



DIPLOMARBEIT

„Screening eines neu synthetisierten Carbonylimidazols
(SWS 38 HCl) an isolierten Organen von
Meerschweinchen“

Verfasserin

Juliette Izhak

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Pharmazie

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

DANKSAGUNG

In erster Linie möchte ich mich ganz herzlich bei Ao. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik, für das tolle Arbeitsklima, die Unterstützung und für die freundliche Betreuung während der Tätigkeit im Labor und bei der Erstellung dieser Diplomarbeit, bedanken.

Weiters danke ich Ao. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker vom Department für Pharmazeutische Chemie und seiner Arbeitsgruppe für die Synthese und Bereitstellung der Testsubstanz.

Vom ganzen Herzen möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die mich während des Studiums immer unterstützt und mir sehr viel Kraft gegeben hat. Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Mama bedanken, die immer für mich da ist, wenn ich sie brauche.

Ich möchte mich hiermit auch bei allen Freunden bedanken, die mich auf meinem Studienweg begleitet und unterstützt haben und immer ein offenes Ohr für mich hatten.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Ehemann und meinem Sohn, für ihre Liebe, ihr Verständnis, ihre Motivation und für ihre Unterstützung während der Studienzeit. Danke, dass ich mich immer auf euch verlassen konnte, vor allem in stressigen Prüfungsvorbereitungszeiten.

Danke, dass es euch gibt!

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	ZIELSETZUNG	4
3	MATERIAL UND METHODEN	5
3.1	TESTSUBSTANZ	5
3.1.1	SWS 38 HCL	5
3.1.2	HERSTELLUNG DER TESTLÖSUNG	5
3.2	VERSUCHSTIERE	7
3.3	PHYSIOLOGISCHE ELEKTROLYTLÖSUNG	8
3.3.1	Kaliumchlorid-Lösung für Pulmonalarterie, Aorta und Darm	9
3.4	ORGANENTNAHME UND PRÄPERIERUNG	10
3.4.1	Entnahme der Organe	10
3.4.2	Präparierung der Organe	11
3.4.2.1	Präparierung des rechten Vorhofes (Atrium cordis dexter)	12
3.4.2.2	Präparierung der Lungenarterie (Arteria Pulmonalis)	12
3.4.2.3	Präparierung der Papillarmuskel (Musculus papillaris)	12
3.4.2.4	Präparierung des Dünndarms (Terminales Ileum)	13
3.4.2.5	Präparierung der Aorta (Aorta descendens)	13
3.5	VERSUCHSAUFBAU UND APPARATUR	14
3.5.1	Apparatur I	16
3.5.2	Apparatur II	17
3.5.3	Der Kraftwandler	19
3.5.4	Die Gasversorgung	20
3.6	DIE DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE	21
3.6.1	Wirkung der Substanz auf die isolierten Meerschweinchenorgane	21
3.6.1.1	Wirkung der Substanz auf den rechten Vorhof	21
3.6.1.2	Wirkung der Substanz auf den Papillarmuskel	22
3.6.1.3	Wirkung der Substanz auf den Darm	23
3.6.1.4	Wirkung der Substanz auf die Aorta	24
3.6.1.5	Wirkung der Substanz auf die Lungenarterie	24
3.6.2	Wirkung der Substanz SWS 38HCl in Kombination mit einem Antagonisten am Darm	25
3.6.2.1	Versuchsablauf mit Glibenclamid	25
3.7	AUSWERTUNG DER DATEN UND STATISTIK	25

3.7.1	Atrium dexter	25
3.7.2	Musculus papillaris.....	25
3.7.3	Aorta, Arteria pulmonalis und Terminales Ileum.....	26
3.7.4	Statistik.....	26
4	ERGEBNISSE	27
4.1	ERGEBNISSE DER TESTSUBSTANZ SWS 38 HCl.....	27
4.1.1	Wirkung von SWS 38 HCl auf den Vorhof.....	27
4.1.2	Wirkung von SWS 38 HCl auf den isolierten Papillarmuskel	30
4.1.3	Wirkung von SWS 38 HCl auf die Aorta	33
4.1.4	Wirkung von SWS 38 HCl auf die Lungenarterie.....	36
4.1.5	Wirkung von SWS 38 HCl auf den Darm	39
4.2	ANALYSE DES WIRKMECHANISMUS VON SWS 38 HCL AUF DEN DARM.....	42
4.2.1	Ergebnisse der Versuche mit 30 µmol/l Glibenclamid.....	42
4.2.2	Ergebnisse der Versuche mit 100 µmol/l Glibenclamid.....	45
5	DISKUSSION	48
5.1	Versuchsreihen an glattmuskulären Organen	48
5.2	Versuchsreihen an der quergestreiften Herzmuskulatur.....	49
5.3	Versuchsreihen mit SWS 38 HCl in Kombination mit Glibenclamid.....	50
5.3.1	Versuche mit SWS 38 HCl in Kombination mit 30 µmol/l Glibenclamid	50
5.3.2	Versuche mit SWS 38 HCl in Kombination mit 100 µmol/l Glibenclamid	51
6	ZUSAMMENFASSUNG	52
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	53
8	CURRICULUM VITAE	55

1 EINLEITUNG

Schwefelwasserstoff (H_2S) ist ein brennbares, farbloses, übel riechendes, stark giftiges Gas. Es ist wenig in Wasser und etwas besser in Alkohol löslich (Mutschler et al. 2008).

Der Geruch nach faulen Eiern entsteht einerseits bei der Zersetzung von schwefelhaltigen Aminosäuren und andererseits bei der Reaktion von Säuren mit Schwermetallsulfiden.

In niedrigen Konzentrationen sticht der Geruch von H_2S leicht hervor, in höheren Konzentrationen jedoch wird er kaum noch bemerkt, da es relativ schnell zu einem Gewöhnungseffekt, durch eine Blockade der Geruchsrezeptoren, kommt.

Bei einer akuten Intoxikation mit Schwefelwasserstoff sind überwiegend das zentrale Nervensystem und der Atemtrakt betroffen. Bei Aufnahme von geringen Mengen H_2S treten Hyperpnoe, Krämpfe und Schwäche auf. Nach Inhalation von höheren Dosen des Gases kommt es zum Verlust des Bewusstseins und zur zentralen Atemlähmung (Forth et al. 2009).

Die Therapie einer Vergiftung erfolgt symptomatisch, dabei ist eine gezielte Beatmung wesentlich. Sollte es dadurch zu keinem Erfolg führen, kann 4-DMAP (Dimethylaminophenol) herangezogen werden, ohne nachfolgende Gabe von Natriumthiosulfat. (Oberdisse et al., 2001)

Der genaue Wirkmechanismus von Schwefelwasserstoff ist noch nicht endgültig geklärt. Das Gas kann in hohen Konzentrationen Enzyme durch Sulfidbildung oder Disulfidbildung blockieren. Im Stoffwechselprozess entsteht das Hydrogensulfid- Anion durch Deprotonierung von H_2S . Das Anion blockiert das 3-wertige Eisen der Cytochromoxidase und inhibiert die Enzyme der oxidativen Phosphorylierung (Esterl und Schmidt 2007).

Mittlerweile ist auch bekannt, dass H_2S ein biologisches Gas ist, welches im Körper endogen beim Cystein-Metabolismus entsteht. Es wird hauptsächlich durch die beiden Enzyme, Cystathionin beta-Synthase (CBS) und Cystathionin gamma-Lyase (CSE), gebildet (Stipanuk und Beck 1982, Hosoki et al. 1997).

Schwefelwasserstoff wird im Gewebe im mikromolaren Konzentrationen (10- 100 μM) produziert und erfüllt eine Vielzahl an wichtigen zytoprotektiven Effekten auf das kardiovaskuläre System (Lefer 2007).

H_2S führt zur Erweiterung der Gefäße, entspannt isolierte Blutgefäße und verringert dadurch den Blutdruck (Pryor et al. 2006, Elrod et al. 2007).

Das Gas inhibiert Reaktionen zwischen Leukozyten und Endothelzellen.

Auch auf Entzündungsprozesse hat H_2S Einfluss. Es induziert gewissermaßen die Apoptose von neutrophilen Leukozyten und verhindert sowohl die Expression von inflammatorischen Leukozyten als auch von Adhäsionsmolekülen (Zarnado et al. 2006).

Eine weitere wichtige Rolle spielt H_2S als Neuromodulator. Es wirkt als Signalmolekül, zusammen mit NO, an wichtigen Prozessen im ZNS (Qu et al. 2007).

Die gefäßdilatierende Wirkung von Schwefelwasserstoff beruht auf der Öffnung von ATP-abhängigen Kaliumkanälen und demzufolge einer Hyperpolarisation der Membran, welche zur Erschlaffung der glatten Muskulatur führt (Zhao et al. 2001).

Auch der gefäßprotektive und blutdrucksenkende Effekt von Knoblauch beruht auf der Bildung von Schwefelwasserstoff. Die im Knoblauch enthaltenen organischen Polysulfide werden im Körper in H_2S umgewandelt (Benavides et al. 2007).

Hinsichtlich zahlreicher Studien, Untersuchungen und Forschungsergebnisse, könnten Substanzen, die chemisch oder enzymatisch Schwefelwasserstoff freisetzen, neue Therapieansätze darstellen. Dies würde ein großer Fortschritt zur Behandlung der essentiellen (primären) Hypertonie bedeuten.

Die WHO definiert einen normalen Blutdruck bis zu einem Wert von 130/85 mmHg, ab einem Ergebnis von 140/90 mmHg kann man von Hypertonie sprechen. Der Bereich dazwischen wird als normal hoch bezeichnet. An einer essentiellen oder primären Hypertonie, bei der die Ursache noch nicht bekannt ist, leiden etwa 95% der Betroffenen. Hierfür wird ein Zusammenspiel mehrerer genetischer Faktoren und Umweltfaktoren angenommen. Bei 5% der Hypertonie-Patienten handelt es sich um eine sekundäre Hypertonie. Die Ursachen, die meist endokriner oder renaler Art sind, werden direkt behandelt. (Forth et al., 2009)

Während bei der essentiellen Hypertonie nur eine symptomatische medikamentöse Behandlung möglich ist (Mutschler et al. 2008).

In etlichen placebokontrollierten Studien wurde nachgewiesen, dass die signifikante Senkung der Mortalität auf die medikamentöse Therapie zurückzuführen ist. Das Risiko konnte im Durchschnitt um etwa 12- 15% gesenkt werden (Collins et al. 1994, Gueyffier et al. 1997).

Zur pharmakologischen Therapie werden heutzutage 5 verschiedene Substanzklassen eingesetzt:

1. Diuretika
2. ACE-Hemmer
3. AT₁-Rezeptor Antagonisten
4. Kalziumantagonisten
5. Betablocker

Generell wird bei einer Behandlung von Bluthochdruck empfohlen die Lebensgewohnheiten zu ändern (nicht pharmakologische Maßnahmen):

- Gewichtsreduktion (bei Übergewicht)
- Einschränkung des Alkoholkonsums
- Kochsalzarme Ernährung
- Einstellen des Rauchens
- Stressbewältigung
- Fettarme Ernährung

Aus der derzeitigen Studienlage geht hervor, dass zu Beginn einer Hypertonie-Behandlung eine niedrig dosierte Kombinationstherapie aus Betablocker mit Diuretikum oder ACE-Hemmer mit Diuretikum bezüglich Wirksamkeit und Nebenwirkungen einer Monotherapie gleichzusetzten ist. Sofern das erstrebte Therapieziel in therapeutischen Dosen mit der Monosubstanz nicht erreicht werden kann, sollte unverzüglich mit einer Kombinationstherapie aus zwei oder drei Substanzen begonnen werden. Somit wird vor allem die Erfolgsrate erhöht und außerdem werden auch die unerwünschten Nebenwirkungen, durch die niedrige Dosis der individuellen Kombinationspartner, eingeschränkt (Forth et al. 2009).

2 ZIELSETZUNG

Das Ziel der Diplomarbeit war die möglichen Effekte der neu synthetisierten, Schwefelwasserstoff- oder Carbonylsulfid-freisetzenden, Testsubstanz SWS 38 HCl an bestimmten isolierten Organen von Meerschweinchen zu untersuchen.

In diesem Zusammenhang wurde auf eine vasodilatierende Wirkung an der Aorta und der Lungenarterie getestet. Am Darm wurde ein spasmolytischer Effekt überprüft.

Ein Einfluss auf die quergestreifte Muskulatur des Herzens ist dabei nicht erwünscht, demnach sollte durch Überprüfung der Testsubstanz am Papillarmuskel und am rechten Vorhof, eine Änderung in der Inotropie beziehungsweise Chronotropie ausgeschlossen werden.

Zu Beginn musste die korrekte Präpariertechnik und die genaue Handhabung der Messgeräte erlernt werden, um eine erfolgreiche Durchführung und Reproduzierbarkeit der Testergebnisse zu garantieren.

Beim Erreichen eines EC_{50} - Wertes (mittlere effektive Konzentration) von unter $30\mu\text{mol}$, konnte eine signifikante Wirkung festgestellt werden.

Bei dem Organ mit der signifikantesten Wirkung wurden zusätzlich Versuche durchgeführt, um den zugrunde liegenden Wirkmechanismus zu eruieren.

3 MATERIAL UND METHODEN

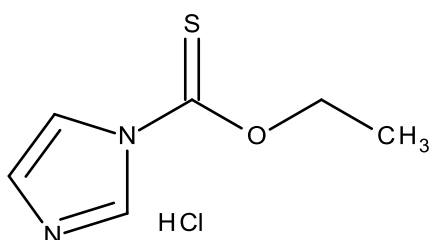
3.1 TESTSUBSTANZ

Die Testsubstanz, mit der die folgenden Versuche durchgenommen wurden, ist von Ao. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker vom Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien zur Verfügung gestellt worden.

3.1.1 SWS 38 HCL

Das Molekulargewicht der Testsubstanz SWS 38 HCL beträgt 192,67 g/mol und der chemische Name lautet 1-Ethoxythiocarbonylimidazol-Hydrochlorid.

Abbildung 3.1: Strukturformel von SWS 38 HCl



3.1.2 HERSTELLUNG DER TESTLÖSUNG

Die Testlösung der Schwefelwasserstoff bzw. Carbonylsulfid freisetzenden Verbindung wurde jeden Tag frisch aufbereitet. Da sich SWS 38 HCL nur sehr schlecht in Wasser löste wurde stattdessen DMSO (Dimethylsulfoxid) verwendet.

Pro Versuch wurde 100 µl Testlösung benötigt. Wobei sich die Einwaage der Substanz nach dem Fassungsvermögen des Organbades richtete. Zur Verfügung standen ein 8 ml und mehrere 25 ml Gefäße. Die genaue Berechnung der Einwaage ist in Tabelle 3.1. zusammengefasst:

Tabelle 3.1:: Berechnung für die Einwaage der Testsubstanz

Testsubstanz	Volumen Organbad [ml]	Molekulargewicht Testsubstanz [g/ml]	Einwaage Testsubstanz [mg]
SWS 38 HCL	8	192,67	0,31
	25	192,67	0,48

Nach einer Kontrollphase von mindestens 45 Minuten, erfolgte die Zugabe der Substanz alle 45 Minuten nach einem kumulativen Schema, bis durch die letzte Substanzzugabe eine Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ im Organbad erreicht war. Das bedeutet, dass jeweils 2, 7, 10, 20 und 70 μl der Lösung zugefügt wurden, somit erreichte man im Organbad die erwünschte Konzentration von 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$. Die jeweilige Zeitspanne von 45 Minuten soll für eine „steadystate“ Einstellung im Organbad sorgen. Übertragen auf den menschlichen Körper bedeutet das, dass eine konstante Plasmaspiegelkonzentration erreicht ist.

Tabelle 3.2: Pippettiermuster der kumulativen Substanzzugabe

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

Abbildung 3.2: Pipetten zum Pipettieren der gelösten Testsubstanz



3.2 VERSUCHSTIERE

Da die Beschaffenheit der Organe und vor allem die Ionenverhältnisse am Herzen von Meerschweinchen, denen der Menschen am meisten ähneln, wurden für die folgenden Versuche isolierte Organe von Meerschweinchen verwendet. Diese passten am besten, weil man außerdem auch von der Größe der Versuchsaapparaturen her beschränkt war.

Es wurden Tiere vom TRIK Stamm verwendet, das bedeutet, dass die Meerschweinchen nicht durch Inzucht vermehrt wurden. Die Tiere waren maximal 30 Tage alt, ausschließlich weiblich und ca. 300-600 g schwer.

