



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Pharmakologische Wirkung

von zwei neu synthetisierten heterocyclischen Verbindungen  
(LKR1, GK3s)

auf Herzmuskelpräparate und glatte Muskulatur  
von Meerschweinchen

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasserin: Gracjana Gaweda

Matrikel-Nummer: 0201377

Studienrichtung: Pharmazie A449

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

Wien, im Juli 2009

## **Danksagung**

Mein größter Dank richtet sich an meine Familie, insbesondere an meine Eltern und meinen Bruder Patrick, die mich während meiner Studienzeit immer begleitet und unterstützt haben.

Meiner Studienkollegin Nicola möchte ich von ganzen Herzen für die entstandene Freundschaft, die Zusammenarbeit und den gemeinsamen Weg durch das ganze Studium danken.

Ich möchte mich an dieser Stelle auch beim Herrn Ao. Univ- Prof. Mag. Dr. Christian Studenik für seine kompetente Betreuung, Hilfsbereitschaft und seinen Optimismus während der Diplomarbeit bedanken.

Weiters möchte ich mich bei den Kollegen aus dem Diplomarbeitslabor und beim Herrn Peter Höflich für die praktische Einführung bedanken.

Meinen herzlichsten Dank richte ich an meinen Verlobten Georg, der mich in jeglicher Hinsicht am langen Ende meines Studiums so großartig und geduldig unterstützt hat und immer an mich geglaubt hat.

Aus diesem Grund möchte ich ihm diese Arbeit widmen.

# Inhaltsverzeichnis

|                                                                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Einleitung .....</b>                                                                                                       | <b>1</b>  |
| 1.1. Schwefelwasserstoff .....                                                                                                   | 1         |
| 1.1.1. Pathophysiologische- und Physiologischer Wirkung .....                                                                    | 1         |
| 1.1.2. Wirkmechanismus .....                                                                                                     | 2         |
| 1.2. Resveratrol .....                                                                                                           | 3         |
| 1.2.1. Vorkommen von Resveratrol .....                                                                                           | 3         |
| 1.2.2. Pathophysiologische Bedeutung und medizinische Empfehlung.....                                                            | 4         |
| 1.2.3. Physiologische Wirkungen von Resveratrol .....                                                                            | 5         |
| 1.2.4. Bioverfügbarkeit von Resveratrol.....                                                                                     | 8         |
| <b>2. Ziel der Arbeit .....</b>                                                                                                  | <b>9</b>  |
| <b>3. Material und Methoden .....</b>                                                                                            | <b>11</b> |
| 3.1. Versuchstiere .....                                                                                                         | 11        |
| 3.2. Isolierung und Präparation der Versuchsorgane .....                                                                         | 11        |
| 3.2.1. Isolierung und Präparation des terminalen Ileums .....                                                                    | 11        |
| 3.2.2. Isolierung und Präparation der Aorta .....                                                                                | 12        |
| 3.2.3. Isolierung und Präparation des rechten Vorhofs .....                                                                      | 12        |
| 3.2.4. Isolierung und Präparation der Arteria pulmonalis .....                                                                   | 13        |
| 3.2.5. Isolierung und Präparation des Papillarmuskels .....                                                                      | 13        |
| 3.3. Physiologische Nährlösungen .....                                                                                           | 14        |
| 3.3.1. Nährlösung für das terminale Ileum, die Aorta, den rechten Vorhof, den<br>Papillarmuskel und die Arteria pulmonalis ..... | 14        |
| 3.4. Versuchsanordnung .....                                                                                                     | 15        |
| 3.4.1. Verwendete Versuchsausrüstung für terminales Ileum, Aorta und Arteria pulmonalis<br>.....                                 | 16        |
| 3.4.2. Verwendete Versuchsausrüstung für den rechten Vorhof und den Papillarmuskel.                                              | 19        |
| 3.5. Versuchsablauf .....                                                                                                        | 23        |

