung gegen deren Entstehung (Bernsmann 2002, Wollersen 2004).

2. Material und Methodik

2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere für den praktischen Teil dienten erst wenige Wochen alte männliche und weibliche Meerschweinchen mit einem Körpergewicht zwischen 300 und 500 g. Diese stammten aus dem Forschungsinstitut für Versuchstierzucht und -haltung in Himberg.

Die Tötung der vorher isolierten Tiere erfolgte durch Genickschlag.

Zu beachtende Faktoren waren einerseits der nüchterne Zustand der Versuchstiere – nur so konnte ein Ruhetonus der glatten Muskulatur des Dünndarms gewährleistet werden – und andererseits die unmittelbare Entnahme des Herzens um einem Sauerstoffmangel bzw. einer Koagulation des Blutes im Organ entgegenzuwirken.

Alle entnommenen Organe wurden dann zur weiteren Präparation in eine Nährlösung (vgl. Tabelle 1) gebettet, welche mit Oxy mix (95 % O₂, 5 % CO₂) begast wurde.

2.2. Präparate

2.2.1. Isolierung der Arteria pulmonalis

Unmittelbar nach der Tötung wurde das noch schlagende Herz aus dem mittels Feldschere geöffneten Brustkorb entnommen und in ein mit Nährlösung befülltes Becherglas übergeführt.

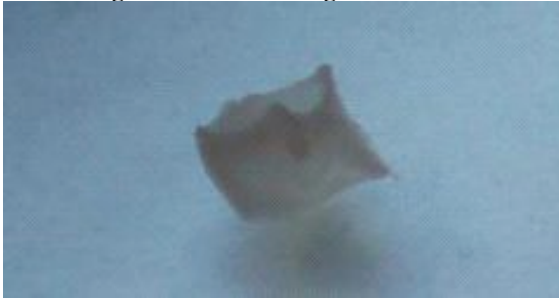
Im Becherglas wurde das Herz ausgewaschen und dann zur weiteren Bearbeitung in eine Petrischale mit derselben Nährlösung transferiert.

Die Petrischale war mit einem Korkring ausgekleidet damit die Präpariernadeln, mit welchen das Herz befestigt wurde, tatsächlich fixiert werden konnte, weiters durfte nicht auf die Sauerstoffversorgung vergessen werden

Der absteigende Teil der Pulmonalarterie wurde bis zur Verästelung unter dem Mikroskop abgetrennt und von Fett- und Muskelgewebe befreit.

Anschließend wurde die Pulmonalis in ca. 4 mm große, ringförmige Segmente geschnitten, welche dann direkt in die Apparatur eingespannt wurden oder gegebenenfalls in einem begasten Becherglas mit Nährlösung aufbewahrt wurden.

Abbildung 3: Pulmonalis-Segment



2.2.2. Isolierung der Aorta

Als letzter Schritt erfolgte die Explantation der Aorta, welche nach der vollständigen Öffnung des Thorax sichtbar wurde. Zur besseren Einsichtnahme wurde die Wirbelsäule nach vorne gedrückt, ohne das Gefäß dabei zu überdehnen.

Die Aorta wurde entlang des Rückgrates behutsam herausgeschnitten, die Aortenwand musste dabei völlig intakt bleiben und nicht verletzt werden.

Auch die Aorta wurde in eine mit Nährlösung befüllte Petrischale übergeführt und vorsichtig unter dem Mikroskop mittels einer Federschere von dem ihr anhaftenden Fettgewebe befreit.

Anschließend wurde die Aorta in ca. 4 mm große Segmente geschnitten und jedes einzelne Stückchen wurde direkt in die Apparatur eingespannt oder zur Aufbewahrung in ein Becherglas mit Nährlösung gegeben.

Abbildung 4: Petrischale mit Nährstofflösung



Abbildung 5: Unbearbeitete Aorta



Abbildung 6: Isolierter Aorta Abschnitt



2.2.3 Isolierung des rechten Vorhofs

Nach der Tötung wurde das Herz des Meerschweinchens in eine mit physiologischer Nährlösung befüllte Petrischale gelegt. Die Elektrolytlösung wurde mit Oxymix durchperlt um eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu gewährleisten.

Unter dem Mikroskop wurden Lungen- und Fettgewebe abgetrennt und das Perikard mit Hilfe einer Federschere entfernt.

Die Isolierung hatte äußerst behutsam zu erfolgen, um den Sinusknoten, welcher sich im rechten Vorhof befindet nicht zu verletzen.

Außerdem wäre eine Überdehnung des Herzens durch die Präpariernadeln möglich gewesen, was die Funktionstüchtigkeit des Sinusknotens beeinträchtigt hätte und ihn somit für die anstehenden Versuche unbrauchbar gemacht hätte.

Anschließend erfolgte die Abtrennung des Sinusknoten und an seinen beiden Enden wurden, unter zu Hilfenahme eines Fadens, Häkchen aus Silberdraht befestigt, mit denen der Sinusknoten dann später im Organbad fixiert werden konnten.

Abbildung 7: Isolierung

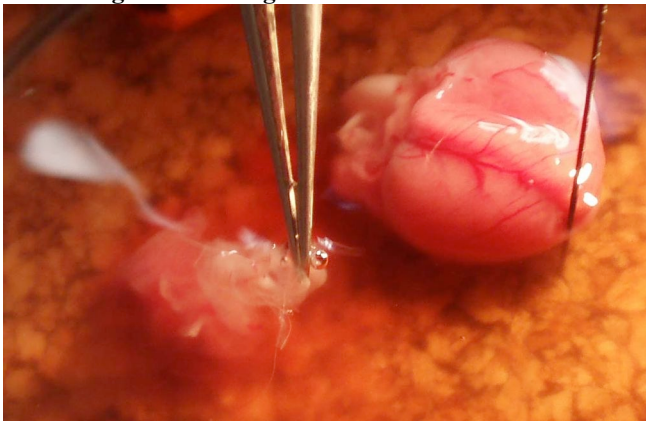


Abbildung 8: Präparierter Sinus-knoten



2.2.4. Isolierung der Papillarmuskeln

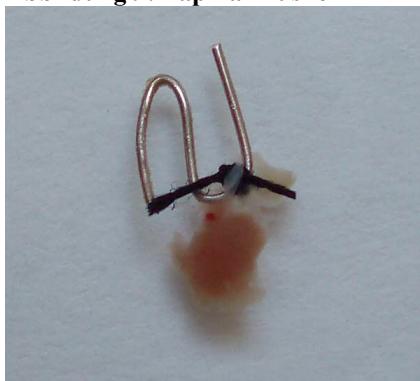
Zur Isolierung der Papillarmuskeln wurde der rechte Ventrikel über die Arteria pulmonalis entlang des Septums bis zur Herzspitze geöffnet. Nach dem Aufklappen erreichte man die Papillarmuskeln.

Wichtig war hierbei, die Papillarmuskeln von den Purkinjefasern abzutrennen, da letztere für die Herzschrittmachertätigkeit zuständig sind. Durch ihre Spontanaktivität könnten sie sonst den Versuchsablauf verfälschen.

Am Ansatz der Papillarmuskelsehne wurde ein Hacken mit einem Faden fixiert, danach die Sehne durchtrennt und anschließend der Papillarmuskel isoliert.

Die so präparierten Papillarmuskeln wurden bis zum Einspannen in der begasten Tyrode aufbewahrt.

Abbildung 9: Papillarmuskel



2.2.5 Isolierung des terminalen Ileum

Nach der Tötung und der Entnahme des Herzens wurde der Bauchraum des Meerschweinchens in Längsrichtung aufgeschnitten. Dann wurden ca. 20 cm jenes Teils des Ileums entnommen, welcher unmittelbar vor dem Caecum liegt.

Um eine Verwechslung der Enden auszuschließen, markiert man den jejunal gelegenen Teil mit einem Bindfaden und durchtrennt den Dünndarm dann sowohl oberhalb dieses Fadens als auch oberhalb der Verbindungsstelle zum Caecum.

Das so erhaltene Darmstück wurde bis zur Weiterverarbeitung in die physiologische Nährlösung transferiert und begast.

Die Weiterverarbeitung gestaltete sich folgendermaßen:

Für jeden Versuch wurde ein Darmstück von ca. 0,5 – 1 cm schräg abgeschnitten und in eine mit Kork ausgelegte und mit physiologischer Elektrolytlösung befüllte Petrischale gelegt.

In Anwesenheit von Chymus war es notwendig, diesen mit Hilfe einer Rasterpipette weg zu spülen.

Beide Darmenden wurden mit Präpariernadeln am Korkboden festgepinnt und das dem Darm anhaftende Mesenterium vorsichtig mit einer Feldschere entfernt.

Zu beachten war dabei, dass man das Darmstück nicht überdehnen durfte und ihm mit der Schere keine Verletzungen zufügen durfte.

Bei jedem Darmstück wurden wiederum Ober- und Unterseite mit zwei Fäden unterschiedlicher Farbe gekennzeichnet.

Um den Darm leichter in die Apparatur einspannen zu können, wurden unterhalb des Zwirns Silberdraht Häckchen eingeschoben und diese mit einem zweiten Knoten fixiert.

Um ein luminales Einwirken der Testsubstanz gewährleisten zu können, wurden nur Darmabschnitte verwendet, deren Öffnung frei blieb.

Alle Darmsegmente wurden bis zum tatsächlichen Einspannen in die Apparatur in der begasten Tyrode belassen.

Abbildung 10: Darm



Abbildung 11: Darmsegment



2.3. Physiologische Nährlösung

Um das Gelingen und die Reproduzierbarkeit der Versuche gewährleisten zu können, war die tägliche, richtige Bereitung der Nährlösung von großer Bedeutung.

In ihr wurden alle entnommen Organe aufbewahrt oder zwischengelagert.

Für die optimale Sauerstoffversorgung sorgte die Begasung mit Oxymix (95 % O₂ und 5 % CO₂). Nährlösung für den rechten Vorhof, den Papillarmuskel, das terminale Ileum, die Arteria pulmonalis und die Aorta

Diese Nährlösung wurde nach der Vorschrift von Reiter (1967) zubereitet und entspricht somit einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung.

Tabelle 1: Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung

ml/l	Stocklösung
33,6	NaCl
35	KCl
83,7	NaHCO ₃
1,18	MgSO ₄
1,18	KH ₂ PO ₄
3,2	CaCl ₂
1,98	Glucose

An jedem Versuchstag wurde aus den oben angeführten Komponenten in ihren entsprechenden Mengen und Aqua bidestillata eine frische Nährlösung hergestellt.

Vor der Zugabe von CaCl₂ wurde die Mischung 10 Minuten lang mit Oxymix begast um eine Ausfällung des Calciumsalzes zu unterbinden und um einen konstanten pH-Wert im physiologischen Bereich zu gewährleisten.

Erst dann wurde das CaCl₂ tropfenweise zugegeben.

Anschließend wurde der Kolben nochmals mit Aqua bidestillata bis zur Markierung aufgefüllt und einige Male geschwenkt um eine optimale Durchmischung zu erreichen

2.4. Versuchsanordnung

Maßgeblich für die Organversuche im Rahmen dieser Diplomarbeit war die Schaffung stabiler physiologischer Bedingungen hinsichtlich Temperatur, pH-Wert und Sauerstoffversorgung.

Für die Versuche standen zwei Versuchsaapparaturen (A, B) zur Auswahl, wobei man für Versuche am Papillarmuskel ausschließlich die Apparatur A verwendete, während für die anderen zu untersuchenden Organe beide Versuchsaapparaturen (A und B) in Frage kamen.

Das Funktionsprinzip beider Apparaturen war dasselbe.

2.4.1. Versuchsaapparatur A

Die Versuchsaapparatur A beinhaltete eine in ein Wasserbad getauchte Organkammer. Das Fassungsvermögen dieser Kammer betrug 25 ml, ein kleineres Bad beinhaltete 8 ml.

Das Wasserbad bestand aus Acrylglas und war mit Aqua bidestillata gefüllt. Mittels Heizspirale und Thermostat wurde die Wasserbadtemperatur bei Versuchen mit dem Papillarmuskel auf einer Temperatur von $35 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, bei allen anderen Versuchen auf einer Temperatur von $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ konstant gehalten.

Das Organbad wurde mit der physiologischen Nährlösung befüllt und um die Sauerstoffversorgung zu optimieren, wurde die Tyrode mit Oxymix begast. So war die Aufrechterhaltung des physiologischen pH-Wertes sichergestellt.

Zur Säuberung des Organbades oder beim Wechseln der Elektrolytlösung kam eine Kunststoffspritze, an die ein Gummischlauch befestigt war, zum Einsatz.

Nach dem Befüllen des Organbades spannte man die Präparate folgendermaßen in die Apparatur ein:

Die Präparationsstücke des Papillarmuskels, des Vorhofs und des terminalen Ileums wurden mit Hilfe der zuvor befestigten Silberhäkchen an den Silberdraht befestigt. Der Silberdraht war an einer Öse der Apparatur befestigt und war direkt mit dem Kraftwandler verbunden. Das andere Ende des Präparates wurde durch eine Kunststoffplatte, die mittels Schraubmechanismus zu bedienen war, festgeklemmt. So kam der Kontakt mit der Silber-Siberchloriddraht – Kathode zustande.

Die ringförmigen Präparate von Arteria pulmonalis und Aorta wurden auf einen L-förmig geformten Draht und auf ein Silberhäkchen aufgefädelt. Dadurch wurden sie mit Kraftwandler und Platinkathode verbunden.

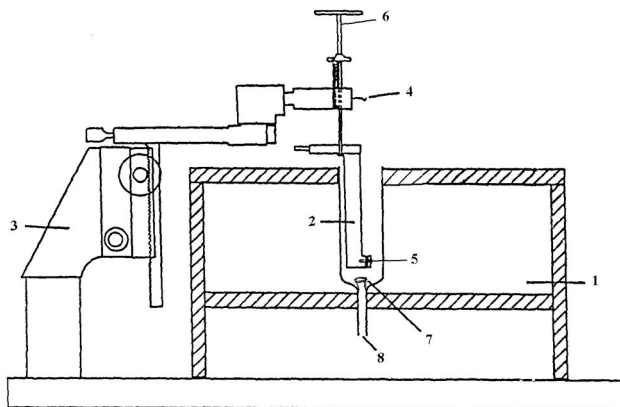
Um eine Minderversorgung der Präparate zu vermeiden musste man den Einspannvorgang zügig durchführen und man hatte weiters darauf zu achten keines der Präparate zu überdehnen.

Ein an die Apparatur angebrachter Stativschlitten ermöglichte das Herausnehmen und Absenken der Präparate in das mit Nährlösung befüllte Organbad. Mittels Feintrieb konnte die spezifische Vorspannung eingestellt werden, wodurch die für jedes Präparat erforderliche maximale Kontraktionskraft erreicht werden konnte.

Das eigentliche Messgerät war der Kraftwandler – er befand sich weiter oben am Stativ. Seine Aufgabe war es, die Kontraktionen in Stromimpulse zu transformieren .

Mittels eines Verstärkers (Transbridge TM 4-channel Transducer Amplifier; World Precision Instruments Sarasota, FL, USA) konnte eine Messung der isometrischen Kontraktion durchgeführt werden. Die Ergebnisse (Kontraktionsamplitude und –frequenz) wurden mit einem Schreiber (Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel; Firma Kipp & Zonen, Niederlande) dokumentiert.

Abbildung 12: Versuchsaapparatur A



1 Wasserbad

2 Organhalterung

3 Stativ mit Stativschlitten

4 Aufhängevorrichtung

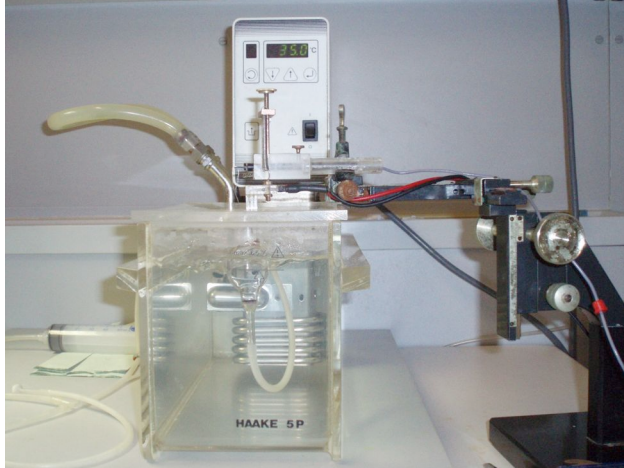
5 Elektrode

6 Feintrieb

7 Muskelkammer

8 Gaszufuhr mit Fritte

Abbildung 13: Originalabbildung Versuchsapparatur A



2.4.2. Versuchsapparatur B

Die Versuchsapparatur B unterscheidet sich von der Versuchsapparatur A hinsichtlich der Fixierungsmöglichkeiten der Organe und auch die Ausführung des Organbades ist leicht modifiziert.

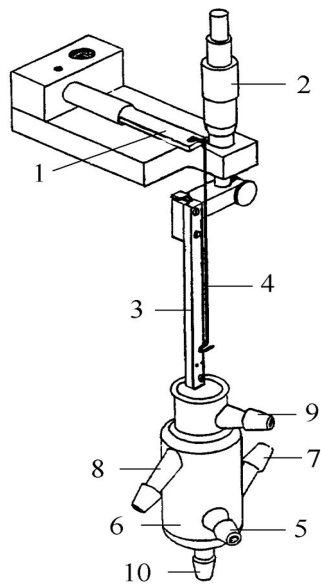
Um das Organbad – einem doppelwandigen Glasgefäß- zirkulierte zur Aufrechterhaltung der physiologischen Bedingungen konstant temperiertes Wasser.