3.3 PHYSIOLOGISCHE ELEKTROLYTLÖSUNG

Die physiologische Elektrolytlösung stellt die Nährlösung dar. Sie wird auch Krebs-Henseleit- Lösung oder- wie im Folgenden bezeichnet- Tyrode genannt. Der Name stammt von dem amerikanischen Pharmakologen Maurice Vejux Tyrode.

Von der Tyrode wurden jeden Tag, in der Früh, 2 Liter, nach den Vorschriften von Reiter, (1967) frisch hergestellt.

Für die Zubereitung wurden fertig hergestellte Lösungen von Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Natriumhydrogencarbonat, Magnesiumsulfat und Kaliumhydrogenphosphat in einem 2-Liter Kolben gemischt, anschließend Glucose als Feststoff zugegeben und mit 1,5 Liter destilliertem Wasser aufgefüllt. Hiernach wurde 20 Minuten lang mit einer Gasmischung begast. Die Gasmischung bzw. auch Oxygen oder Carbogen genannt, besteht aus 95% O₂ und 5% CO₂.

Abbildung 3.3: Gasversorgung



Anschließend wurde langsam tropfenweise die Kalziumchlorid-Lösung zugeetzt. Das langsame tropfenweise Zugeben ist wichtig, um ein Ausfallen schwerlöslicher Kalziumsalze zu verhindern. Zuletzt wurde der Kolben mit destilliertem Wasser aufgefüllt, um auf ein Gesamtvolumen von 2 Liter zu kommen. In Tabelle 3.3. sind die Bestandteile der Tyrode zusammengefasst:

Tabelle 3.3: Inhaltsstoffe der Elektrolytlösung

Substanz	Molare Masse [g/mol]	Stocklösung	Menge [für 2 L Tyrode]	mmol/L
NaCl	58,442	1000,25 g/5l	67,2ml	115,01
KCl	74,55	50,33 g/5l	70 ml	4,73
NaHCO₃	84,01	125,00 g/5l	167,4 ml	24,91
MgSO₄	120,37	147,02 g/5l	2,36 ml	0,29
KH₂PO₄	136,09	62,00 g/250ml	2,36 ml	2,15
CaCl₂	110,98	34,00 g/250ml	6,4 ml	3,92
Glucose	180,16	Reinsubstanz	3,96 g	-

3.3.1 Kaliumchlorid-Lösung für Pulmonalarterie, Aorta und Darm

Für die Versuche mit der Testsubstanz an Pulmonalarterie, Aorta und Darm war eine Herstellung einer Kaliumchlorid-Lösung notwendig, um eine maximale Kontraktion der Präparate zu garantieren und die im Anschluss durch die Testsubstanz hervorgerufene spasmolytische bzw. vasodilatierende Wirkung feststellen zu können.

Für die Kontraktion von Pulmonalarterie und Aorta wurden 0,67 g Kaliumchlorid in einem 100-ml-Messkolben eingewogen und mit Tyrode auf 100 ml aufgefüllt. Dies entspricht der benötigten 90 mmol Lösung.

Für die Kontraktion des Darms war eine 60 mmol Lösung nötig. Hierfür wurden 0,45 g Kaliumchlorid eingewogen und ebenso mit Tyrode auf 100 ml gefüllt.

3.4. ORGANENTNAHME UND PRÄPERIERUNG

3.4.1 Entnahme der Organe

Für die Durchführung der Versuche wurde jeden Tag in der Früh ein Meerschweinchen durch Genickbruch vom Versuchsleiter getötet. Anschließend wurde die Bauchdecke samt Brustraum mittels Schere geöffnet und somit das Herz, die Aorta und das Ileum heraus präpariert und sofort in jeweils mit Nährlösung (Tyrode) befüllte Bechergläser übergeführt. Die Tyrode mit den Organen wurde stets begast, um das Durchführen der Untersuchungen zu gewährleisten, sonst wären die Organe abgestorben und weitere Versuche nicht mehr möglich gewesen. Das Herz wurde sofort nach der Entnahme weiter präpariert. Abbildung 3.4. zeigt das verwendete Sezierbesteck.

Abbildung 3.4:Sezierbesteck zur Entnahme der Organe



3.4.2 Präparierung der Organe

Die einzelnen Organe wurden unter dem Auflichtmikroskop präpariert. Dies erfolgte in Glaspetrishalen, die mit einem Korkboden ausgelegt und einem Gummischlauch am Rand fixiert wurden. Die Petrischalen wurden mit Tyrode gefüllt und begast, um stets für optimale Bedingungen zu sorgen. Die jeweiligen Organe wurden mit Präpariernadeln befestigt und mittels der Pinzetten und Federgriffscheren konnte überschüssiges Fett- und Muskelgewebe entfernt werden. An den Darm, den Papillarmuskel und den Vorhof wurden noch zusätzlich Silberhaken mithilfe von Bindfäden befestigt, da jene zur Fixierung der Organe in den Versuchsapparaturen notwendig waren. Grundsätzlich sollte während des gesamten Präpariervorganges vorsichtig und mit Sorgfalt gearbeitet werden, denn ein Überdehnen oder gar Verletzen der Organe führte zu dessen Absterben und würde folgende Versuche unmöglich machen bzw. die Präparate wären dann unbrauchbar gewesen. Abbildung 3.5 zeigt das Auflichtmikroskop mit dem Präparierbesteck.

Abbildung 3.5: Präparierbesteck mit Auflichtmikroskop



3.4.2.1 Präparierung des rechten Vorhofes (Atrium cordis dexter)

Der rechte Vorhof musste aus dem Herz herauspräpariert werden. Dazu wurde das Herz mit zwei Präpariernadeln am Korkboden der Petrischale fixiert und mögliches Fett- oder Lungengewebe mit den Federgriffscheren entfernt. Der Atrium cordis dexter musste inklusive dem Sinusknoten entnommen werden, um die autonome Schlagkraft des Herzens zu sichern. Der Anfang und das Ende des Vorhofes wurden vorsichtig mit zwei Nadeln fixiert. Daraufhin wurde ein Faden unter einem Teil des fixierten Vorhofes gelegt und damit ein Knoten gebunden, anschließend wurde ein Silberhaken mittels eines zweiten Knotens eingesetzt. Derselbe Prozess wurde auf der anderen Seite wiederholt, sodass letztendlich oben und unten je ein Silberhaken eingearbeitet wurde. Somit konnte nun das fertige Präparat in die begaste Tyrode eingelegt werden, und war bereit, um in die Versuchsanordnung eingespannt zu werden.

3.4.2.2 Präparierung der Lungenarterie (Arteria Pulmonalis)

Im Anschluss an den rechten Vorhof wurde die Lungenarterie aus dem Herz entnommen. Der Truncuspulmonalis, jener Teil der Lungenarterie, der aus der rechten Herzkammer hervorgeht, wurde für die folgenden Versuche präpariert. Ein etwa 1 cm langes Stück der Arterie wurde herausgeschnitten und von Fett- und Muskelgewebe entfernt. Folglich wurde dieses Stück in mehrere ca. 3 mm breite Ringe geschnitten und in die begaste Tyrode gegeben. Damit war die Lungenarterie versuchsbereit und konnte direkt in die Apparatur eingespannt werden.

3.4.2.3 Präparierung der Papillarmuskel (Musculus papillaris)

Abschließend wurden aus dem Herz die Papillarmuskeln entnommen. Hierfür wurde der rechte Ventrikel entlang des Septums geöffnet, aufgeklappt und mit einer Präpariernadel fixiert. Am Ansatz der Papillarmuskelsehne wurde mit einem Bindfaden ein Silberhaken, auf dieselbe Weise wie beim Vorhof, befestigt. Daraufhin konnte der Muskel aus der Herzwand geschnitten werden. Derselbe Vorgang wurde beim linken Ventrikel wiederholt. An dieser Stelle war es äußerst wichtig, eventuell vorhandene Purkinje- Fasern zu entfernen, da diese einen Teil des Erregungsleitungssystem am Herzen darstellen und somit störend wirken

können. Die fertigen Präparate waren nun bereit, um in die Versuchsanordnung eingespannt zu werden und wurden dazu in die begaste Tyrode gegeben.

3.4.2.4 Präparierung des Dünndarms (Terminales Ileum)

Nachdem das Herz des Meerschweinchens entnommen wurde, konnte die Bauchdecke weiter geöffnet werden, um nun den Darm rauszuschneiden. Für die folgenden Versuchsreihen wurde lediglich das terminale Ileum verwendet. Der Darm wurde nahe dem Caecum durchtrennt und der jejunale Bereich mit einem Bindfaden kenntlich gemacht. Ein etwa 30 cm langes Darmstück wurde rausgeschnitten und in der begasten Tyrode aufbewahrt. Beim Darm ist besonders auf eine ausreichende Gasversorgung zu achten. Im weiteren Verlauf wurde vom 30 cm langen Darm ein ca. 1 cm großes Stück abgeschnitten und anschließend durch die Präpariernadeln am Korkboden der Glaspetrischale befestigt. Um etwaigen Darminhalt zu entfernen, wurde das Darmfragment mithilfe einer kleinen Pipette durchgespült. Im Anschluss wurden die beiden Enden des Fragments schräg abgeschnitten und auf jeder Seite –in derselben Verfahrensweise wie beim Vorhof– ein Silberhaken mit Bindfaden fixiert. Die schrägen Enden sind deshalb wichtig, weil das Darmlumen nach Anbringen der Silberhaken geöffnet bleiben muss, damit die Testsubstanz durchdringen kann. Ob das Darmlumen auch wirklich offen geblieben ist, konnte mithilfe der kleinen Pipette getestet werden. Das fertige Präparat wurde in die begaste Tyrode gegeben und war für die Versuche bereit.

3.4.2.5 Präparierung der Aorta (Aorta descendens)

Am Ende wurde die Aorta als letztes Organ entnommen. Für diesen Zweck musste die Wirbelsäule des Meerschweinchens durchgebogen werden und der Teil der Aorta, der oberhalb des Herzens liegt, wurde oben abgetrennt. Dazu wurde die Aorta mit einer Pinzette fixiert um sie mittels Schere vorsichtig vom Rückgrat zu lösen. Anschließend wurde dieses herausgeschnittene Stück mit zwei Präpariernadeln am Korkboden der Petrischale befestigt und mit der Federschere konnte nicht wünschenswertes Fett- und Muskelgewebe abgetrennt werden. Daraufhin wurden etwa 2 mm breite Ringe geschnitten, die direkt für die folgenden

Versuche eingesetzt werden konnten. Die fertigen Präparate wurden wieder in die begaste Tyrode gegeben und waren bereit, um in die Versuchsanordnung eingespannt zu werden.

3.5 VERSUCHSAUFBAU UND APPARATUR

Es standen zwei verschiedene Apparaturen zur Untersuchung der Testsubstanz SWS 38 HCl an isolierten Meerschweinchenorganen zu Verfügung: Apparatur I und II. Für die Versuche am Papillarmuskel kam ausschließlich Apparatur I zur Verwendung. Die Versuche am rechten Vorhof, Lungenarterie, Darm und Aorta wurden mit Apparatur II durchgeführt. Bei beiden Apparaturen waren die Art der Versuchsanordnung und das Muster der Messung aber gleichartig. Im Mittelpunkt befand sich das jeweils isolierte Organ, das durch die Silberhaken am Draht der Apparatur befestigt war. Der Draht war verbunden mit einem Kraftwandler, der elektrische Impulse an einen Amplifier weitergibt. Dieser verstärkte das Signal und leitete es weiter zum Schreiber, der die Messergebnisse auf Millimeterpapier festhielt.

Um die Wiederholbarkeit der Untersuchungen zu garantieren mussten die physiologischen Bedingungen wie pH-Wert, Temperatur und Sauerstoffkonzentration bis zum Abschluss des Versuchs konstant gehalten werden. Abbildung 3.6 stellt die Versuchsanordnung dar.

Abbildung 3.6: Versuchsanordnung



Gasversorgung



Organbad



Wasserbad



Amplifier

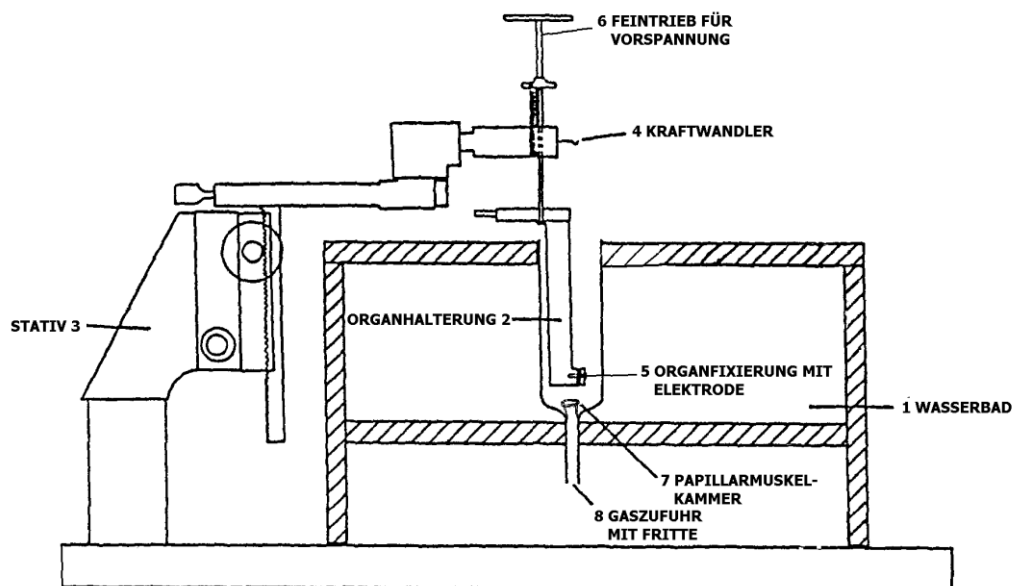


Schreiber

3.5.1 Apparatur I

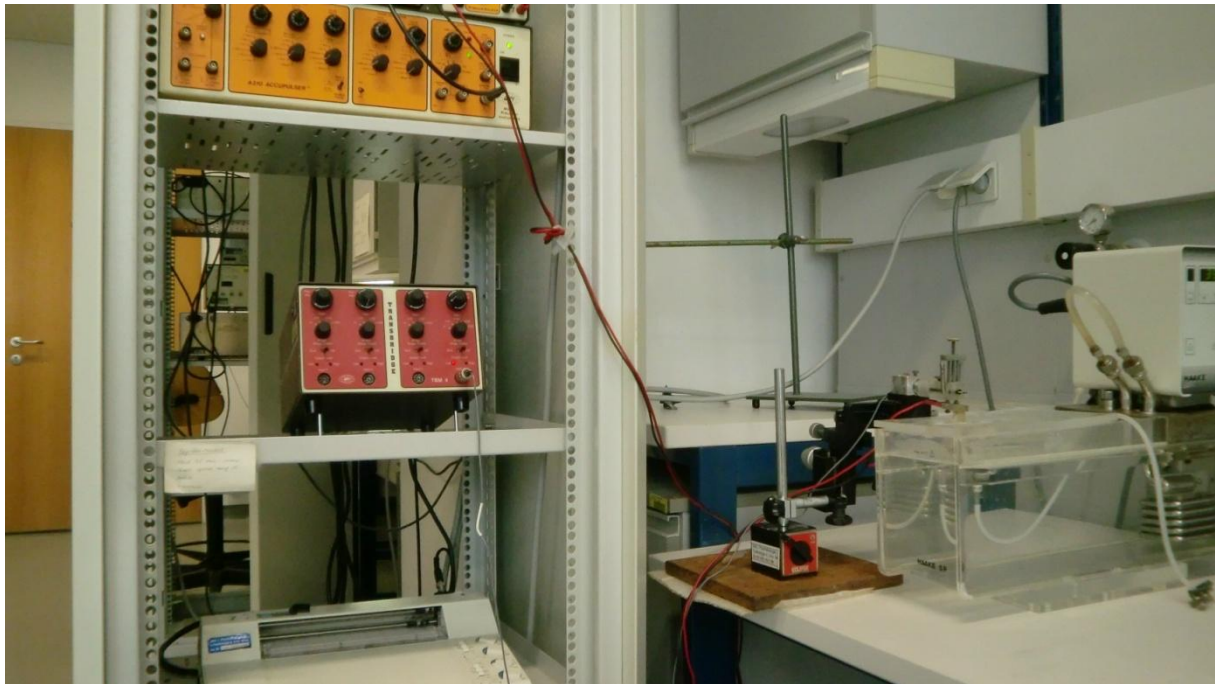
Die Apparatur I (Abbildung 3.7) wurde einzig für die Untersuchungen am Papillarmuskel verwendet. Die Papillarmuskelkammer ragte in das temperierte Wasserbad von $35,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Die Papillarmuskelkammer wurde mit 25 ml Tyrode gefüllt und von unten durch eine Glasfritte mit dem Oxy mix begast. Nach dem Befüllen der Kammer sollte noch etwa 10 min gewartet werden, damit die Tyrode die richtige Temperatur erreichen konnte. Erst danach konnte der Papillarmuskel eingespannt werden. Das Präparat wurde sodann über den Silberhaken auf den Draht gehängt und die untere Spitze des Muskels wurde zwischen Plexiglasscheibe und Platinelektrode geklemmt. Anschließend wurde die Organhalterung auf dem Stativ in die Papillarmuskelkammer gesenkt. Dann wurde durch den Feintrieb die Vorspannung des Organs eingestellt. Die Vorspannung ist für jedes Organ unterschiedlich und wurde empirisch ermittelt, um gleiche und vor allem reproduzierbare Verhältnisse zu gewährleisten.