|                                                                                           |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.5.1. Versuchspräparat des terminalen Ileums.....                                        | 23        |
| 3.5.2. Versuchspräparat der Arteria pulmonalis.....                                       | 24        |
| 3.5.3. Versuchspräparat der Aorta.....                                                    | 24        |
| 3.5.4. Versuchspräparat des rechten Vorhofs.....                                          | 25        |
| 3.5.5. Versuchspräparat des Papillarmuskels.....                                          | 26        |
| 3.5.6. Ablauf der Lösungsmittelversuche.....                                              | 27        |
| 3.6. Untersuchte Substanzen.....                                                          | 28        |
| 3.7. Messgrößen – Statistik.....                                                          | 31        |
| <b>4. Ergebnisse.....</b>                                                                 | <b>33</b> |
| 4.1. Wirkung von GK3S auf diverse isolierte Organe des Meerschweinchens .....             | 33        |
| 4.1.1. Wirkung von GK3S auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums ....   | 33        |
| 4.1.2. Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta .....              | 37        |
| 4.1.3. Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis ..... | 41        |
| 4.1.4. Wirkung von GK3s auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs.....        | 45        |
| 4.1.5. Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels .....    | 49        |
| 4.2. Wirkung von LKR1 auf diverse isolierte Organe .....                                  | 53        |
| 4.2.1. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums .....  | 53        |
| 4.2.2. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta .....              | 57        |
| 4.2.3. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis ..... | 61        |
| 4.2.4. Wirkung von LKR1 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs.....        | 65        |
| 4.2.5. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels .....    | 69        |
| <b>5. Diskussion .....</b>                                                                | <b>73</b> |
| 5.1. Wirkung von GK3s auf die isolierten Organe vom Meerschweinchen.....                  | 74        |
| 5.1.1. Untersuchung am terminalen Ileum .....                                             | 74        |
| 5.1.2. Untersuchung an der Aorta.....                                                     | 75        |
| 5.1.3. Untersuchung an der Arteria pulmonalis.....                                        | 76        |
| 5.1.4. Untersuchung am rechten Vorhof .....                                               | 77        |
| 5.1.5. Untersuchung am Papillarmuskel .....                                               | 78        |

|                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.2. Wirkung von LKR1 auf die isolierten Organe vom Meerschweinchen..... | 79        |
| 5.2.1. Untersuchung am terminalen Ileum .....                            | 79        |
| 5.2.2. Untersuchung an der Aorta.....                                    | 80        |
| 5.2.3. Untersuchung an der Arteria pulmonalis.....                       | 81        |
| 5.2.4. Untersuchung am rechten Vorhof .....                              | 82        |
| 5.2.5. Untersuchung am Papillarmuskel .....                              | 83        |
| <b>6. Zusammenfassung .....</b>                                          | <b>84</b> |
| <b>7. Literaturverzeichnis .....</b>                                     | <b>85</b> |
| <b>8. Curriculum vita .....</b>                                          | <b>88</b> |

# **1. Einleitung**

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Wirkung der neu synthetisierten heterocyclischen Verbindungen GK3s und LKR1 auf verschiedene isolierte Organe des Meerschweinchens untersucht.

## **1.1. Schwefelwasserstoff**

### **1.1.1. Pathophysiologische- und Physiologischer Wirkung**

Die Testsubstanz LKR1 setzt im menschlichen Organismus einen gasförmigen Botenstoff nämlich Schwefelwasserstoff ( $\text{H}_2\text{S}$ ) frei.

Im Allgemeinen hielt man Schwefelwasserstoff für ein toxisches Gas, welches Organe wie Lungen, Niere und das Nervensystem und Gehirn schädigen kann.

Außerdem kann Schwefelwasserstoff in der glatten Gefäßmuskulatur aus der Aminosäure L- Cystein durch das Enzym Cystathionin-  $\gamma$ - Lyase gebildet werden. In der glatten Gefäßmuskulatur des Ileums katalysieren sowohl Cystathionin-  $\gamma$ - Lyase als auch das Enzym Cystathionin-  $\beta$ - Synthase die Entstehung von Schwefelwasserstoff aus L- Cystein.

Anhand von einer Studie (Hosoki et al. 1997) wurde festgestellt, dass Schwefelwasserstoff eine physiologisch protective Funktion im Kardiovaskulärsystem hat. Die Studie ergab eine Relaxation glatter Gefäßmuskulatur einschließlich der Aorta und Pfortader. Neben Stickstoffmonoxid (NO) und Kohlenstoffmonoxid (CO) spielt Schwefelwasserstoff ( $\text{H}_2\text{S}$ ), eine wichtige Rolle in der Regulation des Tonus der glatten Muskulatur und der Blutdrucksenkung.

Die Studie der Universität von Saskatchewan in Kanada kam auf diesem Gebiet zu erstaunlichen Ergebnissen.