Das Wechseln oder Entfernen der Nährlösung erfolgte über einen Abflußschlauch am Boden des Organbades. Dieser Schlauch war mit einer Quetschklemme verschlossen. Die Gas- und Wasserversorgung erfolgten über an den Seiten gelegenen Schlauchanschlüssen.

Die Organe wurden mittels eines Silberdrahtes, welcher am Steg befestigt war, und mittels eines zweiten Drahtes welcher an der Aufhängevorrichtung des Kraftwandlers montiert war, befestigt. Beim Befestigen der Präparate musste wiederum rasch gearbeitet werden, ein Überdehnen der Organe sollte unterbleiben.

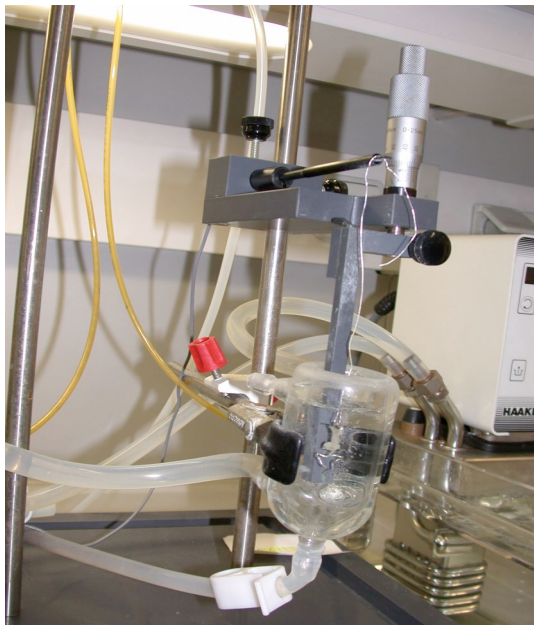
Nach dem Einspannen stellte man über das Mikrometer die Vorspannung ein, sodaß somit die maximale Kontraktionskraft des Muskels eingestellt werden konnte. Ein Kraftwandler und ein Verstärker übertrugen die Ergebnisse auf den Schreiber.

Abbildung 14: Versuchsapparatur B



- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1 Kraftwandler | 6 Organbad |
| 2 Mikrometer | 7 Zulauf Wasserbad |
| 3 Organhalterung | 8 Ablauf Wasserbad |
| 4 Aufhängevorrichtung | 9 Zulauf Nährlösung |
| 5 Gaszufuhr | 10 Ablauf Nährlösung |

Abbildung 15: Originalabbildung der Versuchsapparatur B

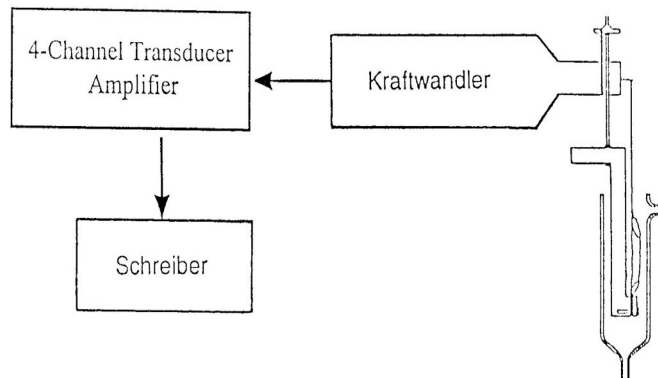


2.4.3. Kraftwandler

Der Kraftwandler transformierte die mechanische Kraft, mit der sich das eingespannte Organ kontrahierte, in ein elektrisches Signal. Dieses Signal wurde anschließend durch einen Verstärker (4-Channel-Transducer von World Precision Instruments, FL, USA) verstärkt.

Die Dokumentation der Versuchsergebnisse erfolgte mittels eines Schreibers mit automatischem Papiervorschub und einem Filzschreiber auf Millimeterpapier.

Abbildung 16: Schematische Darstellung des Kraftwandlers



2.4.4. Gasversorgung

Die Gasversorgung wurde über eine zentrale Gasflasche gewährleistet.

Von den einzelnen Ventilen im Versuchsraum führten Plastikschläuche zu den Versuchsapparaturen, die am Ende mit einer Fritte versehen waren, um den Gasstrom fein im Organbad zu verteilen.

Um die ausströmende Gasmenge regulieren zu können, wurden Schraubklemmen an den Schläuchen angebracht.

Zur Gasversorgung, die vom Beginn bis zum Ende des Versuches konstant gehalten werden musste, stand ein Gasgemisch aus 95 % O₂ und 5 % CO₂ – genannt Oxymix – zur Verfügung. Es diente zur ausreichenden Sauerstoffversorgung der isolierten Organe, zur Aufrechterhaltung des physiologischen pH-Wertes von 7,2-7,4 und zur Gewährleistung einer homogenen Verteilung der Testsubstanzen im Organbad.

2.5. Versuchsablauf

Um reproduzierbare – und korrekte – Ergebnisse zu erhalten, mussten der Versuchsablauf und auch die Versuchsanordnung jeden Tag gleich sein: Jede Präparation, die Menge mit der das Organbad befüllt wurde, das Einhängen der Präparate und auch die Reinigung der Gerätschaften hatten jeden Tag in der gleichen Art und Weise zu erfolgen.

Nicht zu vergessen war natürlich auch die konstante Gasversorgung während des gesamten Versuchsablaufes!

2.5.1. Versuchsablauf bei der Arteria pulmonalis

Nachdem die Arteria pulmonalis einer gründlichen Reinigung unterzogen worden war, wurde sie quer in die Apparatur eingespannt. Dies geschah indem man das Pulmonalisstück auf einen L-förmigen Silberdraht, der vorher der Länge des Präparates angepasst wurde, einfädelt.

Der Pulmonalising wurde dann in das mit Krebs-Henseleit-Lösung befüllte Organbad eingetaucht.

Um die maximale Kontraktionskraft des Organes zu erreichen, spannte man vor.

Als nächsten Schritt schaltete man Verstärker und Schreiber ein und definierte mit dem Positionswahlschalter die Nulllinie auf dem Millimeterpapier.

Anschließend musste man die Vorspannung präzisieren indem man mittels Feintrieb auf 9,81 mN oder 1g einstellte. Bei der Arteria pulmonalis betrug die Vorspannung 10 cm.

Danach musste mit dem Verstärker wieder auf die Nulllinie zurückgesetzt werden und eine 20-minutige Anpassungszeit abgewartet werden, während der man eventuell vorkommende Abweichungen von der Nulllinie nachkorrigieren konnte.

Die Vorkontraktion der Organe erfolgte indem man die Tyrode durch eine 90 mMol KCl – Lösung ersetzte. Zur Herstellung ebendieser KCl Lösung wog man 0,67 g KCl in einen 100 ml Kolben ein und füllte mit Nährlösung bis zur Markierung auf.

Ziel dieses Austausches der Nährmedien war, eine Abweichung der Kontraktionskraft messen zu können.

Die so erreichte Vorkontraktion wurde vom Schreiber festgehalten.

Nach etwa 90 Minuten bildete sich ein Plateau aus, was der maximalen Kontraktion entsprach.

Bei diesem „steady state“ konnte nun mit der Zugabe der einzelnen Konzentrationen – beginnend mit der niedrigsten - begonnen werden.

Die einzelnen Konzentrationsstufen wurden mit Hilfe von Finnpietten (Fa. Labsystems, Finnland) kumulativ zugegeben - alle 45 Minuten wurde die nächsthöhere Konzentration eingespritzt.

Um die Ergebnisse nicht zu verfälschen, musste darauf geachtet werden, dass die Organhalterung während der gesamten Versuchsdauer nicht berührt wurde.

2.5.2. Versuchsablauf bei der Aorta

Der Versuchsablauf bei der Aorta entsprach jenem unter 2.5.1., mit nur einem Unterschied: Die Vorspannung bei der Aorta betrug 19,6 mN oder 1g, was 20 cm auf dem Millimeterpapier entsprach.

2.5.3. Versuchsablauf beim terminalen Ileum

Das gereinigte und zur späteren Verwendung vorbereitete Darmstück wurde in das auf 37°C vortemperierte und mit Tyrode befüllte Organbad abgesenkt.

Schreiber und Verstärker wurden aktiviert und eine Vorspannung von 4,9 mN oder 0,5 g (entspricht 5 cm auf dem Millimeterpapier) angelegt. Während der darauf folgenden Anpassungszeit von 20 Minuten konnte man mittels Feintrieb immer wieder nachspannen.

Sobald sich keine Tätigkeit der Peristaltik mehr feststellen ließ war die Anpassungszeit beendet und man musste mit einer 60 mmolaren KCl Lösung vorkontrahieren. Um die 60 mmolare KCl Lösung zu erhalten wog man 0,45 g KCl in einem 100 ml Meßkolben ein und füllte mit Nährlösung auf 100 ml auf. Die so hergestellte KCl Lösung tauschte man dann gegen die Tyrode aus.

Nach Erreichen eines Plateaus, konnte mit der kumulativen Zugabe der Testsubstanz begonnen werden, wobei man wiederum mit der niedrigsten Konzentration begann und alle 45 Minuten die Konzentration erhöhte.

2.5.4. Versuchsablauf beim rechten Vorhof

Sofort nach der Entnahme wurde der Vorhof in die vorbereitete Apparatur eingehängt und in das mit Nährlösung befüllte und beheizte Organbad eingebracht.

Schreiber und Verstärker wurden aktiviert und eine Vorspannung von 10,4 mN (10,4 cm auf dem Millimeterpapier) angelegt. Die Vorspannung musste immer wieder nachjustiert werden.

Dann konnte mit der Aufzeichnung der Kontrollphase begonnen werden: Erst wenn der Vorhof konstant war und bei mehreren Messungen hintereinander die gleiche Anzahl von Schlägen aufwies, konnte man mit der kumulativen Zugabe der Substanz – wiederum von der niedrigsten zur höchsten Konzentration aufsteigend - beginnen.

Eine Meßeinheit dauerte 45 Minuten, innerhalb jeder Einheit wurde alle 5 Minuten die Schlagfrequenz des Vorhofs über 6 cm des Millimeterpapiers mit einem Papiervorschub von 5 mm/s aufgezeichnet.

2.5.5. Versuchsablauf beim Papillarmuskel

Der präparierte Papillarmuskel wurde, so wie im vorigen Kapitel erklärt, in die entsprechende Versuchsapparatur eingespannt.

Der Steg, an dem das Präparat befestigt war, wurde in das mit Tyrode befüllte und beheizte Organbad abgesenkt.

Man legte eine Vorspannung von 3,92 mN an (entspricht 4 cm auf dem Millimeterpapier) und aktivierte Schreiber und Verstärker.

Die Vorspannung musste während der gesamten Zeit des Versuches nachjustiert werden, um eine scheinbare Abnahme der Kontraktionskraft durch eine Verringerung der Ausgangsspannung zu verhindern (Reiter 1967).

Da im Gegensatz zu den Vorhofpräparaten (aufgrund des Sinusknotens) der Papillarmuskel keine Spontanaktivität aufweist, musste der Papillarmuskel durch einen elektrischen Reiz zur Kontraktion angeregt werden. Dies erfolgte durch ein Reizgerät Accupulser A 310 (World Precision Instruments, Hamden, FL, USA), über Silberchloridelektroden.

Nach Ablauf der Anpassungszeit wurde der Papillarmuskel durch Rechteckimpulse mit einer Dauer von 3 ms bei einer Frequenz von 1 Hz gereizt. Die Stromstärke lag 10 % über der minimalen Reizschwelle, zusätzlich wurde die Stromstärke möglichst minimal gewählt. So war eine regelmäßige Kontraktion garantiert.

Dies war wichtig, weil sonst die Ergebnisse verfälscht worden wären. Es hätte durch eine zu hoch gewählte Stromstärke nämlich zu einer Entleerung der Katecholaminspeicher kommen können (Furchgott et al. 1959).

Wenn die Amplitude bei mehreren aufeinander folgenden Messungen konstant gestellt war, durfte man die Kontrollphase beenden und mit der kumulativen Einspritzung der Substanz, beginnend mit der niedrigsten Konzentration bis hin zur höchsten, beginnen.

Jede Meßeinheit dauerte 45 Minuten und in jeder Einheit wurden alle 5 Minuten mit dem Schreiber 3 bis 5 Kontraktionsamplituden aufgezeichnet.

2.6. Untersuchte Substanzen

In der vorliegenden Diplomarbeit wurde die Wirkung der Substanzen GB 9 und GB13, zwei synthetisch gewonnene Chalkone, untersucht.

Beide wurden am Department für Medizinische und Pharmazeutische Chemie der Universität Wien isoliert und von Prof. Dr. Thomas Erker zur Verfügung gestellt.

Für die Versuche an den isolierten Organen von Meerschweinchen musste jeden Tag eine frische Stammlösung der jeweiligen Testsubstanz mit dem Lösungsmittel DMSO, welches sich als bestes Lösungsmittel erwiesen hatte, bereiteten werden.

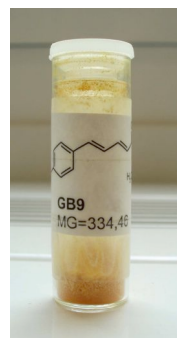
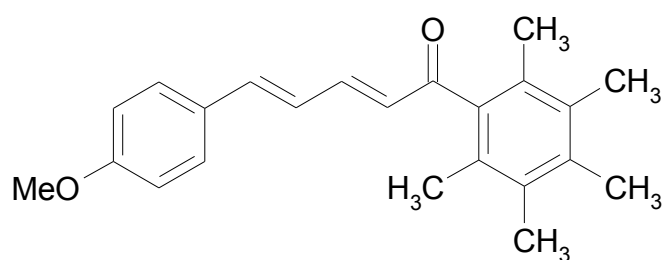
Die Substanzeinwaage richtete sich nach dem Molekulargewicht der jeweiligen Substanz und dem Fassungsvermögen des Organbades. Ziel war es, durch kumulative Substanzzugabe eine maximale Badkonzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ zu erreichen:

Dazu wurde alle 45 Minuten die jeweilige, in DMSO gelöste Substanz mit einer Finnpiquette in Volumina von 1 μl , 2 μl , 7 μl , 20 μl und 70 μl ins Organbad injiziert. Durch diese Einspritzungen stieg die Substanzkonzentration im Organbad von 1 $\mu\text{mol/l}$, über 3 $\mu\text{mol/l}$, über 10 $\mu\text{mol/l}$ bis hin zu 30 $\mu\text{mol/l}$ und schließlich auf 140 $\mu\text{mol/l}$ an.

Ziel dieser kumulativen Zugabe war das Erreichen des „steady states“. So konnte bei jeder Konzentration ein Plateauwert erreicht werden, bei dem sich die Wirkung auf das Organ jeweils voll entfaltete.

Abbildung 17: Strukturformel der untersuchten Substanzen

GB 9



GB 13

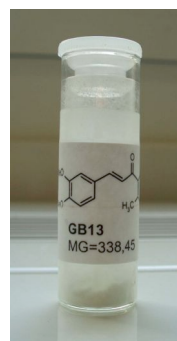
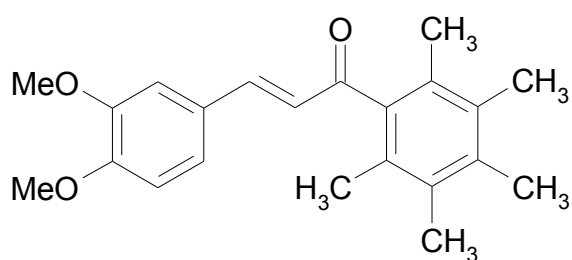


Tabelle 2: Substanzeinwaage

	Molare Masse M	Einwaage für 25ml / 8 ml Organbad
GB9	334,46 g/l	0,85 mg / 0,27 mg
GB13	338,45 g/l	0,84 mg / 0,27 mg

2.7. Auswertungen und Statistik

Die Versuche am rechten Vorhof wurden hinsichtlich der Änderung der Spontanschlagfrequenz ausgewertet.

Zu diesem Zweck wurde mittels eines Schreibers die Schlagfrequenz innerhalb von 12 Sekunden registriert, was - bei einem Papiervorschub von 5 mm/s - einer Aufzeichnungsstrecke von 6 cm entsprach. Innerhalb dieser 6 cm wurden dann die Ausschläge gezählt und mit 5 multipliziert um die Anzahl der Schläge pro Minute auszurechnen.

Zur Beurteilung der Messergebnisse hinsichtlich ihrer Signifikanz, wurde der ungepaarte Student-t-Test herangezogen. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $<5\%$ ($P < 0,05$) bzw. $<1\%$ ($P < 0,01$) wurden die Werte als signifikant eingestuft, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $<0,1\%$ ($0,001$) als hochsignifikant.

Abbildung 18: Amplifier



Bei den Versuchen an den Papillarmuskeln wurde die Kontraktionskraft als Meßgröße herangezogen. Diese wurde in mN gemessen. Ein Zentimeter des Millimeterpapiers entsprach 0,98 mN bei 5 mm/s (Eichfaktor des Kraftwandlers).

Jede aufgezeichnete Amplitude wurde abgemessen und mit dem entsprechenden Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert, abhängig davon bei wie viel mV die Aufzeichnung stattfand.

Bei diesen Präparaten wurde die Änderung der Kontraktionskraft ausgewertet. Dazu wurden während des gesamten Versuchablaufs Kontraktionskurven erstellt und mit dem Schreiber auf dem Millimeterpapier aufgezeichnet.

