



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Untersuchung der Wirkung von WHG52PSA an verschiedenen isolierten Präparaten von Meerschweinchen

angestrebter akademischer Grad

Magister der Naturwissenschaften (Mag.pharm.)

Verfasser:	GHALI Sherif
Matrikel-Nummer:	0447239
Studienrichtung/Studienzweig (lt. Studienblatt):	Pharmazie
Betreuer:	Christian Studenik

Wien, Februar 2009

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich während meiner Diplomarbeit unterstützt und begleitet haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Christian Studenik für seine Unterstützung sowie die fachliche und freundschaftliche Betreuung während der gesamten Diplomarbeit bedanken. Seine Hilfsbereitschaft und Geduld ermöglichte mir ein angenehmes und motiviertes Arbeiten.

Weiters möchte ich mich bei Herrn Peter Höflich bedanken, der uns jederzeit bei allen labortechnischen Problemen hilfreich zur Seite stand.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Frau Mariam und meiner Familie, die mich zu jeder Zeit motiviert haben mein Studium abzuschließen.

INHALTSVERZEICHNIS:

1.Einleitung

1.1. Reizbildung und Erregungsleitung im Herzen.....	6
1.2. Aktionspotential.....	7
1.3. Ionenkanäle.....	10
1.3.1. Natriumkanäle.....	11
1.3.2. Calciumkanäle.....	12
1.3.3. Kaliumkanäle.....	16

2.Ziel der Arbeit.....19

3.Material und Methodik

3.1. Versuchstiere.....	20
3.2. Präparate	
3.2.1. Isolierung des rechten Vorhofs.....	21
3.2.2. Isolierung des terminalen Ileums.....	21
3.2.3. Isolierung der Aorta.....	22
3.2.4. Isolierung der Arteria pulmonalis.....	22
3.2.5. Isolierung der Papillarmuskeln.....	23
3.3. Physiologische Nährlösungen	
3.3.1. Nährlösungen für den rechten Vorhof, den Papillarmuskel, das Terminale Ileum und die Arteria pulmonalis.....	25
3.3.2. Nährlösung für die Aorta.....	26
3.4.Versuchsordnung	26
3.5.Versuchsablauf	

3.5.1. Untersuchung der Testsubstanz (WHG52PSA).....	33
3.5.1.1. Versuchspräparat rechter Vorhof.....	33
3.5.1.2. Versuchsablauf bei der Aorta.....	34
3.5.1.3. Versuchsablauf beim Papillarmuskel.....	35
3.5.1.4. Versuchsablauf bei der Arteria pulmonalis.....	36
3.5.1.5. Versuchsablauf beim terminalen Ileum	37
3.6. Lösungsmittel	
3.6.1. Einfluss von DMSO auf den Vorhof	38
3.6.2. Einfluss von DMSO auf den Papillarmuskel.....	39
3.6.3. Einfluss von DMSO auf die Pulmonalarterie	40
3.6.4. Einfluss von DMSO auf die Aorta.....	41
3.6.5. Einfluss von DMSO auf das terminale Ileum.....	42
3.7. Messgrößen – Statistik.....	43
3.8. Die Untersuchte Substanz.....	45
4. Ergebnisse	
4.1. Wirkung von WHG 52PSA auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta	46
4.2. Wirkung von WHG52 auf die Kontraktion des isolierten terminalen Ileum	50
4.3. Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis	55
4.4. Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillar-Muskelpräparates.....	61
4.5. Wirkung von WHG52 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs.....	64

5. Diskussion	69
5.1. Strukturvergleich	69
5.2. Vergleich der Wirkung von WHG52 und Diltiazem an Aorta Präparaten.....	71
5.3. Vergleich der Wirkung von WHG52 und Diltiazem an terminalen Ileum-Präparaten	71
5.4. Vergleich der Wirkungen von WHG52 und Diltiazem an Arteria Pulmonalis-Präparaten.....	72
5.5. Vergleich der Wirkungen von WHG52 und Diltiazem an Papillarmuskel-Präparaten.....	72
5.6. Vergleich der Wirkungen von WHG52 und Diltiazem an Vorhof- Präparaten.....	72
 6. Zusammenfassung	 74
7. Literaturverzeichnis.....	75
8. Lebenslauf.....	80

1. Einleitung

1.1. Reizbildung und Erregungsleitung im Herzen

Es gibt zwei Typen von Herzmuskelzellen. Der erste Typ von Zellen bildet und leitet die Impulse weiter. Andererseits beantwortet der zweite Typ solche Impulse mit einer Kontraktion. Wenn ein Reiz irgendwo entsteht, führt es immer zu einer vollständigen Kontraktion.

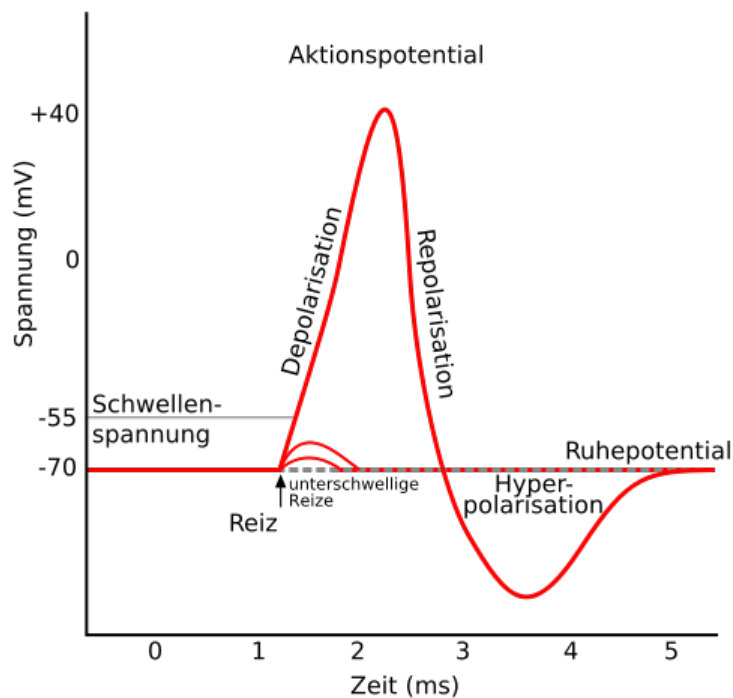
Das Herz hat ein vom Nervensystem unabhängiges Reizbildungs- und Reizleitungssystem, das die Muskulatur des Herzens anregt. Der Sinusknoten im rechten Vorhof übernimmt die Schrittmacherfunktion. Bei einem ruhenden Erwachsenen werden 60 bis 80 rhythmische (gleichmäßige) Erregungen pro Minute produziert. Durch diese Erregung wird die Vorhofmuskulatur zur Kontraktion angeregt. Die Erregung wird über die Muskulatur der Vorhöfe zum AV-Knoten weitergeleitet. Der AV-Knoten verzögert die Reizleitung und überbrückt die Klappenebene des Herzens, die keine Reize weiterleitet. Die Verzögerung ist notwendig, damit sich die Kammermuskulatur erst nach der Vorhofmuskulatur zusammenzieht. Die Erregung wird vom AV-Knoten über das His-Bündel in den rechten und linken Kammerschenkel weitergeleitet, die durch ihre hohe Leitungsgeschwindigkeit eine gleichzeitiges Zusammenziehen aller Kammermuskeln ermöglichen. Über die Purkinje-Fasern wird die Erregung an die einzelnen Herzfasern weitergeleitet (Silbernagel und Despopoulos 1991).

1.2. Aktionspotential

Unter einem Aktionspotential versteht man eine kurzzeitige, in ganz charakteristischer Form ablaufende Veränderung des Membranpotentials einer Zelle (Muskelzellen) von ihrem Ruhemembranpotential.

Die Ursachen für die Ausbildung und die besonderen Eigenschaften eines Aktionspotentials sind auf die Eigenschaften verschiedener Gruppen von Ionenkanäle in der Plasmamembran der Zelle zurückführen. Ein anfänglicher Reiz aktiviert, sobald er eine bestimmte Schwelle erreicht, und ohne Rücksicht darauf, wie weit er sie übersteigt, eine Kette von Öffnungs- und Schließungsvorgängen der Kanäle, die einen Ionenstrom ermöglichen und damit das Membranpotential verändern (Silbernagel und Despopoulos 1991).

Beschreibung des Potentialverlaufs



Ausgangslage

In der Ausgangslage befindet sich die Zelle in Ruhe und weist ihr Ruhemembranpotential auf. Die Natriumkanäle sind geschlossen, nur bestimmte Kaliumkanäle sind geöffnet, die Kaliumionen bestimmen das Ruhemembranpotential. Bei allen Ionenbewegungen wird Richtung und Stärke durch die elektrochemischen Triebkräfte für die jeweiligen Ionen bestimmt. Vor allem Natriumionen haben die Tendenz, schnell in die Zelle zu strömen, wenn sich die Kanäle öffnen sollten.

Initiationsphase

Während der Initiationsphase muss durch einen Reiz das Membranpotential bis zum Schwellenwert depolarisiert werden. Das kann durch die Öffnung

von postsynaptischen Ionenkanälen (Na^+ , Ca^{2+}) oder durch ein elektrotonisch weitergeleitetes Aktionspotential aus einer nahen Membranregion geschehen. Ist das Membranpotential um 20 mV über das Ruhepotential angestiegen, tritt der Porenblock der K_{ir} -Kanäle durch Spermin ein, was die nachfolgende sehr schnelle Depolarisation und das Erreichen des Schwellenwerts der Natriumkanäle ermöglicht, die sonst durch ausströmende Kaliumionen, die in Richtung des Ruhepotentials wirken würden, zumindest vermindert würden.

Aufstiegs- und Plateauphase

Bei -60 mV fangen die spannungsabhängigen Natriumkanäle Na_V an, in den offenen Zustand überzugehen. Natriumionen, deren Konzentration sehr weit von ihrem Gleichgewichtspotential entfernt ist, strömen ein, die Zelle depolarisiert, dadurch werden weitere Kanäle geöffnet, noch mehr Ionen können einströmen: Der schnelle Aufstieg führt zur Plateauphase, die das Charakteristikum des myokardialen Aktionspotentials.

Beginn der Repolarisation

Noch bevor das Potentialmaximum erreicht ist, beginnen die Na_V -Kanäle zu inaktivieren. Zugleich kommen die spannungsabhängigen Kaliumkanäle K_V ins Spiel; K^+ -Ionen strömen aus der Zelle heraus. Sie haben zwar ihre Schwelle bei ähnlichen Werten, brauchen aber wesentlich länger für das Öffnen, womit sie jetzt erst langsam beginnen. Während des Maximums der Na-Leitfähigkeit sind die Kaliumkanäle gerade erst zur Hälfte geöffnet und erreichen ihr Maximum, wenn fast alle Na-Kanäle schon inaktiviert sind. Dadurch liegt das Na-Maximum etwas vor dem Spannungsmaximum, während das K-Maximum in die Phase der steilsten Repolarisation fällt.

Repolarisation

Während der Repolarisation nähert sich das Potential wieder dem Ruhepotential an. Die K_V schließen, der Porenblock der K_{ir} wird aufgehoben, was wichtig für die Stabilisierung des Ruhepotential ist. Die Na_V -Kanäle werden langsam wieder aktiviert.

Refraktär

Während des gesamten Aktionspotentials ist die Membran depolarisiert und damit vor einem weiteren depolarisierenden Reiz geschützt (Silbernagel und Despopoulos 1991).

1.3. Ionenkanäle

Ein Membranpotential ist die elektrische Spannung, die zwischen Innen- und Außenseite einer Biomembran anliegt. Das Membranpotential ist für die Erregungsleitung im Herz verantwortlich. Das Membranpotential kommt dann zustande, wenn Innen- und Außenseite unterschiedliche Konzentrationen mindestens eines geladenen Teilchens (Kation oder Anion) aufweisen und die trennende Membran eine Leitfähigkeit für diese besitzt. Liegen verschiedene Ionen in unterschiedlichen intra- und extrazellulären Konzentrationen vor, ist das Membranpotential ein Mischpotential aus den Potentialen der einzelnen Ionen.

Kanäle sind nicht nur ionenselektiv sondern auch selektiv bezüglich des Mechanismus, der ihre Öffnung auslöst; so werden spannungsabhängige Kanäle von Liganden gesteuerten Kanäle unterschieden.

Ionen passieren Kanäle durch Diffusion, das heißt Grundvoraussetzung für jeden Ionenfluß ist eine Konzentrationsdifferenz auf beiden Seiten der Membran. Während des Ruhepotentials herrscht im extrazellulären Raum ein positives und im intrazellulären Raum ein negatives Potential. Im Extrazellularraum ist Na^+ das quantitativ wichtigste Kation, im Interzellularraum hingegen K^+ . Natrium- und Calcium-Ströme fließen immer ins Zellinnere, Kaliumströme sind Auswärtsströme.

Wenn Ionen fließen lassen sie eine gegensinnige Ladung zurück und es entsteht ein elektrischer Gradient.

Entgegen dem Kontraktionsgefälle werden die Ionen über Ionenpumpen transportiert (aktiver Transport). Die notwendige Transportenergie wird über die Spaltung von Adenosintriphosphat verfügbar.

Die $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ Austauschpumpe (pump-current) pumpt eingeströmtes Na^+ wieder aus der Zelle hinaus und ausgeströmtes K^+ wieder ins Zellinnere zurück, dabei werden 3 Natriumionen gegen 2 Kaliumionen transportiert.

Für den Auswärtstransport von Ca^{2+} ist ein $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ Austauschmechanismus (Exchange current) verantwortlich, der 3 Natriumionen gegen 1 Calciumionen transportiert (Forth et al. 1996).

1.3.1. Natriumkanäle

Während der Ruhephase des Aktionspotentials liegt der Natriumkanal im ruhenden Zustand (m-Gate geschlossen, h-Gate offen) vor, wobei die Schleifen die Kanalpore verschließen. Durch Depolarisation öffnet die Kanalpore und der Kanal geht in den offenen Zustand (m- und h- Gate offen) über, was der Aufstrichphase im Aktionspotential entspricht. Gleich darauf schließt das h-Gate den Kanal, in diesem inaktiven Zustand (m-Gate offen, h-Gate

geschlossen) ist der Kanal eine erneute Depolarisation nicht aktivierbar. Mit fortschreitender Repolarisation geht der Kanal wieder in den ruhenden Zustand über und es kann eine erneute Depolarisation ausgelöst werden (Forth et al. 1996).