Abbildung 3.7: Schematische Darstellung der Apparatur I



Über den Draht konnten die Muskelkontraktionen auf den Kraftwandler übertragen und in elektrische Signale umgewandelt werden. Der Papillarmuskel musste über den Anapulse Stimulator elektrisch stimuliert werden, da er nicht von selbst kontrahiert. Der Kraftwandler war mit einem Verstärker verbunden. Die Signale wurden am Schreiber aufgezeichnet. Abbildung 3.8. zeigt die Originalapparatur.

Abbildung 3.8: Originalabbildung des Versuchsaufbaus

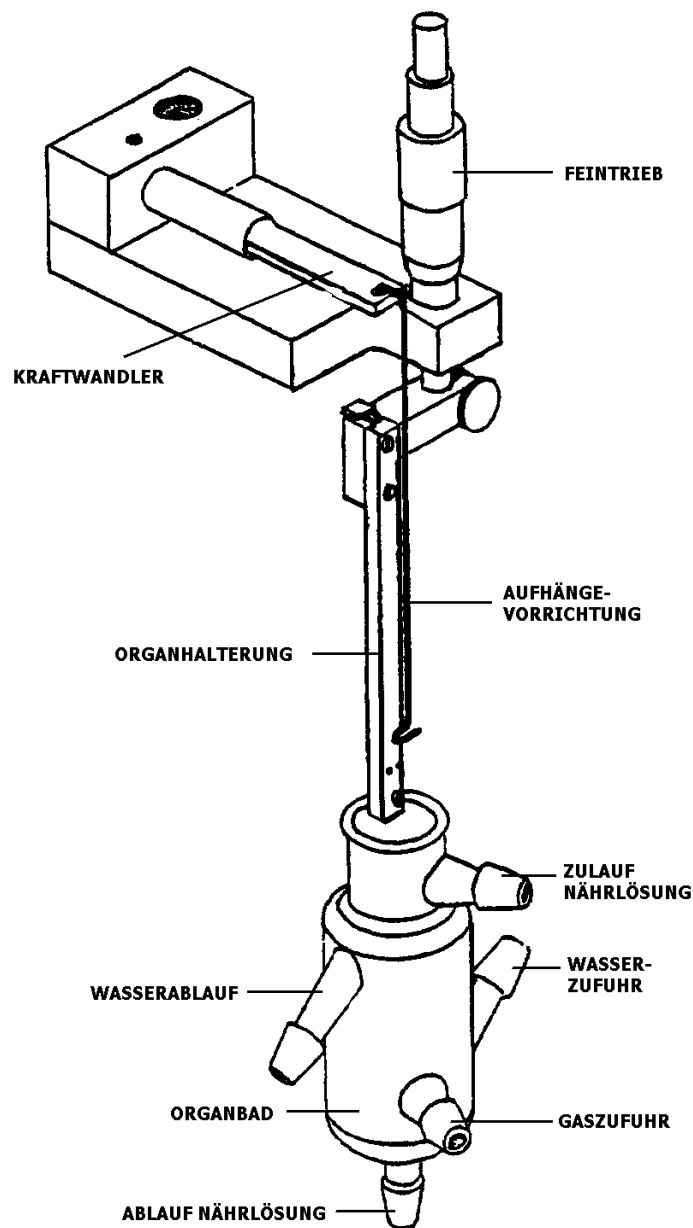


3.5.2 Apparatur II

Mit der Apparatur II (Abbildung 3.9) wurden die Untersuchungen an Vorhof, Aorta, Lungenarterie und Darm durchgenommen. Bei diesem Gerät war das Organbad von einem Plexiglasmantel umgeben, durch den das temperierte Wasserbad von $37,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ floss. Es standen Organbäder mit einem Fassungsvermögen von entweder 8 ml oder 25 ml zur Verfügung. Diese wurden mit der Nährlösung gefüllt und begast. In dem 8 ml Organbad konnten aufgrund der Größe und dem Volumen ausschließlich die Versuche an Aorta und Lungenarterie durchgeführt werden. Nach dem Fassungsvermögen richtete sich dann auch die Einwaage der Testsubstanz.

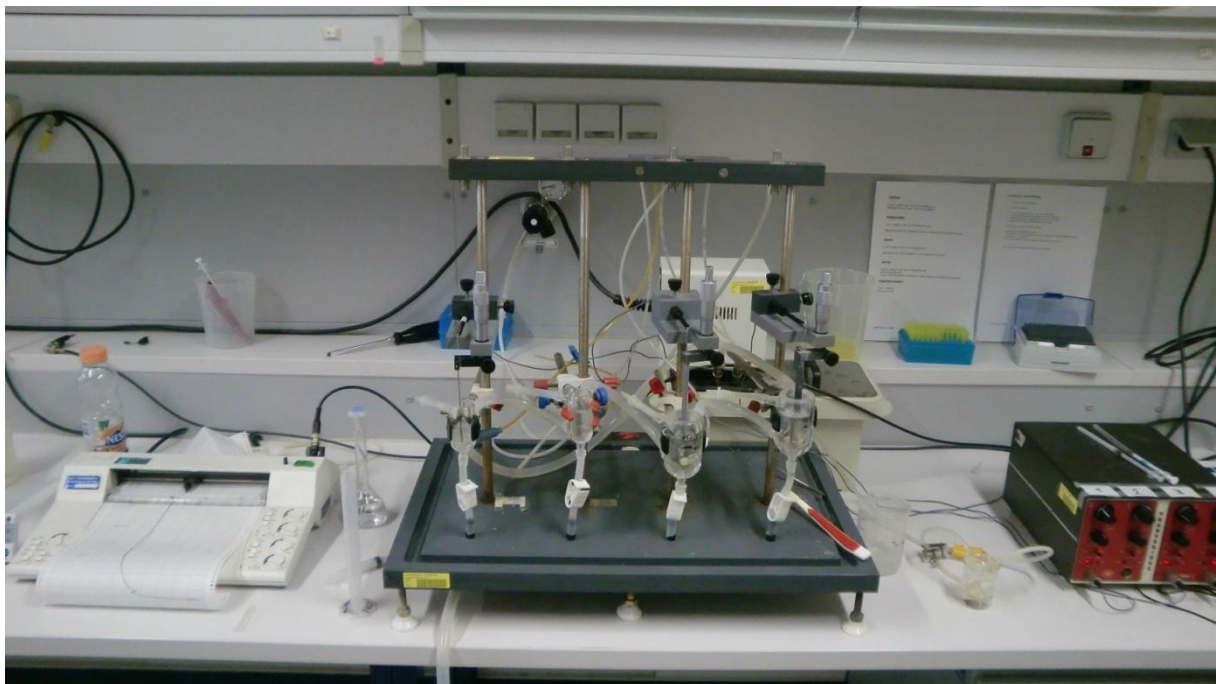
Nach dem Präparieren lagen Aorta und Lungenarterie als Ringe vor, die direkt in die Aufhängevorrichtung eingespannt werden konnten. Der Darm und der Vorhof wurden mithilfe der Silberhaken, die beim Präparieren befestigt wurden, in die Aufhängevorrichtung eingehängt.

Abbildung 3.9: Schematische Darstellung der Apparatur II



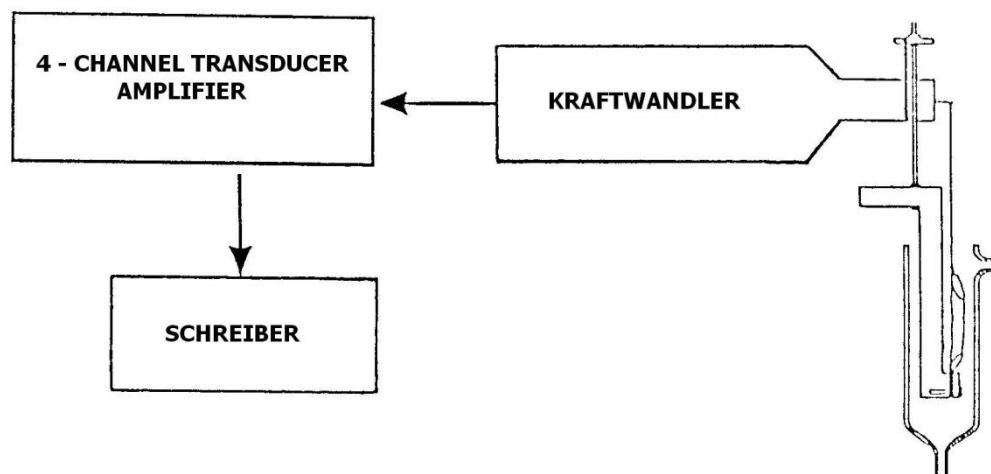
Die erforderliche Vorspannung der Organe wurde auch bei dieser Apparatur mit dem Feintrieb eingestellt. Die Muskelkontraktionen wurden in Stromimpulse umgewandelt und somit vom Schreiber registriert. In Abbildung 3.10 ist der originale Versuchsaufbau dargestellt.

Abbildung 3.10: Originalaufbau Versuchsapparatur II



3.5.3 Der Kraftwandler

Der Kraftwandler stellte einen besonders wesentlichen Teil des Versuchsaufbaus dar. Er hatte die Funktion einen mechanischen Vorgang in eine elektrische, messbare Größe zu überführen. Die Messung erfolgte mithilfe eines Dehnungsmessstreifens. Bei Änderung der Kontraktionskraft ändert sich der Widerstand im Dehnungstreifen, wodurch wiederum der Stromfluss beeinflusst wurde. Die Änderung der Kontraktion wurde über den Kraftwandler zu einem Verstärker (4-Chanel Transducer Amplifier, Firma WPI) geleitet. Von diesem wurden die empfangenen Impulse an einen Schreiber (Flatbed Recorder Modell BD 112, Firma Kipp & Zonen) übertragen, der die Impulse aufzeichnete.

Abbildung 3.11: Schematische Darstellung des Kraftwandlers

3.5.4 Die Gasversorgung

Die Gasversorgung war - wie bereits erwähnt - für eine optimale Versorgung der Organe verantwortlich. Die Gasmischung, auch Oxygen oder Carbogen genannt, bestand aus 95% O₂ und 5% CO₂ und wurde über Schläuche mit den Organbädern verbunden. Am Einlass-Ende des jeweiligen Schlauchs war eine Glasfritte, die eine feine Zerstäubung und somit eine ideale Verteilung des Gases versprach. Dadurch konnte gewährleistet werden, dass der pH-Wert (physiologischer pH-Wert von ungefähr 7,2-7,4) konstant gehalten werden konnte und eine homogene Verteilung der Testsubstanz erfolgte.

3.6 DIE DURCHFÜHRUNG DER VERSUCHE

Als aller erstes musste sichergestellt werden, dass die verwendeten Apparaturen sauber waren. Dafür wurden die Organgefäße zwei bis drei Mal mit Aqua destillata gereinigt und anschließend noch mit der Tyrode, also der verwendeten Elektrolytlösung, durchgespült. Zu guter Letzt wurden die Organbäder mit Tyrode aufgefüllt. Die entsprechende geforderte Temperatur, wie bereits in Kapitel 3.5.1 und 3.5.2 besprochen, wurde durch die aktivierten Wasserbäder erreicht.

3.6.1 Wirkung der Substanz auf die isolierten Meerschweinchenorgane

3.6.1.1 Wirkung der Substanz auf den rechten Vorhof

Die Isolierung und Präparierung vom rechten Vorhof wurde bereits im Kapitel 3.4.2.1 besprochen. Mittels der befestigten Silberhaken wurde das Atrium cordis dexter vorsichtig in die Apparatur II eingehängt. Währenddessen war darauf zu achten, den Vorhof nicht zu überspannen, um die Autonomie des Sinusknotens nicht zu beeinträchtigen. Das Präparat sollte idealerweise locker in der Apparatur hängen. Anschließend wurde der Vorhof in das mit 25ml Nährlösung begaste Organbad getaucht. Sodann wurden die nötigen Einstellungen an den Geräten vorgenommen.

Als erstes wurde der Schreiber eingeschaltet und auf 5mV und Speed 5mm/sec eingestellt. Der Nullpunkt auf dem Millimeterpapier wurde mit einem „Zero“-Drehrad angeglichen. Dann wurde der Amplifier in Betrieb genommen, dabei musste der verstellte Schreiber mittels der Drehscheibe am Verstärker wieder in die Nullposition gebracht werden. Nun wurde über den Feintrieb noch die Vorspannung des Organs auf 10,4 cm vorgenommen, um bei allen Versuchsabläufen immer die gleichen Ausgangsbedingungen zu schaffen. Wenn die erhaltenen Amplituden zu klein zum Auszählen waren, konnte bei Bedarf statt mit 5 mV auch mit 2 mV oder 1mV gearbeitet werden.

Nach einer Anpassungsphase von ungefähr 30 bis 45 Minuten konnte mit der Kontrollmessung begonnen werden. Eine Kontrollmessung dauerte jeweils 12 Sekunden, die sich auf dem Millimeterpapier über 6 Kästchen erstreckte, wobei ein Kästchen 1cm entsprach. Für so eine Messung wurde der Schreiber alle 5 Minuten abgesenkt. Um mit den eigentlichen Versuchen zu beginnen, musste die Schlagfrequenz über mindestens 4 Messungen konstant

bleiben. Dann wurde die erste Konzentration an Testsubstanz zugegeben und erneut alle 5 Minuten gemessen. Dieser Vorgang erstreckte sich insgesamt 45 Minuten lang. Anschließend erfolgte die Zugabe der nächsten Konzentration nach dem Pipettierschema aus Tabelle 3.2, bis man zur endgültigen Maximalkonzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ im Organbad ankam.

Beim Einbringen der Substanzlösung mit der Pipette musste darauf geachtet werden, die Silberdrähte und den Kraftwandler nicht zu berühren, da es sonst zu Fehlaufzeichnungen kam.

3.6.1.2 Wirkung der Substanz auf den Papillarmuskel

Wie schon in Kapitel 3.5.1 thematisiert, wurden die Untersuchungen am Musculus papillaris ausschließlich mit der Apparatur I vorgenommen. Der Papillarmuskel wurde hierfür über den befestigten Silberdrahthaken an der vorgesehenen Halterung eingehängt, dann zwischen Platinelektrode und Plexiglasscheibe befestigt und ins temperierte, mit 25 ml Nährlösung gefüllte Organbad gesenkt. Nach einer Eingewöhnungszeit wurde eine Vorspannung von 3.92 mN angelegt, das entspricht in etwa 4 cm. Im Verlauf der gesamten Versuchszeit sollte die Spannung konstant gehalten werden, deswegen musste der Feintrieb öfters nachjustiert werden.

Der Papillarmuskel schlug im Gegensatz zum Vorhof nicht spontan, daher war eine elektronische Reizung notwendig, diese wurde mit dem Reizgerät A310 Accupulser von der Firma WPI vorgenommen. Falls es aber bereits zu einer Kontraktion ohne Reizung kam, so war das ein Anzeichen dafür, dass noch Purkinje-Fasern vorliegen, diese mussten vorher natürlich vollständig entfernt werden.