Alle 45 Minuten erfolgte die Einspritzung der nächsthöheren Konzentration und der genaue Zeitpunkt jeder Injektion wurde händisch auf der Kurve markiert.

Um die erhaltenen Kurven auszuwerten, wurde 45 Minuten nach Einspritzung der letzten und auch höchsten Konzentration die Aufzeichnung gestoppt und der Abstand zwischen diesen markierten Punkten und der Nulllinie mit dem Lineal abgemessen. Den Wert, den man dabei erhielt, multiplizierte man mit dem entsprechenden Eichungsfaktor

Als Kontrollwert fungierte jener Punkt auf der Kurve, der „steady state“ Bedingungen aufwies, also jener Punkt kurz vor der Zugabe der ersten Konzentration. Der Kontrollwert wurde als Bezugspunkt gewählt und 100 % gesetzt.

Die arithmetischen Mittelwerte der Messdaten inklusive der jeweiligen Standardfehler (SEM) wurden in Graphiken dargestellt. Bei der graphischen Aufzeichnung wurde auch jede eventuell vorkommende EC_{50} festgehalten.

Mit EC_{50} ist jene Konzentration an zugesetzter Substanz in $\mu\text{mol/l}$ gemeint, bei der die Kontraktionskraft – bzw. beim Vorhof die Schlagfrequenz – auf die Hälfte des Ausgangswertes absinkt.

3. Ergebnisse

3.1. Wirkungen der Testsubstanz GB9 auf die isolierten Organe

3.1.1. Wirkung von GB9 auf die Schlagfrequenz des isolierten Vorhofs

Bevor man mit der kumulativen Substanzzugabe beginnen konnte, musste man darauf achten, dass die Schlagfrequenz konstante Werte erreichte(Kontrollwert).

Es wurden 5 Versuche mit dem rechten Vorhof durchgeführt und aus den 5 Kontrollwerten dieser Versuche ein Mittelwert berechnet. Dabei erhielt man folgenden Wert: $199 \pm 7,65$ Schläge / Minute. Diesen Wert setzte man mit 100% gleich und bezog sich für die Berechnung aller nachfolgenden Schlagfrequenzen auf ihn.

GB9 zeigte insgesamt eine leicht negativ chronotrope Wirkung, wobei die Abnahme der Schlagfrequenz bei der Einspritzung der $1 \mu\text{mol/l}$ – Konzentration am deutlichsten war.

Bei der $10 \mu\text{mol/l}$ – Einspritzung nahm die Schlagfrequenz dagegen sogar um 0,82 % zu.

Tabelle 3: Wirkung von GB 9 auf die Schlagfrequenz rechter Vorhöfe

GB9 ($\mu\text{mol/l}$)	f $\pm$ SEM (mN)	f $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$199,00 \pm 7,65$	0 ± 0	5	-
1	$186,49 \pm 11,69$	$-6,46 \pm 3,51$	5	n.s.
3	$190,49 \pm 16,49$	$-4,75 \pm 5,42$	5	n.s.
10	$200,92 \pm 11,71$	$0,82 \pm 3,47$	5	n.s.
30	$192,30 \pm 9,16$	$-3,24 \pm 3,71$	5	n.s.
100	$193,12 \pm 9,03$	$-2,09 \pm 6,70$	5	0,05

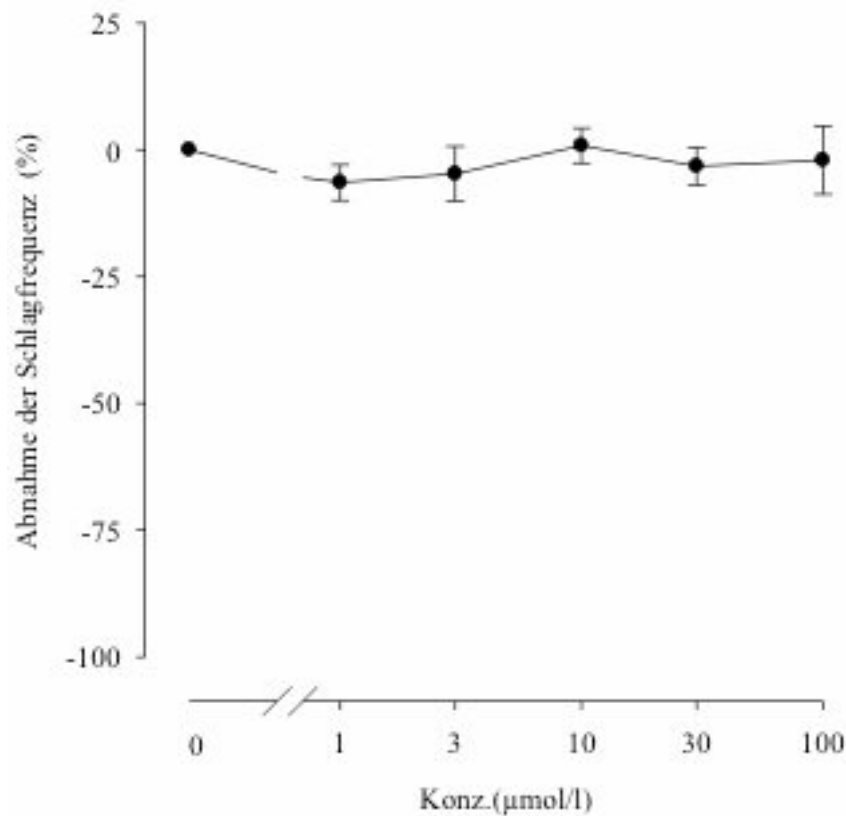
f = Mittelwerte der Schlagfrequenz pro Minute

SEM = Standardfehler in %

n = Anzahl der Versuche

Abbildung 19: Konzentration – Wirkungskurve von GB 9 an rechten Vorhöfen

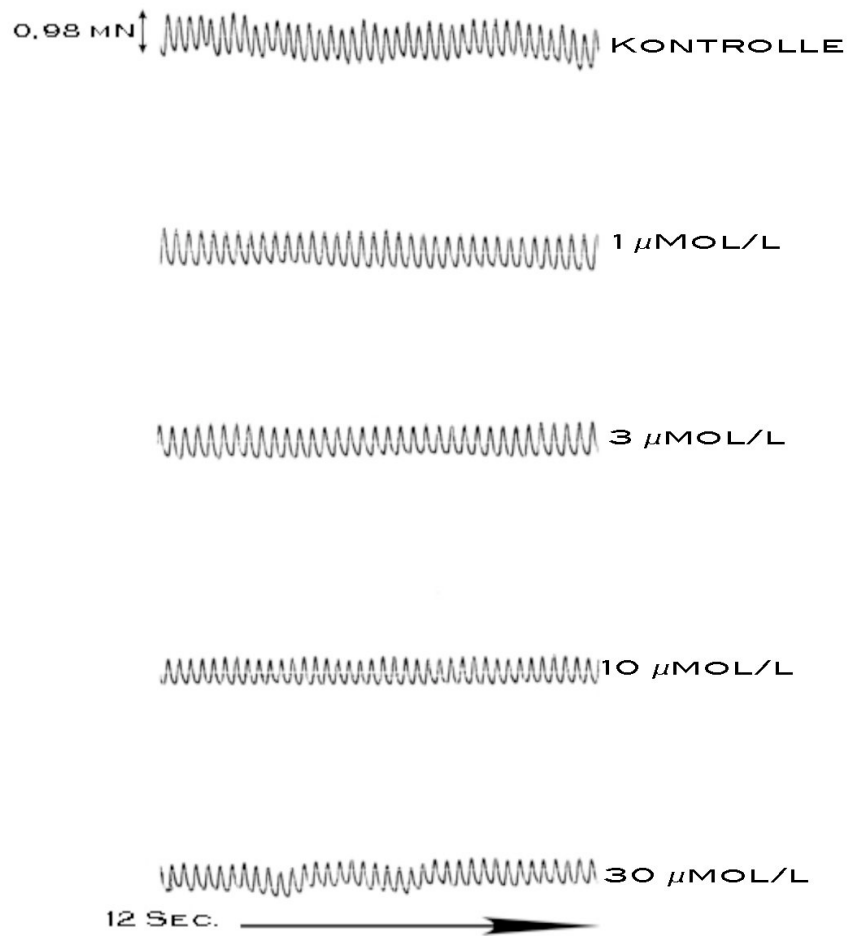
Vorhof
n = 5, GB 9



Legende:

Die Graphik zeigt die Wirkung von GB9 auf isolierte Vorhöfe. Die prozentuelle Änderung der Schlagfrequenz wurde auf der Ordinate linear gegen den Logarithmus der verwendeten Konzentrationen der Testsubstanz auf der Abzisse aufgetragen. Die Punkte auf der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz aus 5 Versuchen. Die Standardabweichungen werden durch Balken symbolisiert.

Abbildung 20: Originalaufzeichnung der Wirkung von GB9 auf die Schlagfrequenz rechter Vorhöfe



Legende:

Die Abbildung zeigt die konzentrationsabhängige Abnahme der Schlagfrequenz rechter Vorhöfe. Die Einwirkzeit jeder der 5 Konzentrationen betrug 45 Minuten.

3.1.2. Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft isolierter Papillarmuskel

Der Effekt von GB9 auf die Kontraktilität von Papillarmuskeln wurde an 5 Präparaten getestet.

Sobald der Muskel bei mehreren graphischen Aufzeichnungen hintereinander gleiche Werte zeigte, galt er als konstant und wurde als Kontrollwert herangezogen (100%). Alle nachfolgend kumulativ eingespritzten Konzentrationen wurden auf den aus den 5 Kontrollwerten gebildeten Mittelwert von $0,42 \pm 0,14$ mN bezogen.

Es stellte sich heraus, dass GB9 nach anfänglicher Erhöhung der Kontraktilität schließlich bei Einspritzung der letzten 3 Konzentrationen jeweils einen negativ inotropen Effekt ausübte.

So sank bei der $100\mu\text{mol/l}$ – Konzentration die Schlagkraft auf -11,22 %.

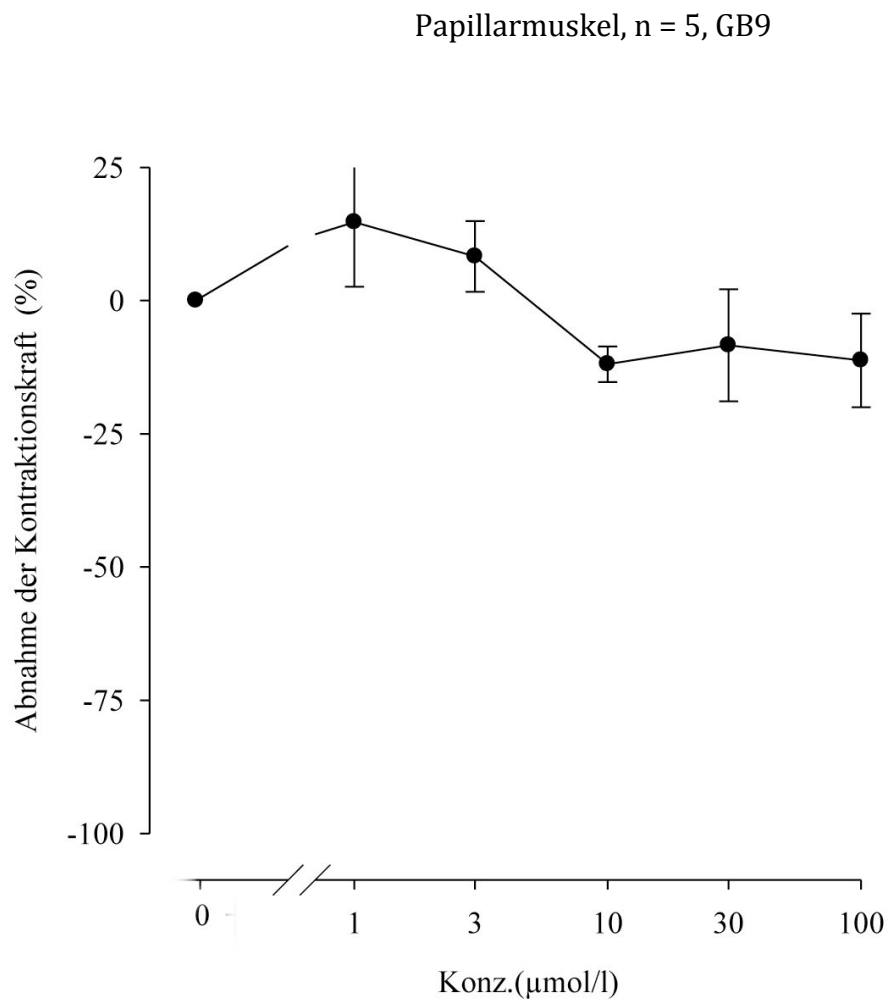
Tabelle 4: Wirkung von GB9 auf die Kontraktilität isolierter Papillarmuskel

GB9 $\mu\text{mol/l}$	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$0,42 \pm 0,14$	0 ± 0	5	--
1	$0,53 \pm 0,24$	$14,71 \pm 12,10$	5	n.s.
3	$0,48 \pm 0,19$	$8,28 \pm 6,65$	5	n.s.
10	$0,36 \pm 0,13$	$-11,93 \pm 3,34$	5	n.s.
30	$0,36 \pm 0,10$	$-8,39 \pm 10,52$	5	n.s.
100	$0,35 \pm 0,09$	$-11,22 \pm 8,77$	5	n.s.

fc = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft

SEM = Standardfehler in mN

Abbildung 21: Konzentrations- Wirkungskurve von GB9 an Papillarmuskeln

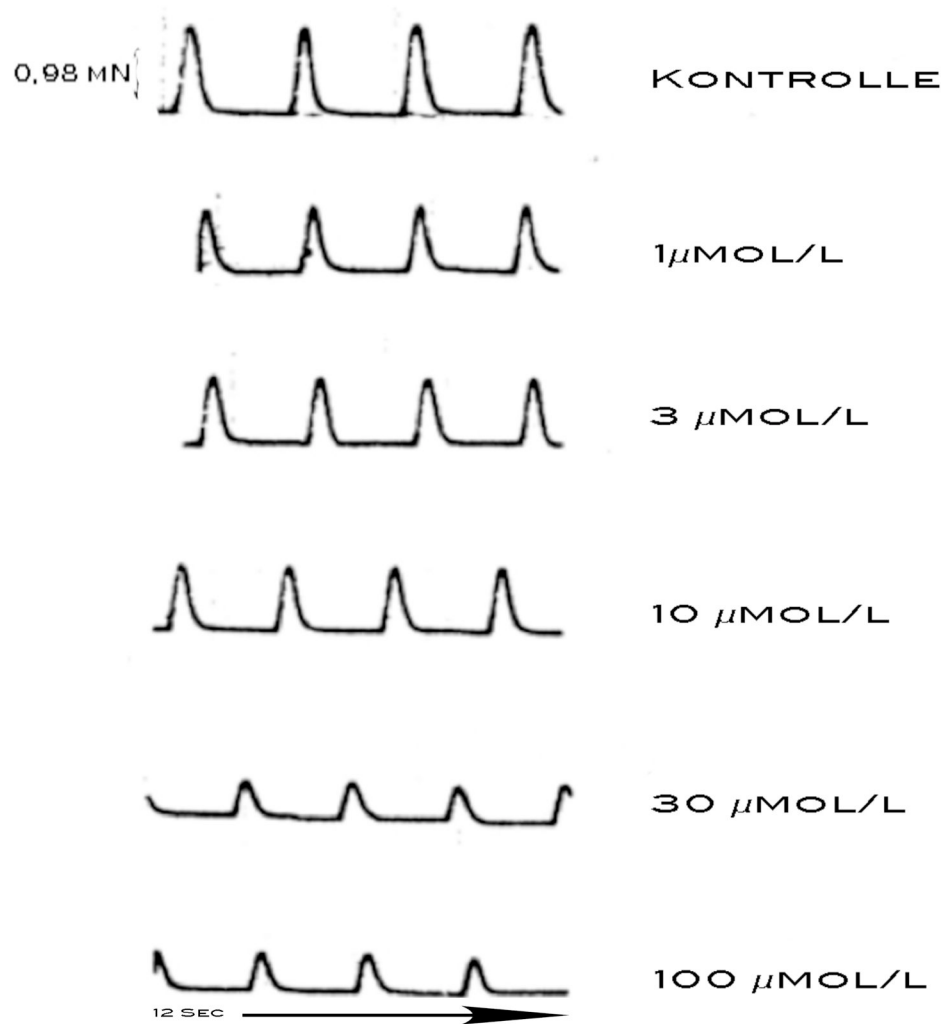


Legende:

Die Graphik zeigt die Wirkung von GB9 auf isolierte Papillarmuskelpräparate durch kumulative Einwirkung der Testsubstanz.

Auf der Ordinate wurde die Änderung der Kontraktionskraft in Prozent und auf der Abzisse die Konzentration von GB9 in µmol/l aufgetragen. Die fetten Punkte auf dem Graphen kennzeichnen die Veränderungen der Kontraktionskraft. Die Balken stellen die Standardfehler dar.

Abbildung 22: Originalaufzeichnung der Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft von Papillarmuskeln



Legende:

Die Abbildung zeigt die Originalregistrierung der Amplitude und deren Änderung nach Substanzzugabe. Alle 45 Minuten wurde die Konzentration erhöht. Zum Vergleich wurde auch ein Kontrollwert ermittelt.

3.1.3. Wirkung von GB9 auf die Arteria pulmonalis

Hierbei beobachtete man die Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis.