Papillarmuskeln und Purkinje-Fasern haben eine schnelle Depolarisationsrate. Die schnelle Depolarisation wird durch Aktivierung des Natriumkanals ausgelöst. Bei Schrittmacherzellen (Sinusknoten, AV-Knoten), welche eine langsame Depolarisationsrate aufweisen, liegt der Natriumkanal im inaktiven Zustand vor.

Tetrodotoxin (Gift des Kugelfisches) blockiert selektiv den spannungsabhängigen Natriumkanal und verhindert dadurch eine Depolarisation.

Batrachotoxin (Gift des Pfeilgift-Frosches) öffnet den spannungsabhängigen Natriumkanal indem es selektiv und irreversibel an das h- Gate bindet (Forth et al. 1996).

1.3.2. Calciumkanäle

Werden in der Physiologie und Zellbiologie Ionenkanäle bezeichnet, die mehr oder weniger selektiv durchlässig (permeabel) für Calcium-Ionen (Ca^{2+}) sind. Änderungen der intrazellulären Calciumkonzentration sind entscheidend für viele physiologische Prozesse. Sie bewirken die elektromechanische Kopplung bei der Muskelkontraktion, führen zu Synthese und Sekretion von Neurotransmittern und Hormonen, regulieren die Expression von Genen und steuern Enzymaktivitäten. Der wesentliche Teil des Calciumeinstroms in die

Zelle erfolgt über spannungsabhängige Calciumkanäle, deren Öffnungsstimulus die Depolarisation der Zellmembran darstellt.

In manchen Kanäle wurden ein vorübergehender, kurzer Calciumeinstrom beobachtet- sie erhielten den Namen T – Typ (transit type) andere zeigten einen lang andauernden Einstrom – sie wurden Calciumkanäle von L – Typ (long lasting type) genannt (Reuter 1986).

Heute werden die Spannungsabhängigen Calciumkanäle (VGCC) in vier Untergruppen eingeteilt und als L-, T-, N-, und P- Typ Calciumkanäle bezeichnet (Tsien et al. 1988). Sie unterscheiden sich durch Leitfähigkeit und Schwellenpotential.

So benötigen etwa Calciumkanäle vom L- und N- Typ starke Membrandepolarisation für ihre Aktivierung, während sich andere schon bei einer geringere Membrandepolarisation öffnen.

Die Leitfähigkeit ist ein Maß für die Durchlässigkeit, mit der ein bestimmtes Ion einen Kanal passieren kann, sie ist bei Kanälen vom L-Typ für Calcium hoch (etwa 25 pS), nimmt bei N-Typ (12 – 20 pS) und bei P-Typ (10-12 pS) ab und ist beim T-Typ (etwa 8 pS) am niedrigsten.

Auch die Ionenselektivität ist bemerkenswert; so können beispielsweise Calciumionen etwa hundert mal besser Calciumkanäle passieren als Natriumionen. Bei Abwesenheit von Calciumionen können aber auch Natriumströme durch diesen Kanal fließen, wobei bereits mikromolare Calciumkonzentrationen diesen Durchströme stoppen (Tsien et al. 1987).

Die Regulation dieses L-Typ Calciumkanals erfolgt über das cAMP-abhängige Second-Messenger-System.

Der L-Typ Calciumkanal ist während der Plateauphase des Aktionspotentials sowie für die langsame Depolarisation von Schrittmacherzellen (Sinusknoten,

AV-Knoten) von Bedeutung. Außerdem spielt er bei pathophysiologischen Vorgängen, wie zum Beispiel beim Auftreten von frühen Nachdepolarisationen, eine Rolle.

Den T-Typ Calciumkanal findet man in Schrittmacherzellen, weil er an der langsamen diastolischen Depolarisation beteiligt ist. T- und L- Typ des Calciumkanal haben Triggerfunktion für die Kontraktion, da sie indirekt die Öffnung des Calciumkanals im Sarkoplasmatischen Retikulum bewirken; ob der SR-Ca-Kanal öffnet oder nicht hängt von der Calcium- und ATP-Konzentration in der Zelle ab. P- und N- Typ Calciumkanal findet man vor allem in Nervenzellen, wo sie für die Neurotransmitterfreisetzung bedeutsam sind.

Durch Muskarinhemmung nimmt der Strom des Ca^{2+} Kanals ab. Dies dürfte durch eine Hemmung der cAMP-Produktion hervorgerufen werden.

Anorganische Kationen, wie Mg^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} und andere, wie auch H^+ , blockieren die Ströme des L-Typs. Eine Inaktivierung wird sowohl durch Depolarisation als auch durch $[\text{Ca}^{2+}]_i$ hervorgerufen (Camm et al. 1991).

Der Spannungsabhängige Calciumkanal vom L-Typ besteht aus fünf Polypeptiduntereinheiten ($\alpha 1$, $\alpha 2$, β , γ , δ). Die $\alpha 1$ - Untereinheit ist ähnlich der α - Untereinheit des Natriumkanals aufgebaut; sie kleidet die Innenseite des Kanals aus und besteht aus vier homologen Domänen mit je sechs transmembranären Segmenten (S1- S6). S4 weist in jeder dritten oder vierten Position der Aminosäuresequenz eine positiv geladene Aminosäure (Lysin, Arginin) auf, was darauf schließen lässt, dass es sich hierbei um einen Spannungssensor handelt. Der β -Komponente obliegt die Regulation der Spannungsabhängigen Kinetik. Die transmembranären Segmente sind durch extra- und intrazelluläre Aminosäure schleifen verbunden; diese Schleifen bilden nach außen hin ein Selektivitätsfilter und nach innen Gates.

Im Ruhezustand ist das L-Typ-VGCC-Protein aufgeladen, phosphoryliert (an der $\alpha 1$ -Untereinheit) und damit aktivierbar. Durch Depolarisation wird es aktiviert – der Kanal wird geöffnet- und geht dann in den inaktiven, dephosphorylierten und geschlossenen Zustand über.

Calciumantagonisten

Die L-Kanäle sind die Zielstrukturen der therapeutisch eingesetzten Calciumkanalblocker (Calciumantagonisten). Die Bindungsstellen der Klassischen Calciumantagonisten – wie Dihydropyridine (z.B. Nifedipin), Phenylalkylamine (z.B. Verapamil) und Benzothiazepine (z.B. Diltiazem) sind an der $\alpha 1$ -Untereinheit lokalisiert (Catterall und Striessnig 1992).

Calciumantagonisten hemmen den transmembranären Calciumeinstrom durch die L-Typ-Kanäle, ohne gleichzeitig Natriumstrom deutlich zu beeinflussen (Fleckenstein et al. 1967).

Durch die daraus resultierende Abnahme der intrazellulären Calciumkonzentration transformiert die Ca^{2+} abhängige myofibrilläre ATPase im Augenblick der Erregung weniger Phosphatgebundene Energie in mechanische Arbeit, wodurch es zur Senkung der Kontraktionskraft (negativ inotrope Wirkung) und des Sauerstoffbedarfs kommt.

Die negativ Chronotrope Wirkung lässt sich dadurch erklären, dass auch die Membranen der Schrittmacherzellen des Sinus- und AV-Knotens über ein Calciumtransportsystem verfügen, sodass Calciumantagonisten sowohl die Aktivität nomotoper Autonomiezentren als auch die Erregungsleitug hemmen (Fleckenstein und Grün 1996).

Phenylalkylamine und Benzothiazepine (quartäre Stickstoffverbindungen) scheinen schnelleren Zugang zu ihrer Rezeptorstruktur zu bekommen, wenn

sich der Kanal häufig öffnet. Es ist daher wahrscheinlich, dass ihre Rezeptorstruktur auf der intrazellulären Seite des Kanalproteins liegt. Ihre Wirkung ist potentialabhängig und frequenzabhängig. Sie wirken umso besser, desto stärker die Zellmembran depolarisiert ist und ihre Wirkung nimmt mit steigender Herzfrequenz zu (Fleckenstein und Grün 1994).

Im Gegensatz dazu binden Dihydropyridine mit hoher Affinität an den inaktiven (geschlossenen) Kanal, was darauf schließen lässt, dass ihre Rezeptorstruktur auf der extrazellulären Seite des Kanalproteins liegt. Sie sind in ihrer Wirkung weder von der Herzfrequenz noch vom Membranpotential abhängig (Lydtin und Trenkwalder 1988).

1.3.3. Kaliumkanäle

Bei den Kaliumkanälen kann man ebenfalls mehrere Typen unterscheiden. Die Kaliumkanäle werden in drei spannungsabhängige (I_{KI} , I_K , I_{to}) und in vier agonistenabhängige ($I_{K(Ach)}$, $I_{K(ATP)}$, $I_{K(Na)}$, $I_{K(Ca)}$) Kanäle eingeteilt.

Spannungsabhängige Kaliumkanäle werden durch Veränderung des Membranpotentials geöffnet oder geschlossen (Robertson und Steinberg 1990, Adams und Nonner 1990).

Die I_{KI} - Kanäle finden sich in Vorhof, AV -Knoten, Purkinje-Fasern und Vertikalzellen, nicht jedoch in Zellen des SA-Knotens. Diese Ströme werden auch „inward rectifier channel“ genannt. Diese I_{KI} - Kanäle sind für die Aufrechterhaltung des Membranpotentials verantwortlich. Sie werden durch Hyperpolarisation aktiviert und bei Membrandepolarisation inaktiviert. Weiteres besteht eine Abhängigkeit des Öffnungzustandes von der extrazellulären Kaliumkonzentration, ist diese hoch, muss eine positivere Membranspannung vorliegen, um einen Ionenstrom auslösen zu können.

Die I_K Kanäle: Andere Ströme werden durch spannungsabhängige Kanäle mit langsamer Aktivierungsenergie geleitet und heißen daher „delayed rectifier“. Diese sind hauptsächlich für die Repolarisation verantwortlich (Camm et al. 1991).

Sie transportieren in geöffnetem Zustand eine größere Kaliummenge zellauswärts als zelleinwärts. Nach der Aktivierung des Kanals durch Membrandepolarisation startet der Ionentransport zeitverzögert, steigt bei anhaltender Depolarisation rasch an und bleibt bestehen. Bei anhaltendem Depolarisationsreiz kommt es zu einer langsamen Inaktivierung, ein Prozess, der an Zellen mit Schrittmacherfunktion für die diastolische Depolarisation mitverantwortlich ist.

Die I_{to} Kanäle (Transit outward rectifier channel) : Hier handelt es sich um einen K^+ -Strom, der schnell nach Depolarisation auftritt und dann inaktiviert wird. Dieser kann von Bedeutung sein, wenn man die Dauer des Aktionspotentials verändern möchte. Ein Typ des I_{to} wird aktiviert durch $[Ca^{2+}]_i$, der andere ist spannungsabhängig und wird zum Beispiel durch Neurotransmitter reguliert (Camm et al. 1991).

Der $I_{K(Ach)}$ Kanal : Dies ist ein K^+ -Strom, der durch Muskarinrezeptoren (M_2) aktiviert wird. Dieser ist von übergeordneter Bedeutung in SA- und AV-Knoten sowie den Zellen des Vorhofs. Er ist ein Beispiel für ein Signaltransduktion unter Vermittlung eines Guaninnucleotid-bindenden Proteins. Der Rezeptor ist durch ein G-Protein an ein Effektorprotein, den Ionenkanal, gekoppelt und wird nach Stimulation der muskarinischen Rezeptoren zur Öffnung angeregt. Durch diesen Mechanismus hyperpolarisiert Acetylcholin die Herzmuskelzellen und hemmt deren elektrische Aktivität. Dieser Kanal ist mitverantwortlich für das Ruhepotential, ist aber auch während des Aktionspotentials nicht völlig abgeschaltet. Eine Hauptrolle spielt er im Parasympathikus, wo Acetylcholin ein wichtiger Transmitter ist.

$I_{K(ATP)}$ (Der ATP-sensitive Kaliumkanal): Dieser Strom wird durch einen Kanal transportiert, der der Stoffwechselregulation unterliegt. Er öffnet nur, wenn der interzelluläre ATP-Konzentration unter einen bestimmten wert (< 2 mmol) sinkt. Eine Aktivierung dieses Kanals führt zur Hyperpolarisation der Zellmembran. Es Kommt dadurch zu einer Verkürzung des Aktionspotentials und in der Folge zur Abnahme der Kontraktionskraft.

Andererseits wird dieser Kanal durch Sulfonylharnstoffe (z.B. Glibenclamid) blockiert. Es führt zur Depolarisation der Zellmembran, wodurch spannungsabhängige Calciumkanäle geöffnet werden (Quast et al. 1994). Man findet ihn in allen Kardialen Zellen, nur im SA-Knoten konnte er noch nicht nachgewiesen werden. Man nimmt an, dass dieser Kanal unter physiologischen Bedingungen eine untergeordnete Rolle im Herz spielt, hat aber auch pathophysiologische Bedeutung (Hypoxie, Ischämie).

Weiteres findet man diesen Kanaltyp an den glatten Muskulatur , im Gehirn und in den β -Zellen des Pankreas, wo er an der Insulinsekretion beteiligt ist.

Die physiologische Rolle des natriumabhängigen Kaliumkanal ($I_{K(Na)}$) ist noch unklar. Er wird bei erhöhter Natriumkonzentration aktiviert und ist vermutlich von pathophysiologischer Bedeutung.

Der $I_{K(Ca)}$ (Ca^{2+} -aktivierter Kaliumkanal) wird durch erhöhte interzelluläre Calciumkonzentration aktiviert und ist von untergeordneter Bedeutung.

2. Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war eine neue Substanz (WHG52), die in ihrer chemischen Struktur den bekannten Calciumkanalblockern nahesteht, auf ihre inotrope und chronotrope Wirkung zu untersuchen. Die Versuche wurden an isolierten rechten Vorhöfen und an isolierten Papillarmuskel des Meerschweinchenherzens durchgeführt.

Außerdem wurde die Substanz auf die glatte Muskulatur, an isolierten Präparaten des terminalen Ileums von Meerschweinchen geprüft, ob sie eine relaxierende Wirkung hat.

3. Material und Methodik

3.1. Versuchstiere

Für die Versuche wurden isolierte Organe männlicher und weiblicher Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von 250-600g herangezogen. Alle Versuchstiere stammten aus dem Institut für Labortierkunde und Genetik in Himberg (Österreich).

Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet. Eine wichtige Bedingung für die Versuchsdurchführung war eine rasche Entfernung des Herzes, des Darmes und der Gefäße. Das explantierte Herz wurde gleich in einem Becher gefüllt mit physiologischer Nährlösung transferiert. Außerdem wurde diese physiologische Nährlösung mit Oxymix (95% O, 5% CO₂) perfundiert. Durch diese Vorgangsweise konnte eine Hypoxie und Koagulation des Blutes verhindert werden. Nach der Gewinnung von Herz und thorakalen Gefäßen wurde das Abdomen mit einer Schere geöffnet. Darauffolgend wurde das Caecum unter größter Schonung des Gewebes gesucht und identifiziert. Dann wurde ungefähr 20 cm langer Abschnitt des terminalen Ileums entnommen. Die Präparation aller 5 untersuchten Organe (Aorta, Arteria pulmonalis, terminales Ileum, Papillarmuskel und Vorhof) erfolgte unter Mikroskop (Nikon SMZ-10A, Japan) in einer mit Kork ausgelegten und mit Oxymix perfundierten Nährlösung gefüllten Petrischale. Danach wurden die fertigen Präparate bis zum Versuchsbeginn ebenfalls in mit Oxymix perfundierter Nährlösung aufbewahrt.

3.2. Präparate

3.2.1. Isolierung des rechten Vorhofs

Nach Entfernung des Perikards wurde das Herz an Basis und Spitze mit Präpariernadeln fixiert. Der rechte Vorhof wurde entlang des Sulcus coronarius von den Ventrikel abgetrennt, ohne dabei den Sinusknoten zu verletzen. Der Sinusknoten liegt in der rechten Vorhofwand in der Nähe der Vena cava superior.

Ein Häkchen aus Silberdraht wurde dann mit Hilfe eines Bindfadens am rechten Herzohr (am Übergang des rechten und linken Vorhofs und an der gegenüberliegenden Seite) befestigt, um das Präparat in die Versuchsanordnung einspannen zu können.

3.2.2. Isolierung des terminalen Ileums

Von dem entnommenen Ileum (ungefähr 20 cm) wurde am caecalen Ende ein ca. 1 – 2 cm langes Stück abgeschnitten und mit Präpariernadeln fixiert. Danach wurde das anhaftende Mesenterium entfernt. Zunächst musste der Ileumabschnitt mit physiologischer Nährlösung, unter Zuhilfenahme einer Pipette von beiden Seiten durchspült werden. Das Darmstück durfte nicht überdehnt werden. Dann wurde ein Silberdrahthäkchen mit Bindfaden an beiden Enden des Ileumstücks befestigt, um es in die Versuchsanordnung einspannen zu können.

3.2.3. Isolierung der Aorta

Nach Thorakotomie und Entnahme des Herzens wurde ein Stück (ungefähr 2 bis 3 cm lang) der thorakalen Aorta mit Pinzette und Schere herausgeschnitten und in ein Becherglas mit physiologischer Nährlösung übergeführt.

Dann wurde die Aorta in einer Petrischale gefüllt mit Nährlösung transferiert und mit Präpariernadeln fixiert, um unter dem Mikroskop zu präparieren und reinigen. Anschließend wurde die Aorta von anhaftendem Muskel- und Fettgewebe befreit. Danach wurde ein 2 – 3 mm langes ringförmiges Stück abgeschnitten, welches später in die Versuchsanordnung eingespannt wurde. Das präparierte Aortastück wurde bis zum Versuchsbeginn in einer mit Oxymix durchperlten Nährlösung aufbewahrt.

3.2.4. Isolierung der Arteria pulmonalis

Eine von den wichtigsten Voraussetzungen für die Präparation der Arteria pulmonalis ist die rasche Entnahme des Herzens und die Aufbewahrung in mit Oxymix gesättigter Nährlösung. Unter dem Mikroskop wurde das Perikard sowie Teile der Lunge und Fettreste mit Hilfe einer Federschere entfernt. Die Arteria Pulmonalis wurde so nahe wie möglich am Herzen entnommen. Es wurde das direkt vom Herzen wegführende 5 – 10 mm lange Stück verwendet. Dann wurde das Präparat wieder mit Nadeln in einer mit Kork ausgelegten Petrischale fixiert, um vom außen anhaftenden Muskel- und Fettgewebe zu befreien. Anschließend wurden 2 – 3 mm lange ringförmige Stücke von der Pulmonalarterie abgeschnitten, die später in die Versuchsanordnung eingehängt werden konnten.

3.2.5. Isolierung der Papillarmuskeln

Der rechte Ventrikel wurde von der Arteria pulmonalis entlang des Septums bis zur Herzspitze geöffnet, aufgeklappt und mit Präpariernadeln. Um den Versuchsablauf durch die Spontanaktivität der Purkinjefasern nicht zu beeinträchtigen, wurden diese entfernt.

Die Silberdrahthäkchen wurden mit einem Bindefaden (nur in einer Muskelseite) befestigt. Die Sehne durchtrennt und der Muskel vorsichtig, ohne diesen zu überdehnen, herausgeschnitten.

Es wurden ausschließlich Papillarmuskel mit einem maximalen Durchmesser von 0,87 mm verwendet, um eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu gewährleisten (Koch – Weser 1963).

3.3. Physiologische Nährlösungen

3.3.1. Nährlösungen für den rechten Vorhof, den Papillarmuskel, das terminale Ileum und die Arteria pulmonalis

Tabelle 1 : Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung

	Stocklösung	Stocklösung/l Tyrode	mmol / l
NaCl	1000,25 g/5l	33,60	114,90
KCl	50,33 g/5l	35,00	4,73
NaHCO ₃	125,00 g/5l	83,70	24,90
CaCl ₂	147,02 g/5l	3,20	3,20
MgSO ₄	62,00 g/250 ml	1,18	1,18
KH ₂ PO ₄	34,00 g/250ml	1,18	1,18
Glucose	Reinsubstanz	1,98 g	10,00

Die verwendete physiologische Nährlösung wurde nach der Vorschrift von Reiter (1976) hergestellt und entspricht einer modifizierten Krebs –Lösung.

Diese Nährlösung wurde an jedem Versuchstag frisch zubereitet. Dazu wurden entsprechende Volumina an bereitgestellten Stocklösungen mit Aqua bidestillata aufgefüllt; die erforderliche Menge an CaCl₂ wurde erst nach einer 10 – 20 min. Oxymix (95% O₂ , 5% CO₂) tropfenweise zugegeben, um die Ausfällung des schwerlösliche Calciumsalzes zu verhindern .

Die Nährlösung wurde während der ganzen Versuchsdauer kontinuierlich mit Oxymix perfundiert, um einerseits eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Präparate und andererseits einen konstanten pH- Wert im physiologischen Bereich (pH 7,2 – 7,4) zu gewährleisten.

3.3.2. Nährlösung für die Aorta

Die Herstellung dieser Lösung erfolgte in gleicher Weise wie es in Kapitel (3.3.1) beschreiben wurde.

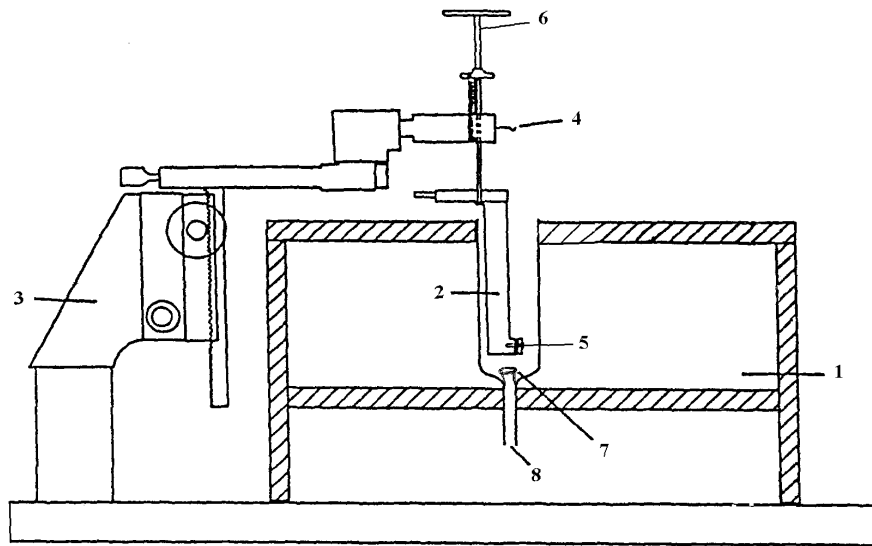
Tabelle 2 : Zusammensetzung der Elektrolytlösung für die Aorta

	mmol/l
NaCl	118,0
KCl	4,7
NaHCO₃	11,9
MgSO₄	5,8
KHSO₄	1,4
CaCl₂	1,6
Glucose	10,0

3.4. Versuchsanordnung

Im Rahmen der Praktischen Versuche der Diplomarbeit wurde die Wirkung der zu untersuchende Substanz WHG52 an fünf Organen des Meerschweinchens untersucht.

Abbildung1:



Legende zu Abbildung 1 :

1- Wasserbad

2- Muskelhalterung

3- Stativ

4- Aufhängevorrichtung

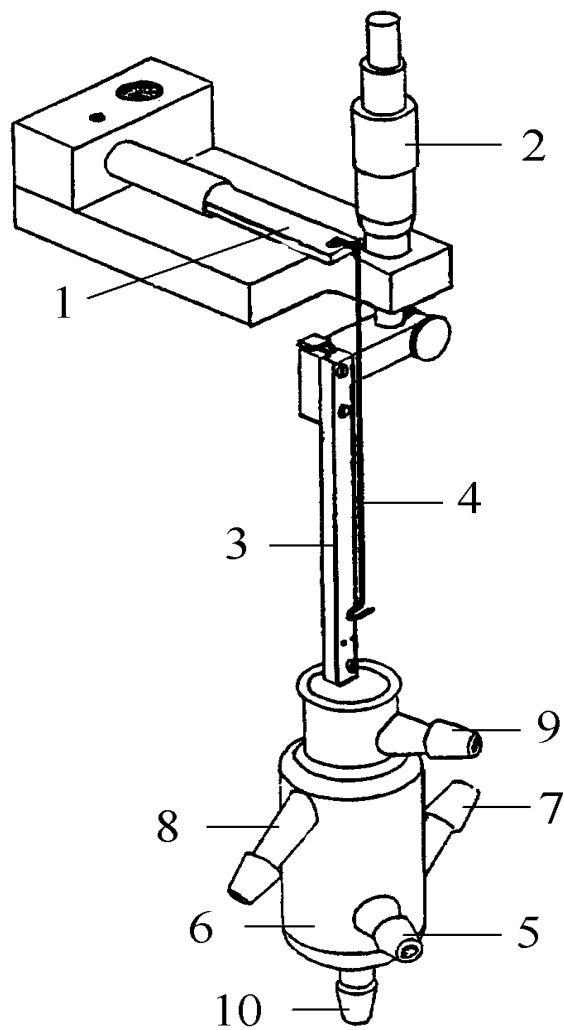
5- geprüftes Organ

6-Feintrieb

7- Muskelkammer

8-Muskelhalterung

Abbildung 2 :



Legende zu Abbildung 2 :

1- Kraftwandler

2- Feintrieb

3- Muskelhalterung

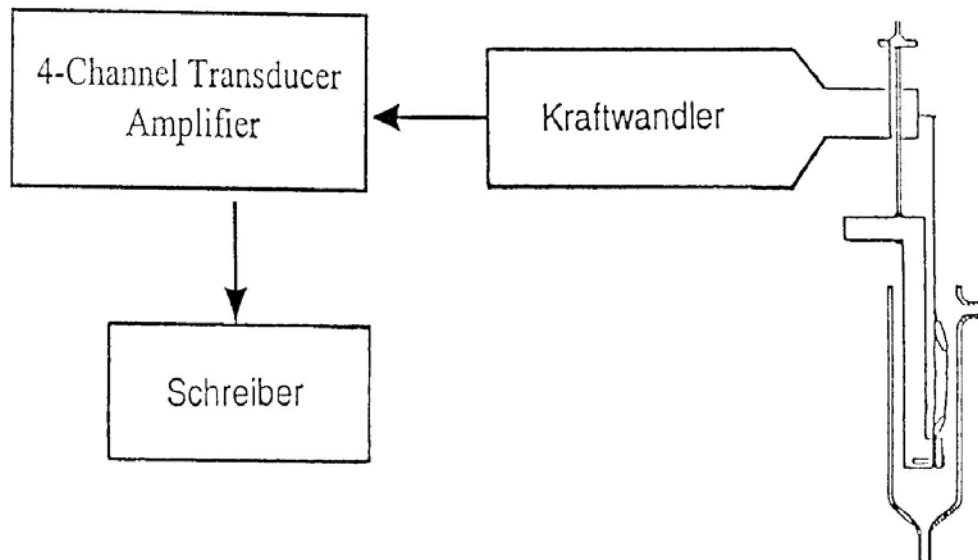
4- Silberdraht

5- Wasserabfluss

6- Muskelkammer

10- Gaszufuhr mit Fritte

Abbildung 3 : Kraftwandler



Der Kraftwandler, dessen Hauptgabe es war, die isometrischen Kontraktionen zu messen, transformierte die mechanische Kraft, mit der sich das eingespannte Organ kontrahierte, in ein elektrisches Signal, welches anschließend durch einen Verstärker (4-Channel-Transducer von World precision Instruments, FL, USA) verstärkt wurde.

Zur Dokumentation diente ein Schreiber mit automatischem Papiervorschub, der es mit Filzschreiber auf Millimeterpapier aufzeichnete.

Die Abbildung 1 zeigt den schematischen Aufbau der Versuchsanordnung, mit der die Frequenz spontan schlagender rechter Vorhöfe, die Kontraktionskraft

isolierter Stücke des terminalen Ileums, der Aorta und der Arteria pulmonalis gemessen wurde.