Der Musculus papillaris wurde mit Rechteckimpulsen mit einer Länge von 10 ms^{-1} und einer Frequenz von 1 Hz stimuliert. Die eingebrachte Stromstärke sollte in etwa 10 % über der minimalen Reizschwelle liegen, um eine kontinuierliche Schlagfrequenz des Muskels sicherzustellen. Eine zu hohe Stromstärke sollte vermieden werden, sonst kommt es zur Ausschüttung der Catecholaminspeicher und somit in weiterer Folge zu einer Veränderung der Ergebnisse, was sich in einer Abnahme der Amplitude ausprägen würde.

Die Einstellungen vom Amplifier und vom Schreiber glichen denen beim Vorhof, wobei diesmal die Aufzeichnung nicht über 6 cm durchgeführt wurde, sondern sie hing lediglich von der Anzahl der Amplituden ab. Es wurde mit 5 mV gearbeitet und alle 5 Minuten, bei einem

speed von 5mm/sec wurden 6 Amplituden aufgezeichnet. Die Wirkstoffzugabe erfolgte wieder alle 45 Minuten. Die jeweils letzte Messung einer Konzentration wurde bei 20 mm/sec durchgeführt, um ein genaueres Vermessen zu ermöglichen.

3.6.1.3 Wirkung der Substanz auf den Darm

Der isolierte und präparierte Darm wurde mithilfe der angebrachten Silberdrahthaken in die Organhalterung eingespannt. Anschließend wurde das Ileumsegment ins temperierte Organbad gesenkt und die Geräte in Betrieb genommen. Dies erfolgte genauso wie bereits im Kapitel 3.6.1.1 (Vorhof) beschrieben. Allerdings betrug die Vorspannung beim Darm 5cm, was 4.92 mN entspricht. Dann wurde 20 Minuten lang gewartet, damit sich das Präparat akklimatisieren konnte. Eine eventuell resultierende Verschiebung des Nullpunktes, aufgrund der Peristaltik des Darms, musste mithilfe des Feintriebs nachjustiert werden. Nun konnte der Schreiber abgesenkt werden, die Nährlösung wurde aus dem Organbad über einen Ablaufschlauch entfernt und durch exakt 25 ml einer 60 mmol Kaliumchlorid-Lösung ersetzt. Die Herstellung der Lösung wurde bereits in Kapitel 3.3.1 erwähnt.

Durch die Zugabe der Kaliumchlorid-Lösung erkannte man sofort eine Kontraktion des Präparates, diese fiel allerdings auch schnell wieder ab, und zwar bis zur ungefähren Hälfte der maximalen Kontraktion und pendelte sich langsam wieder ein. Nun folgte wiederum die 45 minütige Gleichgewichtseinstellung. Wenn es zu einer permanenten Abnahme, also zu keiner stabilen Phase kam, so konnte das Präparat für den Versuch nicht herangezogen werden. Ansonsten wurde mit der Zugabe der ersten Konzentration begonnen und weiter nach dem kumulativen Schema aus Tabelle 3.2 vorgegangen, in einem Abstand von wiederum 45 Minuten.

3.6.1.4 Wirkung der Substanz auf die Aorta

Die Aorta lag nach der Präparierung in Form von kleinen Ringen vor, sodass so ein Aorta-Ring direkt zwischen die zwei Silberdrähte der Apparatur II eingehängt werden konnte. Bei diesem Vorgang musste mit höchster Sorgfalt vorgegangen werden, da die Präparate äußerst klein waren und sie außerdem nicht überdehnt werden sollten. Nach dem Einlassen in die Nährlösung wurden der Schreiber und der Verstärker aktiviert. Die Vorspannung bei der Aorta betrug 10 cm bei 10 mV, dies entspricht in etwa 19,6 mN. Nachdem die Nullpunkteinstellungen durchgeführt wurden, musste wieder die 20 minütige Gewöhnungsphase abgewartet werden. Danach wurde der Schreiber auf 5 mV umgestellt und der verschobene Nullpunkt über den Feintrieb wieder korrigiert. Dann wurde, so wie beim Darm (Kapitel 3.6.1.3) die Tyrode durch die Kaliumchlorid-Lösung, die laut Kapitel 3.3.1 hergestellt wurde, ausgetauscht.

Dadurch war wieder eine Kontraktion bemerkbar, die sich nach 45 Minuten langsam auf eine konstante Phase einpendelte. Danach wurden die jeweiligen Substanzkonzentrationen nach dem bekannten Prinzip in einem 45- Minuten-Takt zugegeben.

3.6.1.5 Wirkung der Substanz auf die Lungenarterie

Der Versuchsablauf der Arteria pulmonalis entsprach dem der Aorta. Die Vorspannung wurde jedoch bei 5 mV vorgenommen und war mit 9,81 mN gleichzusetzen. Die Abnahme der Kontraktion und die Wirkstoffzugabe erfolgten auf dieselbe Weise wie bei der Aorta.

3.6.2 Wirkung der Substanz SWS 38HCl in Kombination mit einem Antagonisten am Darm

3.6.2.1 Versuchsablauf mit Glibenclamid

Die Darmsegmente wurden wie in Kapitel 3.4.2.4 isoliert und präpariert und in die Apparatur II eingehängt. Die Einstellungen entsprachen denen, die bereits in Kapitel 3.6.1.3 erwähnt wurden. Nach Erreichen einer „steady state“ – Phase, konnte man den Antagonisten hinzufügen.

Bei den Versuchen mit Glibenclamid wurde mit zwei verschiedenen Konzentrationen, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ gearbeitet. Nachdem 45 Minuten mit der jeweiligen Konzentration abgewartet wurden, konnte eine Konzentration, der Testsubstanz SWS 38 HCl, von 10 $\mu\text{mol/l}$, ergänzt werden. Nach weiteren 45 Minuten war man am Ende des Versuchs angelangt.

3.7. AUSWERTUNG DER DATEN UND STATISTIK

3.7.1 Atrium dexter

Bei den Untersuchungen am Vorhof wurde die Chronotropie, also die Schlagfrequenz (Schläge/ Minute) des Herzens, festgestellt. Wie in Kapitel 3.6.1.1. beschrieben, wurde die Messung alle 5 Minuten über eine Länge von 6 cm durchgeführt. Um die Zahl der Schläge pro Minute zu erhalten, wurden die Ausschläge des Schreibers in dem aufgezeichneten Bereich gezählt und mit 5 multipliziert. Durch die Zugabe der Testsubstanz konnte man entweder einen neutralen, einen positiven, oder einen negativen Effekt auf den Vorhof feststellen.

3.7.2 Musculus papillaris

Am Papillarmuskel wurde die Inotropie, das heißt die Kontraktionskraft des Herzens, geprüft. Hierfür wurden die erhaltenen Amplituden mit einem Lineal vermessen. Die entsprechenden cm wurden dann mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert, um die eigentliche Größe der Kontraktion zu erhalten.

3.7.3 Aorta, Arteria pulmonalis und Terminales Ileum

Bei den Versuchen an diesen Organen wurde eine eventuell dilatierende Wirkung der Testsubstanz ermittelt. Hierfür war eine maximale Kontraktion bzw. Vorkontraktion der Organe mit Kaliumchlorid- Lösung erforderlich. Der Moment der Substanzzugabe wurde am Millimeterpapier gekennzeichnet, um gewisse mögliche Veränderungen nach jeder Substanzkonzentration ermitteln zu können. Nach der Plateauphase, auch steady state genannt und nach jeder Substanzzugabe wurde der Abstand von diesen Punkten zur Nulllinie mit einem Lineal gemessen und wieder mit dem Eichfaktor multipliziert.

3.7.4 Statistik

Da das Lösungsmittel DMSO (Dimethylsulfoxid) mit dem SWS 38 HCl gelöst wurde, selbst einen Effekt auf die Organpräparate aufwies, musste diese Wirkung von den gemessenen Werten abgezogen werden, um eine Verfälschung der Ergebnisse auszuschließen.

Für die Statistik wurden der Mittelwert, der Standardfehler des Mittelwerts (SEM) und der EC_{50} -Wert, mithilfe des Programms „Sigma Plot 9“, ermittelt.

Der EC_{50} -Wert stellt die Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ dar, bei der die Schlagfrequenz oder die Kontraktionskraft die Hälfte ihres Kontrollwertes beträgt.

Außerdem wurden die Ergebnisse mit dem „Student-t-Test“ für gepaarte Beobachtungen beurteilt, um auch die Wahrscheinlichkeit eines Irrtums der Versuchsreihen mit einzubeziehen. Unterdies galten die Werte $< 5\%$ ($P < 0,05$) und $< 1\%$ ($P < 0,01$) als signifikant und als hochsignifikant anzusehen waren Werte $< 0,1\%$ ($P < 0,001$).

4 ERGEBNISSE

4.1 ERGEBNISSE DER TESTSUBSTANZ SWS 38 HCl

4.1.1 Wirkung von SWS 38 HCl auf den Vorhof

Der Einfluss der Testsubstanz SWS 38 HCl auf die Schlagfrequenz des rechten Vorhofs wurde in vier verschiedenen Versuchen untersucht. Die Durchführung der Versuche wurde bereits in Kapitel 3.6.1.1 beschrieben.

Der arithmetische Mittelwert wurde aus den aufgezeichneten Schlägen pro Minute berechnet und ein Kontrollwert (0%) von $230 \pm 12,25$ bestimmt, bei dem noch keine Wirkstoffzugabe erfolgt war.

Es konnte keine signifikante Wirkung auf die Chronotropie festgestellt werden.

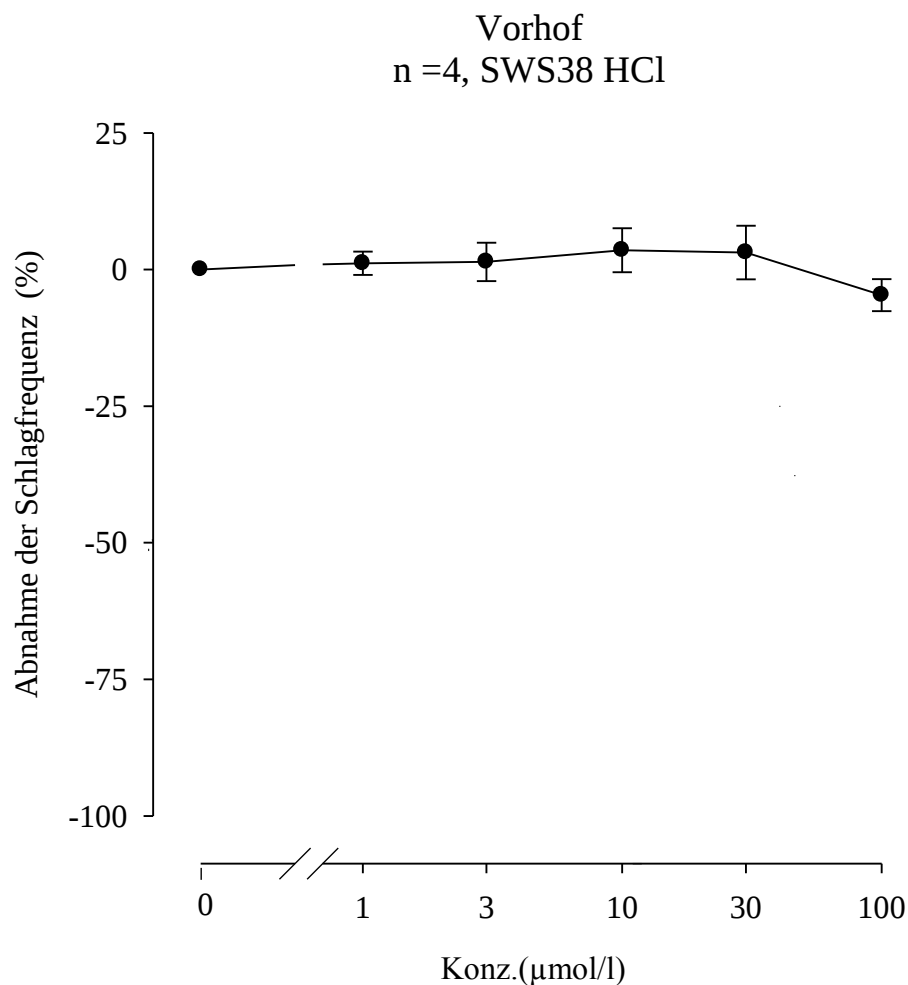
Tabelle 4.1: Die Wirkung von SWS 38 HCl auf das Atrium cordis dexter

SWS 38 HCl [μmol/l]	f ± SEM [x/min]	f ± SEM [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$230 \pm 12,25$	0 ± 0	4	-
1	$232,5 \pm 9,68$	$1,15 \pm 2,12$	4	n.s.
3	$232,5 \pm 10,51$	$1,4 \pm 3,52$	4	n.s.
10	$237,5 \pm 11,99$	$3,53 \pm 4,02$	4	n.s.
30	$236,25 \pm 11,97$	$3,10 \pm 4,91$	4	n.s.
100	$218,75 \pm 10,48$	$-4,68 \pm 2,92$	4	n.s.

Legende zu Tabelle 4.1:

Die Tabelle umfasst die aus vier Versuchen errechneten arithmetischen Mittelwerte (f) des Sinusknotens sowohl in Anzahl der Schläge pro Minute (x/min), als auch in Prozent (%), inklusive der Standardfehler (SEM). Darüber hinaus ist die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) dargestellt.

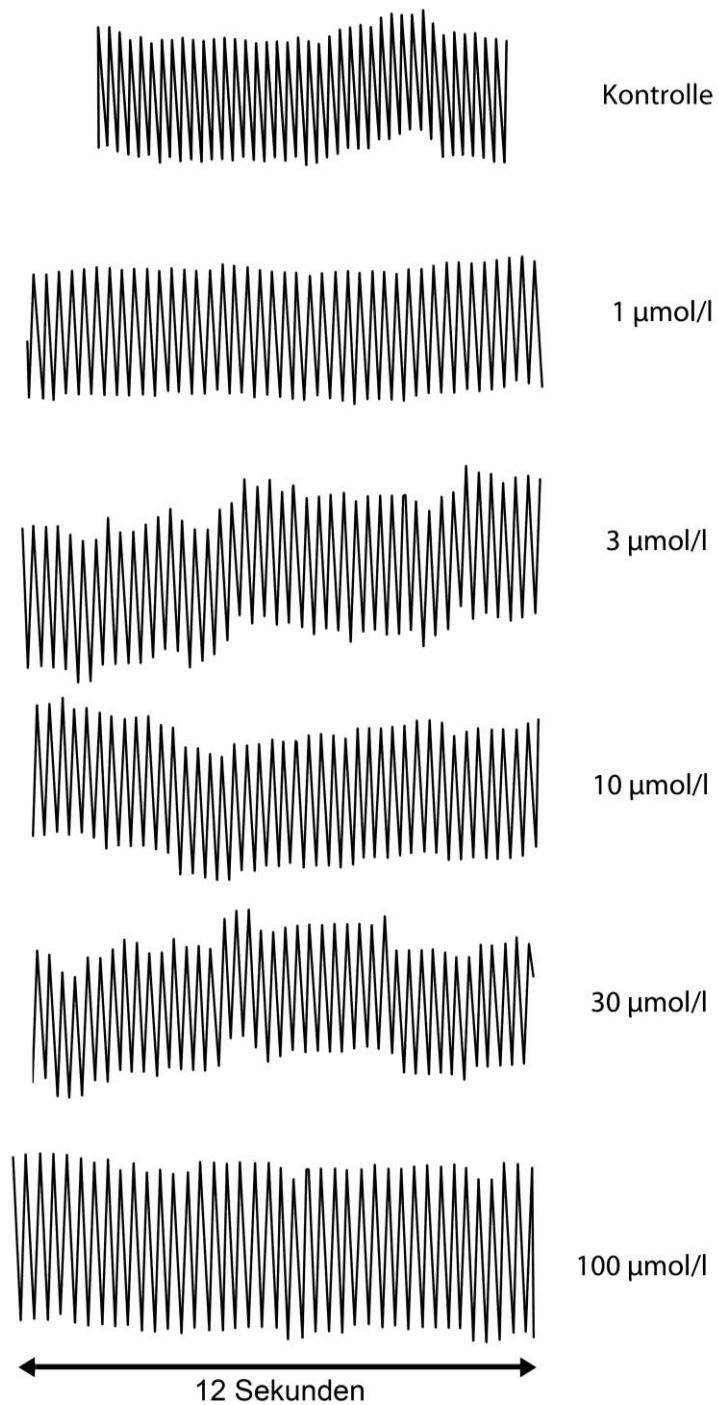
Diagramm 1: Konzentrations-Wirkungskurve von SWS 38 HCl am rechten Vorhof



Legende zu Diagramm 1:

Anhand der Konzentration-Wirkungskurve verdeutlicht sich der geringe Effekt von SWS 38 HCl auf die Schlagfrequenz. Auf der x-Achse ist die Konzentration in µmol/l zu erkennen und auf der y-Achse die Abnahme der Schläge pro Minute. Die Punkte stellen den jeweils errechneten arithmetischen Mittelwert dar und die Balken den jeweiligen Standardfehler. Ein EC_{50} –Wert konnte nicht erreicht werden, da die Wirkung von SWS 38 HCl zu gering war.