Es wurden 5 Versuche durchgeführt und ein Mittelwert aus den 5 Kontrollwerten ermittelt. Daraus ergab sich der folgende Wert: $11,54 \pm 1,77$ mN, was 100 % der Kontraktionskraft entsprach.

Dabei ergab sich dass GB9 nach anfänglicher Erhöhung der Kontraktionskraft ab der 10 $\mu\text{mol/l}$ – Konzentration eine schwach negativ inotrope Wirkung auf die Arteria pulmonalis ausübte.

So wurde die Kontraktilität schließlich um $6,85 \pm 3,82$ % gesenkt.

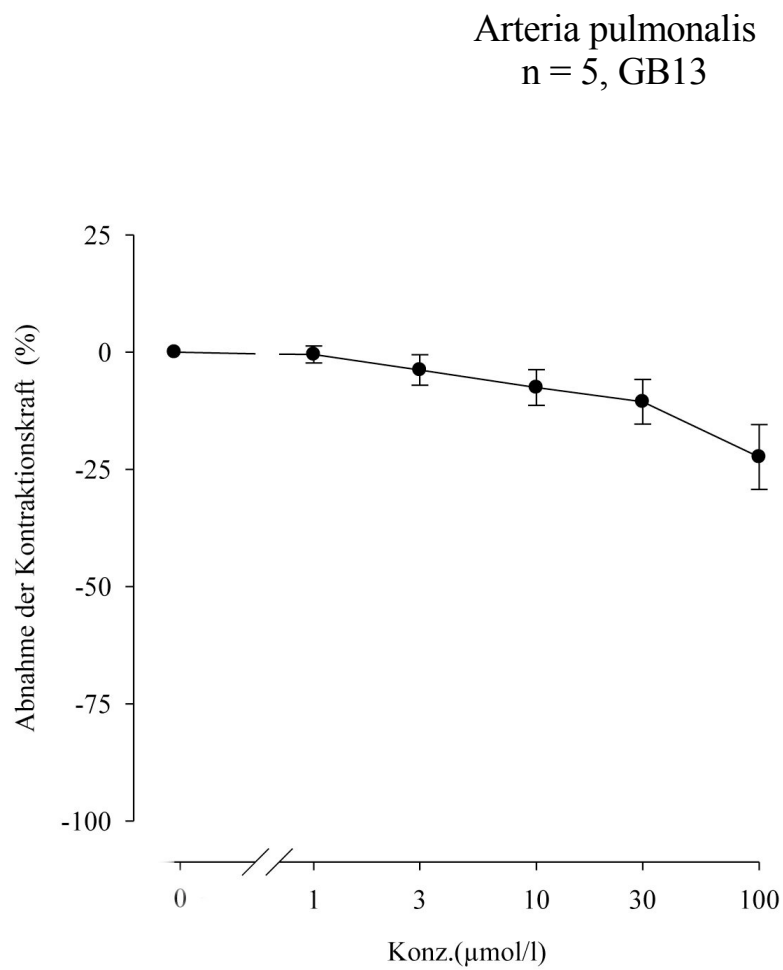
Tabelle 4: Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis

GB9 ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$11,54 \pm 1,77$	0 ± 0	5	--
1	$12,17 \pm 1,81$	$5,59 \pm 2,37$	5	n.s.
3	$12,05 \pm 1,77$	$4,85 \pm 1,78$	5	n.s.
10	$11,32 \pm 2,19$	$-1,50 \pm 10,72$	5	n.s.
30	$11,30 \pm 2,13$	$-3,27 \pm 4,95$	5	n.s.
100	$10,68 \pm 1,55$	$-6,85 \pm 3,82$	5	n.s.

Legende:

In der Tabelle findet man die Konzentrationsangaben, Irrtumswahrscheinlichkeiten und arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionsänderung in mN und in %. Auch die Anzahl der Versuche wurde angegeben.

Abbildung 23: Konzentrations-Wirkungskurve von GB9 auf die Arteria pulmonalis

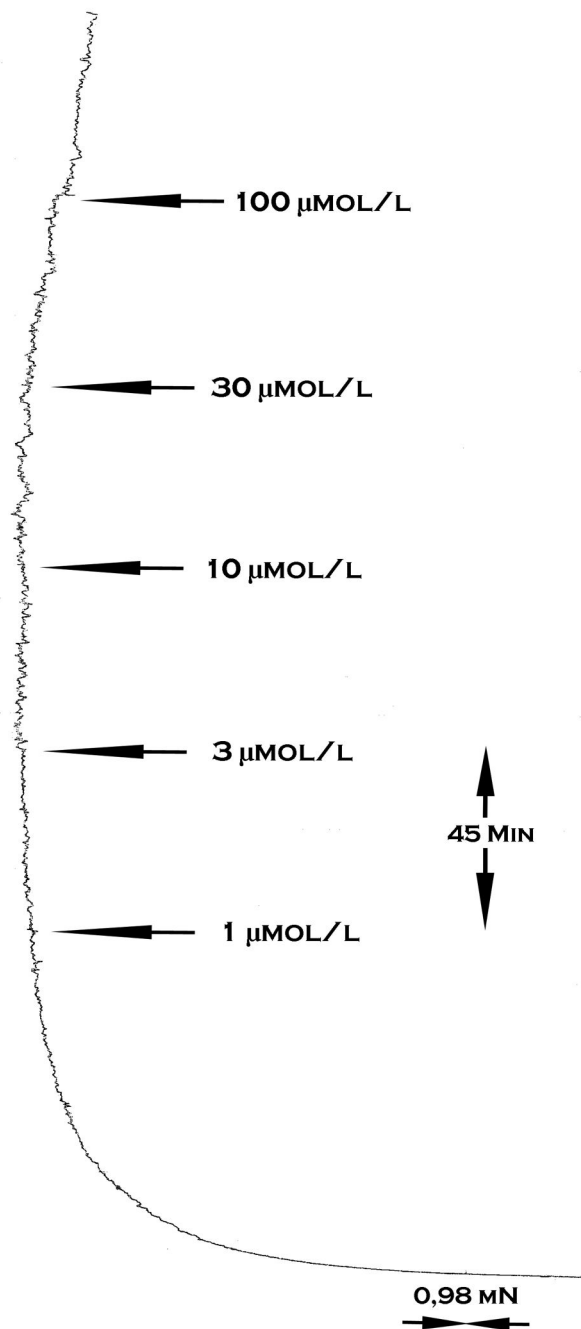


Legende:

In der Abbildung wurden auf die x-Achse die Konzentrationsstufen der Testsubstanz GB9 in µmol/l aufgetragen. Auf der y-Achse ist die Abnahme der Kontraktionskraft ablesbar.

Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft wurden als Punkte, die Standardfehler als Balken dargestellt.

Abbildung 24: Originalabbildung eines Versuches, der die Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis zeigt.



Legende:

Die Abbildung gibt die Kontraktionsänderung der Arteria pulmonalis nach etappenweiser Erhöhung der Konzentration von GB9 wieder. Die Konzentrationen wurden jeweils alle 45 Minuten erhöht.

3.1.4. Wirkung von GB9 auf die Aorta

Die Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft der Aorta wurde an 5 Präparaten getestet. Um eine maximale Vorkontraktion zu erreichen tauschte man nach einer Anpassungszeit die normale Tyrode durch eine KCl-Lösung aus und spritzte dann - kumulativ und in aufsteigender Weise - alle 45 Minuten die Testsubstanz ein.

In dieser Versuchsreihe, die aus 5 Versuchen bestand, wurde ein Mittel der Kontrollwerte von $8,03 \pm 1,34$ mN berechnet.

Die Kontraktionskraft der Aorta wurde durch GB9 in der Weise beeinflusst, dass es bei jeder Substanzzugabe zu einer leichten Verstärkung der Kontraktionskraft kam, am deutlichsten bei der $3 \mu\text{mol/l}$ Konzentration, wo die Kontraktilität um $5,53 \pm 1,65$ % erhöht wurde.

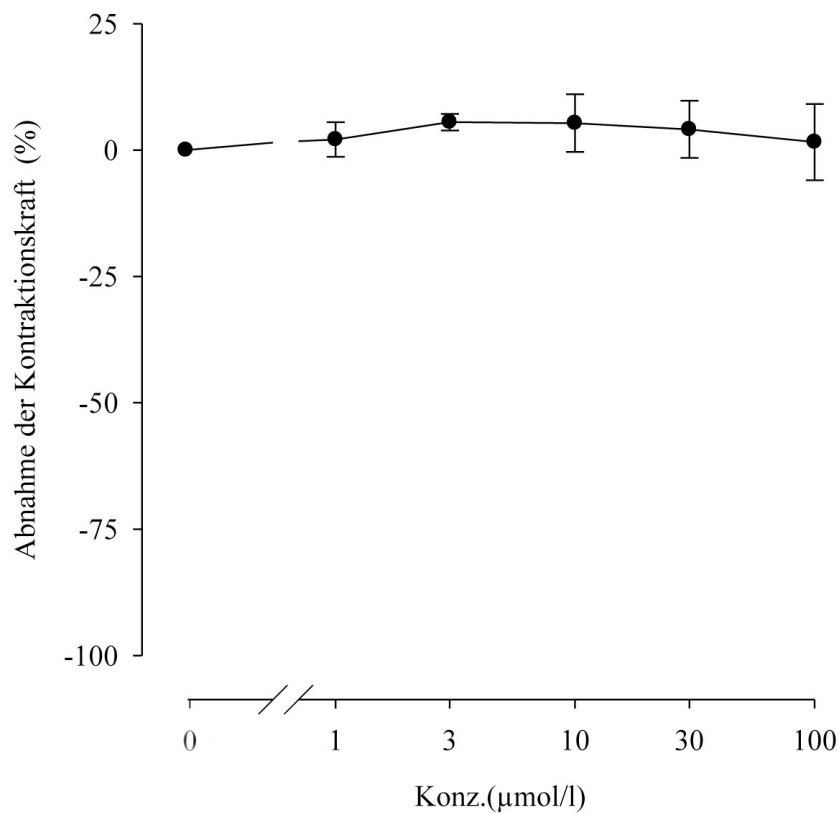
Tabelle 5: Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft der Aorta:

GB9 ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$8,03 \pm 1,34$	0 ± 0	5	--
1	$8,29 \pm 1,54$	$2,10 \pm 3,42$	5	n.s.
3	$8,54 \pm 1,54$	$5,53 \pm 1,65$	5	n.s.
10	$8,67 \pm 1,79$	$5,34 \pm 5,69$	5	n.s.
30	$8,55 \pm 1,74$	$4,11 \pm 5,65$	5	n.s.
100	$8,74 \pm 1,88$	$1,59 \pm 7,54$	5	n.s.

Legende:

Aus der Tabelle ersieht man die Konzentrationsstufen der Testsubstanz GB9, die errechneten Mittelwerte, die Standardfehler in mN und in % und die Anzahl der Versuche.

Abbildung 25: Konzentrations- Wirkungskurve von GB9 auf die Aorta

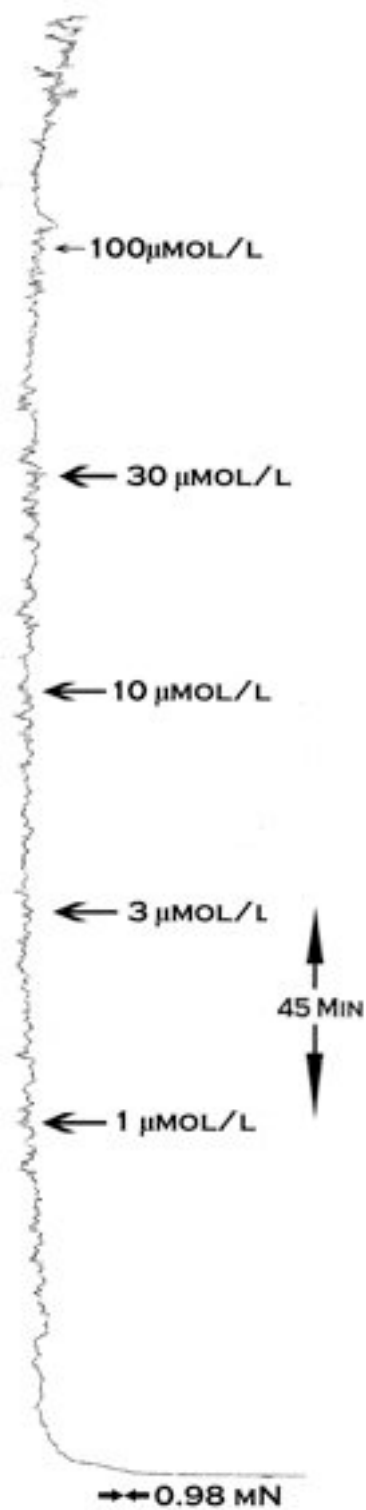


Legende:

Die einzelnen Konzentrationsstufen der Testsubstanz GB9 in µmol/l sind auf der x-Achse, die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent ist auf der y-Achse dargestellt.

Die Punkte stellen die Mittelwerte dar, die Balken zeigen die Standardfehler.

Abbildung 26: Originalaufzeichnung eines Versuches, der die Wirkung von GB9 auf die Aorta zeigt



Legende:

Die Abbildung gibt die Kontraktionsänderung der Aorta nach stufenweiser Erhöhung der Konzentration von GB9 wieder. Die Konzentration wurde jeweils alle 45 Minuten erhöht.

3.1.5. Wirkung von GB9 auf das terminale Ileum

Der Effekt von GB9 auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileum wurde an 5 Präparaten überprüft.

Als Kontrollwert – welcher als Mittelwert aus den Kontrollwerten der 5 einzelnen Versuche berechnet wurde – wurde $9,92 \pm 2,13$ mN definiert und mit 100 % gleichgesetzt.

Im Laufe der Versuche zeigte sich, dass GB9 die Kontraktionskraft des terminalen Ileums sehr deutlich erniedrigt. Die negativ inotrope Wirkung zeigte sich von einer Konzentrationsstufe zur nächsten immer stärker, bis sie bei der 100 $\mu\text{mol/l}$ - Konzentration sogar auf $-45,35 \pm 5,83$ % absank.

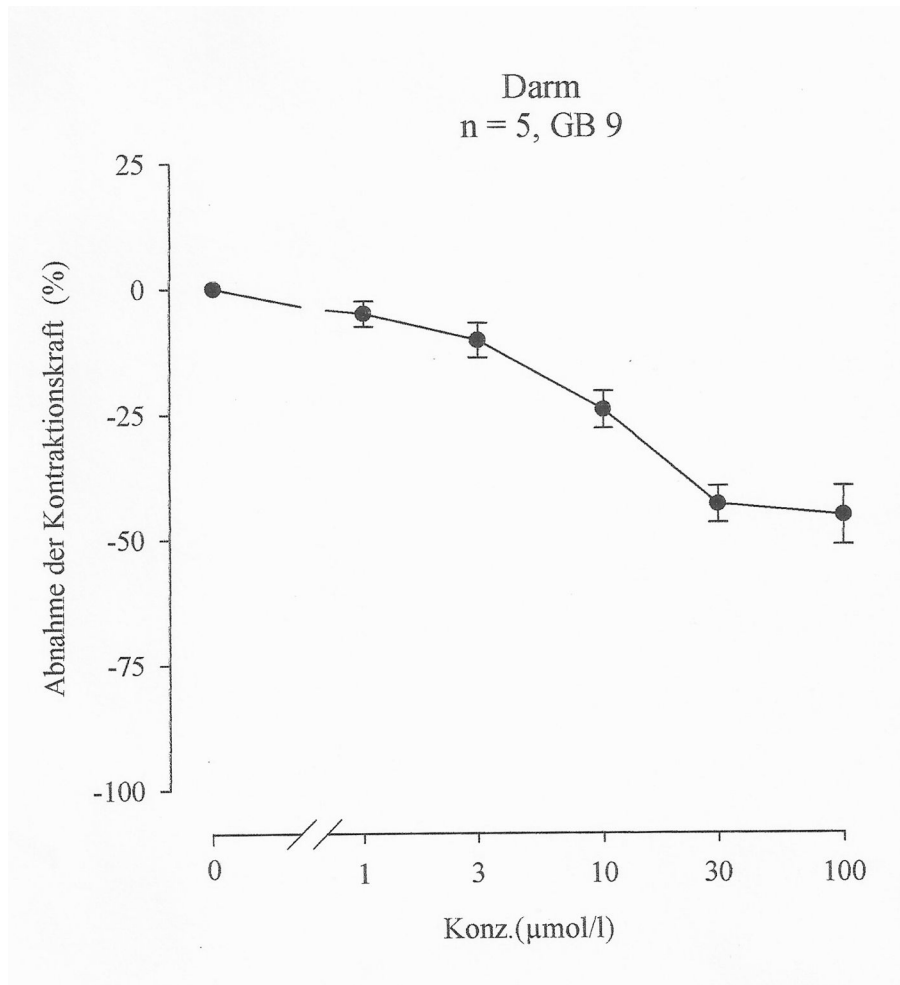
Tabelle 6: Wirkung von GB9 auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileum

GB9 ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$9,92 \pm 2,13$	0 ± 0	5	--
1	$9,55 \pm 2,20$	$-5,02 \pm 2,52$	5	n.s.
3	$9,17 \pm 2,31$	$-10,29 \pm 3,44$	5	0,05
10	$7,84 \pm 2,10$	$-24,17 \pm 3,74$	5	0,05
30	$5,94 \pm 1,70$	$-43,14 \pm 3,64$	5	0,01
100	$5,79 \pm 1,89$	$-45,35 \pm 5,83$	5	0,01

Legende:

In dieser Tabelle sind die einzelnen Konzentrationsstufen der kumulativen Zugabe der Testsubstanz GB9 ablesbar. Weiters finden sich hier auch die errechneten Mittelwerte, die Irrtumswahrscheinlichkeiten und die Anzahl der durchgeführten Versuche.