Die Apparatur besteht aus einem Wasserbad (1), dessen Temperatur mittels Thermostat und Heizspirale möglichst konstant auf $37 \pm 1^\circ \text{C}$ (alle Organe außer dem Herzen welches auf $35 \pm 1^\circ \text{C}$ lag) gehalten wurde, um physiologische Bedingung zu imitieren. In dieses Wasserbad tauchte die mit physiologische Nährlösung gefüllte Muskelkammer (4), mit einem Kammervolumen von 25 ml ein. Über eine Glasfritte (5) wurde die Nährlösung permanent mit Oxymix perfundiert, um eine ausreichende Wasserstoffversorgung und den physiologischen pH-Wert zu garantieren.

Die Präparate von Vorhof und Ileum, an die zuvor ein Häkchen befestigt worden war, wurden an einem Silberdraht befestigt, der eine Verbindung zum Kraftwandler (9) darstellt. Der Vorhof und das Stück Ileum wurden vertikal hängend befestigt, indem das zweite Häkchen an das untere Ende der Muskelhalterung gehängt wurde.

Die Einspannung musste möglichst rasch vor sich gehen, um eine Mangelversorgung des Muskels zu verhindern. Weiters darauf zu achten, den Muskel nicht zu überdehnen. Anschließend senkt man die Muskelhalterung in das Organbad ab, bis das Präparat vollständig mit Nährlösung umspült wurde. Zur genau Justieren konnte die Halterung über einen Stativschlitten (7) auf und ab bewegt werden.

Die Aorta und die A. pulmonalis (als Ringform) wurden gleich zwischen dem Silberdraht und das untere Ende der Muskelhalterung (ohne Häkchen) gehängt.

Mit Hilfe des Feintriebes (11) wurde die zur Entwicklung der maximalen Kontraktionskraft notwendig Vorspannung an das Präparat angelegt. Zur Messung der isometrischen Kontraktion diente ein Kraftwandler, der die Kontraktion in ein Stromimpuls transformierte und weiteres ein Verstärker Transbridge TM 4 – Channel Transducer Amplifier (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA). Dokumentiert wurden die Ergebnisse (Kontraktionsamplituden und – Frequenzen) mit einem Schreiber Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel (Firma Kipp & Zonen Niederlande).

Die Abbildung 2 zeigt der Versuchsaapparatur, an dem der Papillarmuskel gehängt wurde. Bei der Präparation des Papillarmuskels war eine Seite mit den Häkchen gebunden worden und die andere Seite war frei. Durch die Häkchen konnte man diese Seite an Silberdraht hängen . Die andere freie Seite wurde zwischen zwei Plexiglasstückchen eingeklemmt. Die restliche Vorgangsweise ist dann mit den anderen Organen identisch.

3.5. Versuchsablauf

3.5.1. Untersuchung der Testsubstanz (WHG52PSA)

3.5.1.1. Versuchspräparat rechter Vorhof

Der rechter Vorhof wurde in die entsprechende Einrichtung (das Fett ist nach oben und die Spitze ist nach unten) in der Versuchsanordnung eingespannt und in das Organbad abgesenkt.

Der Verstärker (Amplifier) und der Schreiber wurden eingeschaltet und mittels Feintrieb eine Vorspannung von 10,4 mN bei einer Stromverstärker von 5 mV eingestellt. Diese Spannung musste im Laufe der Messung immer wieder nachjustiert werden, weil sich das Organ durch seine Plastizität ständig etwas dehnte. Nach einer Wartezeit von etwa 40 – 50 min. wurde eine Kontrollmessung begonnen. Dabei wurde im zehn –Minuten-Intervall die Schläge aufgezeichnet. Als die Zahl der Schläge (der Kontraktionen) konstant war, konnte mit der Testsubstanz gespritzt werden. Die Testsubstanz wurde mit fünf verschiedenen Konzentrationen (in der Folge 1 , 3 , 10 , 30 , 100 μmol) gespritzt. Nach der ersten Zugabe (1 μmol) wurde alle 5 Minuten eine Messung durchgeführt. Dabei wurde auf dem Millimeter eine Distanz von 6 cm bei einem Papiervorschub von 5 mm/s aufgezeichnet.

Waren 45 Minuten vergangen, wurde die nächste höhere Konzentration eingespritzt und erneut im fünf Minuten – Intervall gemessen.

3.5.1.2. Versuchsablauf bei der Aorta

Nachdem die Aorta in ringförmige Teilstücke geschnitten worden war. Konnte sie ganz einfach zwischen zwei Silberdrahthäkchen eingehängt. Dabei musste die Aorta (Teststück) schnell eingehängt werden. Einerseits nämlich, um mit dem Draht das Gefäß nicht zu verletzen, andererseits durfte es auch nicht zu stark austrocknen. Außerdem war zu starke Dehnung der Arterie zu vermeiden. Dann wurde die Aorta ins Organbad (gefüllt mit physiologische Nährlösung) getaucht, wobei sich der Flüssigkeitsspiegel über dem Präparat befinden sollte. Danach wurde der Amplifier eingeschaltet und das Schreibgerät wurde in betrieb gesetzt und mittel Positionierungsrad der Nullpunkt definiert. Mithilfe des Feintriebs wurde eine Vorspannung von 19,6 mN bei 10 mV angelegt und die Abweichungen von der Nulllinie während einer ca. 60 minütigen Anpassungsphase nachkorrigiert.

Damit eine Abnahme der Kontraktionskraft bestimmt werden konnte, musste das Präparat maximal kontrahiert werden, darum wurde das Nährlösung nach dieser Anpassungszeit durch Öffnen der Kunststoffklamme am Ablassschlauch des Organbades abgelassen und durch eine KCl-Lösung mit einer KCl – Konzentration von 90 mmol/l (0,67 g Kaliumchlorid in 100 ml physiologischer Nährlösung) ersetzt. Außerdem wurde die Stromstärke auf 5 mV zurückgestellt. Hierauf folgte eine weitere Anpassungsphase , bis eine Konstant Plateau, das einer 100%igen Kontraktion erreicht wurde. Dann konnte mit der Zugabe der Testsubstanz begonnen werden. Die Injektion erfolgt kumulativ, wobei mit der niedrigsten Konzentration (1µmol) begonnen wurde und nach 45 Minuten die nächst höhere Konzentration folgt . Der Schreiber zeichnete während des gesamten Versuchs die Konzentrationsänderungen auf. Die Temperatur wurde mit Hilfe des Wasserbades auf 37 ± 1 konstant gehalten.

3.5.1.3. Versuchsablauf beim Papillarmuskel

Nach Vorbereitung des Präparates wurde dieses an der Versuchsapparatur befestigt. Eine Seite des Muskels wurde mittels dem Silberdrahthäkchen an einem Drahtstück (am Kraftwandler angebracht) eingehängt. Das andere Ende des Muskels wurde der am Steg befindlichen Platinkathode und einem Kunststoffplättchen eingeklemmt. Die Kathode diente hierbei nicht nur der Fixierung, sondern auch der elektronischen Reizüberleitung auf den Muskel. Dann wurde das Präparat in der Elektrolytlösung getaucht und eine Vorspannung von 3,92 mN bei einer Stromstärke von 5 mV angelegt und während des Versuchsablaufs mit dem Feinbetrieb nachkorrigiert. Da der Papillarmuskel nicht wie der Vorhof Spontanaktivität besitzt, musste er durch elektrische Reize aus einem Reizgerät (Accupulser A310 – Akkumulator Stimulus Asolator A360, World Precision Instruments, Hamden, USA) zur Kontraktion angeregt. Um eine kontinuierliche Reizung zu bewirken, wurde mit 3 MS Lang dauernden Rechteckimpulsen und einer Frequenz von 1 Hz über Silberchloridelektroden gereizt. Die Stärke des Stromimpulses durfte nicht zu hoch sein, da eine dadurch induzierte vollständige Entleerung der Katecholaminspeicher die Ergebnisse hätte verfälschen können. Die Stromstärke wurde aus diesem Grund so niedrig wie möglich gehalten und wurde in der Regel auf einem Wert eingestellt, der etwa 10% über der

Reizschwelle lag. Auch wurde hier eine ca. 45 minütige Kontrollphase abgewartet, während der laufend die Amplituden der Kontraktionen auf Millimeterpapier gemessen wurden. Waren die Werte der Kontraktionsamplitude durch ein Aufzeichnen derselben im Abstand, konnte mit der Testsubstanz begonnen werden. Mit der Schreiber wurden in abstanden von 5 Minuten die

jeweiligen Konzentrationsamplitude (5 Ausschläge) aufgezeichnet. Nach 45 Minuten erfolgte die Injektion der nächst höherer Konzentration.

Die Temperatur wurde mit Hilfe des Wasserbades auf $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ konstant gehalten.

3.5.1.4.Versuchsablauf bei der Arteria pulmonalis

Die Versuche an der Arteria pulmonalis wurden analog zu denen der Aorta (wie in Kapitel 3.5.1.2) erfolgt. Abweichungen in der Ausführung der Versuche zu jenen mit der Aorta, bezogen auf die Vorspannung – diese wurde bei Arteria pulmonalis Präparaten entsprechend einer Kraft von 9,81 mN (1g) bei 5 mV Stromstärke angelegt.

3.5.1.5. Versuchsablauf beim terminalen Ileum

Nachdem das Ileumpräparat mit der physiologischen Nährlösung durchgespült und die Silberdrahthäkchen mittels Bindfäden befestigt wurde, wurde das Präparat in die Aufhängevorrichtung der Apparatur eingehängt und in das Organbad abgesenkt. Dabei musste darauf geachtet werden, dass das jejunale Ende oben und das caecale Ende nach unten orientiert war. Danach wurde eine Vorspannung von 4,9 mN (0,5g) bei 5mV Stromstärker angelegt. Diese wurde mit dem Feinbetrieb so lange nach korrigiert, bis sie mindestens 30 Minuten lang konstant blieb.

Während dieser Wartezeit wurde auch eine 60 m molarer KCl – Lösung vorbereitet. Dazu wurde in einem 100 ml Messkolben 0.45 g KCl in Tyrode gelöst.

War die 30 Minuten vorbei, wurde die Nährlösung durch die zuvor hergestellte KCl – Lösung ersetzt, wodurch das Organ sofort kontrahierte. Auch musste hier abgewartet werden, bis die Konzentrationskraft konstant war, was durch eine Plateaubildung angezeigt wurde. Dann konnte mit der Kumulativen Zugabe der Testsubstanz begonnen werden. Auch hier erfolgte die Injektion im 45 Minuten Intervall. Der gesamte Versuch wurde ab dem Austausch der Lösung im Organbad von Schreiber aufgezeichnet.

Die Temperatur wurde mit Hilfe des Wassersbad auf 37 ± 1 °C konstant gehalten.

3.6. Lösungsmittel

Da die Testsubstanz in Wasser nicht löslich war, wurde als Lösungsmittel Dimethylsulfoxid herangezogen. Diese Verbindung zeigte aber eine Eigenwirkung auf die isolierten Organe, was bei der Auswertung der Daten berücksichtigt werden musste. Hierfür wurden am Institut für Pharmakologie und Toxikologie Wien jeweils 3 Versuche unter alleinigem Einfluss des Lösungsmittels auf die Präparate durchgeführt.

3.6.1. Einfluss von DMSO auf den Vorhof

Gemessen wurde die Veränderung der Schlagfrequenz unter Einwirkung von DMSO.

DMSO In $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) In mN	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) in Prozent
0	$237,5 \pm 42,50$	0
1	245 ± 40	$3,9 \pm 1,66$
3	245 ± 45	$3,04 \pm 0,53$
10	245 ± 45	$3,04 \pm 0,53$
30	240 ± 40	$1,25 \pm 1,25$
100	$242,5 \pm 42,5$	$2,15 \pm 0,35$

Tabelle 1: Wirkung von DMSO auf Vorhofpräparat; die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardfehler (SEM) angegeben in mN sowie in Prozent; n= die Anzahl der durchgeführten Versuchsreihen.

3.6.2. Einfluss von DMSO auf den Papillarmuskel

Vermessen wurde die Veränderung der Kontraktionskraft des Papillarmuskels unter Einwirkung von DMSO.

DMSO In $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) In mN	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) in Prozent
0	$1,0 \pm 0,2$	0
1	$0,75 \pm 0,05$	$22,9 \pm 10,42$
3	$0,6 \pm 0,1$	$39,59 \pm 2,09$
10	$0,6 \pm 0,1$	$39,59 \pm 2,09$
30	$0,55 \pm 0,05$	$43,75 \pm 6,25$
100	$0,6 \pm 0,1$	$39,59 \pm 2,09$

Tabelle 2 : Wirkung von DMSO auf Präparate des Papillarmuskels; die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardfehler (SEM) angegeben in mN sowie in Prozent; n= die Anzahl der durchgeführten Versuchsreihen.

3.6.3. Einfluss von DMSO auf die Pulmonalarterie

Untersucht wurde die Änderung des Tonus der Gefäßmuskulatur.

DMSO In $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) In mN	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) in Prozent
0	9,82 $\pm$ 0,39	0
1	9,92 $\pm$ 0,35	1,06 $\pm$ 0,36
3	9,71 $\pm$ 0,37	1,16 $\pm$ 0,86
10	9,40 $\pm$ 0,40	4,31 $\pm$ 0,41
30	9,07 $\pm$ 0,58	7,77 $\pm$ 2,87
100	8,80 $\pm$ 0,53	10,54 $\pm$ 2,63

Tabelle 3 : Wirkung von DMSO auf Präparat der Arteria pulmonalis; die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardfehler (SEM) angegeben in mN sowie in Prozent; n = die Anzahl der durchgeführten Versuchsreihen.

3.6.4. Einfluss von DMSO auf die Aorta

Hier wurde wie bei der Pulmonalarterie die Veränderung des Tonus der Gefäßmuskulatur vermessen

DMSO In $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) In mN	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) in Prozent
0	8,79 $\pm$ 2,92	0
1	8,79 $\pm$ 2,92	0
3	8,66 $\pm$ 2,79	0,91 $\pm$ 0,91
10	8,34 $\pm$ 2,52	2,92 $\pm$ 3,84
30	8,21 $\pm$ 2,56	4,63 $\pm$ 4,62
100	7,42 $\pm$ 2,29	13,98 $\pm$ 2,68

Tabelle 4 : Wirkung von DMSO auf Präparat die Aorta; die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardfehler (SEM) angegeben in mN sowie in Prozent; n = die Anzahl der durchgeführten Versuchsreihen.

3.6.5. Einfluss von DMSO auf das terminale Ileum

Es wurde die Veränderung der Kontraktionskraft durch Einwirkung von Dimethylsulfoxid vermessen.