Es wurde der gefäßerweiternde Effekt von Schwefelwasserstoff auf vaskuläre und intestinale glatte Muskel Zellen von Ratten untersucht. Sowohl in der Aorta als auch in der Pfortader von Ratten konnte eine Schwefelwasserstoff induzierte und dosisabhängige Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur gemessen werden. Weiters konnte ein hoher Blutdruck der Ratten durch eine intravenöse Bolusinjektion gesenkt werden. (Zhao et al. 2002)

### **1.1.2. Wirkmechanismus**

Der genaue Wirkmechanismus der gefäßerweiternden Wirkung von Schwefelwasserstoff ist noch nicht ausreichend untersucht.

Es wird eine ATP- abhängige Aktivierung des Kalium Kanals glatter Muskelzellen vermutet. Schwefelwasserstoff öffnet ATP- abhängige Kalium Kanäle, was zu einer Hyperpolarisation der Zellmembran und zur Schließung spannungsabhängiger Calcium- Kanäle führt. Das bedeutet, dass der extrazelluläre Calciumeinstrom vermindert wird und dadurch die Gefäßerweiterung erklärt werden kann. Dieser vermutete Wirkmechanismus zeigt, dass Schwefelwasserstoff auf einer anderen Ebene als weitere wichtige gefäßerweiternde Botenstoffe wie Stickstoffmonoxid (NO) angreift und von diesem unabhängig ist.

Außerdem wurde untersucht, dass eine intaktes Endothel die relaxierende Wirkung steigern und verlängern kann. (Zhao et al. 2002)

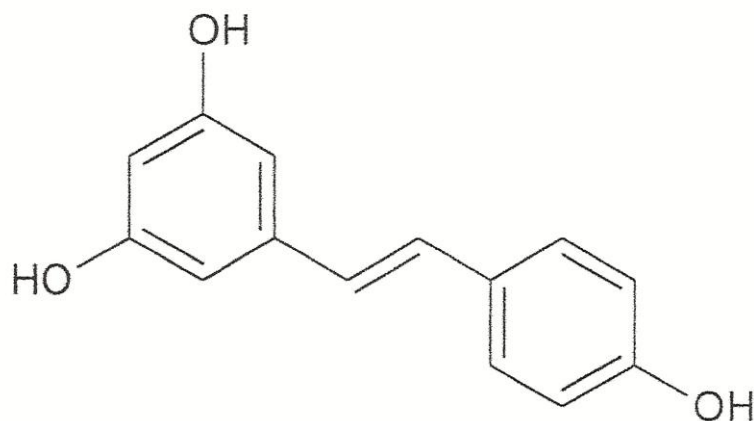
Aufgrund dieser Ergebnisse wird in Zukunft in Substanzen, die Schwefelwasserstoff freisetzen, ein großes Potential im Einsatz als blutdrucksenkende Wirkstoffe erwartet.

## 1.2. Resveratrol

### 1.2.1. Vorkommen von Resveratrol

Die Testsubstanz GK3s leitet sich vom sekundären Pflanzeninhaltsstoff Resveratrol ab, welcher zur Gruppe der Flavonoide gehört. Resveratrol kommt in einer ganzen Reihe von Pflanzenfamilien wie zB. Himbeeren, Preiselbeeren, Eukalyptus, Vertretern der Vitaceae und Erdnüssen, vor. Als Hauptquelle erwies sich die weit verbreitete Kulturpflanze *Vitis vinifera* aus der Familie der Vitaceae, welche zur Herstellung von Wein genutzt wird. Der Inhaltsstoff kann in Traubenkernen, Stielen, Wurzeln und Samen nachgewiesen werden. Die höchste Konzentration aber findet man in Traubenschalen (50-100 µg/). (Celotti et al. 1996)

**Abb. 1:** Strukturformel und Nomenklatur von Resveratrol



5-(E-2(4- hydroxyphenyl)vinyl)-benzen-1,3-diol

Es handelt sich bei Resveratrol (3,5,4 – Trihydroxystilben) um ein „Phytoalexin“. „Alexin“ stammt aus dem Griechischen und heißt „sich schützen“ bzw. „von sich weisen“. Phytoalexine sind antibiotisch aktive Verbindungen, welche als Bestandteil



eines komplexen Selbstverteidigungssystems der Pflanzen fungieren. (Celotti et al. 1996)

Resveratrol wird von Pflanzen bei erhöhter Ozonbildung, UV- Strahlung, Schadstoffbelastung, Pilz- oder Insektenbefall und anderen Infektionen als Abwehrstoff gebildet. (Urena et al. 2003)

Interessanterweise aufgrund der Funktion als Phytoalexin, kommt Resveratrol höher konzentriert in Trauben kühlere Regionen vor, da die Pilzinfektionen dort häufiger auftreten als in wärmeren Klimazonen. (Kopp 1998)