Abbildung 27: Konzentrations- Wirkungskurve von GB 9 auf das terminale Ileum



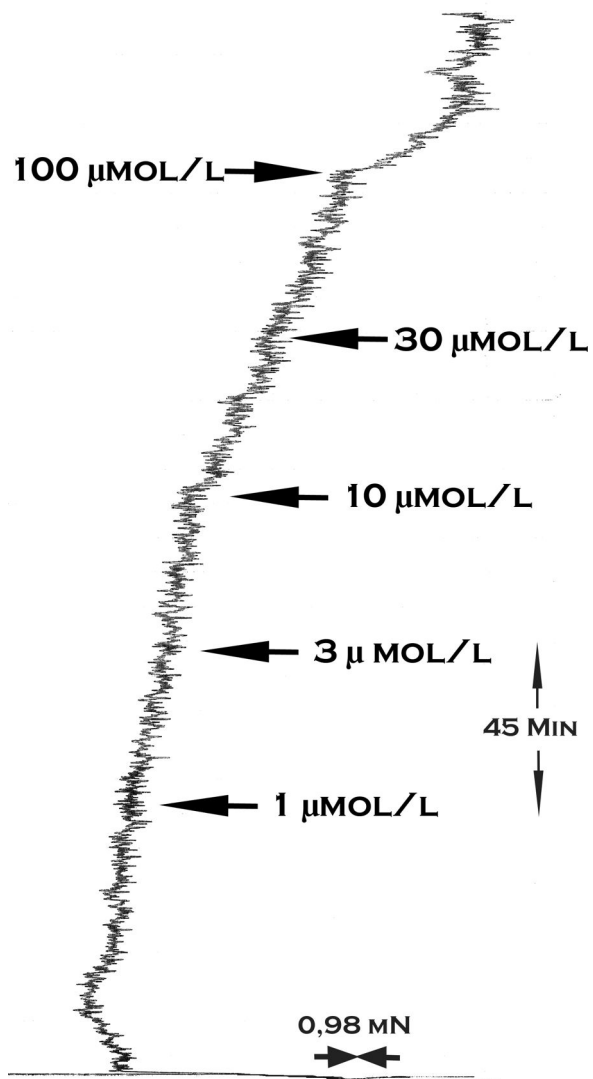
Legende:

In der Abbildung wurde auf die x-Achse die Konzentrationsstufen der Testsubstanz GB9 in µmol/l aufgetragen.

Auf der y-Achse ist die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent ersichtlich.

Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte, die Standardfehler als Balken graphisch dargestellt.

Abbildung 28: Originalabbildung eines Versuches, der die Wirkung von GB9 auf das terminale Ileum zeigt



Legende:

Die Abbildung gibt die Kontraktionsänderung des terminalen Ileum nach Erhöhung der Konzentrationen von GB9 wieder. Die Zugabe erfolgte jeweils nach 45 Minuten.

3.2. Wirkungen der Testsubstanz GB13 auf die isolierten Organe

3.2.1. Wirkung von GB13 auf die Schlagfrequenz rechter Vorhöfe

Bei dieser Versuchsreihe wurde der Kontrollwert als Mittelwert aus 4 Versuchen ermittelt.

Er wurde mit $221,25 \pm 11,25$ Schlägen/Minute festgelegt.

Im Gegensatz zu GB9 wurde durch GB13 bei keiner Konzentration die Schlagfrequenz erhöht, ganz im Gegenteil kam es unter Einwirkung von GB13 zu einer deutlichen Senkung der Schlagfrequenz auf letztendlich $-46,36 \pm 6,35$ %.

Dieser negativ chronotrope Effekt nahm von Konzentration zu Konzentration immer weiter zu.

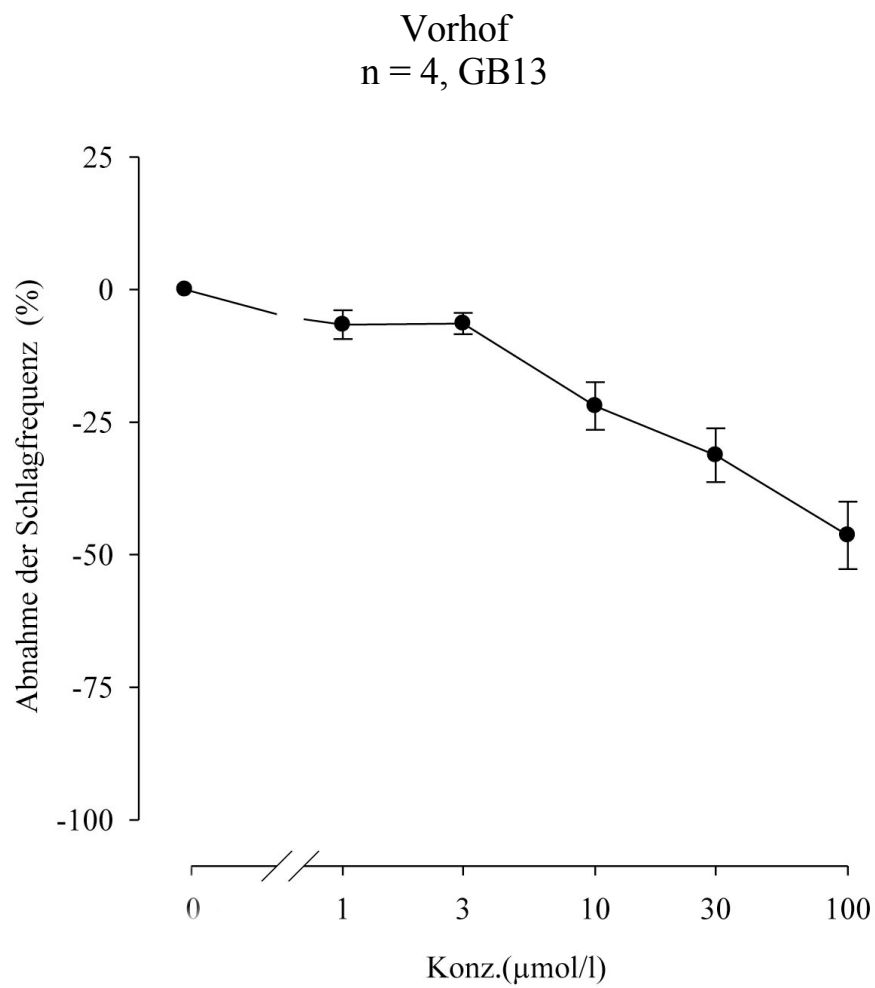
Tabelle 7: Wirkung von GB13 auf die Schlagfrequenz rechter Vorhöfe

GB13 ($\mu\text{mol/l}$)	f $\pm$ SEM (Schläge/Minute)	f $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$221,25 \pm 11,25$	0 ± 0	4	--
1	$206,52 \pm 12,16$	$-6,64 \pm 2,71$	4	n.s.
3	$206,52 \pm 7,66$	$-6,42 \pm 2,00$	4	n.s.
10	$171,86 \pm 9,55$	$-21,96 \pm 4,51$	4	n.s.
30	$151,44 \pm 11,67$	$-31,26 \pm 5,08$	4	0,05
100	$117,64 \pm 13,31$	$-46,36 \pm 6,35$	4	0,05

f= Mittelwerte der Schlagfrequenz pro Minute

SEM = Standardfehler in %

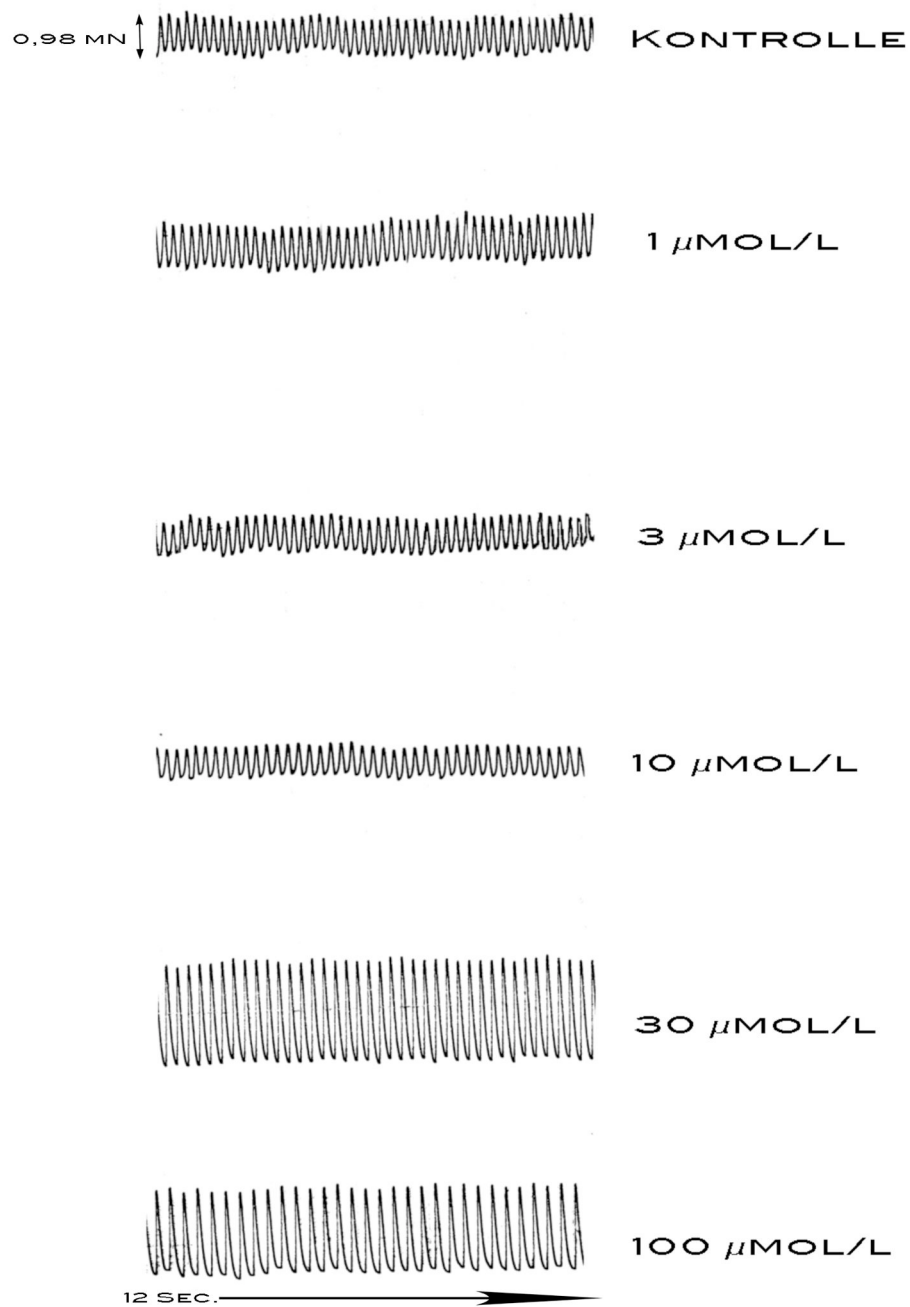
Abbildung 29: Konzentrations- Wirkungskurve von GB13 an rechten Vorhöfen



Legende:

Die Graphik zeigt die Wirkung von GB13 auf isolierte Vorhöfe. Die prozentuelle Änderung der Schlagfrequenz wurde auf der Ordinate linear gegen den Logarithmus der verwendeten Konzentrationen der Testsubstanz auf der Abzisse aufgetragen. Die Punkte auf der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz aus 4 Versuchen. Die Standardabweichungen werden durch Balken symbolisiert.

Abbildung 30: Originalaufzeichnung der Wirkung von GB13 auf die Schlagfrequenz rechter Vorhöfe



Legende:

Die Abbildung zeigt die konzentrationsabhängige Abnahme der Schlagfrequenz rechter Vorhöfe. Die Einwirkzeit betrug bei jeder der 5 getesteten Konzentrationen 45 Minuten.

3.2.2. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft isolierter Papillarmuskel

Die Wirkung von GB13 wurde in bereits beschriebener Weise an 4 Präparaten getestet.

GB13 zeigte in allen Konzentrationen einen deutlich negativ inotropen Effekt. Bei den Einspritzungen von 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ sank die Kontraktionskraft sogar auf unter 50 % des Ausgangswertes (EC_{50}). Der EC_{50} -Wert betrug 20,5 $\mu\text{mol/l}$.

Der Kontrollwert, der sich aus dem Mittelwert ergab, lag bei $0,60 \pm 0,12 \text{ mN}$.

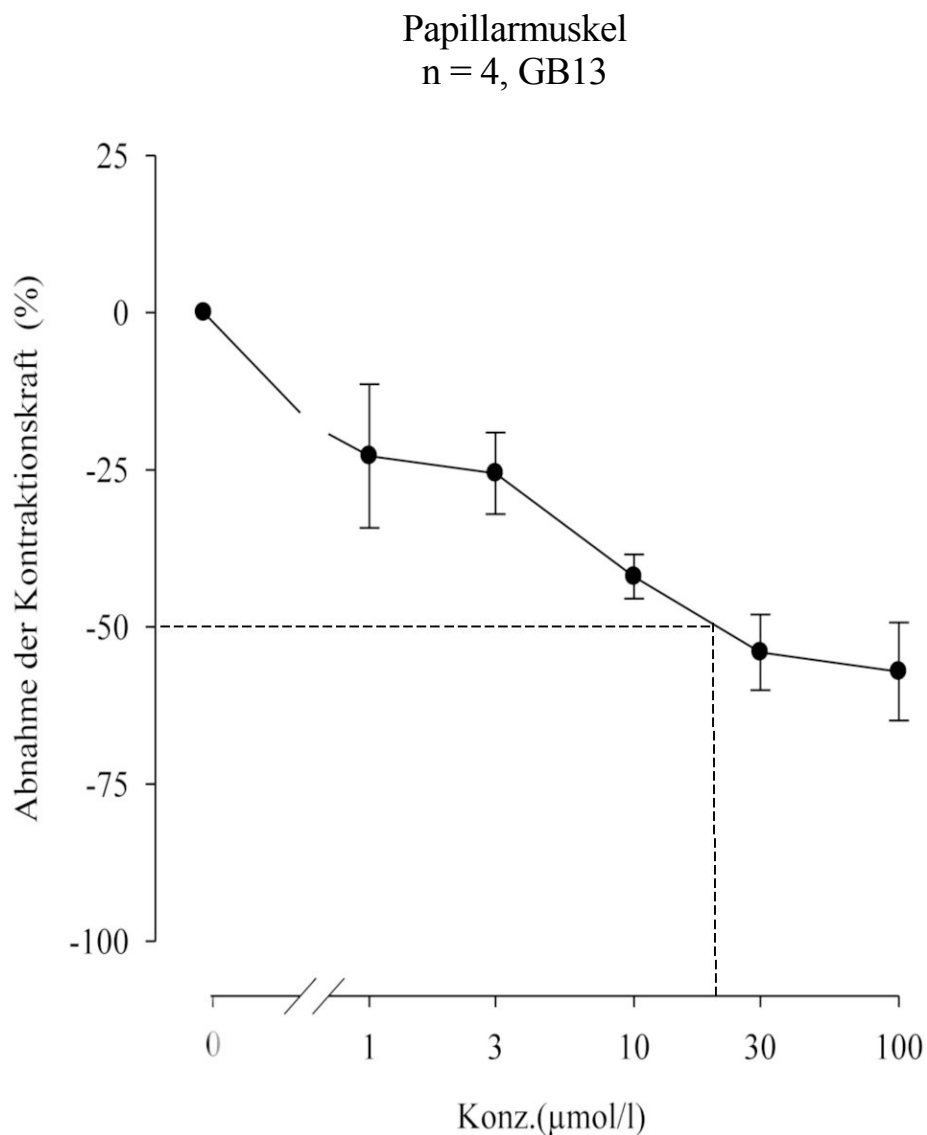
Tabelle 8: Wirkung von GB13 auf Papillarmuskelpräparate