DMSO In $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) In mN	$f_c \pm \text{SEM}$ (n=3) in Prozent
0	7,16 $\pm$ 1,56	0
1	7,16 $\pm$ 1,56	0
3	6,83 $\pm$ 1,59	4,97 $\pm$ 2,38
10	6,64 $\pm$ 1,59	7,79 $\pm$ 3,64
30	6,31 $\pm$ 1,78	14,6 $\pm$ 6,38
100	5,53 $\pm$ 1,67	19,27 $\pm$ 11,34

Tabelle 5 : Wirkung von DMSO auf Präparate des terminalen Ileums; die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardfehler (SEM) angegeben in mN sowie in Prozent; n = die Anzahl der durchgeführten Versuchsreihen.

3.7. Messgrößen – Statistik

Die Auswertung der Versuche mit den rechten Vorhöfen erfolgte der Änderung der Spontanfrequenz. Das Schreibgerät registrierte jeweils die Schlagfrequenz innerhalb einer Zeitspanne von 12 Sekunden. Dieses Zeitintervall entspricht bei einem Papiervorschub von 5 mm/s einer Aufzeichnungsstrecke von 6 cm. Um die Anzahl der Schläge pro Minute zu erhalten, wurden die Ausschläge innerhalb der 6 cm – Strecke auf dem Millimeterpapier abgezählt und mit dem Faktor 5 multipliziert.

Die Kontraktionskraft der Papillarmuskeln wurde in mN gemessen, in dem die auf Millimeterpapier aufgezeichneten Amplituden mit einem Lineal abgemessen und mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert wurden.

Bei den Präparaten Aorta, terminales Ileum und Arteria Pulmonalis wurden auf den erhaltenen kontraktionskurven die Abstände zwischen der Nulllinie und jenen Punkten auf der Kurve vermessen, die beim Einspritzen der jeweiligen Konzentration Substanz markiert worden waren. Auch hier wurde der ermittelte Abstand in cm wieder mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert, um den entsprechenden Wert in mN zu erhalten.

Aus den Messdaten wurde die prozentuelle Abnahme der Schlagfrequenz bzw. der Kontraktionskraft gegenüber einem kontrollwert errechnet. Als Kontrollwert wurde ein Mittelwert aus jenen Werten angenommen, ab denen am End der Kontrollphase/Anpassungszeit, also knapp vor der Zugabe der ersten Substanzkonzentration – jeweils steady – state – Bedingungen herrschten. Der so ermittelte Kontrollwert wurde mit 100% definiert.

Die Messdaten aus n Versuchen wurden als arithmetische Mittelwerte inklusive der jeweiligen Standardfehler dieser Mittelwerte (SEM) dargestellt. Die EC_{50} , also jene Kontraktion an zugesetzter Substanz in $\mu\text{mol/l}$, bei der

die Schlagfrequenz bzw. die Kontraktionskraft auf die Hälfte des Ausgangswerts (Kontrollwertes) absank, wurde auf graphischem Weg aus den Konzentrations-Wirkungskurven ermittelt.

Zur Beurteilung der Messergebnisse hinsichtlich ihrer Signifikanz wurde der ungepaarte Student – t – Test durchgeführt.

Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $<5\%$ ($P < 0,05$) bzw. $<1\%$ ($P < 0,01$) wurden die Werte als signifikant eingestuft, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $<0,1\%$ ($P < 0,001$) als hochsignifikant.

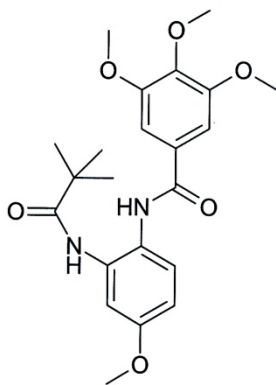
3.8. Untersuchte Substanz

Die zu untersuchende Substanz (WHG52psa) wurde am Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie für pharmazeutische Chemie der Universität Wien synthetisiert.

Strukturformel von WHG52PSA :

WHG 52PSA

N1-{2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-4-methoxyphenyl}-3,4,5-trimethoxybenzamid



4. Ergebnisse

4.1. Wirkung von WHG 52 PSA auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta

Die Wirkung der Substanz WHG52 wurde auf die Kontraktionskraft der Aorta an 5 Präparaten getestet (wie in Kapitel 3.5.1.2 beschrieben). Die Vorkontraktion erfolgte mit Kaliumchloridlösung. Dann wurde die Testsubstanz WHG52 in den Konzentrationen von 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ kumulativ in Abständen von je 45 Minuten in das Organbad injiziert. Während der Kontrollphase wurde in Mittel aus 5 Versuchen eine Kontraktionskraft von $9,06 \pm 1 \text{ mN}$ gemessen.

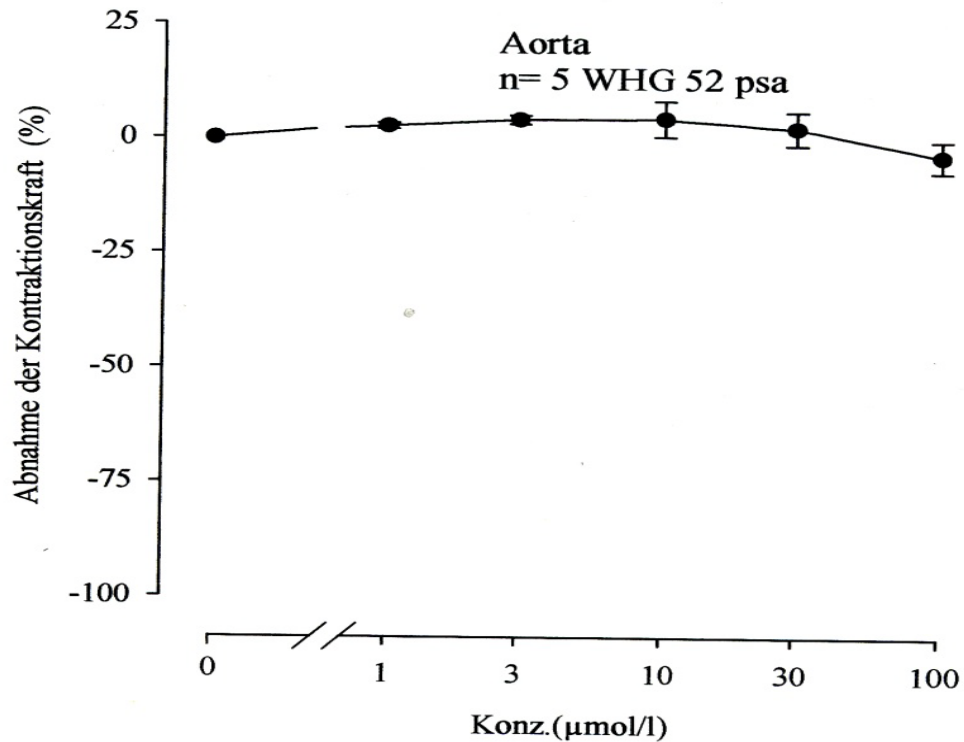
Tabelle 6 : Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft (f_c) der Aorta

WHG52 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahr- scheinlichkeit
0(Kontrolle)	$9,06 \pm 0,89$	0	5	--
1	$9,32 \pm 0,95$	$2,75\% \pm 0,68\%$	5	n.s.
3	$9,43 \pm 0,9$	$4,25\% \pm 0,95\%$	5	n.s.
10	$9,37 \pm 0,76$	$4,47\% \pm 3,91\%$	5	n.s.
30	$9,19 \pm 0,74$	$2,47\% \pm 3,68\%$	5	n.s.
100	$8,70 \pm 0,74$	$-3,53\% \pm 3,39\%$	5	n.s.

Legende zu Tabelle 6 :

Tabelle 6 gibt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft inklusive der Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen wieder. Die Werte sind in mN und in % angegeben und beziehen sich auf den Kontrollwert ($9,06 \pm 1$)

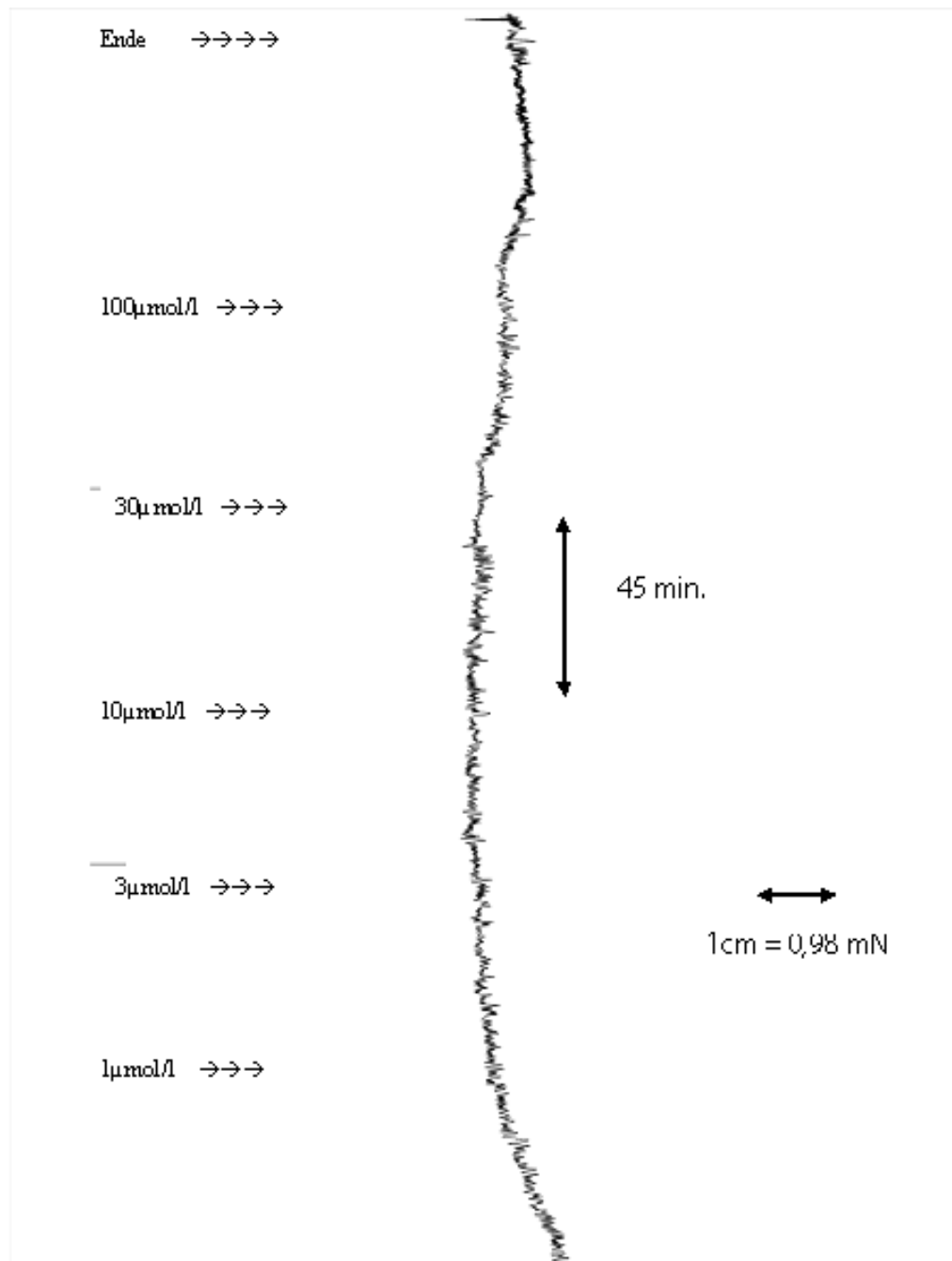
Abbildung 4 : Konzentration-Wirkungskurve von WHG52 an der Aorta



Legende zu Abbildung 4 :

Abbildung 4 zeigt die graphische Darstellung der isolierten Aorta nach kumulativer Zugabe von WHG52. Auf der Abszisse wurden die Konzentrationen der Testsubstanz in $\mu\text{mol/l}$ und auf der Ordinate die Kontraktionsabnahme in % aufgetragen. Die Kreise auf der Kurve stellen die arithmetischen Mittelwerte mit den zugehörigen Standardfehlern in Balkenform dar.

Abbildung 5 : Originalaufzeichnung der Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta



Legende zu Abbildung 5 : Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die durch die Einwirkung von WHG52 nicht signifikante auf die Kontraktionskraft der Aorta

4.2. Wirkung von WHG52 auf die Kontraktion des isolierten terminalen Ileums

Wie in Kapitel (3.5.1.5) wurde die Wirkung von WHG52 auf die Kontraktion des terminalen Ileum an 5 – 6 Präparaten gesucht. Die Vorkontraktion erfolgte mit einer 60 $\mu\text{molaren}$ KCl – Lösung. Die Testsubstanz WHG52 wurde in die Kontraktionen 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ in Abstand von 45 Minuten dem Organbad eingespritzt.

Die Testsubstanz WHG52 bewirkte eine Konzentrationsabhängige Relaxation der glatten Muskulatur des terminalen Ileums. Während der Kontrollzeit wurde die Konzentrationskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit 9,79 mN definiert. Die Abnahme der Kontraktionskraft war mit 1 $\mu\text{mol/l}$ und 3 $\mu\text{mol/l}$ nicht zu hoch.

Ab 10 $\mu\text{mol/l}$ WHG52 wurde die Abnahme der Kontraktionskraft statistisch signifikant ($P < 0,01$). Dies entsprach einer prozentuellen Abnahme auf 75,85% des Kontrollwertes.

Bei 48,4 $\mu\text{mol/l}$ sank die Kontraktionskraft auf 50% des Ausgangswerts (EC_{50}). Nach Erreichen der endgültigen Konzentration von 100 μmol , sank die Konzentrationskraft durch WHG52 auf 3,83 mN ab, was 39,05 % des Kontrollwertes entsprach.