Weiters haben spanische Wissenschaftler nachgewiesen, dass der Gehalt an Resveratrol um das zwei- bis dreifache ansteigt, wenn es vor der Gärung mit UV-Strahlung behandelt wurde. (Cantos et al 2000)

Es kommt in der Natur in verschiedenen Formen vor- als cis- oder trans- Resveratrol, wobei trans- Resveratrol am häufigsten zu finden ist, - sowie als seine Glucoside, die als Piceide bezeichnet werden. (Hung et al. 1997)

### **1.2.2. Pathophysiologische Bedeutung und medizinische Empfehlung**

Resveratrol und seine Glucoside wurden schon lange in der traditionellen Medizin in China, Japan und Thailand verwendet, (Schmandke 2002) um Erkrankungen der Blutgefäße, des Herzens, der Leber und der Lunge zu heilen.

Erstmals isoliert und identifiziert wurde es 1963 aus der Wurzel des Grasgewächses „*Polygonum cuspidatum*“.

Seine Bedeutung wurde aber erst 1992, nachdem Resveratrol als Bestandteil der Polyphenolfraction des roten Weines identifiziert wurde, erkannt. (Soleas et al. 1997)

Außerdem sorgte Resveratrol aufgrund vom „französischen Paradoxon“ für Aufsehen. Dieses besagt nämlich, dass die französische Bevölkerung trotz hohem Konsum an Nikotin und gesättigten Fettsäuren eine niedrige Rate an Herz-

Kreislaufkrankungen aufweist. Der Grund dafür wird im regelmäßigen Konsum von Rotwein vermutet. (Kompek 2006)

Eine Zehnjahresstudie der WHO in 41 Städten der Welt durchgeführt, kam zu dem Ergebnis, dass ein extremer Unterschied zwischen Ländern mit hohem und niedrigen Weinkonsum im Bezug auf koronare Herzerkrankungen besteht. In den U.S.A, Kanada und England ist das Herzinfarktrisiko im Durchschnitt bei Männern drei Mal und bei Frauen sogar zwölf Mal so hoch wie bei den „Weinliebhabern“ in Frankreich.

Durch diese Studie wurde von der WHO der Entschluss gefasst, ein bis zwei Gläser Wein für Frauen und ein bis drei Gläser Wein für Männer pro Tag zur Gesundheitsvorsorge zu empfehlen. (Kompek 2006)

### **1.2.3. Physiologische Wirkungen von Resveratrol**

Resveratrol wirkt nicht nur in bestimmten Pflanzen positiv. Es führte auch über zahlreiche Studien zu der Entdeckung, dass im menschlichen Körper durchaus zahlreiche positive pharmakologische Wirkungen zu erwarten sind. Es wurde als Nahrungsergänzungsmittel zugelassen.

Zu den physiologischen Wirkungen zählen:

#### Antioxidative Aktivität, Schutz vor Arteriosklerose und koronaren Herzerkrankungen

Resveratrol ist ein hochwirksamer Radikalfänger aus der Natur und mindert oxidativen Stress. Es gehört zu der Gruppe der ambiphilen Antioxidantien, da sowohl fett- als auch wasserlöslich ist. (Kompek 2006)

Resveratrol hemmt die Thrombozytenaggregation durch Steigerung der Prostacyclinsynthese und Abnahme der Thromboxane. Dadurch werden die Blutgefäße erweitert. Diesbezüglich ist Resveratrol stärker als Substanzen wie Catechin, Epicatechin, Alpha-Tocopherol und Hydrochinon. (Hung et al. 2000 et Kirk et al. 2000)

Weiters wird im Zusammenhang mit Resveratrol eine vermehrte Stickstoffmonoxidfreisetzung diskutiert. Dieser Botenstoff fungiert im menschlichen Organismus als einer der stärksten Vasodilatoren und erweitert unter anderem Blutgefäße. Er setzt auch die Thrombozytenadhäsion- und aggregation herab. (Soleas et al. 1997, Mutschler et al. 2001)

Außerdem verschiebt Resveratrol die Cholesterinbalance auf Seite des High-density- Lipoproteins indem es die Kupfer- katalysierte Oxidation vom Low- density- Lipoproteins hemmt. Dadurch wird die Entstehung von arteriosklerotischen Plaque vermindert. (Frankel et al. 1993)

Durch diese vielfältigen Aspekte ist Resveratrol kardioprotectiv und trägt zur Vorbeugung von koronaren Herzerkrankungen bei.