GB13 ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$0,60 \pm 0,12$	0 ± 0	4	--
1	$0,46 \pm 0,09$	$-22,82 \pm 11,42$	4	n.s.
3	$0,44 \pm 0,07$	$-25,60 \pm 6,49$	4	0,05
10	$0,35 \pm 0,06$	$-42,00 \pm 3,51$	4	0,01
30	$0,28 \pm 0,06$	$-54,05 \pm 6,01$	4	0,01
100	$0,27 \pm 0,07$	$-57,10 \pm 2,43$	4	0.01

fc = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft

SEM = Standardfehler in mN

Abbildung 31: Konzentrations- Wirkungskurve von GB13 an Papillarmuskeln

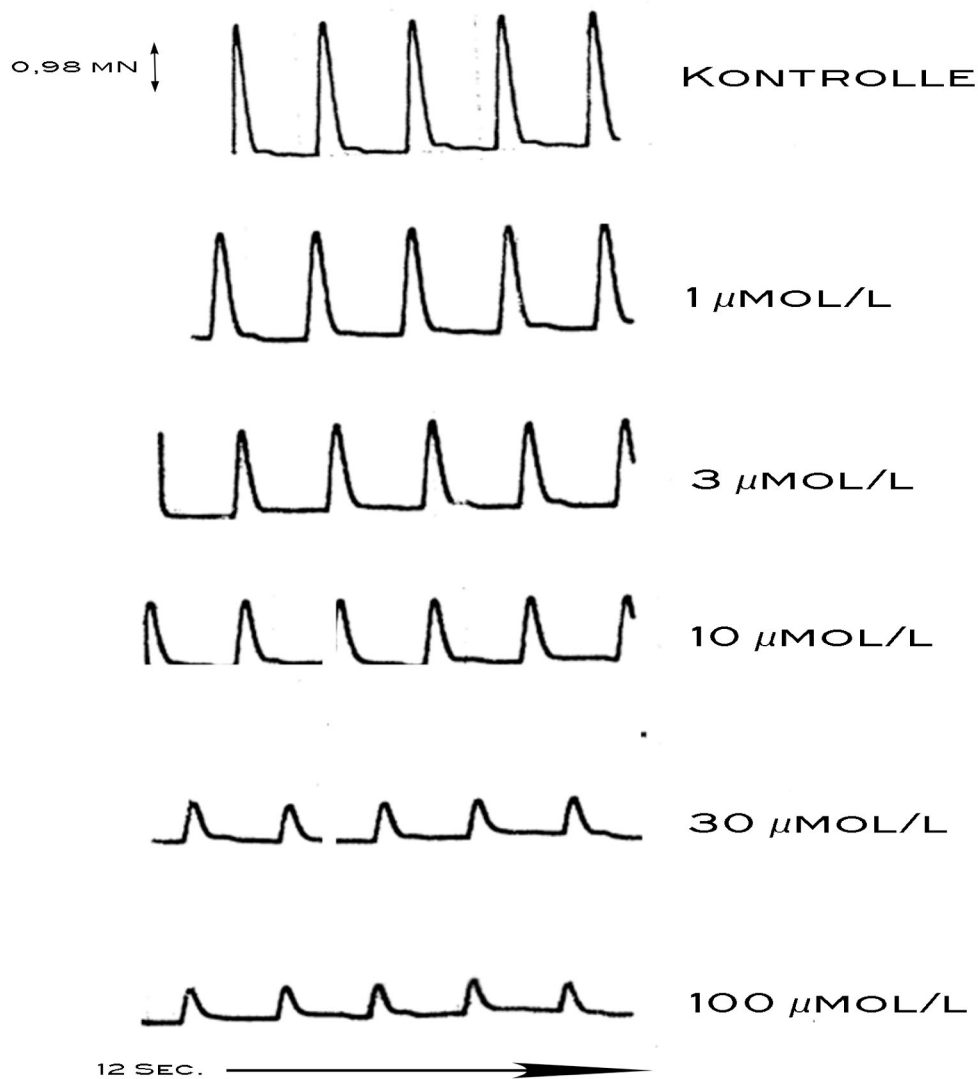


Legende:

Die Graphik zeigt die Wirkung von GB13 auf Papillarmuskelpräparate durch kumulative Einwirkung der Testlösung.

Auf der Ordinate wurde die Änderung der Kontraktionskraft in Prozent und auf der Abzisse die Konzentration von GB13 in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen. Die markierten Punkte auf dem Graphen stellen die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft der Substanz dar. Die Balken symbolisieren die Standardabweichung.

Abbildung 32: Originalaufzeichnung der Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft von Papillarmuskeln



Legende:

Die Abbildung zeigt die Originalregistrierung der Amplitude und deren Änderung nach Zugabe der Substanz. Alle 45 Minuten wurde die Substanzkonzentration erhöht.

3.2.3. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis

Um eine konkrete Aussage über die Veränderungen der Kontraktionskraft durch die Testsubstanz GB13 treffen zu können, wurden 5 Versuche durchgeführt, aus denen sich ein Mittelwert der Kontrollwerte von $14,36 \pm 3,28$ mN errechnete.

Im Gegensatz zu GB9 bewirkte GB13 an der Aorta von Anfang an eine Schwächung der Kontraktionskraft.

Die Kontraktilität sank auf -3,81 % bei der 3 $\mu\text{mol/l}$ Einspritzung bis hin zu einer Abschwächung auf -22,37 % bei der 100 $\mu\text{mol/l}$ Zugabe.

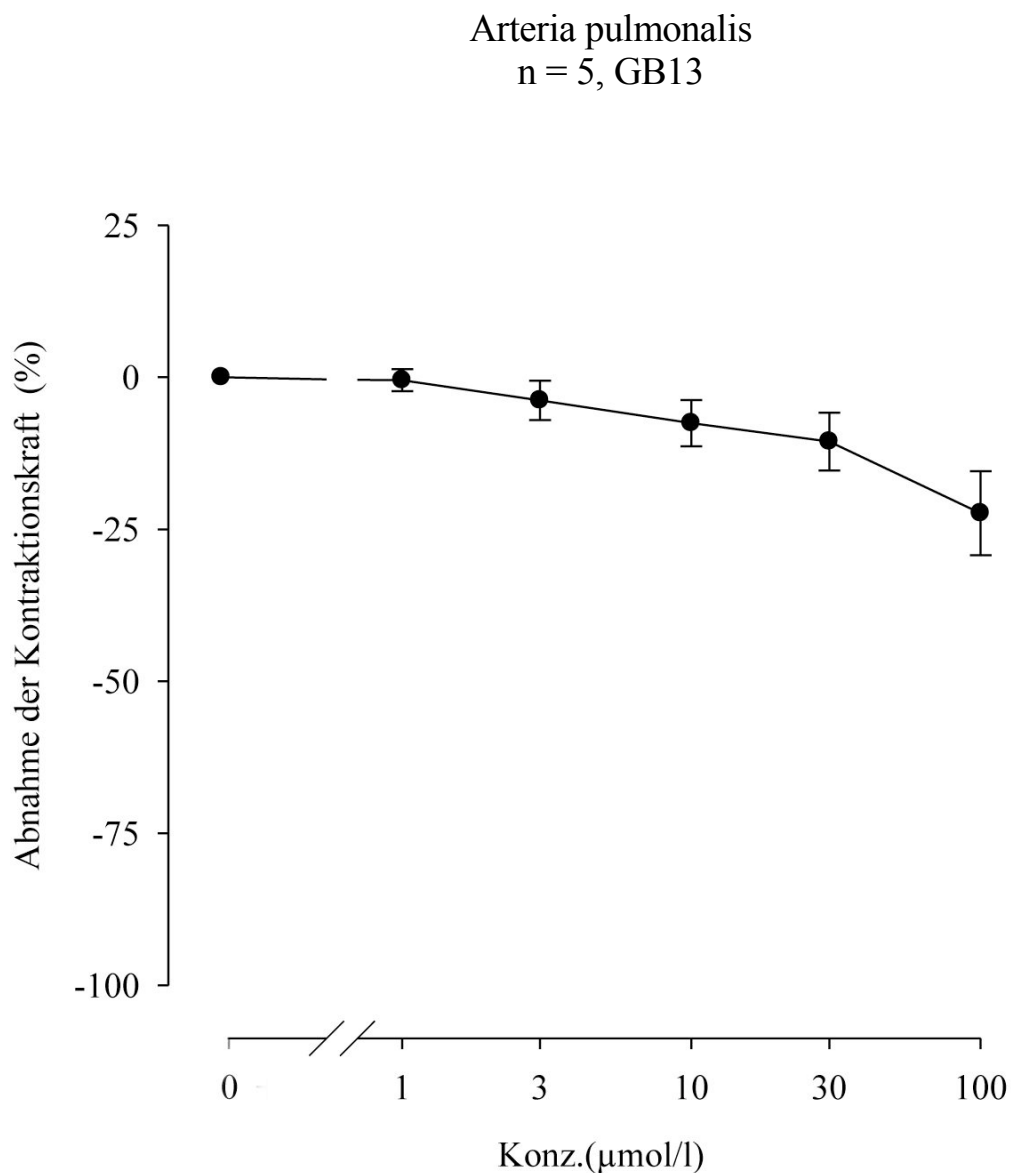
Tabelle 9: Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis

GB13 ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$14,36 \pm 3,28$	0 ± 0	5	-
1	$14,19 \pm 3,26$	$-0,49 \pm 1,80$	5	n.s.
3	$13,72 \pm 3,28$	$-3,81 \pm 3,25$	5	n.s.
10	$13,30 \pm 3,38$	$-7,35 \pm 3,81$	5	n.s.
30	$12,90 \pm 3,42$	$-10,59 \pm 4,77$	5	0,05
100	$11,33 \pm 3,44$	$-22,37 \pm 6,91$	5	0,05

fc = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und in %

SEM = Standardfehler in mN und in %

Abbildung 33: Konzentrations- Wirkungskurve von GB13 auf die Arteria pulmonalis



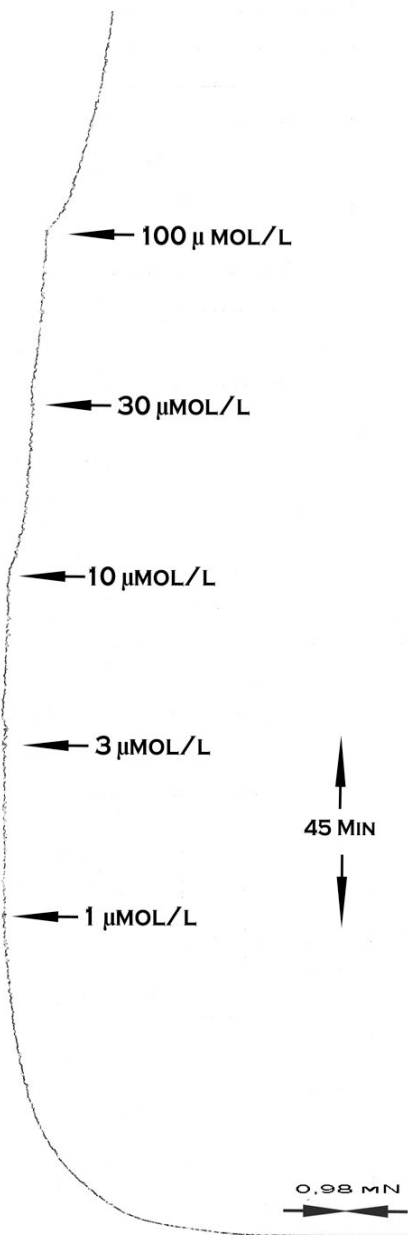
Legende:

In der Abbildung wurden auf der x-Achse die Konzentrationsstufen der Testsubstanz GB13 in µmol/l aufgetragen.

Auf der y-Achse ist die Zunahme der Kontraktionskraft in Prozent ersichtlich.

Die arithmetischen Mittelwerte werden als Punkte, die Standardfehler als Balken graphisch dargestellt.

Abbildung 34: Originalaufzeichnung eines Versuches, der die Wirkung von GB13 auf die Arteria pulmonalis zeigt.



Legende:

Die Abbildung gibt die Kontraktionsänderung der Arteria pulmonalis nach Erhöhung der Konzentrationen von GB13 wieder. Die Zugabe erfolgte jeweils nach 45 Minuten.

3.2.4. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der Aorta

Die Wirkung, die GB13 auf die Kontraktionskraft der Aorta ausübt, wurde durch 6 Versuche ermittelt.

Dabei ergab sich ein aus den Kontrollwerten ermittelter Mittelwert von $6,39 \pm 0,34$ mN.

Dieser Wert entsprach der 100 prozentigen Kontraktion.

Im Verlauf der Versuche zeigte sich, daß GB13 einen deutlich negativ inotropen Effekt auf die Kontraktilität der Aorta ausübte.

So kam es schließlich beim Einspritzen der $100 \mu\text{mol/l}$ zu einer Abnahme der Kontraktionskraft auf $4,98 \pm 0,44$, was einer Senkung auf -22,25 % entspricht.

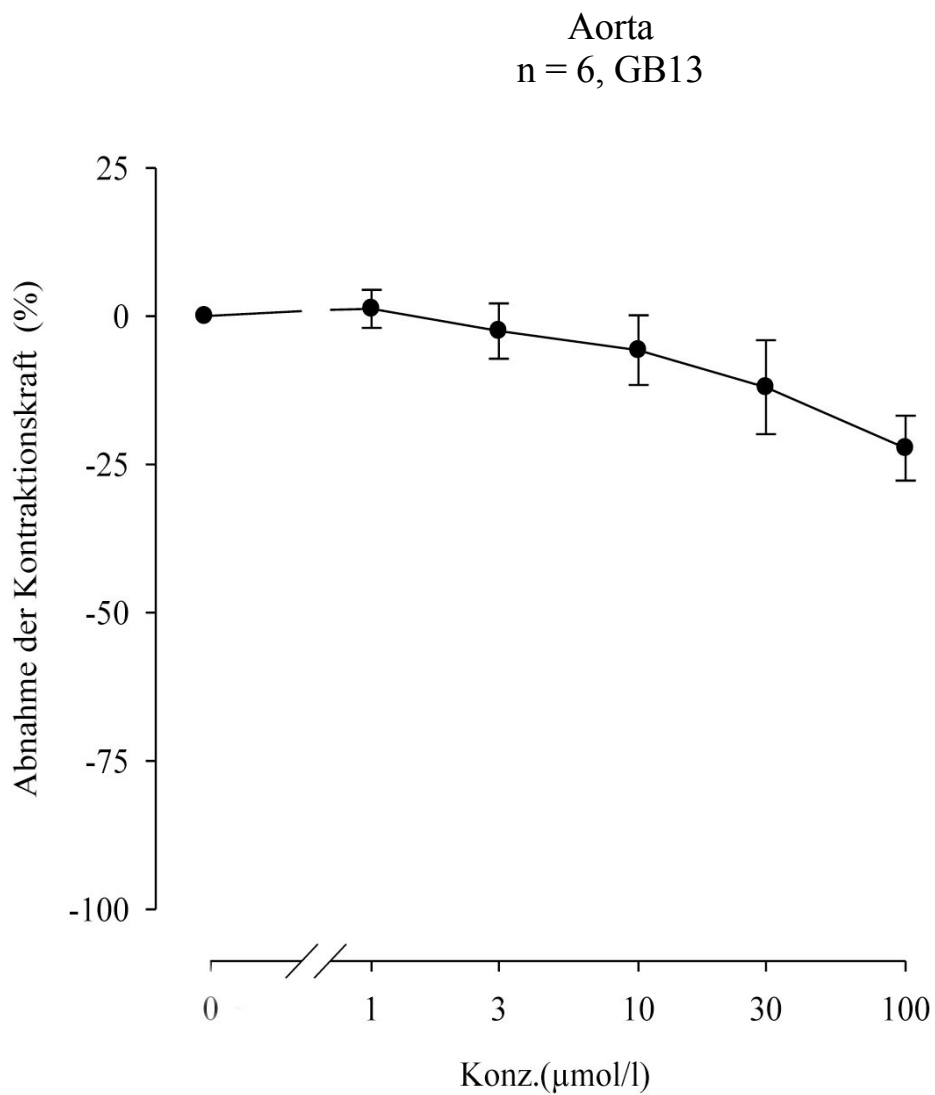
Tabelle 10: Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der Aorta

GB13 ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$6,39 \pm 0,34$	0 ± 0	6	-
1	$6,48 \pm 0,42$	$1,24 \pm 3,20$	6	n.s.
3	$6,24 \pm 0,47$	$-2,51 \pm 4,67$	6	n.s.
10	$6,04 \pm 0,52$	$-5,73 \pm 5,89$	6	n.s.
30	$5,67 \pm 0,63$	$-11,99 \pm 7,92$	6	0,005
100	$4,98 \pm 0,44$	$-22,25 \pm 5,47$	6	0,005

fc = arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und in %

SEM = Standardfehler in mN und in %

Abbildung 35: Konzentrations- Wirkungskurve von GB13 auf die Aorta

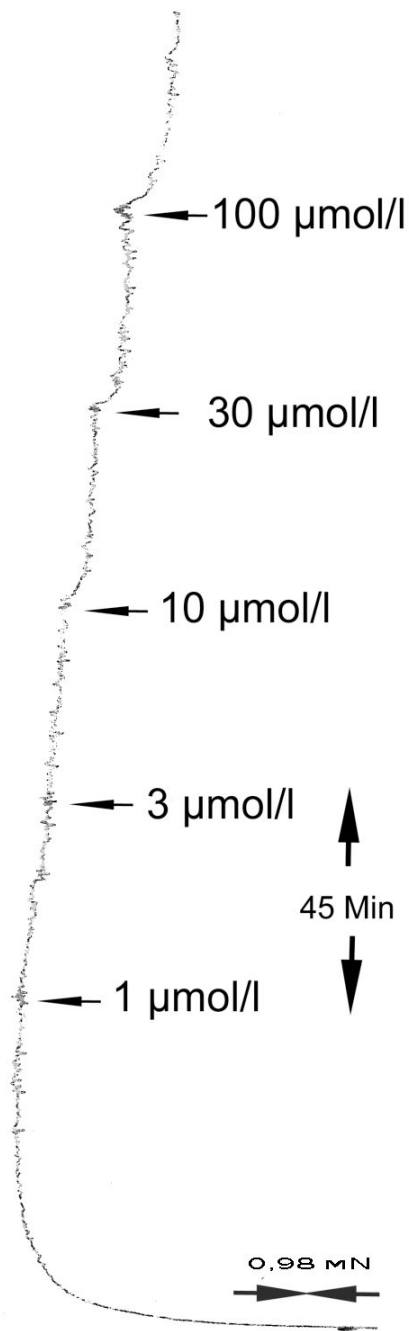


Legende:

Diese Abbildung zeigt die Veränderung der Kontraktionskraft der Aorta nach der kumulativen Zugabe von GB13. Auf der Ordinate wurde die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent, auf der Abszisse die Substanzkonzentration in µmol/l aufgetragen.