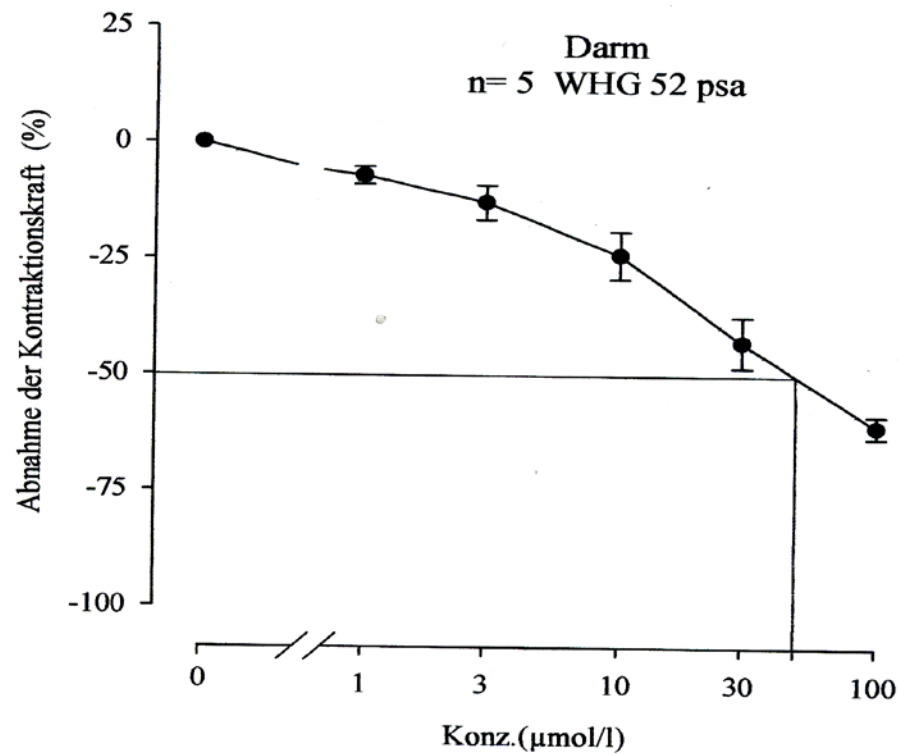
Tabelle 7: Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft (f_c) des terminalen Ileums

WHG52 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahr- scheinlichkeit
0(Kontrolle)	$9,79 \pm 0,99$	0	5	--
1	$9,17 \pm 1,11$	$-7,11 \pm 1,78 \%$	5	n.s.
3	$8,65 \pm 1,22$	$-12,81 \pm 3,72 \%$	5	n.s.
10	$7,61 \pm 1,23$	$-24,15 \pm 5,12 \%$	5	n.s.
30	$5,78 \pm 1,04$	$-42,96 \pm 5,46 \%$	5	<0,001
100	$3,83 \pm 0,45$	$-60,95 \pm 2,39 \%$	5	<0,001

Legende zu Tabelle 7 :

Die Tabelle gibt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) sowie deren Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen wieder.

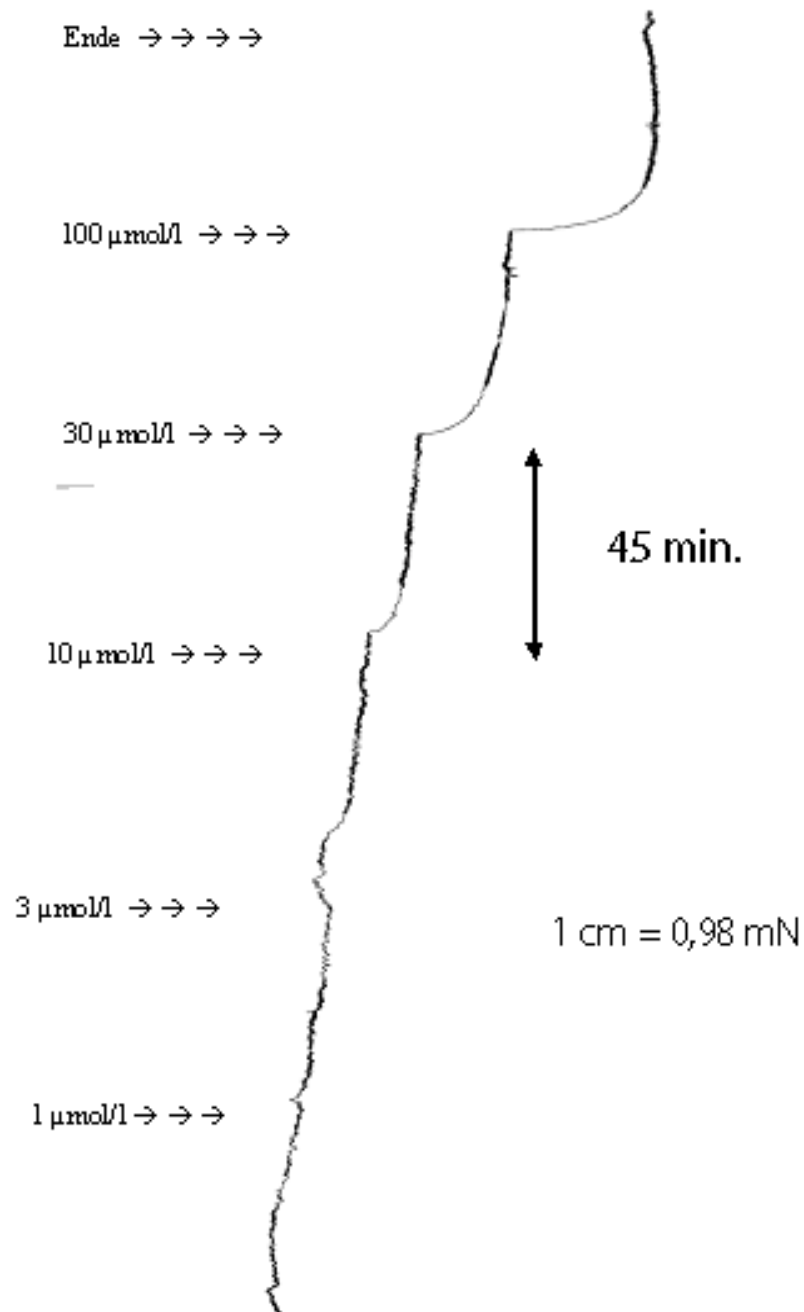
Abbildung 6: Konzentration-Wirkungskurve von WHG52 an terminalen Ilea



Legende zu Abbildung 6 :

Abbildung 6 zeigt die graphische Darstellung der Abnahme der Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums nach kumulativer Zugabe von WHG52. Auf der Ordinate wurde die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent, auf der Abszisse die Konzentration der Testsubstanz in µmol/l aufgetragen.

Abbildung 7 : Originalaufzeichnung der Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft isolierter terminaler Ilea



Legende zu Abbildung 7 : Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft des terminalen Ileums hervorgerufen durch WHG52

4.3. Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis

Gemäß Kapitel (3.5.1.4) wurde die Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis an ca. 5 Präparaten untersucht, wobei die Testsubstanz in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ zugesetzt wurde. Die einzelnen Konzentrationen wurden in Abständen von 45 Minuten zugegeben.

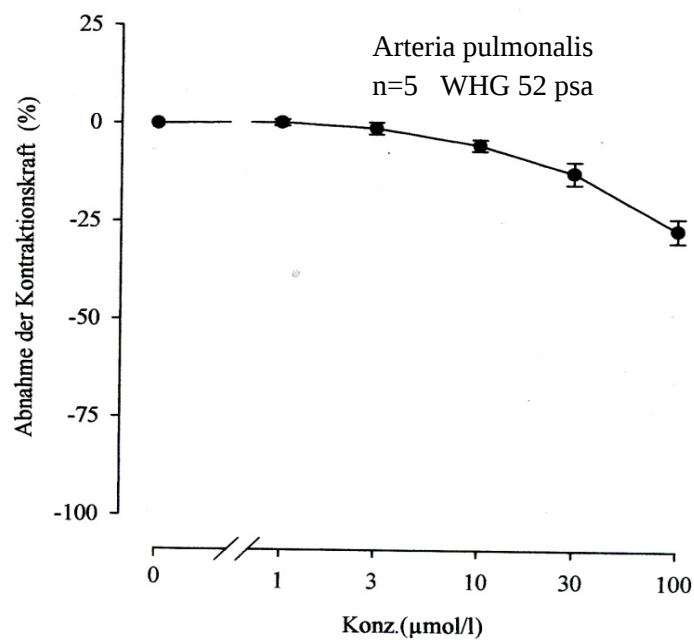
WHG52 hat keine klare Wirkung auf der Arteria pulmonalis, außer bei 100 $\mu\text{mol/l}$ eine leichte Relaxation der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis hat. Als Kontrollwert wurde während der Anspannungszeit 14,71 mN aus 5 Versuchen ermittelt, was der 100 %igen Kontraktion durch KCl entsprach. Zu Versuchende, bei 100 $\mu\text{mol/l}$, wurde eine Kontraktionskraft von 10,47 mN erreicht, was 73,28 % des Kontrollwertes entsprach.

Tabelle 8: Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft (f_c) der Arteria pulmonalis

WHG52 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahr- scheinlichkeit
0 (Kontrolle)	14,71 $\pm$ 2,76	0	5	--
1	14,72 $\pm$ 2,73	0,39 $\pm$ 0,77%	5	n.s.
3	14,45 $\pm$ 2,63	-0,94 $\pm$ 1,49%	5	n.s.
10	13,89 $\pm$ 2,56	-5,11 $\pm$ 1,46%	5	n.s.
30	12,81 $\pm$ 2,4	-12,16 $\pm$ 2,95%	5	n.s.
100	10,47 $\pm$ 1,69	-26,77 $\pm$ 3,13%	5	n.s.

Legende zu Tabelle 8: Wirkung von WHG52 auf Präparate der Arteria pulmonalis ; die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardfehler (SEM) angegeben in mN sowie in Prozent.

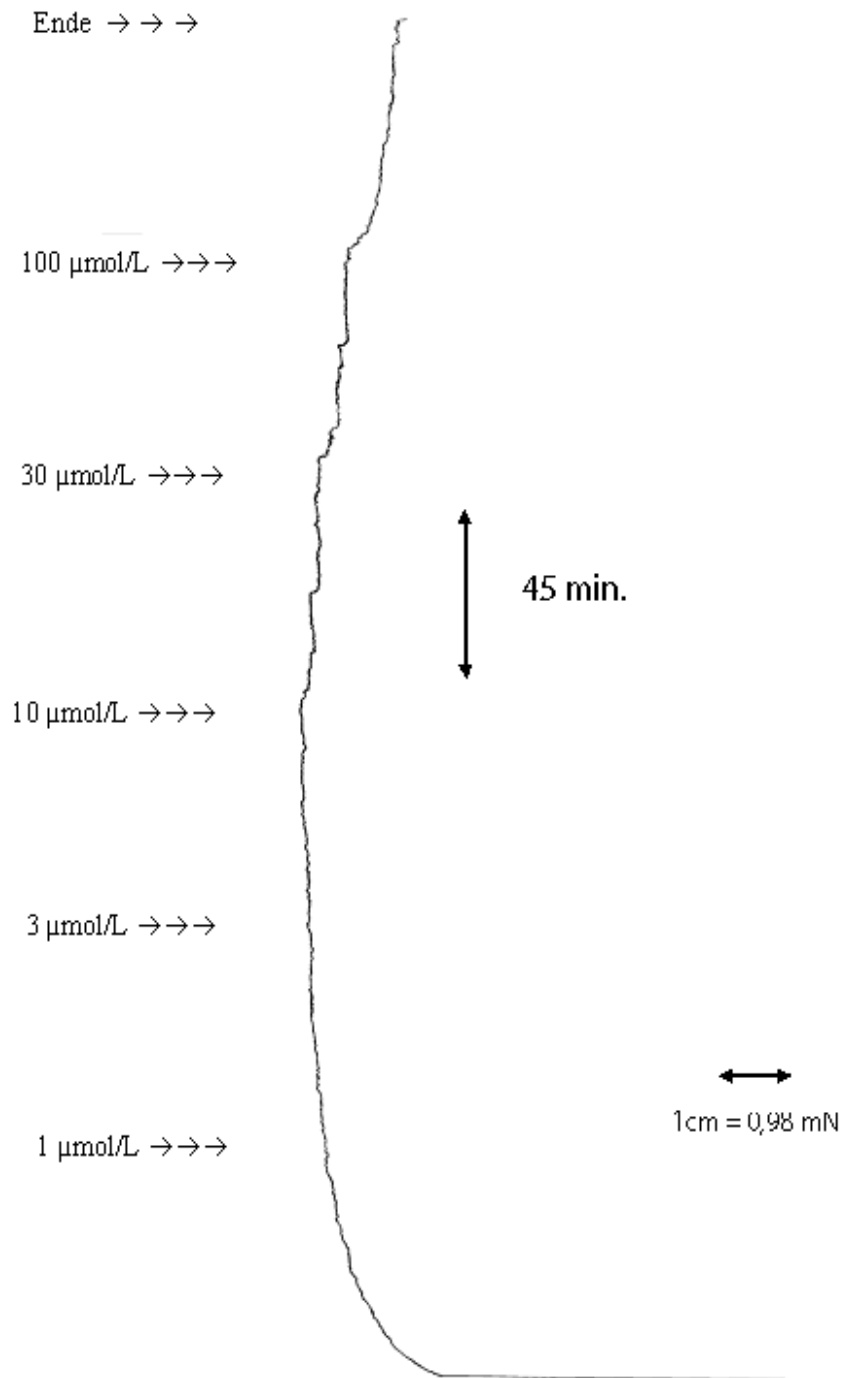
Abbildung 8: Konzentrations-Wirkungskurve von WHG52 an der isolierten Arteria pulmonalis



Legende zu Abbildung 8 :

Die Abbildung zeigt eine leichte Abnahme der Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis durch kumulativ Zugabe von WHG52. Auf der Ordinate ist die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent, auf der Abszisse die Konzentration der Testsubstanz in $\mu\text{mol/L}$ aufgetragen.

Abbildung 9 : Originalaufzeichnung der Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis



Legende zu Abbildung 9 : Die Aufzeichnung des Schreibers zeigt die leichte Abnahme der Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis bei Wirkung von WHG52.

4.4. Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskelpräparates

Die Beschreibung zur Isolierung des Papillarmuskels ist in Kapitel (3.5.1.3) zu finden. Nach Befestigung des Präparates an der Versuchsanordnung und Anlegen der erforderlichen Vorspannung wurde das Reizgerät aktiviert um den Muskel zur Kontraktion anzuregen.