#### Dosisabhängiger phytoöstrogener Effekt

Da Resveratrol ein Stilbenderivat ist, wird es wie die Isoflavone in die Gruppe der Phytohormone gereiht. Eine schwach östrogene Wirkung ist aber erst ab einer Dosis von 200 mg trans- Resveratrol zu erwarten. (Kompek 2006)

#### Anti- Aging- Faktor

Die Harvard Medical School hat untersucht, ob Resveratrol zu einer Verlängerung der Lebenserwartung durch Verlangsamung der Zellalterung beiträgt. Laut de Studie wurde die Lebensdauer der Fruchtfliege um 30%, die der Hefezellen um 60- 80% verlängert.

Resveratrol aktiviert ebenso wie eine kalorische Restriktion zB. bei einer Dürreperiode der Pflanzen oder Hungersnot bestimmte Enzyme – die sogenannten Sirtuine. Diese setzten lebensverlängernde Mechanismen in Gang. Durch Verlangsamung des Zellmetabolismus und durch Verstärkung der Zellatmung wird der Körper unterstützt Reparaturmechanismen wie Behebung von DNA- Schäden zu vollziehen. (Kompek 2006)

## Nootropicum

Resveratrol aktiviert die MAP- Kinase (Mitogen- aktivierte Proteinkinase), welche ein Enzym der Gehirnzellen ist. Dadurch werden das Wachstum von Nervenfortsätzen und die Gedächtnisleistung gesteigert. (Orgogozo et al. 1999)

## Einfluss auf Zellproliferation und Zellstoffwechsel

In Tierversuchen und Zellkulturen konnte gezeigt werden, dass Resveratrol antimutagene und anticarcinogene Eigenschaften besitzt.

Es hemmt die Aktivität der DNA- Polymerase, der Ribonucleotidreductase und der Ornithindecaboxylase. Die Ornithindecaboxylase ist beim Tumorwachstum erhöht. (Fontecave et al. 1998)

Außerdem vermutet man eine Erhöhung der Sensitivität des Tumornekrosefaktors. (Kompek 2006)

In China wurde Resveratrol im Tierversuch an Mäusen und Ratten mit dem Cytostaticum 5- Fluoruracil gegen Leberkrebs getestet. Der Versuch zeigte, dass Resveratrol in der Lage ist Metastasen zu verhindern. (Wu et al. 2004)

Da Resveratrol als Stilbenderivat mit dem synthetischen Östrogen Diethylstilbestrol verwandt ist, konnte eine Antitumorwirkung bei Mammakarzinomen im Tierversuch an Mäusen nachgewiesen werden. Leider zeigt sich dieser Effekt nicht bei der Anwendung am Menschen. (Gehm et al. 1997)

#### **1.2.4. Bioverfügbarkeit von Resveratrol**

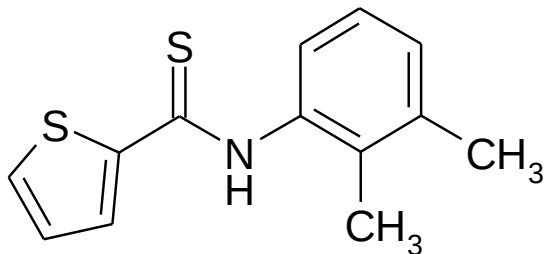
Resveratrol verteilt sich schnell im Organismus und wird zu ca. 90% resorbiert. (Goldberg et al. 2003). Es besitzt jedoch aufgrund einer schnellen Clearance nur eine kurze Verweildauer im Blutkreislauf. (Soleas et al. 2001)

Ein Großteil wird durch Glucuronid- Konjugation in der Leber metabolisiert und als trans- Resveratrol- 3- O- glucuronid und trans- Resveratrol- 3- sulfat renal eliminiert. (Yu et al. 2002)

## 2. Ziel der Arbeit

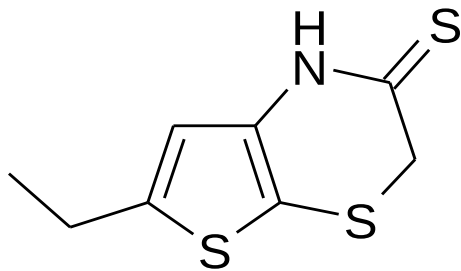
Ziel der Diplomarbeit war, die neu synthetisierte Schwefelwasserstoff freisetzende Verbindung LKR1 und das neu synthetisierte Resveratrol-derivat GK3s an verschiedenen isolierten Organen des Meerschweinchens zu testen. Die Testsubstanzen wurden jeweils an isolierten und für die Versuchsanordnung speziell präparierten Organen untersucht. Danach konnte man anhand der gemessenen Ergebnisse ein Wirkprofil für GK3s und LKR1 erstellen. Dadurch ließen sich die Wirkprofile von LKR1 mit dem in Studien untersuchten Schwefelwasserstoff und von GK3s mit dem erforschten Naturstoff Resveratrol vergleichen.