Die Punkte stellen die Mittelwerte dar, die Balken zeigen die Standardfehler.

Abbildung 36: Originalaufzeichnung eines Versuches, der die Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta zeigt.



Legende:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft der Aorta. Die Pfeile markieren dabei die Zeitpunkte der Zugabe der jeweiligen Konzentrationen, die Abstände zwischen den einzelnen Substanzzugaben betrugen je 45 Minuten.

3.2.5. Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileum

Um festzustellen, wie die Testsubstanz GB13 das terminale Ileum beeinflusst und um anschließend den Muskeltonus graphisch darstellen zu können, wurden 5 Versuche durchgeführt.

Als Mittelwert der Kontrollwerte wurde $11,62 \pm 2,21$ mN berechnet, was einer 100 prozentigen Kontraktionskraft entsprach.

Wie in der unteren Tabelle ersichtlich, kam es durch GB13 - genau wie durch GB9 auch – zu einer Abnahme der Kontraktionskraft. Unter der Einwirkung von GB13 sank bei der 30 und bei der 100 $\mu\text{mol/l}$ - Konzentration die Kontraktionskraft des terminalen Ileum aber sogar unter 50 % des Anfangswertes (EC_{50}), bei GB9 nie. Der EC_{50} -Wert betrug 26 $\mu\text{mol/l}$.

Tabelle 11: Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileums

GB13 ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$11,62 \pm 2,21$	0 ± 0	5	--
1	$11,12 \pm 2,01$	$-2,57 \pm 3,61$	5	n.s.
3	$10,58 \pm 2,10$	$-9,48 \pm 3,19$	5	n.s.
10	$8,67 \pm 1,60$	$-23,67 \pm 4,70$	5	0,05
30	$5,57 \pm 1,43$	$-55,52 \pm 4,89$	5	0,01
100	$5,26 \pm 1,88$	$-59,41 \pm 9,26$	5	0,01

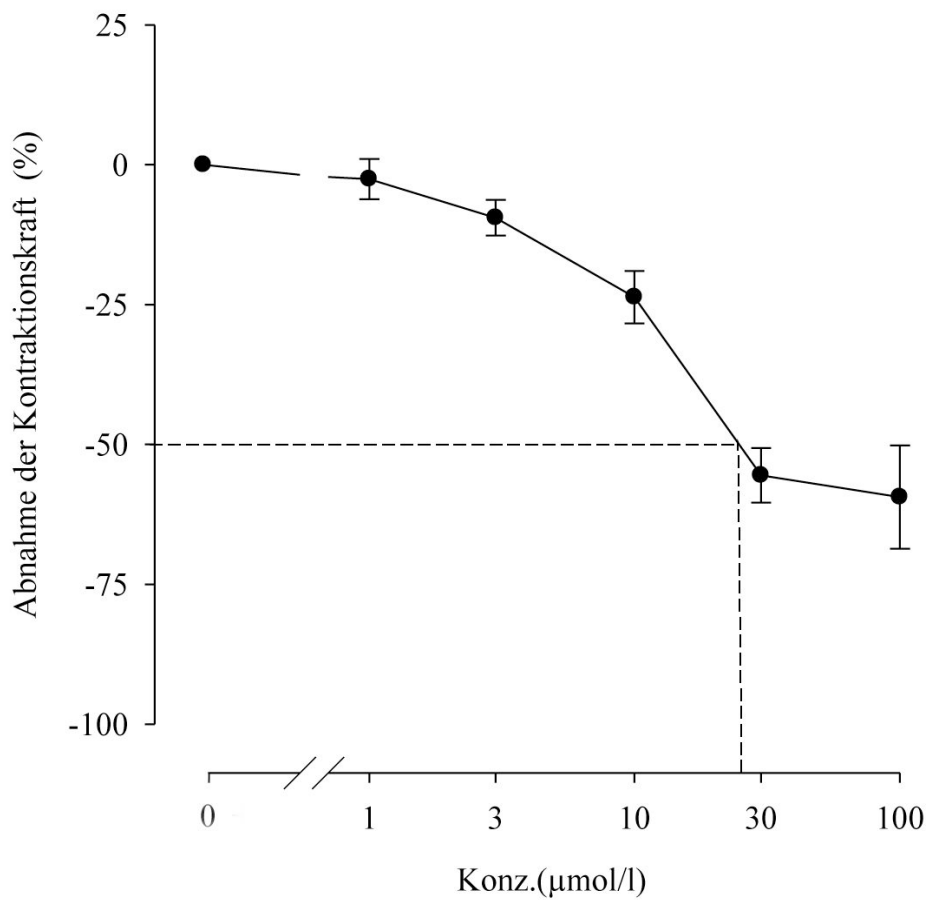
Legende:

Die Tabelle zeigt die einzelnen Konzentrationsstufen der Testsubstanz GB13, die errechneten Mittelwerte der Kontraktionskraft mit den dazugehörigen Standardfehlern, die Anzahl der Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit.

Abbildung 37: Konzentrations- Wirkungskurve von GB13 auf das terminale Ileum

Darm

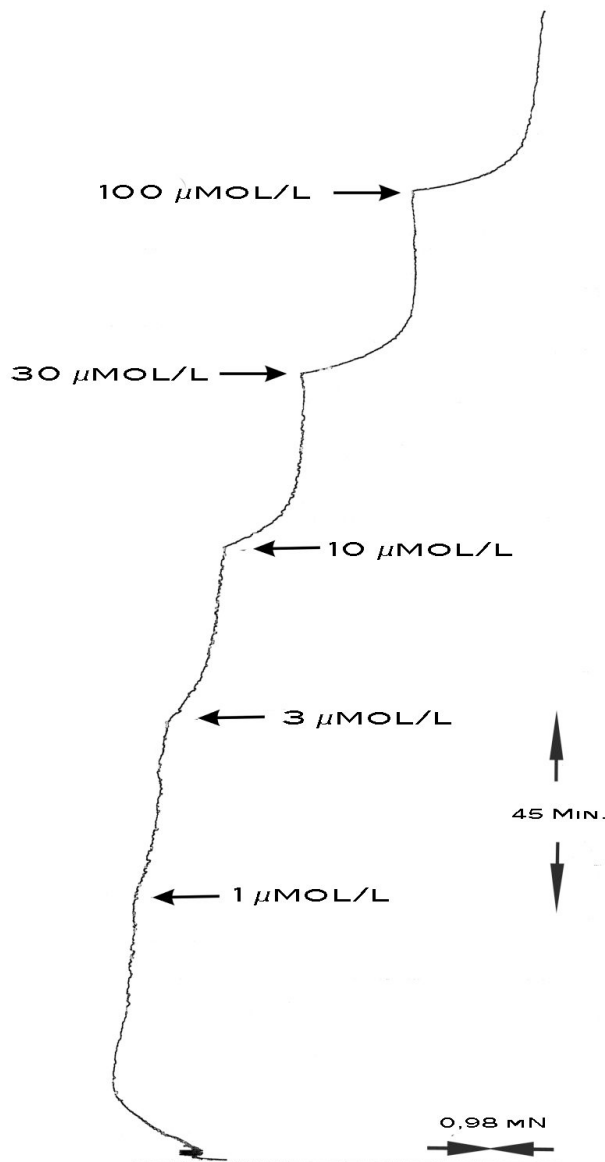
n = 5, GB13



Legende:

Die einzelnen Konzentrationsstufen der Testsubstanz GB13 in µmol/l sind auf der x-Achse, die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent ist auf der y-Achse dargestellt. Die Punkte stellen die Mittelwerte, die Balken die Standardfehler dar.

Abbildung 38: Originalaufzeichnung der Wirkung von GB13 auf die Kontraktionskraft des isolierten Ileums



Legende:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft des terminalen Ileum, hervorgerufen durch die Zugabe von GB13 in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30, 100 $\mu\text{mol/l}$.

Die Pfeile markieren den jeweiligen Zeitpunkt der Substanzzugabe.

Die Einwirkzeit zwischen den Zugaben betrug jeweils 45 Minuten.

3.3. Einfluß des Lösungsmittels DMSO auf die isolierten Organe

Um die Wirkung von DMSO (Dimethylsulfoxid) auf die isolierten Organe zu überprüfen, führte man an jedem Organ eine reproduzierbare Zahl an Versuchen durch. Der Effekt, der sich jeweils dabei ergab, musste dann bei der Auswertung berücksichtigt werden.

Da sich GB9 und GB 13 in 200 µl DMSO als gut und vollständig löslich erwiesen, wurden auch die reinen Lösungsmittelversuche mit 200 µl durchgeführt.

Dabei wurde DMSO alle 45 Minuten kumulativ in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30, 100 µmol/l eingespritzt.

3.3.1. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis

Bei einer Konzentration von 100 µmol/l verursachte das Lösungsmittel DMSO eine Abnahme des Muskeltonus von 100 % auf $-7,84 \pm 1,82$ %.

Tabelle 12: Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis

DMSO-Konzentration µmol/l	fc ± SEM (mN)	fc ± SEM (%)	Irrtumswahrscheinlichkeit P
Kontrolle	10,90 ± 2,77	0 ± 0	--
1	10,87 ± 2,66	-0,06 ± 1,04	n.s.
3	10,95 ± 2,72	0,62 ± 0,62	n.s.
10	10,56 ± 2,33	-2,24 ± 3,47	n.s.
30	10,29 ± 2,35	-4,93 ± 2,60	n.s.
100	10,00 ± 2,36	-7,84 ± 1,82	0,05

Legende:

In der Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und in Prozent, und deren Standardfehler ablesbar.

3.3.2. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Aorta

In Relation zum Kontrollwert, welcher $5,96 \pm 1,22$ mN betrug, kam es bei der 100 $\mu\text{mol/l}$ Konzentration von DMSO zu einer Abnahme der Kontraktion auf $5,07 \pm 1,14$ mN, was einer Abnahme der Kontraktionskraft auf -15,97 % entspricht.

Tabelle 13: Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Aorta

DMSO-Konzentration $\mu\text{mol/l}$	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Irrtumswahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$5,96 \pm 1,22$	0 ± 0	--
1	$5,79 \pm 1,23$	$-3,12 \pm 0,98$	n.s.
3	$5,74 \pm 1,15$	$-3,39 \pm 1,62$	n.s.
10	$5,56 \pm 1,16$	$-6,86 \pm 2,57$	n.s.
30	$5,37 \pm 1,14$	$-10,16 \pm 2,77$	n.s.
100	$5,07 \pm 1,14$	$-15,97 \pm 3,74$	n.s.

Legende:

In der Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft in mN und in Prozent und die zugehörigen Standardfehler angegeben.

3.3.3. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileum

Bei diesen Versuchen sank der Muskeltonus bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ auf $-45,51 \pm 3,53 \%$.

Tabelle 14: Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileum

DMSO-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$	Fc $\pm$ SEM (mN)	Fc $\pm$ SEM (%)	Irrtumswahrscheinlichkeit P
Kontrolle	13,94 $\pm$ 3,22	0 $\pm$ 0	n.s.
1	13,49 $\pm$ 3,34	-4,83 $\pm$ 1,91	n.s.
3	12,64 $\pm$ 3,21	-11,41 $\pm$ 2,84	n.s.
10	12,06 $\pm$ 3,22	-16,72 $\pm$ 4,00	n.s.
30	10,36 $\pm$ 2,66	-28,11 $\pm$ 3,32	0,05
100	8,00 $\pm$ 2,15	-45,51 $\pm$ 3,53	0,05

Legende:

Die Tabelle beinhaltet die arithmetischen Mittelwerte in mN und in Prozent sowie deren Standardfehler.

3.3.4. Wirkung von DMSO auf die Schlagfrequenz des rechten Vorhofs

Bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ kam es zu einer minimalen Abnahme der Schlagfrequenz des rechten Vorhofs auf -0,06 %.

Tabelle 15: Wirkung von DMSO auf die Schlagfrequenz des rechten Vorhofs

DMSO-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Irrtumswahrscheinlichkeit P
Kontrolle	240,00 $\pm$ 25	0 $\pm$ 0	--
1	247,5 $\pm$ 22,5	3,27 $\pm$ 1,38	n.s.
3	247,5 $\pm$ 22,5	3,27 $\pm$ 1,38	n.s.
10	245,00 $\pm$ 15,0	2,55 $\pm$ 4,44	n.s.
30	242,5 $\pm$ 12,5	1,61 $\pm$ 5,38	n.s.
100	237,5 $\pm$ 2,5	-0,06 $\pm$ 9,37	n.s.

Legende:

In der Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte in mN und in Prozent und deren Standardfehler ablesbar.

3.3.5. Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels

Bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ ließ sich eine Abnahme der Kontraktionskraft des Papillarmuskels auf $-27,68 \pm 14,62 \%$ feststellen.

Tabelle 16: Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels

DMSO-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Irrtumswahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$0,66 \pm 0,12$	0 ± 0	--
1	$0,60 \pm 0,08$	$-6,22 \pm 4,25$	n.s.
3	$0,53 \pm 0,04$	$-13,12 \pm 8,39$	0,05
10	$0,52 \pm 0,05$	$-14,47 \pm 9,58$	0,01
30	$0,48 \pm 0,06$	$-20,55 \pm 12,11$	0,01
100	$0,43 \pm 0,08$	$-27,68 \pm 14,62$	0,01

Legende:

In der Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft des Papillarmuskels in mN und in Prozent und die dazugehörenden Standardfehler ablesbar.

4. Diskussion

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden zwei neu synthetisierte Chalkon – Derivate mit den Namen GB9 und GB13 untersucht.

Ziel war es, ihre Wirkung an frisch präparierten Organpräparaten von Meerschweinchen festzuhalten und festzustellen, ob es unter Einwirkung von GB9 und GB13 zu einer Veränderung bezüglich der Inotropie/Kontraktilität bzw. der Chronotropie kam.

Die Versuche wurden sowohl an glatter Muskulatur, nämlich an der Aorta, der Arteria pulmonalis und dem terminalen Ileum als auch an Herzmuskelpräparaten von Papillarmuskel und Vorhof durchgeführt.

Dazu wurden die in DMSO gelösten Testsubstanzen nach der Erlangung von konstanten Werten (Kontrollphase) in unterschiedlichen Konzentrationen und in aufsteigender Reihenfolge kumulativ ins Organbad eingespritzt: Man begann mit der $1\mu\text{mol/l}$ Konzentration und injizierte alle 45 Minuten die nächsthöhere Konzentration, bis man schließlich $100\mu\text{mol/l}$ zugegeben hatte.

4.1. Struktur – Wirkungsbeziehung

Abbildung 39: Struktur GB9 und GB13

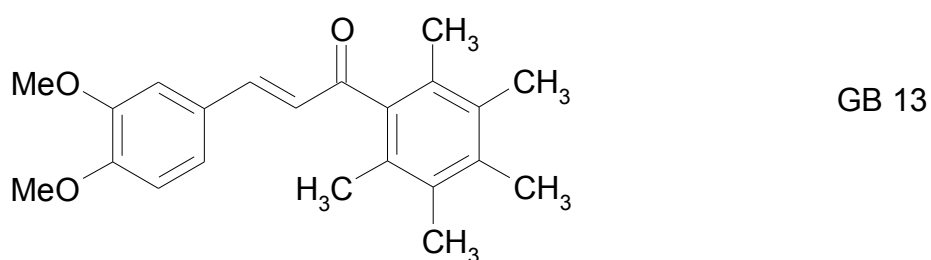
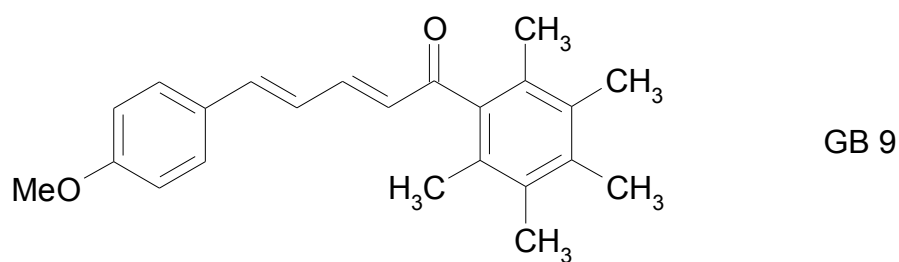
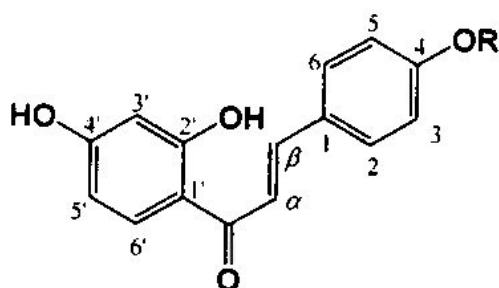


Abbildung 40: Isoliquiritigenin



R = H (isoliquiritigenin)
R = Glucose (isoliquiritin)
R = Glucose-(2-1)-Apiose (isoliquiritin apioside)

Beim Vergleich der beiden Testsubstanzen GB9 und GB13 mit Isoliquiritigenin, einem bereits gut untersuchten Chalkon aus der Pflanze *Dalbergia odorifera* T., lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen:

Beide Substanzen unterscheiden sich vom Isoliquiritigenin hinsichtlich ihrer Substituenten:

Während das Isoliquiritigenin an seinem zweiten Ring in Position 2' und 4' jeweils eine Hydroxylgruppe als Reste trägt, sind sowohl GB9 als auch GB13 an diesem Ring mit je fünf Methylgruppen (in Position 2', 3', 4', 5' und 6') verbunden.