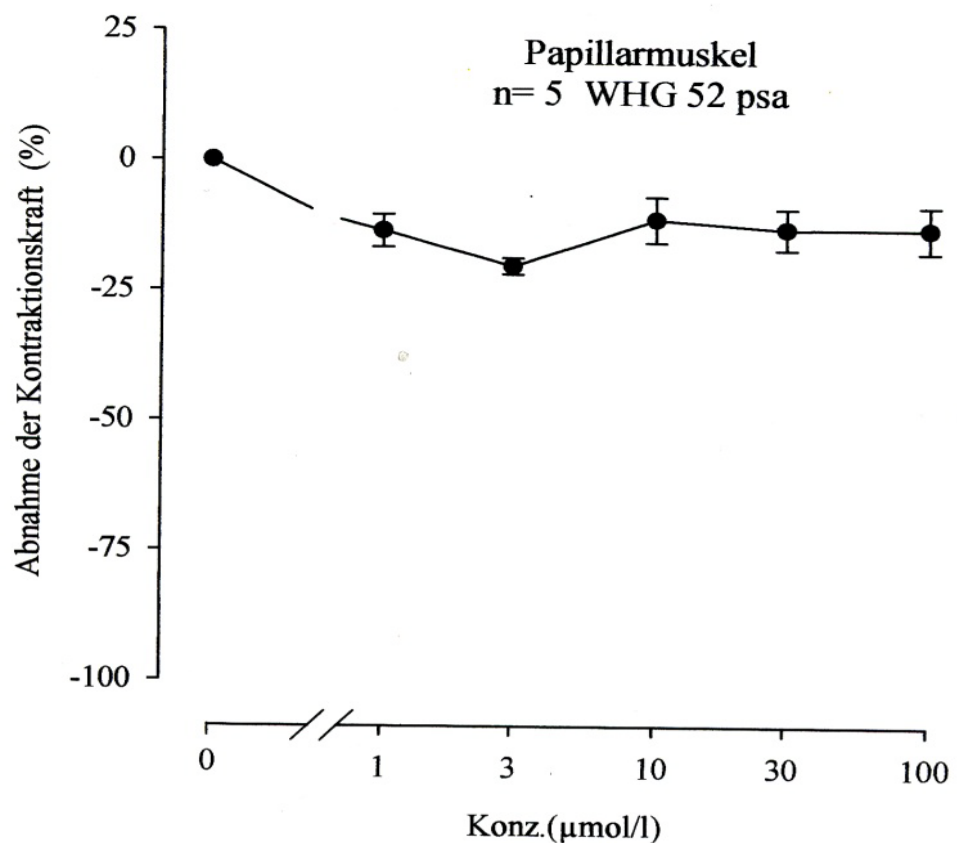
WHG52 wurde in Abständen von je 45 Minuten in den Kontraktionen 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ kumulativ in das Organbad injiziert. WHG52 zeigt an isolierten Papillarmuskelpräparaten keine statistisch signifikante Wirkung.

Tabelle 9: Wirkung von WHG52 auf die Kontraktionskraft (f_c) von isolierten Papillarmuskelpräparaten

WHG52 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit
0(Kontrolle)	$0,77 \pm 0,11$	0	5	--
1	$0,65 \pm 0,07$	$-13,46 \pm 3,15$	5	n.s.
3	$0,61 \pm 0,08$	$-20,24 \pm 1,53$	5	n.s.
10	$0,68 \pm 0,11$	$-11,20 \pm 4,4$	5	n.s.
30	$0,66 \pm 0,08$	$-13,02 \pm 3,96$	5	n.s.
100	$0,66 \pm 0,08$	$-12,98 \pm 4,45$	5	n.s.

Legende zu Tabelle 9: Wirkung von WHG52 auf Papillarmuskelpräparate; die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardfehler (SEM) angegeben in mN sowie in Prozent.

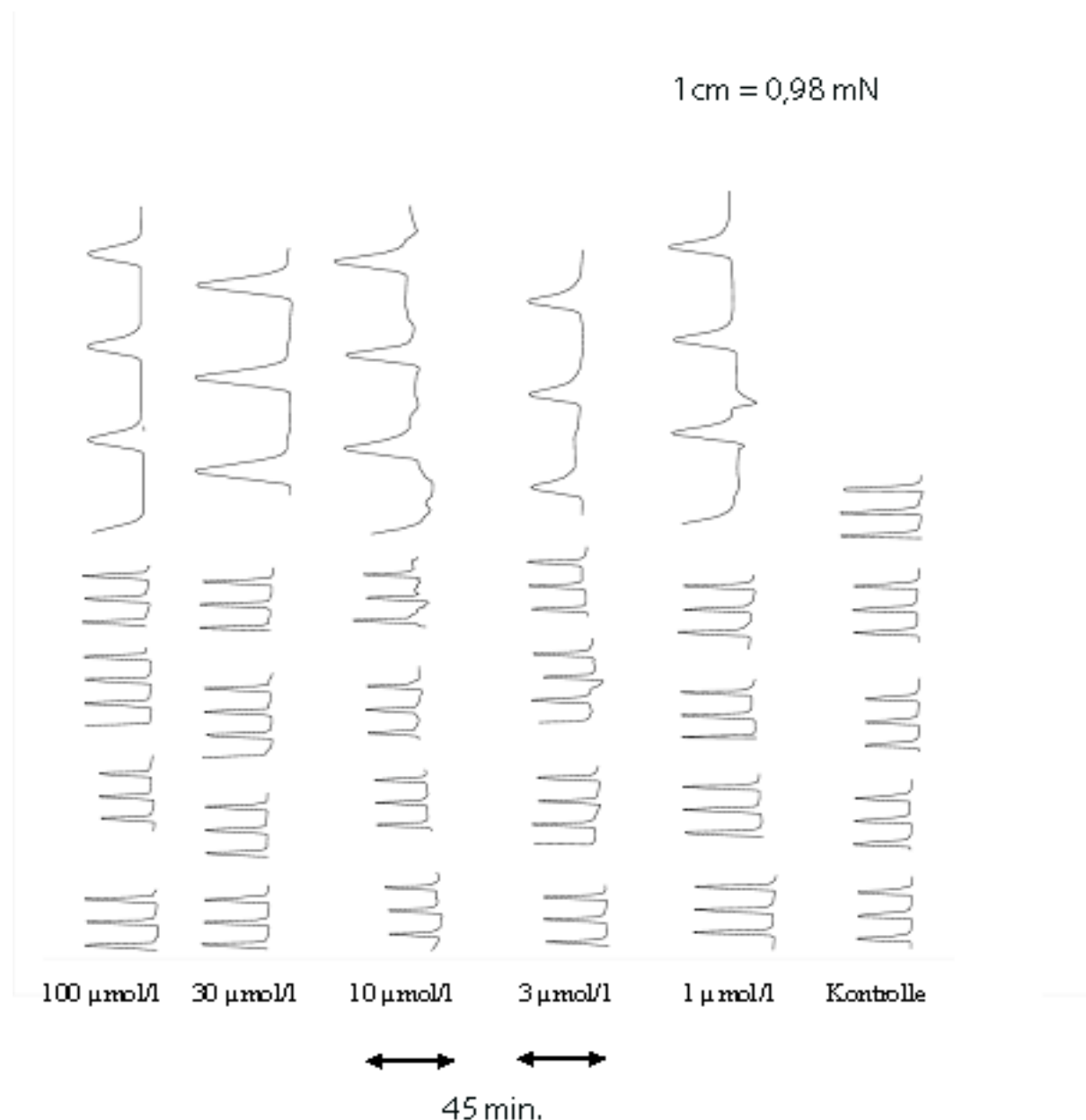
Abbildung 10 : Konzentration-Wirkungskurve von WHG52 an Papillarmuskeln



Legende zu Abbildung 10 :

Die Graphik zeigt die Wirkung von WHG52 auf die isolierte Papillarmuskel-Präparate durch kumulative Zugabe der Testsubstanz. Die Änderung der Kontraktionskraft in Prozent wurde auf der Abszisse, die Konzentration WHG52 in µmol/l auf die Ordinate aufgetragen

Abbildung 11: Originalaufzeichnung der Wirkung von WHG52 auf die Konzentrationskraft von Papillarmuskeln



Legende zu Abbildung 11 : Die Abbildung zeigt eine Originalregistrierung des Schreibers aus der die durch WHG52 bedingte Verkleinerung der Amplitude ersichtlich wird. Der Abstand zwischen 2 Substanzzugaben betrug wie immer 45 Minuten

4.5. Wirkung von WHG52 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs

Hier wurde eine mögliche Veränderung der Herzfrequenz (Schlagfrequenz) durch Einwirkung der Substanz WHG52 untersucht. Wie in Kapitel (3.5.1.1.) beschrieben, wurde vor der kumulativen Zugabe der WHG52 abgewartet, bis sich die Schlagfrequenz des Vorhofs nach dem Vorspannen auf einen annähernd konstanten Wert eingependelt hatte. Dies konnte von 45 bis 60 Minuten dauern.

Es wurde hier 6 Versuchsreihen durchgeführt.

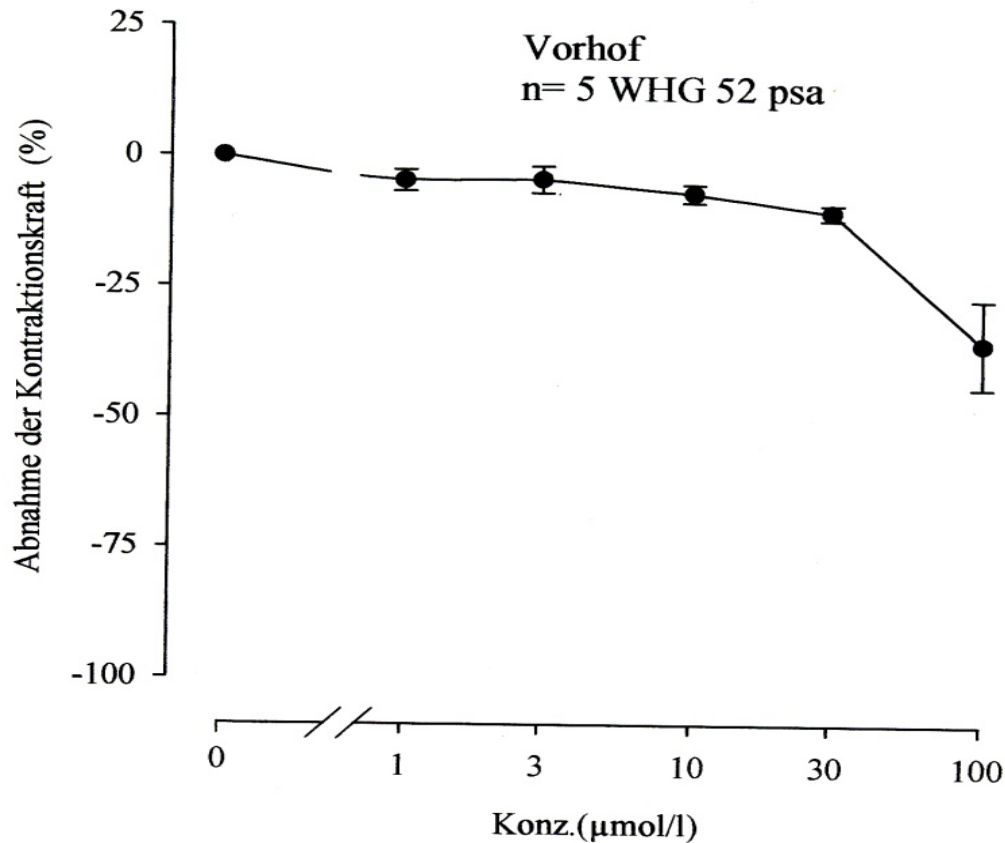
WHG52 zeigte weder eine positiv (Zunehmen der Herzfrequenz) noch negativ (Abnehmen der Herzfrequenz) chronotrope Wirkung , außer bei 100 $\mu\text{mol/l}$ eine leichte negative chronotrope Wirkung konnte beobachtet werden, Als Kontrollwert wurde während der Anpassungszeit 198 Schläge, was 100% entsprach, und bei 100 $\mu\text{mol/l}$ wurde 128 Schläge erreicht, was 64,38 % entsprach.

Tabelle 10: Wirkung von WHG52 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs

WHG52 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit p
0 (Kontrolle)	$198 \pm 4,64$	0	6	--
1	$189 \pm 2,92$	$-4,58 \pm 2,04$	6	n.s.
3	$189 \pm 2,45$	$-4,34 \pm 2,53$	6	n.s.
10	$184 \pm 2,92$	$-6,95 \pm 1,72$	6	n.s.
30	177 ± 2	$-10,49 \pm 1,47$	6	n.s.
100	$128 \pm 7,72$	$-35,62 \pm 8,43$	6	n.s.

Legende zu Tabelle 10: Die Tabelle enthält die arithmetischen Mittelwerte und deren Standardfehler aus 6 Versuchen. f gibt die Schlagfrequenz pro Minute an.