Abbildung 4.1: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 38 HCl auf den rechten Vorhof



Legende zur Abbildung 4.1:

Die Originalabbildung zeigt die Aufzeichnungen des Schreibers, die in Intervallen von 45 Minuten für jeweils 12 Sekunden durchgeführt wurden.

4.1.2 Wirkung von SWS 38 HCl auf den isolierten Papillarmuskel

Für die Untersuchung der inotropen Wirkung von SWS 38 HCl am Musculus papillaris wurden 4 Versuche durchgenommen. Aus den Versuchsergebnissen ergab sich ein Kontrollwert von $1,10 \pm 0,09$ mN. Von diesem Wert ausgehend, wurde die Veränderung der Kontraktionskraft auf den Papillarmuskel berechnet. Bei einer Konzentration von $1 \mu\text{mol/l}$ war eine Abnahme der Amplitude feststellbar. Während es ab einer Konzentration von $3 \mu\text{mol/l}$ wieder zu einer Zunahme der Amplitude kam, sodass bei $30 \mu\text{mol/l}$ erneut die Kontraktionskraft der Kontrolle erreicht wurde und bei $100 \mu\text{mol/l}$ sogar ein positiv inotroper Effekt feststellbar war. Somit konnte kein EC_{50} –Wert erreicht werden.

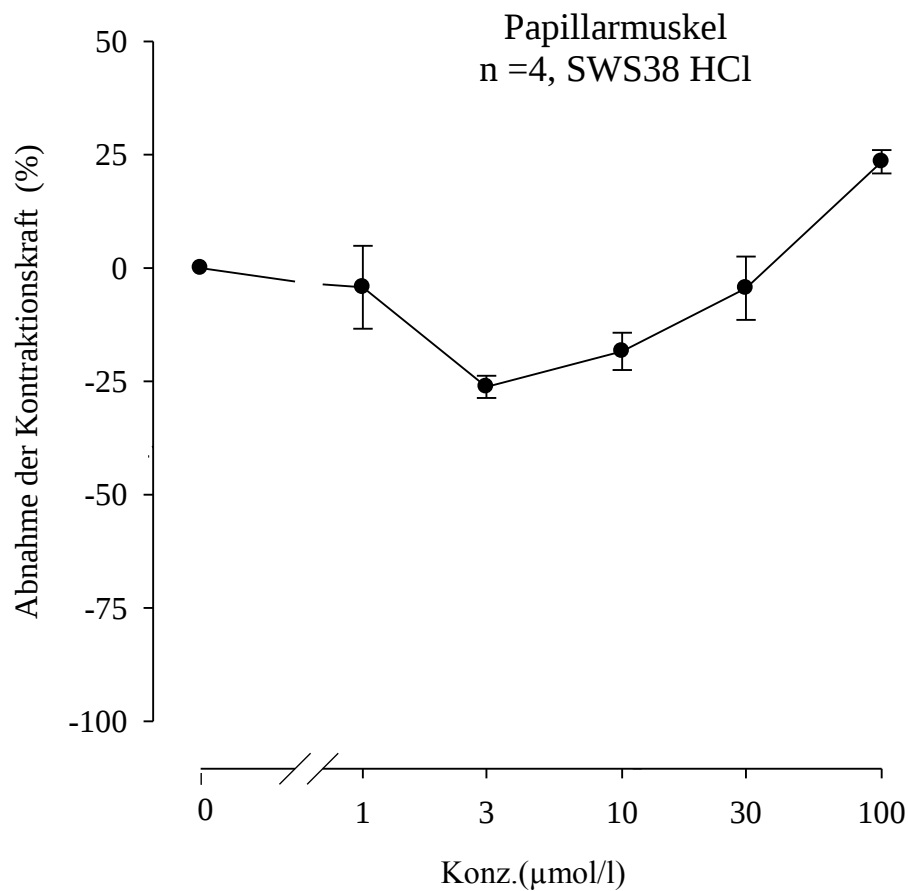
Tabelle 4.2: Wirkung von SWS 38 HCl auf den Musculus papillaris

SWS 38 HCl [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [x/min]	$f_c \pm \text{SEM}$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$1,10 \pm 0,09$	0 ± 0	4	-
1	$0,97 \pm 0,18$	$- 4,26 \pm 9,14$	4	n.s.
3	$0,82 \pm 0,09$	$-26,33 \pm 2,44$	4	0,05
10	$0,9 \pm 0,09$	$-18,4 \pm 4,12$	4	0,05
30	$1,05 \pm 0,12$	$- 4,47 \pm 6,99$	4	n.s.
100	$1,36 \pm 0,12$	$23,43 \pm 2,6$	4	0,05

Legende zu Tabelle 4.2:

Darstellung der arithmetischen Mittelwerte (f_c) samt Standardfehler (SEM) in Zahl und Prozent, sowie Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit (P) aus vier Versuchen.

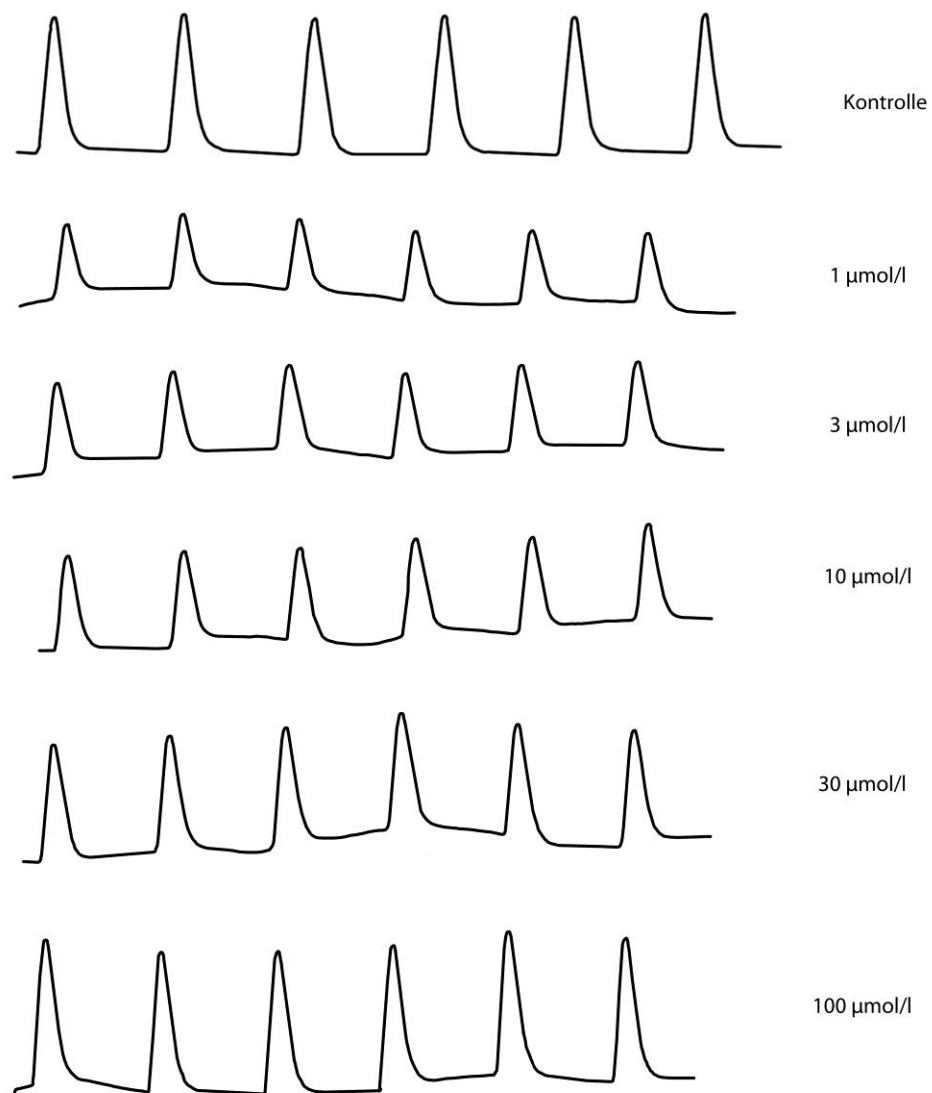
Diagramm 2: **Konzentrations-Wirkungskurve von SWS 38 HCl am Papillarmuskel**



Legende zu Diagramm 2:

In Diagramm 2 werden die Effekte von SWS 38 HCl in einer Konzentrations-Wirkungskurve veranschaulicht. Die x-Achse zeigt die Konzentration in µmol/l und die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent.

Abbildung 4.2:Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 38 HCl auf den Papillarmuskel



Legende zu Abbildung 4.2:

Die Original -Aufnahme zeigt die Abnahme der Amplitude bei einer Zugabe von 1 µmol/l der Testsubstanz. Bei den restlichen Konzentrationen ist eine Zunahme der Amplitude ersichtlich.

4.1.3 Wirkung von SWS 38 HCl auf die Aorta

Es wurden vier Versuche durchgenommen, um eine dilatierende Wirkung von SWS 38 HCl auf die glatte Muskulatur der Aorta zu untersuchen. Der Kontrollwert lag bei $5,81 \pm 0,66$ mN und entsprach 0%. Bei den Konzentrationen von 1, 3 und 10 $\mu\text{mol/l}$ war die Veränderung der Kontraktionskraft noch nicht signifikant. Ab einer Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ kam es zu einer etwas stärker dilatierenden Wirkung, die bei 100 $\mu\text{mol/l}$ bereits deutlich ersichtlich war, wobei es zu keiner vollständigen Dilatation kam. Der EC_{50} -Wert beträgt 52,5 $\mu\text{mol/l}$.

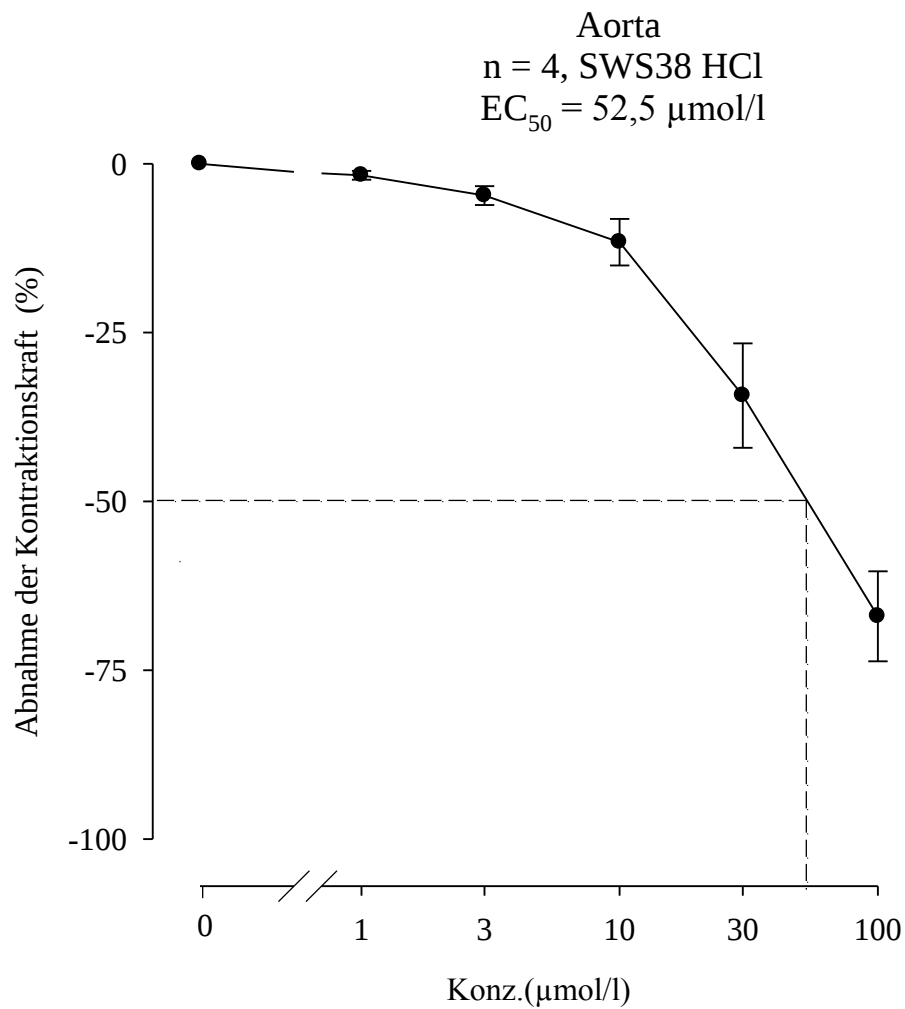
Tabelle 4.3: Wirkung von SWS 38 HCl auf die Aorta descendens

SWS 38 HCl [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [x/min]	$f_c \pm \text{SEM}$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$5,81 \pm 0,66$	0 ± 0	4	-
1	$5,62 \pm 0,56$	$-1,7 \pm 0,65$	4	n.s.
3	$5,55 \pm 0,66$	$-4,71 \pm 1,4$	4	n.s.
10	$5,11 \pm 0,5$	$-11,61 \pm 3,45$	4	0,05
30	$3,73 \pm 0,45$	$-34,33 \pm 7,74$	4	0,01
100	$1,84 \pm 0,36$	$-67,01 \pm 6,66$	4	0,01

Legende zu Tabelle 4.3:

Die Tabelle fasst die errechneten arithmetischen Mittelwerte (f_c) und Standardfehler (SEM) zusammen, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit (P). Die Anzahl der Versuche ist mit (n) angegeben.

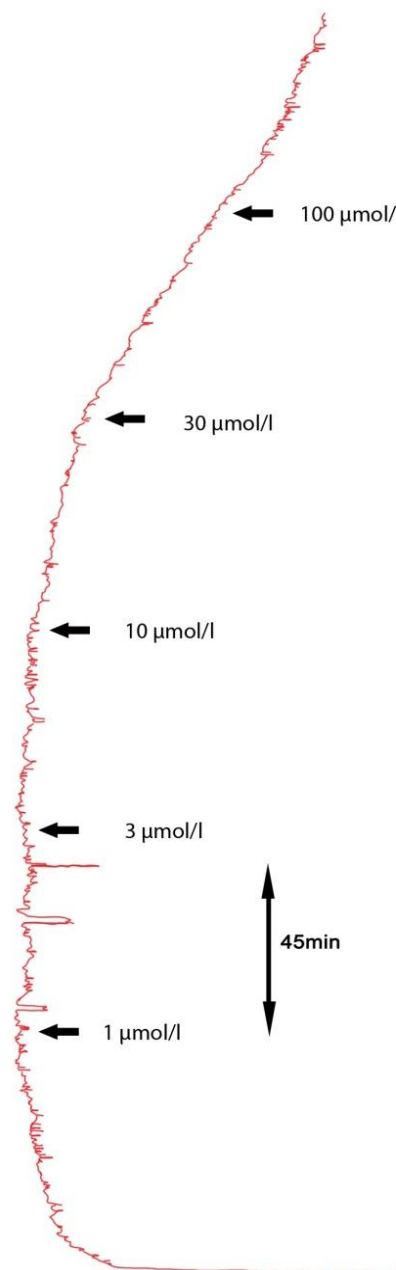
Diagramm 3: Konzentrations-Wirkungskurve von SWS 38 HCl an der Aorta



Legende zu Diagramm 3:

Die effektive Wirkung von SWS 38 HCl ist in dieser Graphik ersichtlich. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen der Substanz in µmol/l aufgetragen, auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktion in Prozent. Der EC₅₀-Wert wird durch die strichlierte Linie zeichnerisch ermittelt und beträgt 52,5 µmol/l.

Abbildung 4.3: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 38 HCl auf die Aorta



Legende zu Abbildung 4.3:

Die Graphik stellt die dilatierende Wirkung von SWS 38 HCl auf die Aorta dar. Die Pfeile kennzeichnen die Intervalle der Substanzzugabe, die im Abstand von 45 Minuten erfolgten.