An seinem ersten Ring hat das Isoliquiritigenin in Position 4 wiederum eine Hydroxylgruppe als Rest.

GB9 dagegen hat am ersten Ring in Position 4 eine Methoxygruppe stehen und GB13 hat neben der Methoxygruppe in Position 4 noch eine weitere in Position 3.

Auffällig ist außerdem noch, dass GB9 sowohl im Vergleich zu GB13 als auch zum Isoliquiritigenin eine zusätzliche konjugierte Gruppe zwischen ihren beiden Phenylringen besitzt.

Diese zusätzliche konjugierte Gruppe könnte der Grund sein, warum sich GB9 im Zuge der Versuche als die weitaus schwächer wirksame Substanz erwiesen hat.

4.2. Versuche an den isolierten Organen

Bei den Versuchen an der Aorta kam es mit der Testsubstanz GB9 zu einer leichten Zunahme der Kontraktionskraft der Aorta.

Unter Einfluß der Testsubstanz GB13 hingegen, sank die Kontraktilität um gut 22 %.

Tabelle 17: Vergleich der Wirkung der Testsubstanzen GB9 und GB13 auf die Aorta (%)

Testsubstanz	Kontrolle (100µmol/l)	Substanz (100µmol/l)	EC ₅₀ (µmol/l)
GB9	0	1,59 ± 7,54	>100
GB13	0	-22,25 ± 5,47	>100

Die oben angeführten Ergebnisse bezüglich der Wirkung von GB9 und GB13 könnte man nun mit den Ergebnissen, die Wegener und Nawrath im Jahr 1997 über die Wirkung von Isoliquiritigenin und YC-1 gewonnen haben, vergleichen:

Sie untersuchten die unterschiedlichen Effekte von Isoliquiritigenin und YC-1 auf die glatte Aortamuskulatur von Ratten (YC-1 = (3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazol) und fanden dabei folgendes heraus:

Sowohl Isoliquiritigenin als auch YC-1 übten einen konzentrationsabhängigen Effekt auf die Relaxation von Endothelium-freien Aorta Stücken aus; Diese waren zuvor mit 3µM Phenylephrin vorkontrahiert worden.

Mit Phenylephrin stieg die Kontraktion der Aorta auf $10 \pm 0,3$ mN (41 Versuche) an. Diese Phenylephrin-induzierte Anspannung wurde durch YC-1 und durch Isoliquiritigenin in ihren höchsten Konzentrationen aufgehoben.

ODQ (ODQ = [1,2,4]oxadiazolo(4,3-a) quinoxalin-1-on), welches ein Hemmstoff der löslichen Guanyl-Cyclase ist, wurde benutzt, um eben dieses Enzym zu hemmen.

Die Hemmung der Guanyl-Cyclase war notwendig, weil sie als Schlüsselenzym betrachtet wird, um die durch NO induzierte vaskuläre Relaxation zu vermitteln.

Dabei stellte sich heraus, dass ODQ zwar die vasorelaxierenden Effekte von YC-1 verringerte, nicht aber die von Isoliquiritigenin!

Dies legte die Schlussfolgerung nahe, dass die von Isoliquiritigenin hervorgerufene Relaxation durch einen von der Guanyl-Cyclase – unabhängigen Mechanismus hervorgerufen

wurde. Sie mußte durch eine Hemmung der Phosphodiesterase zustande gekommen sein (Wegener und Nawrath 1997).

Genau wie Isoliquiritigenin und YC-1 übte auch GB13 einen konzentrationsabhängigen Effekt auf die Relaxation der Aorta aus.

GB9 dagegen erhöhte die Kontraktilität der Aorta, was vermutlich an der zusätzlichen konjugierten Gruppe und an der fehlenden zweiten Methoxygruppe lag.

4.3. Versuche an der Arteria pulmonalis

Die Testsubstanz GB9 führte an der Arteria pulmonalis letztendlich zu einer schwachen Abnahme der Kontraktilität.

Auch GB13 führte zu einer Relaxation der Arteria pulmonalis und erwies sich auch bei dieser Versuchsreihe als die stärker wirksame Substanz.

Tabelle 18: Vergleich der Wirkung der Testsubstanzen GB9 und GB13 auf die Arteria pulmonalis (%)

Testsubstanz	Kontrolle (100µmol/l)	Substanz (100µmol/l)	EC ₅₀ (µmol/l)
GB9	0	-6,85 ± 3,82	>100
GB13	0	-22,37 ± 6,91	>100

Die vorliegenden Ergebnisse zur relaxierenden Wirkung von GB9 und GB13 könnte man nun mit der Wirkung von anderen Polyphenolen vergleichen.

Xu et al. beschäftigten sich am April 2007 mit der Struktur-Wirkungsbeziehung von 17 verschiedenen Untergruppen der Flavonoide auf die vaskuläre Relaxation von Koronararterien des Schweins.

Sie stellten eine Reihenfolge für den Grad der Vasorelaxation fest:

Flavone > Flavonone > Isoflavone > Flavanon(ol)e > Chalkone > Anthocyanide > Flavan(ol)e.

Phloretin, das Chalkonderivat das bei diesen Untersuchungen erforscht wurde, hatte nur einen mäßigen relaxierenden Effekt. Xu begründete dies damit, dass Phloretin einen gebrochenen C-Ring hatte, was die Planarität des A und B Ringes minderte.

(Phloretin = 2',4',6'-trihydroxy-3- (4-hydroxyphenyl) propiophenon)

(Xu et al. 2007)

4.4. Versuche am terminalen Ileum

Sowohl GB9 als auch GB13 hatten einen starken Effekt auf den Darm.

Während bei der Versuchsreihe mit GB9 aber noch kein EC₅₀ Wert erreicht wurde, stellte sich ein solcher mit GB13 schon bei der 30 µmol/l Einspritzung ein.

Tabelle 19: Vergleich der Wirkung der Testsubstanzen GB9 und GB13 auf das terminale Ileum (%)

Testsubstanz	Kontrolle (100µmol/l)	Substanz (100µmol/l)	EC ₅₀ (µmol/l)
GB9	0	-46,35 ± 5,83	>100
GB13	0	-59,41 ± 9,26	26

Chalkone wirken wahrscheinlich im unteren Teil des Darms.

Diese These wird von den Forschungsergebnissen von Sato et al (2007) unterstützt:

Bio-assay-geführte Fraktionierung und Reinigung des wässrigen Extraktes aus der Wurzel von Glycyrrhiza Ulaensis, führte zur Isolierung von Isoliquiritigenin, einem potenten Spasmolytikum. Die Effekte von Isoliquiritigenin bezüglich der Kontraktilität wurden an Mäusedärmen überprüft.

Isoliquiritigenin zeigte konzentrationsabhängige Relaxation des Muskeltonus von Mäusedärmen, welcher zuvor mit einigen Stimulantien, wie z.B. 60mM KCl-Lösung vokontrahiert worden war.

Man nahm an, dass der durch Isoliquiritigenin hervorgerufene negativ inotrope Effekt auf denselben Mechanismus beruhte wie Papaverin.

Papaverin relaxiert die glatte Muskulatur durch Hemmung der PDE (PDE = Phosphodiesterase), genau wie auch Isoliquiritigenin.

Da Isoliquiritigenin aber nicht die Konzentration von cAMP oder cGMP in den Mäusedärmen erhöhte, konnte die durch Isoliquiritigenin hervorgerufene Relaxation nicht mit seiner Hemmung der PDE in Zusammenhang stehen.

Was war also der Grund für die antispasmodische Wirkung von Isoliquiritigenin?

Tatsächlich wies der wässrige Extrakt von Liquorice einen sehr geringen Gehalt an Isoliquiritigenin auf, während gleichzeitig Isoliquiritigenin-Glykoside, wie z.B. Isoliquiritin im Überschuß vorhanden waren. Die Glykoside führten aber im Gegensatz zum Isoliquiritigenin zu keiner Muskelerschlaffung.

Es stellte sich heraus, dass bei oraler Verabreichung des Liquorice-Extraktes die Glykoside nicht resorbiert wurden. Da der untere Darmabschnitt aber von Bakterien bevölkert wird, welche in der Lage sind b-D-Glucosidasen zu produzieren, konnte nun Isoliquiritigenin aus Isoliquiritin und Naringinase (b-D-Glucosidase) hergestellt werden.

Dadurch kam es zu einer Erhöhung des Gehaltes an Isoliquiritigenin, was den spasmolytischen und muskelrelaxierenden Effekt des Liquorice-Extraktes auf den Darm erklärte (Sato et al. 2007).

4.5. Versuche am rechten Vorhof

Sowohl GB9 als auch GB13 zeigten bei der Versuchsreihe am rechten Vorhof einen negativ chronotropen Effekt. Doch während GB9 die Schlagfrequenz nur um einige wenige Prozent senkte, bewirkte GB13 eine Abnahme der Schlagfrequenz um ca. 46 Prozent.

Tabelle 20: Vergleich der Wirkung der Testsubstanzen GB9 und GB13 auf den rechten Vorhof (%)

Testsubstanz	Kontrolle (100µmol/l)	Substanz (100µmol/l)	EC ₅₀ (µmol/l)
GB9	0	-2,09 ± 6,70	>100
GB13	0	-46,36 ± 6,35	>100

4.6. Versuche am Papillarmuskel

Unter Einfluß der Testsubstanz GB9 kam es am Papillarmuskel zu einer mäßigen Abnahme der Kontraktilität.

GB13 erwies sich auch hier als die potentere Substanz. Sie bewirkte bei der 30 $\mu\text{mol/l}$ – Konzentration eine Abnahme der Schlagkraft auf unter 50 % des Anfangswertes, d.h. mit GB13 wurde am Papillarmuskel eine EC_{50} erreicht.

Tabelle 21: Vergleich der Wirkung der Testsubstanzen GB9 und GB13 auf den Papillarmuskel (%)

Testsubstanz	Kontrolle (100 $\mu\text{mol/l}$)	Substanz (100 $\mu\text{mol/l}$)	EC_{50} ($\mu\text{mol/l}$)
GB9	0	-11,22 $\pm$ 8,77	>100
GB13	0	-57,10 $\pm$ 2,43	20,5

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen, die Wegener und Nawrath 1997 bei ihren Versuchen zur Wirkung von Isoliquiritigenin am Rattenherz erhalten haben.

Wegener und Nawrath waren bei ihren Versuchen zu dem Schluß gekommen, dass Isoliquiritigenin im Rattenherzen zu einer Erhöhung der Kontraktilität führte.

Diesen Anstieg der Kontraktionskraft im Herzventrikel erklärten sie mit einer direkten Hemmung der Phosphodiesterase III und einer folglich Anhäufung von cAMP.

Im Gegensatz zur Wirkung von Isoliquiritigenin in der Ratten Aorta (Yu und Kuo 1995), kam es beim Rattenherzen unter Einfluß von Isoliquiritigenin wahrscheinlich zu keiner Aktivierung der löslichen Guanyl-Cyclase (Wegener und Nawrath 1997).

5. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden die Wirkungen von zwei Chalkonderivaten mit Namen GB9 und GB13 untersucht und beschrieben. Dies erfolgte an isolierten Organen von Meerschweinchen.

An der glatten Muskulatur von Aorta, Arteria pulmonalis und terminalem Ileum wurden Veränderungen der Kontraktionskraft festgehalten, während der Vorhof bezüglich seiner Schlagfrequenz untersucht wurde. An isolierten Papillarmuskelpräparaten wurden Veränderungen hinsichtlich der Kontraktilität notiert.

Dazu wurde die in DMSO gelöste Testsubstanz bei jedem Versuch im Abstand von jeweils 45 Minuten in den Konzentrationen 1 µmol/l, 3 µmol/l, 10 µmol/l, 30 µmol/l und 100 µmol/l kumulativ und in aufsteigender Reihenfolge in das Organbad injiziert.

Als Kontrollwert fungierte jener Wert auf der Kurve, der steady-state Bedingungen aufwies.

Im Laufe der Versuche zeigte sich, daß GB9 an allen Organen keinen wirklich starken Effekt ausübte, mit Ausnahme des Ileums. Am terminalen Ileum hatte GB9 einen negativ inotropen Effekt, besonders deutlich bei der 100 µmol/l-Einspritzung, wo die Kontraktilität auf -45,35 % sank.

Bei den anderen Organen wurde durch GB9 keine signifikante Veränderung der Kontraktilität bzw. der Schlagfrequenz erzielt, die Werte lagen ca. zwischen ± 1 -10 %.

Des weiteren schwankten die Ergebnisse beim Vorhof, am Papillarmuskel und bei der Pulmonalis insofern, als daß bei der Zugabe von GB9 in der einen Konzentration positive Effekte erzielt wurden, bei der Zugabe in einer anderen Konzentration aber eine negative Wirkung erfolgte.

GB13 war die potentere Substanz.

An der Arteria pulmonalis und an der Aorta noch nicht so deutlich, denn hier sank die Kontraktilität nur auf -22,37 % bzw. auf -22,25 %.

Am Papillarmuskel und am terminalen Ileum dagegen, sanken die Werte jeweils auf unter 100 % des Ausgangswertes, nämlich auf -57,10 % und auf -59,41 %.

Auch am rechten Vorhof entfaltete GB13 eine ziemlich starke Wirkung:

Bei jeder Einspritzung zeigte sich ein immer deutlicher werdender negativ chronotroper Effekt, bis schließlich bei 100 $\mu\text{mol/l}$ die Schlagfrequenz auf -46,36 % gesunken war.

Da das schwächer wirksame GB9 im Vergleich zu GB13 eine zusätzliche konjugierte Gruppe zwischen ihren beiden Phenylringen besitzt ist anzunehmen, daß diese zusätzliche konjugierte Gruppe den Effekt von GB9 mindert.

6. Literaturverzeichnis

Baumbach, Müller (2008) Blutzucker natürlich senken: Zink, Zimt und Chrom. Zentrum für Ernährungskommunikation und Gesundheitspublizistik (ZEK) Berlin

Bernsmann (2002) Struktur, Stabilität und antioxidative Wirkung von Polyhydroxyphenolen aus Spinat. Westfälische Wilhelms-Universität Münster

Böhm et al. (1998) Zeitung für Ernährungswissenschaften Ausg. 37

Bors, Michel, Heller, Sandermann (1996) Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants, Springer

Dantone (2005) Pharmakologisches Profil eines neuen Resveratrol-Derivates (JB12) an verschiedenen isolierten Präparaten von Meerschweinchen. Diplomarbeit Universität Wien

Dingermann, Schneider, Hiller (2004) Arzneidrogen. Elsevier Spektrum Akademischer Verlag

Gerhäuser, et al. (2002) Cancer chemopreventive activity of Xanthohumol

Gossauer A (2006) Struktur und Reaktivität der Biomoleküle; Eine Einführung in die org. Chemie. Wiley-VCH-Verlag

Förstemann E (2003) Vergleichende Untersuchung möglicher pro- oder antioxidativer Eigenschaften verschiedener Pflanzen-Phenole in vitro. Medizinische Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Hänsel, Sticher (2003) Pharmakognosie/Phytopharmazie Springer Verlag

Karpouk E (2004) Photochemie von ungesättigten Sternverbindungen. Wirt-gast-Synthese bei stilbenoiden Dendrimeren. Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Krisp (2000) Zur Resorption von Naringin aus Grapefruitsaft bei Mensch und Tier. Philipps-Universität Marburg

Morton et al. (2000) Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds

Perc B (2007) Pharmakologisches Profil der neu synthetisierten Ferro-cenylverbindungen (WG8) und des Thiobenzamids (Fludox1) auf isolierte Präparate von Meerschweinchen

Reiter (1967) Die Wertbestimmung inotrop wirkender Arzneimittel am isolierten Papillarmuskel

Sato Y, Nagai H, Tani T, Akao T (2007) Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of *Glycyrrhiza uralensis* roots, acts in the lower part of intestine. Biol Pharm Bull. 30 (1): 145-9

Scholz V (2002) Synthese von Chinoxalinen mit UV-absorbierenden Eigenschaften. Technische Universität Darmstadt

Schwarte A (2002) Phytochemische und pharmakologische Untersuchungen der wurzeln von *Saphora flavescens*, unter besonderer Berücksichtigung ihrer Wirkung auf die Leuktrien- und Prostaglandinbiosynthese. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Teuscher E (1999) Biogene Arzneimittel, Stuttgart

Wegener JW, Nawrath H (1997) Differential effects of isoliquiritigenin and YC-1 in rat aortic smooth muscle. Eur J Pharmacol. 323 (1): 89-91

Wegener JW, Nawrath H (1997) Cardiac effects of isoliquiritigenin. Eur J Pharmacol. 326 (1): 37-44

Wichers M (2004) Darstellung tetracyclischer Diltiazem-Analoga aus Auronen und Thioauronen. Technische Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig

Wollersen H (2004) Bestimmung und Identifizierung von Flavonoiden in Gerste mit HPLC-DAD-MS/MS. Fakultät für Naturwissenschaften der Universität Paderborn

Xu YC, Leung SW, Yeung DK, Hu LH, Chen GH, Che CM, Man RY (2007) Structure-activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry*. 68 (8): 1179-88

Curriculum Vitae

Name: Maria Riess

Geburtsdatum: 19.05.1977

Geburtsort: Güssing

Wohnort: Wien

Staatsbürgerschaft: Österreich

Berufsausbildung: seit 2000 Apotheke Breitenlee

Schulbildung: 1984 – 1988: Volksschule Tulln

1988 – 1992: Bundes(real)gymnasium Tulln

1992 – 1996: Aufbaugymnasium der Erzdiozöse Wien in Hollabrunn

Seit 1996: Studium der Pharmazie in Wien