**Abb. 2:** Struktur und Nomenklatur von GK3S



*N*-(2,3-Dimethylphenyl)-2-thiophencarbothioamid

**Abb. 3:** Struktur und Nomenklatur von LKR1



6-Ethyl-2,3-dihydro-1*H*-thieno[2,3-*b*][1,4]thiazin-2-thion

Am isolierten Herzen vom Meerschweinchen wurde sowohl die mögliche positive oder negative chronotrope Wirkung von GK3s bzw. LKR1 auf die quergestreifte Muskulatur des rechten Vorhofs, als auch die eventuelle positive oder negative chronotrope Wirkung von GK3s bzw. LKR1 auf die quergestreifte Muskulatur des Papillarmuskels.

Weiters wurde der Einfluss der Testsubstanzen von GK3s und LKR1 auf die Kontraktionskraft der glatten Muskulatur des terminalen Ileums, der Aorta und der Arteria pulmonalis erforscht.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1. Versuchstiere**

Die Versuchstiere für die Diplomarbeit stammten aus dem Institut für Laborkunde und Genetik in Himberg. Es handelte sich hierbei um etwa einen Monat alte weibliche und männliche Meerschweinchen.

Die Versuchstiere wurden durch einen schnellen und gezielten Genickschlag getötet. Danach sind an den isolierten Organen der Tiere die Versuche durchgeführt worden.

Die schnelle Explantation der Organe war für eine erfolgreiche Versuchsdurchführung sehr ausschlaggebend. Nach der Entnahme der Organe mussten diese sofort in eine Nährstofflösung gelegt und mit ausreichend Sauerstoff begast werden. Zu diesem Zweck stand die jeden Morgen frisch zubereitete und mit Oxy mix (95% Sauerstoff, 5% Kohlendioxid) begaste Elektrolytlösung bereit.

### **3.2. Isolierung und Präparation der Versuchsorgane**

#### **3.2.1. Isolierung und Präparation des terminalen Ileums**

Dem toten Meerschweinchen wurde etwa 20 Zentimeter des vor dem Caecum befindlichen terminalen Ileums entnommen. Damit das obere jejunale Ende nicht mit dem unteren caecalen Ende nicht verwechselt wurde, markierte man es oben mit einem roten Bindfaden und legte es in die vorbereitete Nährstofflösung.

Für jeweils einen Versuch schnitt man sich etwa 0,5-1 Zentimeter vom terminalen Ileum ab. Es war wichtig die beiden Enden nicht zu vertauschen. Der Darmabschnitt wurde vorsichtig mit dem jejunalen Ende nach Oben auf eine Korkplatte, welche sich in einer mit Nährstofflösung gefüllte Petrischale befand, mit Stecknadeln fixiert. Die Stecknadeln mussten an der Unterseite der unteren und oberen Enden des



Darmstücks zu platziert werden, damit man durch den offenen Darmabschnitt den Darminhalt mit einer Pasteurpipette ausspülen konnte. Danach montierte man an beiden Enden an Stelle der Stecknadeln jeweils ein Silberdrahthäkchen mittels Binfaden. Hierbei musste wieder auf die beidseitige Offenhaltung des Darmstücks Acht gegeben werden, damit die Testsubstanz von allen Seiten auf das Organstück einwirken konnte.

### **3.2.2. Isolierung und Präparation der Aorta**

Um die am Rückrat liegende Aorta entnehmen zu können musste vorher das Herz entfernt werden. Es wurde ein etwa drei bis vier Zentimeter langes Stück der Aorta vorsichtig entlang der Wirbelsäule herausgeschnitten und in ein mit begaster Nährstofflösung vorbereitetes Becherglas gelegt.

Danach wurde die Aorta an beiden Enden mit Stecknadeln in einer mit Kork ausgelegten und mit Nährlösung gefüllten Petrischale fixiert. Damit der Versuch bestmöglich ablaufen konnte, wurde mit einer Federschere unter dem Mikroskop das anhaftende Fett- und Muskelgewebe entfernt.

Im Anschluss wurde die Aorta in drei bis vier Millimeter breite Ringe geschnitten, welche direkt und ohne weitere Präparation in die Versuchsanordnung eingespannt werden konnten.