4.1.4 Wirkung von SWS 38 HCl auf die Lungenarterie

Um die Beeinflussung der Substanz SWS 38 HCl auf die Arteria pulmonalis zu untersuchen, wurden fünf Versuche durchgeführt. Der Kontrollwert wurde mit $12,84 \pm 1,64$ mN gemessen. Die Abnahme der Kontraktion an der Lungenarterie verlief ähnlich wie an der Aorta. Ab einer Konzentration von $10 \mu\text{mol/l}$ kam es zu einer signifikanten Dilatation. Somit ist ein EC_{50} -Wert von $19 \mu\text{mol/l}$ vorhanden.

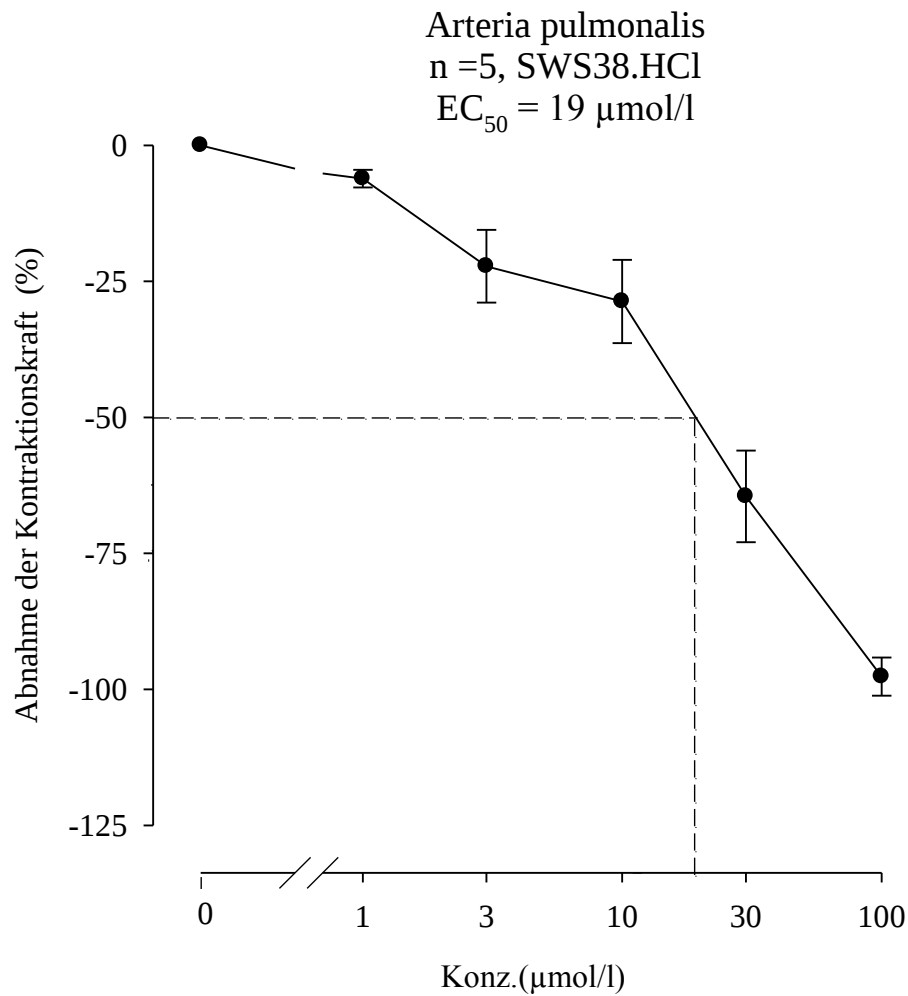
Tabelle 4.4: Wirkung von SWS 38 HCl auf die Arteria pulmonalis

SWS 38 HCl [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [x/min]	$f_c \pm \text{SEM}$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$12,84 \pm 1,64$	0 ± 0	5	-
1	$12,14 \pm 1,68$	$-6,12 \pm 1,61$	5	n.s.
3	$10,41 \pm 2,00$	$-22,23 \pm 6,68$	5	0,05
10	$9,56 \pm 1,86$	$-28,7 \pm 7,67$	5	0,05
30	$5,04 \pm 1,50$	$-64,53 \pm 8,41$	5	0,01
100	$0,78 \pm 0,58$	$-97,66 \pm 3,52$	5	0,001

Legende zu Tabelle 4.4:

Die Tabelle stellt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und die Standardfehler (SEM) in mN sowie in Prozent dar. Weiters ist ihr die Versuchsanzahl (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) zu entnehmen.

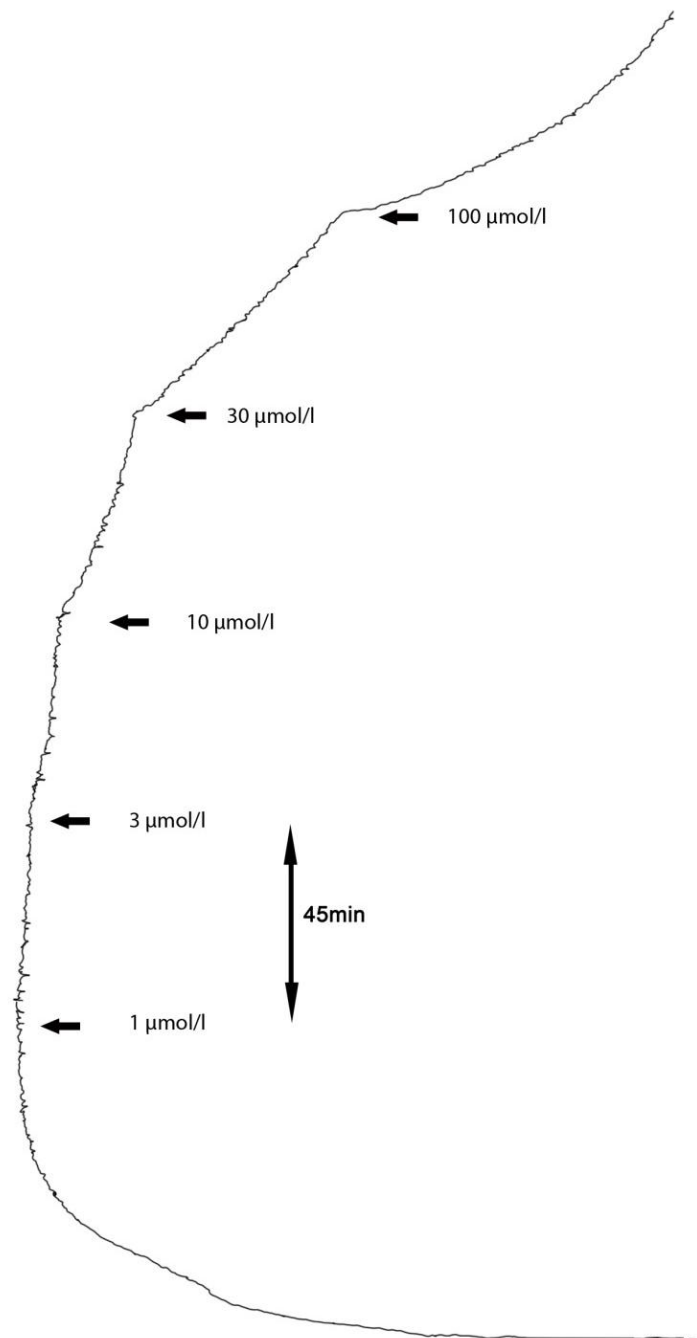
Diagramm 4: Konzentrations-Wirkungskurve von SWS 38 HCl an der Lungenarterie



Legende zu Diagramm 4:

Die Graphik zeigt den Effekt von SWS 38 HCl auf die Arteria pulmonalis in einer Kurve dargestellt. Dabei wurden die jeweiligen Konzentrationen der Testsubstanz auf die x-Achse und die Abnahme der Kontraktionskraft auf die y-Achse aufgetragen. Die Punkte markieren jeweils die Mittelwerte und die Balken stellen deren Standardfehler dar. Der EC_{50} -Wert wird durch die gestrichelten Linien symbolisiert.

Abbildung 4.4: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 38 HCl auf die Lungenarterie



Legende zu Abbildung 4.4:

Die Aufnahme des Schreibers präsentiert die vasodilatierende Wirkung der Testsubstanz auf die Arteria pulmonalis, die erst bei einer Konzentrations-Zugabe von 30 beziehungsweise 100 µmol/l SWS 38 HCl ausgeprägt war.

4.1.5 Wirkung von SWS 38 HCl auf den Darm

Die Wirkung auf das terminale Ileum wurde in einer Versuchsreihe von insgesamt zwölf Versuchen durchgenommen. Der Kontrollwert ergab sich aus all diesen Versuchen mit einem Wert von $9,94 \pm 0,86$ mN.

Es kam bereits nach Erfassen der ersten Konzentration von $1 \mu\text{mol/l}$ im Organbad zu einer Wirkung, die sich nach Erreichen der $3 \mu\text{mol/l}$ –Konzentration signifikant verstärkte und mit jeder weiteren Substanz-Konzentrations-Steigerung noch mal deutlich steigerte. So konnte ein EC_{50} -Wert von $4,8 \mu\text{mol/l}$ resultiert werden.

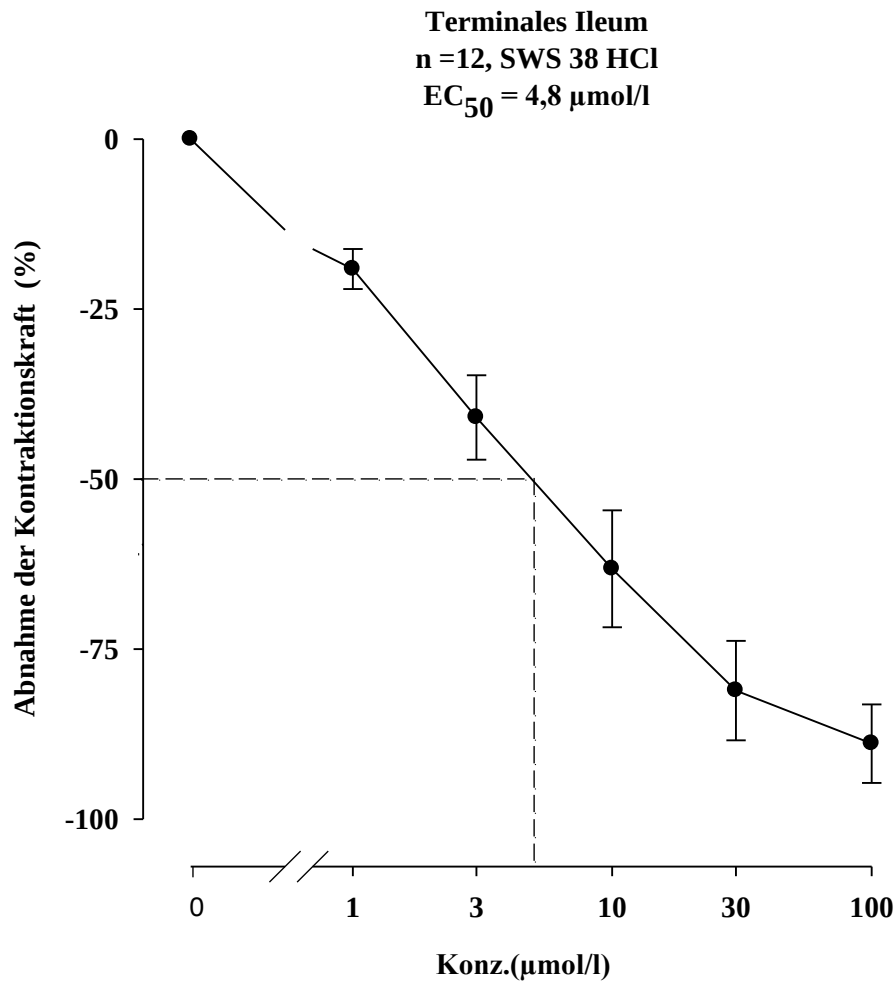
Tabelle 4.5: Wirkung von SWS 38 HCl auf das terminale Ileum

SWS 38 HCl [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [x/min]	$f_c \pm \text{SEM}$ [%]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$9,94 \pm 0,86$	0 ± 0	12	-
1	$8,13 \pm 0,83$	$-19,12 \pm 2,95$	12	0,05
3	$6,07 \pm 0,92$	$-40,04 \pm 6,21$	12	0,01
10	$3,88 \pm 1,04$	$-63,20 \pm 8,60$	12	0,01
30	$6,69 \pm 4,43$	$-81,11 \pm 7,31$	12	0,001
100	$1,34 \pm 0,71$	$-88,90 \pm 5,77$	12	0,001

Legende zu Tabelle 4.5:

Die Tabelle enthält die aus 12 Versuchen (n) erhaltenen Mittelwerte (f_c), die Standardfehler (SEM) sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit (P).

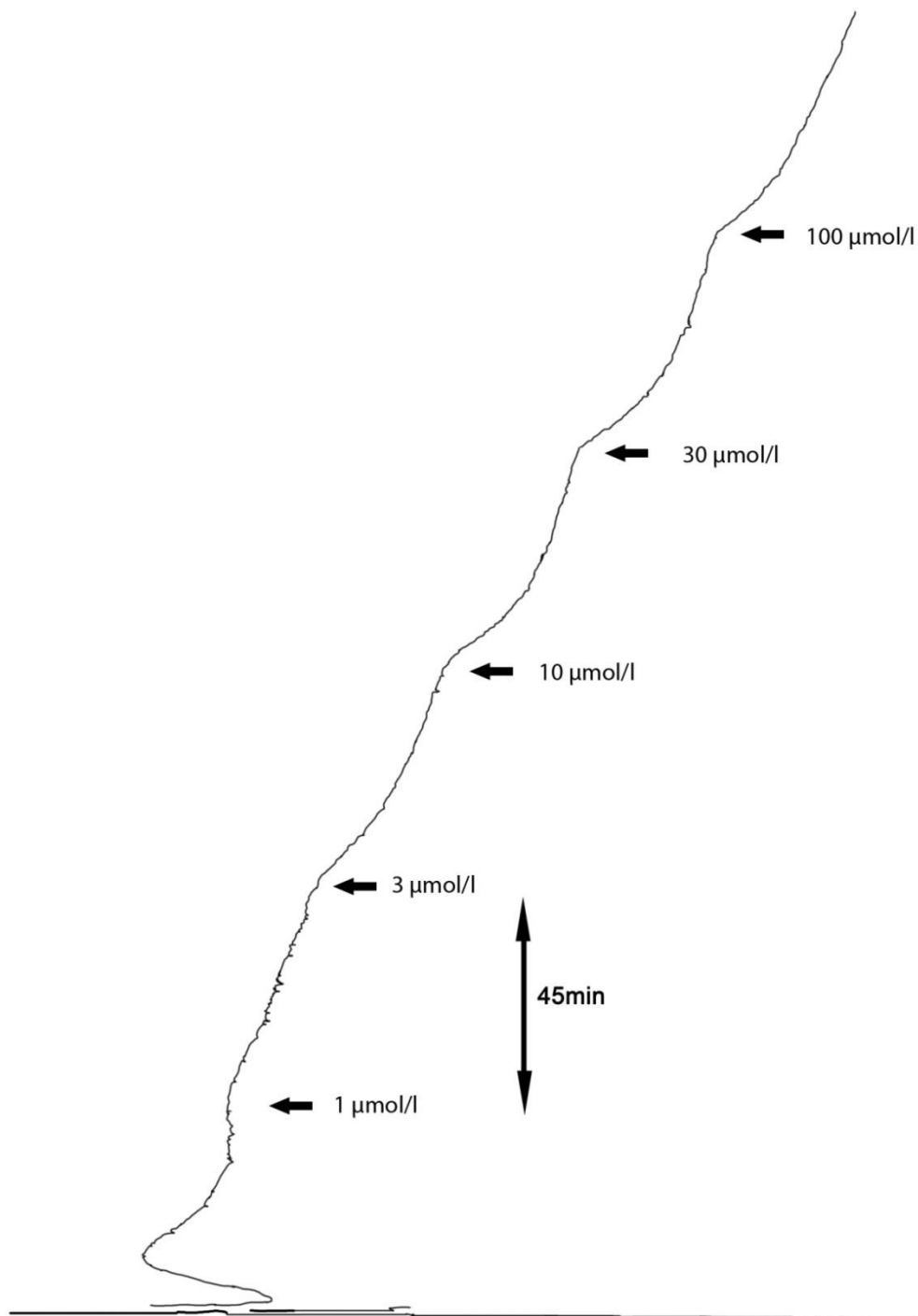
Diagramm 5: Konzentrations-Wirkungskurve von SWS 38 HCl am Darm



Legende zu Diagramm 5:

Das Diagramm erläutert die signifikante Wirkung der Testsubstanz auf den Darm, wobei die steile Abnahme der Kurve den intensiven Effekt von SWS 38 HCl ausdrückt. Das heißt mit zunehmender Substanzzugabe wird die spasmolytische Wirkung verstärkt. Die x-Achse kennzeichnet die Konzentrationen in µmol/l und die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent.