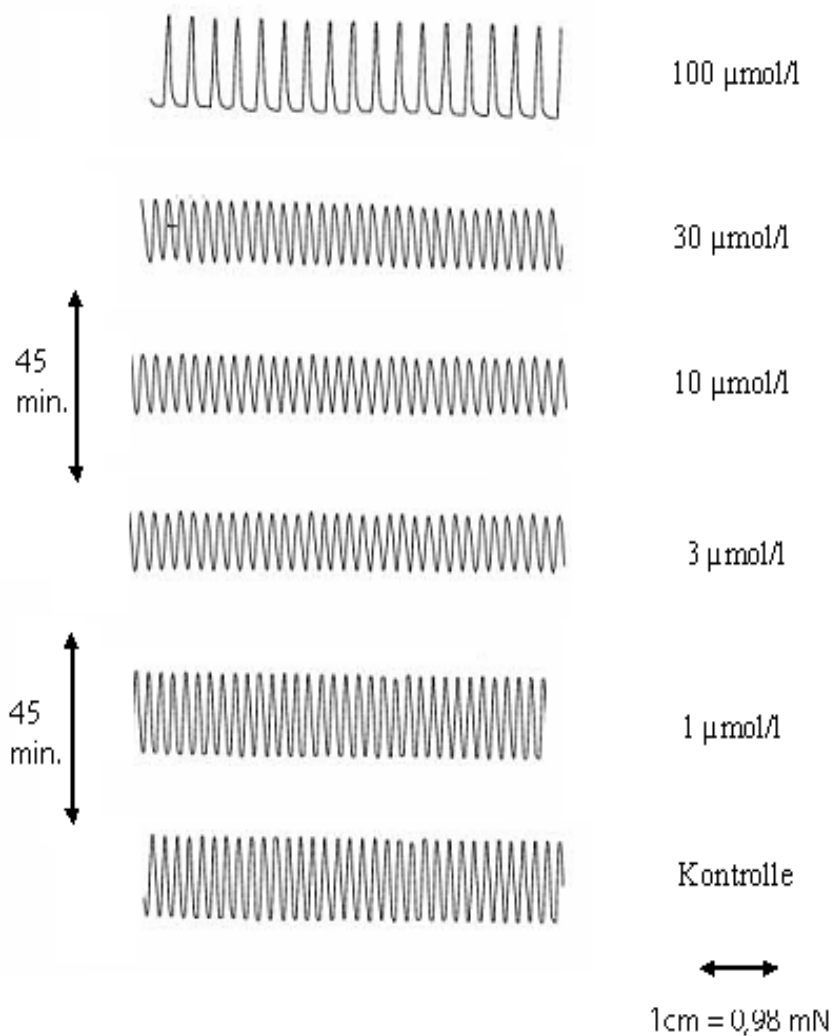
Abbildung 12 : Konzentrations- Wirkungskurve von WHG52 an rechten Vorhöfen



Legende zu Abbildung 12 :

Die Graphik veranschaulicht die statistisch nicht signifikante Wirkung von WHG52 auf die isolierten rechten Vorhöfe (nur eine leichte Wirkung bei 100 µmol/l). Die prozentuelle Änderung der Schlagfrequenz wurde auf der Abszisse linear gegen den Logarithmus der verwendeten Konzentrationen der Testsubstanz auf der Ordinate aufgetragen.

Abbildung 13 : Originalaufzeichnung der Wirkung von WHG52 auf die Schlagfrequenz rechter Vorhöfe



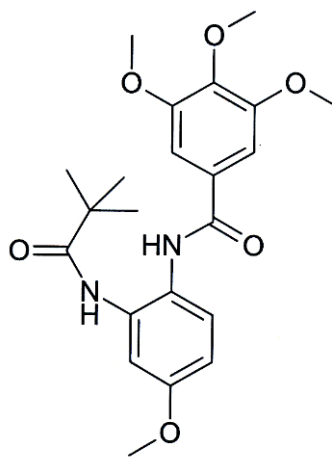
Legende zu Abbildung 13 :

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

5. Diskussion

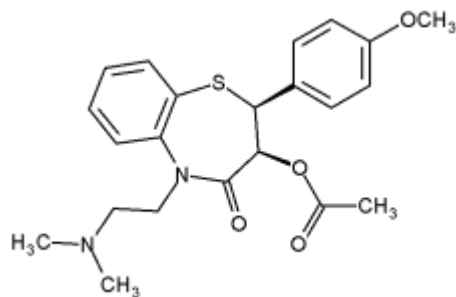
5.1. Strukturvergleich

Strukturformel von WHG52



N1-{2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-4-methoxyphenyl}-3,4,5-trimethoxybenzamid

Strukturformel von Diltiazem



5-(2-Dimethylaminoethyl)- 2-(4-methoxy-phenyl)-4-oxo-2,3,4,5- -tetrahydro-1,5-benzothiazepin-3-ylacetat

5.2. Vergleich der Wirkung von WHG52 und Diltiazem an Aorta Präparaten

WHG52 hatte als Mittelwert der Kontrollwerte nach 5 Versuchen $9,06 \pm 0,89$ mN. Bei einer Konzentration von $1\mu\text{mol/l}$, $3\mu\text{mol/l}$, $10\mu\text{mol/l}$ und $30\mu\text{mol/l}$ wurde eine sehr geringe Zunahme der Kontraktionskraft beobachtet. Bei einer Konzentration von $100\mu\text{mol/l}$ wurde eine geringe Abnahme der Kontraktionskraft auf $-3,53 \pm 3,39\%$ gemerkt. Eine spasmolytische Wirkung war sehr gering.

Diltiazem ist ein Kalziumantagonist, wirkt erweiternd auf die Arterien (Aorta). Dadurch kann ein erhöhter Blutdruck gesenkt werden.

5.3. Vergleich der Wirkung von WHG52 und Diltiazem an terminalen Ileum-Präparaten

Bei den Ileum-Präparaten wurde mit der Testsubstanz WHG52 ein EC_{50} erreicht. Der Mittelwert der Kontrollwerte beträgt $9,79 \pm 0,99$ mN. Bei einer Konzentration von $100\mu\text{mol/l}$ entspricht die Abnahme der Kontraktionskraft $3,83 \pm 0,45$ mN und somit $-60,95 \pm 2,39\%$. Eine spasmolytische Wirkung mit einer EC_{50} von $48,4\mu\text{mol/l}$ wurde erreicht.

Diltiazem besitzt auch eine spasmolytische Wirkung durch Tonusabnahme der glatten Muskulatur.

5.4. Vergleich der Wirkungen von WHG52 und Diltiazem an Arteria pulmonalis Präparaten

WHG52 hatte als Mittelwert der Kontrollwerte nach 5 Versuchen $14,71 \pm 2,76$ mN. Bei einer Konzentration von $100\mu\text{mol/l}$ wurde eine geringe Abnahme der Kontraktionskraft auf $10,47 \pm 1,69$ mN (entspricht $-26,72 \pm 3,13$ %) beobachtet. Eine vasodilatierende Wirkung war gering.

5.5. Vergleich der Wirkungen von WHG52 und Diltiazem an Papillarmuskel Präparaten

WHG52 hatte als Mittelwert der Kontrollwerte nach 5 Versuchen $0,77 \pm 0,11$ mN. Bei einer Konzentration von $100\mu\text{mol/l}$ wurde eine sehr geringe Abnahme der Kontraktionskraft auf $0,66 \pm 0,08$ mN beobachtet.

Diltiazem hemmt die Papillarmuskel Kontraktilität (negativ inotrope Wirkung).

5.6. Vergleich der Wirkungen von WHG52 und Diltiazem an Vorhof Präparaten

WHG52 zeigte weder eine positiv noch negativ chronotrope Wirkung, außer bei $100\mu\text{mol/l}$ eine leichte negative chronotrope Wirkung konnte beobachtet werden, Als Kontrollwert wurde während der Anpassungszeit 198 Schläge, was 100% entsprach, und bei $100\mu\text{mol/l}$ wurde 128 Schläge erreicht, was 64,38 % entsprach.

Diltiazem hat eine negative chronotrope Wirkung.

Diltiazem verursacht eine bescheidene Senkung der Herzfrequenz. Dieser Effekt ist auf eine Verlangsamung der SA-Knoten zurückzuführen,. Es führt zu einer Reduktion des Sauerstoffverbrauchs am Herzmuskel.

6.ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Diplomarbeit war es, eine am Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie an der Universität Wien neu synthetisierte Testsubstanz bezüglich ihrer pharmakologischen Wirkung zu testen. Die Substanz hatte eine Bezeichnung WHG52 und wies strukturelle Ähnlichkeit mit Kalziumkanalblocker Diltiazem auf. Die Versuche wurden an den isolierten Organen von Meerschweinchen durchgeführt. Die Resultate aus den Versuchsreihen wurden ausgewertet und graphisch dargestellt.

Hauptsächlich galt es herausfinden, ob die Testsubstanz Effekte an der glatten Muskulatur der Aorta, der Arteria pulmonalis und an dem terminalen Ileum hervorrufen. Weiters wurde WHG52 auf eventuelle inotrope und chronotrope Wirkung getestet. Diese Versuche erfolgten an den Herzmuskelpräparaten, wie Papillarmuskel und rechter Vorhof.

Am terminalen Ileum wies der Testsubstanz eine spasmolytische Wirkung auf. An der Aorta und der Arteria pulmonalis wies die Testsubstanz eine geringe vasodilatierende Wirkung auf.

Andererseits hat die Testsubstanz keine signifikante Wirkung an den Herzmuskelpräparaten.

7. LITERATURVERZEICHNIS

AUSTRIA-CODEX FACHINFORMATION (2004-2005) Band 1 ,
Fachinformation. Österreichische Apotheker Verlagsgesellschaft mbH Wien

Adams DJ , Nonner W (1990) Voltage - dependent potassium channels: gating, Ion permeation und block. In Potassium Channels – Struktur, classification, function and therapeutically potential. Ellis Horwood Series in pharmaceutical technology, Ellis Horwood Limited, Chichester pp 40-42

Borchard U (1987) Pharmakologie der Calcium- Antagonisten. Aesopus Verlag, Basel pp.21-22; pp.100-103

Bottiger BW, Fleischer F (1994) medical therapy for coronary heart disease. Preoperative relevance. Anesthetist 43:699-717

Chaffmann M, Brogden RN (1985) Diltiazem. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. Drugs 29:387-454

Carmeliet E (1990) the cardiac action potential. In: Rosen MR, Janse MJ, Wit AL (eds) cardiac electrophysiology: a textbook. Mount Kisco, Futura Publishing Company, pp 55-62

Catterall WA, Striessnig J (1992) Receptor sites for Ca^{2+} channel antagonist .
Trends Pharmacol Sci 13: 256-262

Curtis BM, Catterall WA (1985) phosphorylation of the calcium-antagonist
receptor of the Voltage- sensitive Ca-channel by c AMP-dependent
protein kinase. Proc Nat Acad Sci USA 82: 2528-2532

Ellenbogen KA , Dias VC , Cardello FP , Strauss WE , Simonton CA , Pollak
SJ , Wood MA, Stamler BS (1995) Safety and efficacy of intravenous
Diltiazem in arterial fibrillation or atria flutter. Am J Cardiol 75:45-49

Fleckenstein A (1983) Calcium antagonism in heart and smooth muscle.
Experimental facts and therapeutic prospects. John Wiley Publishing
Company, New York

Fleckenstein A (1984) Calcium antagonism : History and prospects for a
multifaceted pharmacodynamic principle . In: OPIE LH (eds.), Calcium
antagonists and cardiovascular disease .Raven press New York pp. 9-15

Forth W , Henschler D, Rummel W, Starke K (1996) Allgemeine und
spezielle Pharmakologie und Toxikologie . 7. Auflage, Spektrum Akademischer
Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, Oxford, pp 363-367

Furchgott RE, DE Gubareff Z, Grossmann A (1959) Release of autonomic mediators in cardiac tissue by suprathreshold stimulation. Science 129: 328-329

Gasser R, Eber B, Schwarz T, Scheffhalter E, Klein W (1993) Calcium antagonists and coronary disease. Wien Med. Wochenschr. 143: 500-509

Hashimoto K (1989) Effects of antiarrhythmic drugs on canine ventricular arrhythmia models. Folia Pharmacol Jpn 93 : 29-39

Hermann P, Rodger SD, Remons G, Thenot JP, London DR, Morselli PL (1983) pharmacokinetics of Diltiazem after intravenous and oral administration. Eur. J Clin Pharmacol 24: 349-352

Koch-Weser J (1963) effects of rate changes on strength and time course of contraction of papillary muscle. Am J Physiol 204:451-457

Kodama I, Wakabayashi S, Toyama J, Shibata S, Yamada K (1998) Electrophysiological effects of KT-362, a new antiarrhythmic agent with vasodilating action, on isolated guinea pig ventricular muscle. J Cardiovasc Pharmacol 11:687-693

Lydtin H, Trenkwalder P (1988) Calciumantagonisten. Eine kritische Analyse Springer Verlag pp 7-22

Mutschler E (1996) Kalciumantagonisten. In Mutschler E (Hrsg.) Arzneimittelwirkungen. 7. Auflage, wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH , Stuttgart, pp . 471-476

Quast U , Gullon JM , Caverio I (1994) cellular pharmacology of potassium channel openers in vascular smooth muscle .cardiovasc. Res 28:805- 810

Rameis H , Magometschnig D , Ganzinger U (1984) The diltiazem-digoxin Interaction . Clin Pharmacol Ther 36:183-186

Reiter M (1967) Die Wertstimmung inotrop wirkender Arzneimittel am isolierten Papillarmuskel. Arzneim. Forsch 17:1249-1253

Reuter H (1986) Voltage-dependent mechanisms for raising intracellular free calcium concentration: calcium channels. In: calcium and the cell. Ciba Foundation Symposium 122, Wiley J and sons, Chichester New York Brisbane Toronto Singapore pp 5-22

Robertson DW, Steinberg MI (1990) Potassium Channel Modulators: Scientific Applications and therapeutic promise. J Med Chem. 33:1529-1541

Scholz H, Eschenhagen T, Mende U, Neumann J, Schmitz W, Steinfath M (1992) possible mechanisms of positive inotropic effect of α -adrenergic receptor stimulation in heart. In Fugiwara M, Suigimoto T, kogure K (eds.) α -

adrenoreceptor : Signals transduction, ionic channels and effectors organs. Experta Medica., Amsterdam, Hong Kong, Princeton, Sydney, Tokyo, pp.101-111

Schwartz A (1992) Molecular and cellular aspects of calcium channel antagonism. Am J Cardiol 70 : 6F-8F

Silbernagel S , Despopoulos A (1991) Taschenaltas der Physiologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart pp 164-165

Tsien RW, Hess P, Mc Cleskey EW, Rosenberg RL (1987) Calcium channels: mechanism of selectivity , permeation and block. Annu Rev Biophya Chem. 16: 265 – 290

Tsien RW, Lipscombe D, Madison DV, Bley KR, Fox AP (1988) Multiple types of neuronal calcium channels and their selective modulation. Trends Neurosci 11 : 431 – 438

8. LEBENSLAUF

VORNAME : Sherif

NACHNAME : GHALI

GEBUTSDATUM : 26. 12. 1981

GEBUTSORT : Ägypten / Assiut

**STATTS-
BÜRGERSCHAFT** : Ägypter

FAMILIENSTAND : Verheiratet

**SCHULE-
AUSBILDUNG** : 1987 – 1992 Volksschule (Assiut)

1992 – 1995 AHS (Unterstufe)

1995 – 1997 AHS (Oberstufe)

1998 Matura

STUDIUM : 1998 – 2003 Studium Pharmazie

in Ägypten / Assiut

BERUFSERFAHRUNG : 2003 – 2004 Apotheker in Kairo/ El-
Giza