### **3.2.3. Isolierung und Präparation des rechten Vorhofs**

Nachdem das Versuchstier durch einen Genickschlag getötet wurde, wurde der Thorax geöffnet und das etwa zwei Zentimeter große Herz entnommen. Da das Herz am empfindlichsten auf einen Sauerstoff- und Nährstoffmangel reagiert, musste mit dem Versuchsorgan schnell hantiert werden. Das entnommene Organ wurde mit Stecknadeln an Basis und Spitze auf eine sich in einer Petrischale befindende

Korkplatte fixiert. In der Petrischale befand sich die begaste Nährstofflösung, welche auch während der Präparation mit Oxymix begast wurde.

Das Pericard wurde entfernt und der rechte Vorhof wurde ohne den spontanen schlagenden Sinusknoten dabei zu verletzen entlang des Sulcus coronarius von den Ventrikeln abgetrennt.

Danach wurden Silberdrahhäkchen an der gegenüberliegenden Seite des Herzrohrs und im weißen Fettgewebe mit Hilfe eines Bindfadens angebracht. Dadurch konnte mittels der Hähchen das präparierte Organ in die Versuchsanordnung eingespannt werden.

#### **3.2.4. Isolierung und Präparation der Arteria pulmonalis**

Die Arteria pulmonalis befindet sich direkt am Herzen und führt von diesem weg. Danach teilt sie sich in einen rechten und linken Ast. Für die Versuche wurde nur das Stück, welches vom Herzen bis zur Gabelung reichte, benötigt. Daher war es bedeutsam die Pulmonalarterie so nahe wie möglich am Herzen zu entnehmen.

Im Anschluss befestigte man die isolierte Arterie auf einer Korkplatte, die in einer mit Tyrode gefüllten Petrischale platziert war. Anhaftendes Fett- und Muskelgewebe wurden mit einer Federschere entfernt ohne die Pulmonalarterie dabei zu verletzen. Danach schnitt man sie in drei bis vier Millimeter breite Ringe, welche daraufhin direkt in die Versuchsanordnung eingespannt werden konnten.

#### **3.2.5. Isolierung und Präparation des Papillarmuskels**

Der rechte Ventrikel des isolierten Herzens wurde am Septum entlang bis zur Herzspitze geöffnet. Durch Aufklappen konnte er mit Präpariernadeln auf einer Korkplatte fixiert werden. Danach entfernt man die Purkinjefasern, die wie ein Herzschrittmacher wirken und durch die Spontanaktivität die Versuche beeinflussen könnten.

Dann wurde ein Silberdrahthäkchen an der Papillarmuskelsehne mittels Bindfaden montiert. Nach der Durchtrennung dieser Sehne wurde der Papillarmuskel ohne ihn zu überdehnen herausgeschnitten. Er wurde bis zum Einspannen in die Versuchsanordnung in ein mit Oxygem begastes und mit Nährlösung gefülltes Becherglas eingelegt.

### **3.3. Physiologische Nährlösungen**

Die Aufgabe der physiologischen Nährlösung, auch Tyrode genannt, war nach Explantation der Organe deren weitere Funktion zu gewährleisten. Die an jedem Arbeitstag frisch zubereitete Tyrode wurde zusätzlich vor Beginn der Versuchsreihe mit Oxygem, das aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid bestand, begast.

#### **3.3.1. Nährlösung für das terminale Ileum, die Aorta, den rechten Vorhof, den Papillarmuskel und die Arteria pulmonalis**

Diese Tyrode entspricht einer modifizierten Krebs- Henseleit- Lösung, die nach einer Vorschrift von Reiter (1967) bereitet wurde.

Die Nährlösung wurde an jedem Versuchstag frisch zubereitet. Zu diesem Zweck wurden entsprechende Volumina an bereitgestellten Stöcklösungen mit Aqua bidestillata auf etwa dreiviertel des Fassungsvermögens des Kolbens aufgefüllt und anschließend ca. 20 Minuten mit Oxygem begast. Dann erst wurde die noch fehlende Calciumchloridlösung mittels Pipette langsam der mit Oxygem gesättigten Tyrode zugetropft. Durch langsames Zutropfen mit der Pipette wurde das Ausfallen der schwerlöslichen Calciumsalze und eine Trübung der Nährlösung verhindert. Zum Schluss wurde der Kolben bis zur Marke mit Aqua bidestillata aufgefüllt und mehrmals umgeschwenkt.