Abbildung 4.5: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 38 HCl auf den Darm



Legende zu Abbildung 4.5:

Durch die Originalaufnahme des Schreibers ist die Vasodilatation gut ersichtlich. Die Pfeile markieren dabei den Zeitpunkt der Substanzzugabe, die alle 45 Minuten stattgefunden hat.

4.2 ANALYSE DES WIRKMECHANISMUS VON SWS 38 HCL AUF DEN DARM

Die signifikante Wirkung der Testsubstanz auf das terminale Ileum wurde unter dem Einfluss von Glibenclamid, einem K_{ATP} – Kanalblocker, näher untersucht. Es wurden je drei Versuchsreihen mit jeweils zwei verschiedenen Glibenclamid- Konzentrationen, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$, durchgeführt. Damit sollte herausgefunden werden, ob die Wirkung von SWS 38 HCl durch eine Öffnung der Kaliumkanäle resultiert.

Nach dem Zugabe von Glibenclamid, wurde 45 Minuten gewartet, danach wurden 10 $\mu\text{mol/l}$ SWS 38 HCl hinzugefügt.

4.2.1 Ergebnisse der Versuche mit 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid

Zunächst wurde mit 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid begonnen und es wurden insgesamt 3 Versuche durchgenommen.

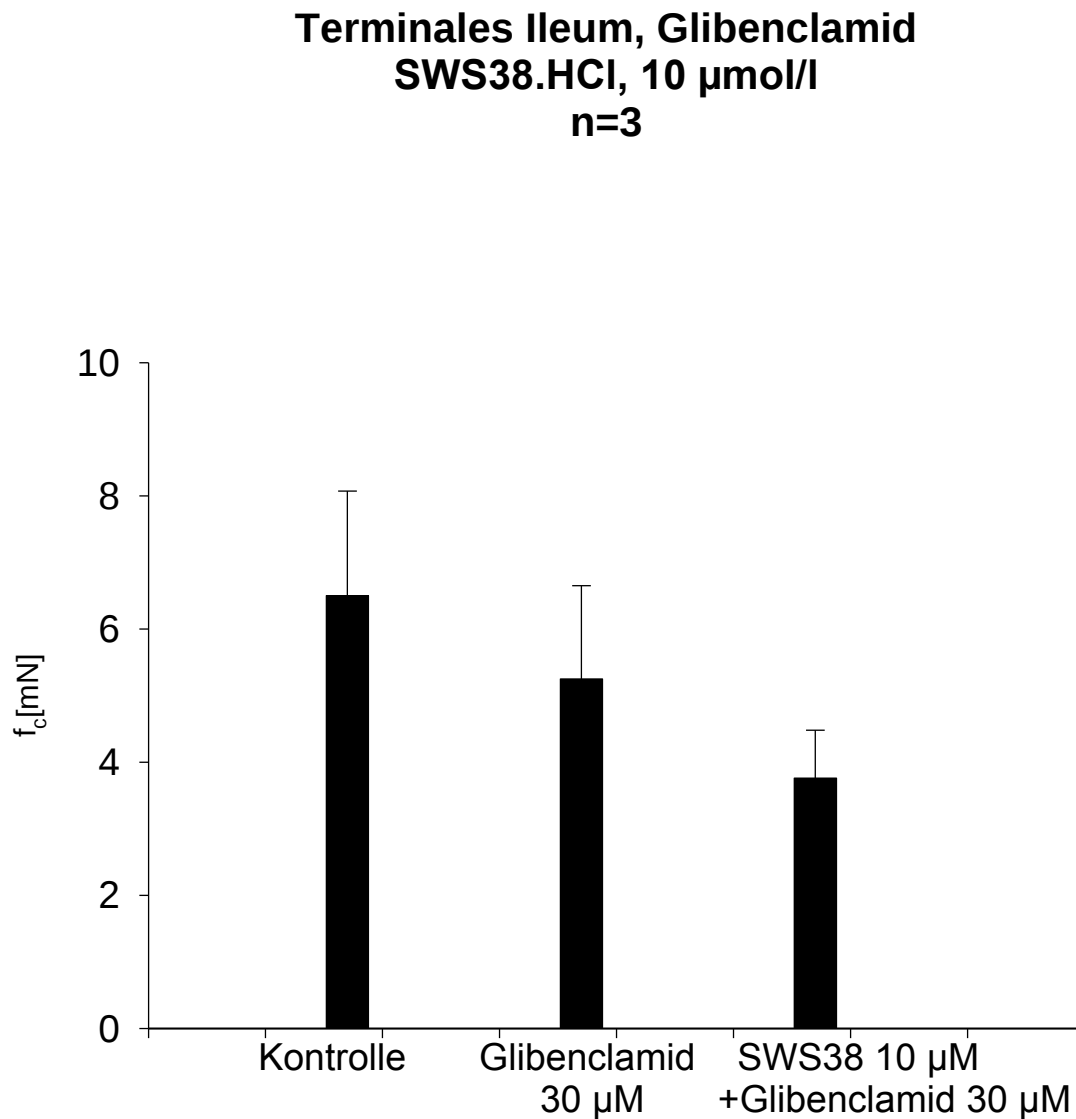
Tabelle 4.6: Wirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid auf das terminale Ileum

Konz. [$\mu\text{mol/l}$]	$f_c \pm \text{SEM}$ [mN]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	$6,5 \pm 1,57$	3	-
30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid	$5,26 \pm 1,40$	3	-
+ 10 $\mu\text{mol/l}$ SWS 4 HCl	$3,76 \pm 0,72$	3	n.s.

Legende zu Tabelle 4.6:

In der Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte (f_c) inklusive Standardfehler (SEM) und Irrtumswahrscheinlichkeit (P) aus 3 Versuchen dargestellt.

Diagramm 6: Graphische Darstellung der Wirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid unter Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ SWS 38 HCl in einem Balkendiagramm.

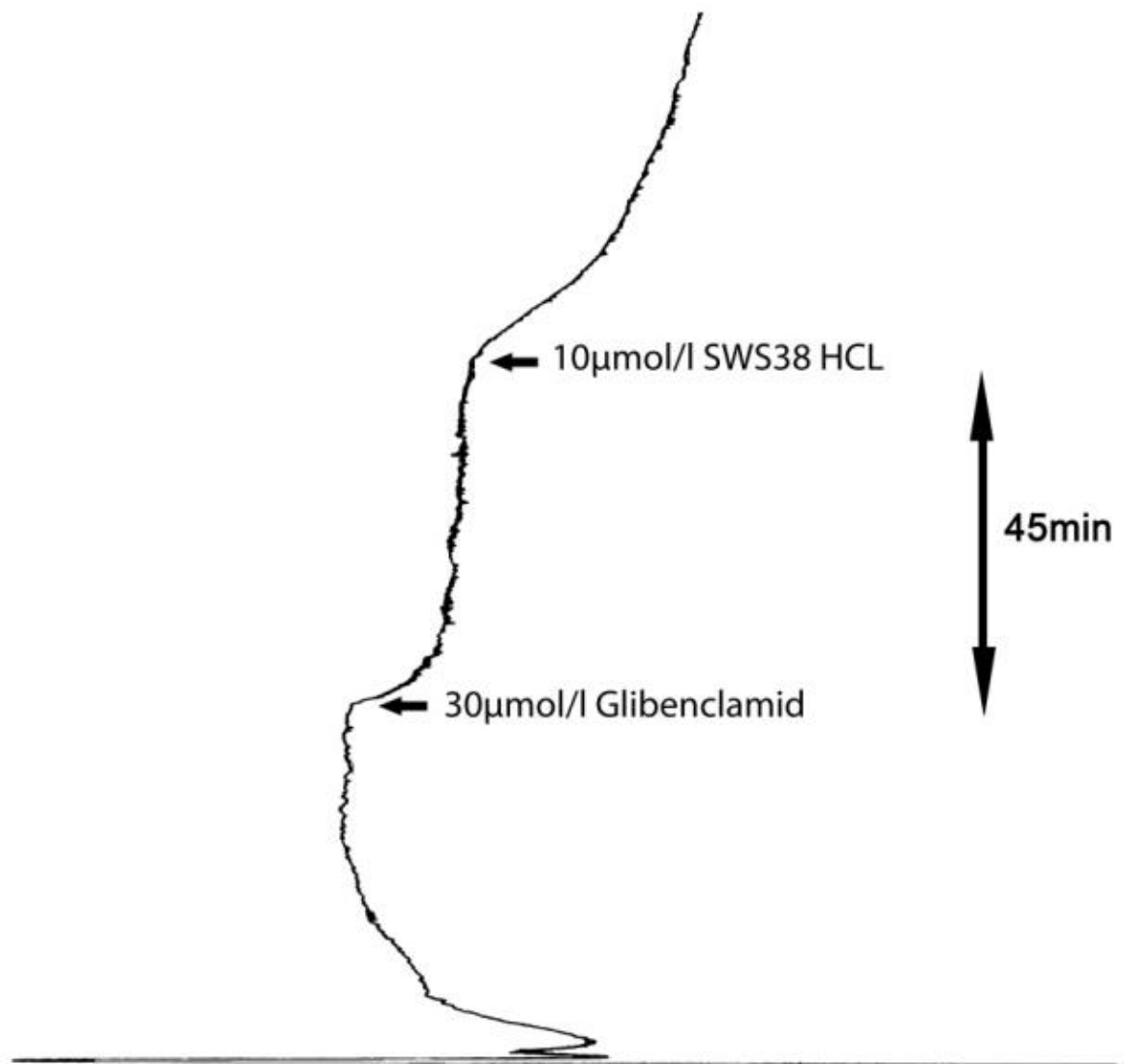


Legende zu Diagramm 6:

In diesem Balkendiagramm werden die Auswirkungen der Kontraktionskraft nach Zugabe von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid und anschließender Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz dargestellt.

Auf der Abszisse sind die Mittelwerte in Form von Ballen abgebildet und auf der Ordinate ist die Kontraktionskraft in mN aufgetragen.

Abbildung 4.6: Originalaufzeichnung der Wirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid unter Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ SWS 38 HCl.



Legende zu Abbildung 4.6:

Die Originalaufzeichnung veranschaulicht die Abnahme der Kontraktionskraft während der Glibenclamid- Phase, die durch Zugabe der Testsubstanz noch zusätzlich verstärkt wurde. Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der jeweiligen Wirkstoffzugabe.

4.2.2 Ergebnisse der Versuche mit 100 µmol/l Glibenclamid

Bei den folgenden drei Versuchsreihen wurden die Auswirkungen der Testsubstanz mit 100 µmol/l Glibenclamid untersucht.

Nachdem 100 µmol/l Glibenclamid ins Organbad gespritzt wurden, musste 45 Minuten gewartet werden, anschließend wurden 10 µmol/l SWS 38 HCl hinzugefügt.

Tabelle 4.7: Wirkung von 100 µmol/l Glibenclamid auf das terminale Ileum

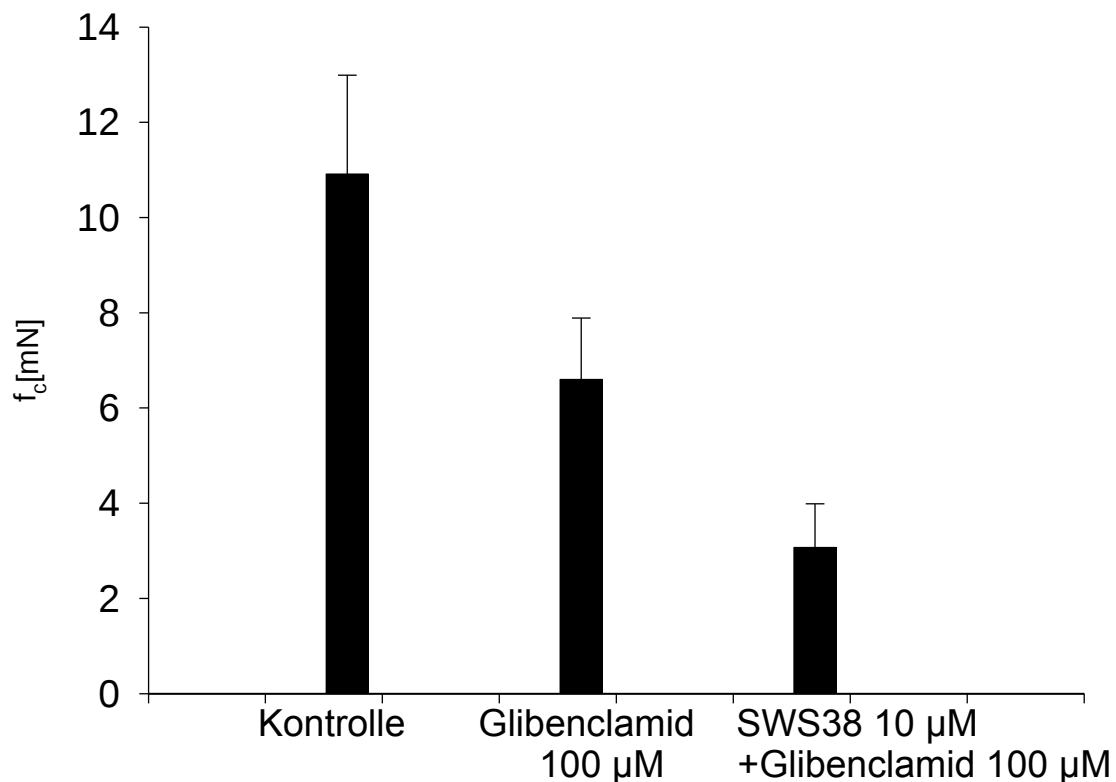
Konz. [µmol/l]	$f_c \pm \text{SEM}$ [mN]	Anzahl der Versuche [n]	Irrtums- wahrscheinlichkeit [P]
Kontrolle	10,91 ± 2,08	3	-
100 µmol/l Glibenclamid	6,6 ± 1,29	3	-
+ 10 µmol/l SWS 4 HCl	3,07 ± 0,92	3	0,05

Legende zu Tabelle 4.7:

In der Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte (f_c) inklusive Standardfehler (SEM) und Irrtumswahrscheinlichkeit (P) aus 3 Versuchen dargestellt.

Diagramm 7: Graphische Darstellung der Wirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid unter Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ SWS 38 HCl in einem Balkendiagramm.

Terminales Ileum, Glibenclamid
SWS38.HCl, 10 $\mu\text{mol/l}$
n=3

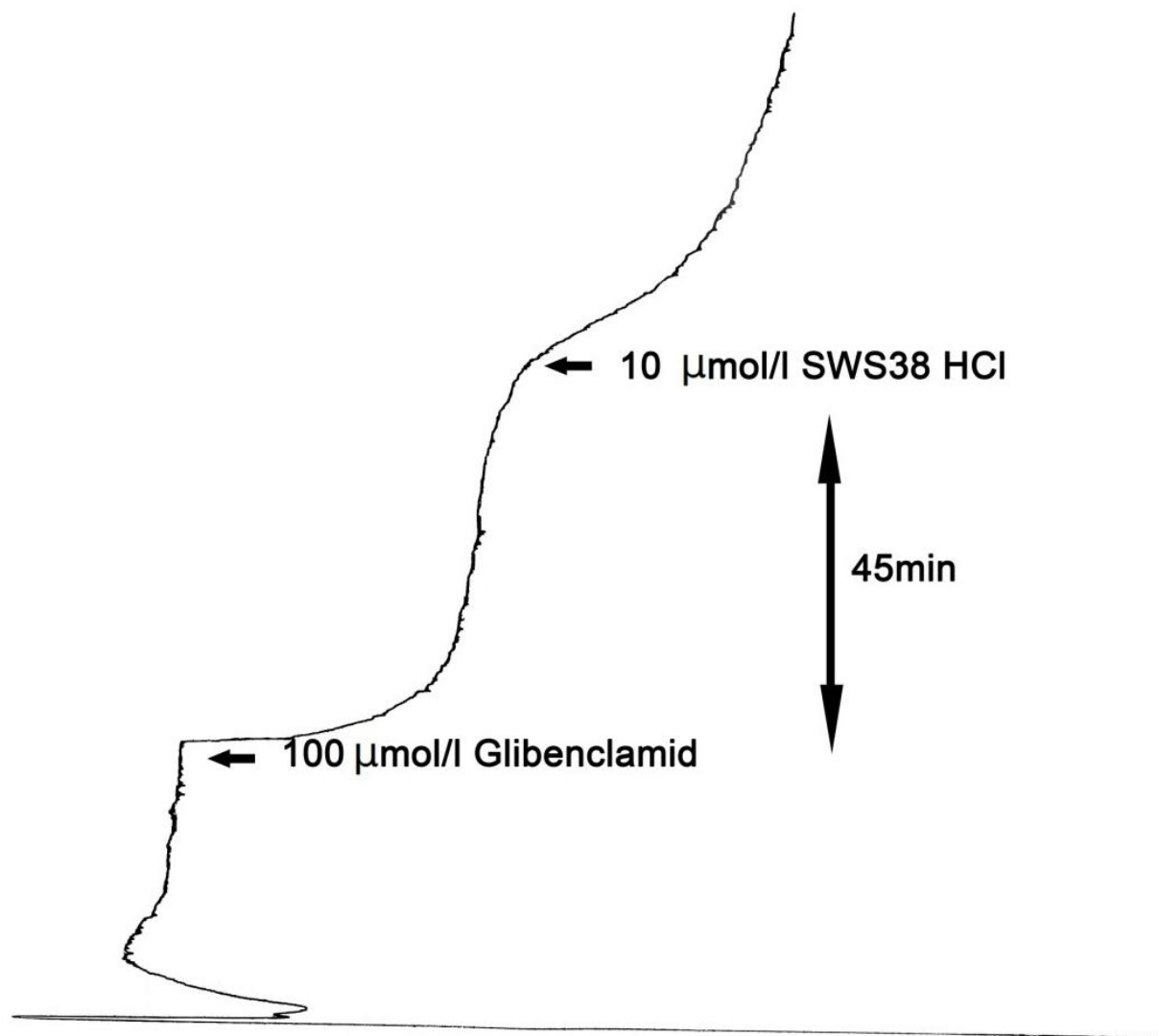


Legende zu Diagramm 7:

In diesem Balkendiagramm werden die Auswirkungen der Kontraktionskraft nach Zugabe von 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid und anschließender Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz dargestellt.

Auf der Abszisse sind die Mittelwerte in Form von Balken abgebildet und auf der Ordinate ist die Kontraktionskraft in mN aufgetragen.

Abbildung 4.7: Originalaufzeichnung der Wirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid unter der Zugabe von 10 $\mu\text{mol/l}$ SWS 38 HCl.



Legende zu Abbildung 4.7:

Die Originalaufzeichnung veranschaulicht die Abnahme der Kontraktionskraft während der Glibenclamid- Phase. Durch Zufuhr der Testsubstanz wird diese Vasodilatation noch zusätzlich verstärkt.

5 DISKUSSION

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde, durch Untersuchung an fünf verschiedenen, isolierten Meerschweinchenorganen, eine mögliche Wirkung der neu synthetisierten Substanz SWS 38 HCl geprüft.

In diesem Kapitel geht es darum, die Ergebnisse der Versuchsreihen, die bereits in Punkt 4 präsentiert und analysiert wurden, näher zu bewerten. Dabei werden die Effekte von SWS 38 HCl auf glattnuskuläre Organe mit denen auf Herzmuskelpräparate gegenüber gestellt.

5.1 Versuchsreihen an glattnuskulären Organen

Zu den glattnuskulären Organen der verwendeten Präparate zählen die Aorta, die Lungenarterie und der Darm.

Tabelle 5.1: Wirkung von SWS 38 HCl auf die glatte Muskulatur

Organpräparat	SWS 38 HCl $f_c \pm \text{SEM} [\%]$ bei Endkonzentration	EC_{50} SWS38 HCl [$\mu\text{mol/l}$]
Aorta descendens	$-67,01 \pm 6,66$	52,5
Arteria pulmonalis	$-97,66 \pm 3,52$	19,0
Terminales Ileum	$-88,90 \pm 5,77$	4,8

Mithilfe der Tabelle 5.1 lässt sich, anhand der EC_{50} -Werte, gut erkennen, dass die Wirkung der Testsubstanz SWS 38 HCl auf den Darm stark ausgeprägt war. Die Auswirkung auf die Lungenarterie war etwas weniger massiv und im Unterschied dazu war der Effekt auf die Aorta viel geringer.

Bei der Aorta kam es nach Zugabe der $100 \mu\text{mol/l}$ Testsubstanz zu keiner vollständigen Dilatation. Es kam lediglich zu einem Abfall von $67,01 \pm 6,66 \%$ vom Ausgangswert (0%).

Bei der Lungenarterie kam es fast zu einer vollständigen Dilatation bei 100 µmol/l. Nämlich zu einer Abnahme von $97,66 \pm 3,52$ %. Die Wirkung war aber erst nach Zugabe von 30 µmol/l ausgeprägt mit $64,53 \pm 8,41$ %. Bei Zugabe von 10 µmol/l betrug sie nur $28,7 \pm 7,67$ % bezogen auf den Ausgangswert.

Die stärkste Wirkung jedoch zeigte sich beim Darm mit einem kleinen EC_{50} -Wert von 4,8 µmol/l und einem Endwert von $88,90 \pm 5,77$ % des Ausgangswertes bei 100 µmol/l. Hier kam es bereits bei Zugabe von 10 µmol/l SWS 38 HCl zu einer Abnahme von $63,20 \pm 8,60$ %, die bei 30 µmol/l auf $81,11 \pm 7,31$ % gefallen ist. Somit ist die Wirkung auf den Darm signifikanter als jene auf die Lungenarterie.

5.2 Versuchsreihen an der quergestreiften Herzmuskulatur

Dazu wurden Untersuchungen am rechten Vorhof und am Papillarmuskel des Meerschweinchenherzens durchgenommen.

Das Atrium cordis dexter verfügt über ein spontanes Erregungsbildungssystem am Sinusknoten und wurde auf positive beziehungsweise negative Chronotropie getestet. Der Musculus papillaris musste elektrisch gereizt werden und wurde auf positive oder negative Inotropie überprüft.

Organpräparat	SWS 38 HCl f ± SEM [%] bei Endkonzentration	EC_{50} SWS38 HCl [µmol/l]
Atrium cordis dexter	$-4,68 \pm 2,92$	-
Musculus papillaris	$23,43 \pm 2,6$	-

Weder die Untersuchungen am Vorhof, noch jene am Papillarmuskel zeigten eine signifikante Wirkung der Testsubstanz auf die Chronotropie oder Inotropie. Ein EC_{50} -Wert wurde somit in beiden Fällen nicht erreicht.

Die Substanz SWS 38 HCl erbrachte nahezu keine Wirkung auf den Vorhof. Die maximale Veränderung durch die Testsubstanz, die während des gesamten Versuchsablaufs ersichtlich

wurde, erfolgte durch die Zufuhr der Endkonzentration (100 $\mu\text{mol/l}$) und erzielte eine leicht negativ chronotrope Wirkung von $-4,68 \pm 2,92\%$.

Auch beim Papillarmuskel konnte kein EC_{50} -Wert festgelegt werden, das es anfangs- bei Zufuhr der ersten Substanzzugabe- zu einer Abnahme der Kontraktionskraft kam, jedoch änderte sich mit anschließender kumulativer Substanzzugabe die Situation in Richtung Zunahme der Kontraktionskraft. Somit stieg am Ende des Versuchs die Kontraktilität auf $23,43 \pm 2,6\%$ des Ausgangswertes (0%).

5.3 Versuchsreihen mit SWS 38 HCl in Kombination mit Glibenclamid

Wie bereits in vorigen Kapiteln erwähnt, wurde die Wirkung von SWS 38 HCl in Kombination mit dem Kaliumkanal- Blocker Glibenclamid am terminalen Ileum getestet.

In der Einleitung wurde schon erläutert, dass die gefäßdilatierende Wirkung von Schwefelwasserstoff auf der Öffnung von ATP-abhängigen Kaliumkanälen beruht. Dies sollte durch die Versuchsreihen mit Glibenclamid untersucht werden. Es wurde überprüft, ob die Testsubstanz SWS 38 HCl blockierte K-Kanäle öffnet und somit eine spasmolytische Wirkung am Darm induziert. Hierfür wurde mit zwei verschiedenen Konzentrationen an Glibenclamid gearbeitet, zum einen mit 30 $\mu\text{mol/l}$ und zum anderen mit 100 $\mu\text{mol/l}$. Es wurden jeweils drei Versuche durchgenommen.

5.3.1 Versuche mit SWS 38 HCl in Kombination mit 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid

Zunächst wurde eine maximale Vorkontraktion des terminalen Ileums durch Kaliumchlorid-Lösung induziert. Danach kamen die 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid hinzu, die Auswirkung auf das Darmsegment wurde 45 Minuten lang aufgezeichnet, darauf folgten 10 $\mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz wodurch die dilatierende Wirkung auf den Darm ersichtlich wurde.

Durch Zugabe der 30 $\mu\text{mol/l}$ an Glibenclamid kam es zu einer leichten Abnahme der Kontraktion ($19,96 \pm 01,82\%$). Nach anschließender Zufuhr von 10 $\mu\text{mol/l}$ SWS 38 HCl kam es zu einer verstärkten Abnahme der Kontraktionskraft ($40,93 \pm 3,58\%$).

5.3.2 Versuche mit SWS 38 HCl in Kombination mit 100 µmol/l Glibenclamid

Das Versuchsprinzip entspricht dem in Kapitel 5.3.1, statt 30 µmol/l Glibenclamid wurden diesmal 100 µmol/l zugefügt, wodurch es zu einer starken Abnahme der Kontraktionskraft kam ($39,68 \pm 0,76 \%$), die durch Zugabe der 10 µmol/l SWS 38 HCl nochmal verstärkt wurde ($71,64 \pm 5,86 \%$).

Aus den Versuchen zum Wirkmechanismus kann geschlossen werden, dass die spasmolytische Wirkung von SWS 38 HCl zumindest teilweise durch Öffnung der ATP-abhängigen Kaliumkanäle zustande kommen könnte.

6 ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Diplomarbeit wurde die biologische Aktivität der Schwefelwasserstoff freisetzenden Testsubstanz SWS 38 HCl auf isolierte Meerschweinchen- Organe überprüft.

Die Untersuchungen wurden einerseits an Organen der glatten Muskulatur, dazu zählen die Aorta, die Lungenarterie und der Dünndarm, und andererseits an Organen der quergestreiften Muskulatur, in diesem Fall Papillarmuskel und rechter Vorhof, durchgeführt. Die vasodilatierenden, spasmolytischen, inotropen und chronotropen Effekte konnten durch isometrische Kontraktionsmessungen evaluiert werden.

Die Organe wurden jeden Tag aufs Neue von einem Meerschweinchen entnommen, präpariert und in Organbädern, die mit physiologischer Elektrolytlösung gefüllt waren, vermessen.

Die Substanz wurde in DMSO (Dimethylsulfoxid) gelöst und in Konzentrationen von 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ getestet, die Auswirkungen wurden über einen Kraftwandler und Verstärker auf einen Schreiber transferiert, auf einem Millimeterpapier aufgezeichnet, anschließend analysiert und bewertet.

SWS 38 HCl erbrachte vasodilatierende Effekte auf alle drei Organe der glatten Muskulatur. Am signifikantesten erwies sich die Wirkung am terminalen Ileum mit einem EC_{50} - Wert von 4,8 $\mu\text{mol/l}$. Bei diesem Organ wurde auch der Wirkmechanismus in Kombination mit dem Kaliumkanalblocker Glibenclamid getestet. Die Versuche mit der Aorta erzielten ein EC_{50} - Wert von 52,5 $\mu\text{mol/l}$ und jene mit der Lungenarterie ein EC_{50} von 19 $\mu\text{mol/l}$.

Bei den Untersuchungen auf die quergestreifte Muskulatur konnte kein EC_{50} - Wert erreicht werden, die Wirkung war, wie die Tests am Vorhof zeigten, entweder zu gering bis gar nicht vorhanden , oder es war, wie es sich am Papillarmuskel äußerte, keine signifikante Wirkung herausgetreten.

Somit geht aus dieser Arbeit hervor, das SWS 38 HCl eine spasmolytische Wirkung auf den Darm ausübt. In höheren Konzentrationen zeigt sich dieser Effekt auch auf die Lungenarterie und die Aorta. Die Inotropie und die Chronotropie werden kaum beeinflusst.

Die spasmolytische Wirkung könnte teilweise durch eine Öffnung der ATP-abhängigen Kaliumkanäle bedingt sein.

7 LITERATURVERZEICHNIS

Benavides, G.A., Squadrito, G.L., Mills, R.W., Patel, H.D., Isbell, T.S., Patel, R.P., Darley-Usmar, V.M., Doeller, J.E., Kraus, D.W. (2007): Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *ProcNatlAcadSci USA* 104(46):17977-17982

Collins R., MacMahon S. (1994): Blood pressure, antihypertensive drug treatment and the risks of stroke and of coronary heart disease. *Br Med Bull* 50 (2): 272-298.

Elrod, J.W., Calvert, J.W., Morrison, J., Doeller, J.E., Kraus, D.W., Tao, L., Jiao, X., Scalia, R., Kiss, L., Szabo, C., Kimura, H., Chow, C.W., Lefer, D.J. (2007): Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function. *ProcNatlAcadSci USA* 104(39):15560-15565

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

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

Gueyffier F., Boutitie F., Boissel JP, Pocock S., Coope J., Cutler J., Ekblom T., Fagard R., Friedman L., Perry M., Prineas R., Schron E.(1997): Effect of antihypertensive drug treatment on cardiovascular outcomes in women and men. A meta-analysis of individual patient data from randomized, controlled trials. The INDANA Investigators. *Annals of Internal Medicine* 126(10):761-767

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

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

Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H.K., 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

Pryor, W.A., Houk, K.N., Foote, C.S., Fukuto, J.M., Ignarro, L.J., Squadrito, G.L., Davies, K.J. (2006): Free radical biology and medicine: it's a gas, man! Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 291(3):491-511

Qu K, S.W. Lee, J.S. Bian, C.-M.Low, P.T.-H. Wong (2007) Hydrogen sulfide: Neurochem Neurobiol, Science Direct:1-11, Elsevier

Stipanuk MH, Beck PW (1992) Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydratation in liver and kidney of the rat. Biochem J 206:267-277.

Zanardo, R.C., Brancaleone, V., Distrutti, E., Fiorucci, S., Cirino, G., Wallace, J.L. (2006): Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. FASEB J 20(12):2118-2120

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

8 CURRICULUM VITAE

Izhak Juliette

Rueppgasse 12 – 14/25

1020 Wien

Tel: 0676 9095201

juliette.izhak@gmail.com

Persönliche Daten:**Name:** Juliette **IZHAK**, geborene Asherov**Geburtsdatum:** 12.02.1984**Geburtsort:** Wien**Familienstand:** verheiratet, 1 Kind**Staatsangehörigkeit:** Österreich

Ausbildungsdaten:**1990 – 1993:** Volksschule, Vereinsgasse 29, 1020 Wien**1993 – 1994:** Private Volksschule mit Öffentlichkeitsrecht,
Castellezgasse 35, 1020 Wien**1994 – 2002:** Privates Realgymnasium mit Öffentlichkeitsrecht,
Castellezgasse 35, 1020 Wien**Oktober 2002- Februar 2013:** Studium der Pharmazie an der Universität Wien

Berufspraxis:**Juli 2001:** Ferialpraktikum, Fa. Tuschl, Siegelgasse 1, 1030
Wien**Aug.-Sept. 2002:** Ferialpraktikum, Jüdisches Museum Wien,
Dorotheergasse 11, 1010 Wien**2002 – 2009:** geringfügig beschäftigt in der „Rotunden
Apotheke“, Ausstellungsstraße 53, 1020 Wien**Seit Dezember 2009:** geringfügig beschäftigt in der „Schlangen
Apotheke“, Hollandstraße 15, 1020 Wien