**Tabelle 1:** *Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung für das terminale Ileum, die Aorta, den rechten Vorhof, den Papillarmuskel und die Arteria pulmonalis*

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

### 3.4. Versuchsanordnung

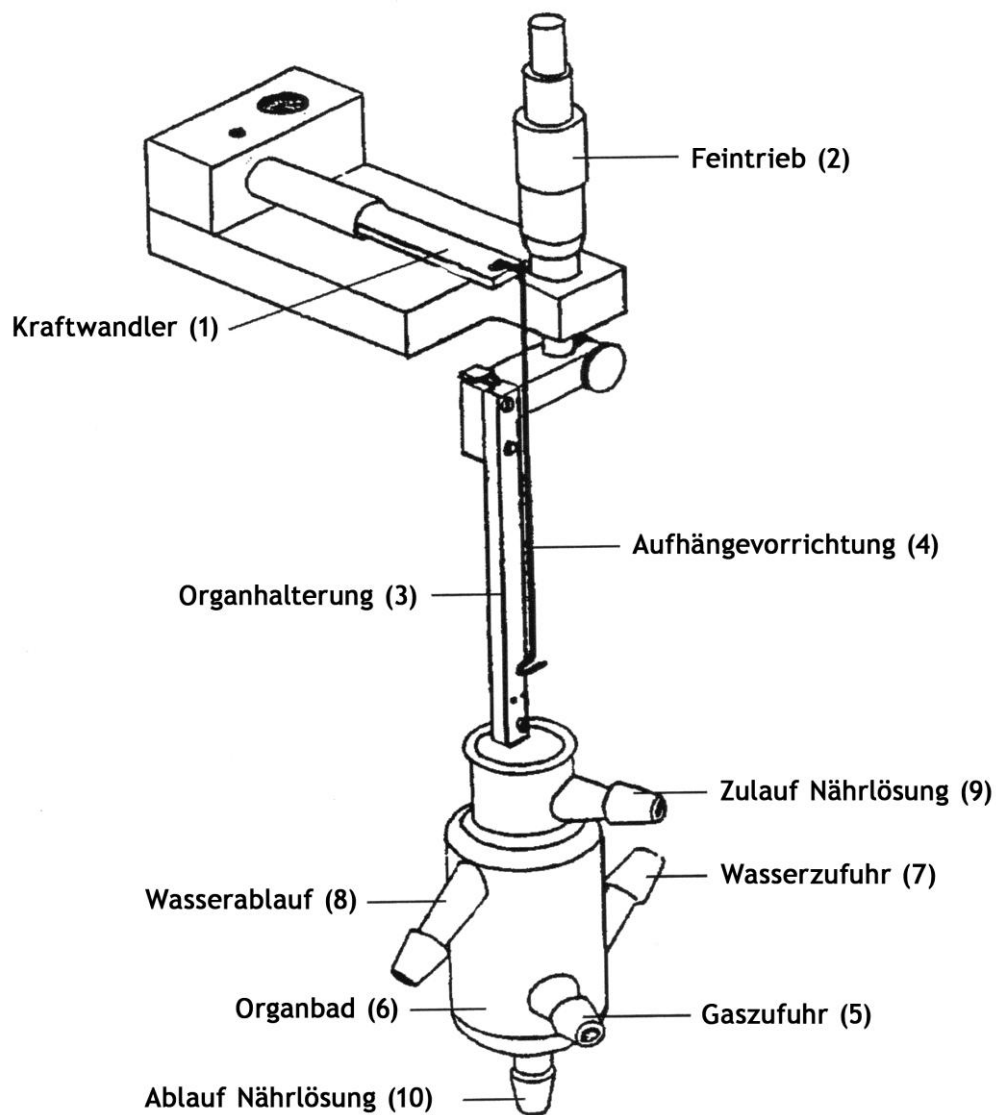
Man verwendete für die Versuche an den isolierten Organen des Meerschweinchens zwei verschiedene Apparaturen.

Diese unterschieden sich aufgrund des Aufbaus und des Fixierungsmechanismus. Das Funktionsprinzip war jedoch gleich.

Mittels der beiden Apparaturen war es möglich physiologische Bedingungen eines Organismus hinsichtlich pH-Wert, Temperatur und Sauerstoffversorgung für die isolierten Organe zu simulieren.

### 3.4.1. Verwendete Versuchsaapparatur für terminales Ileum, Aorta und Arteria pulmonalis

**Abb. 4:** Apparatur für die Versuche am terminalen Ileum, an der Aorta und an der Arteria pulmonalis



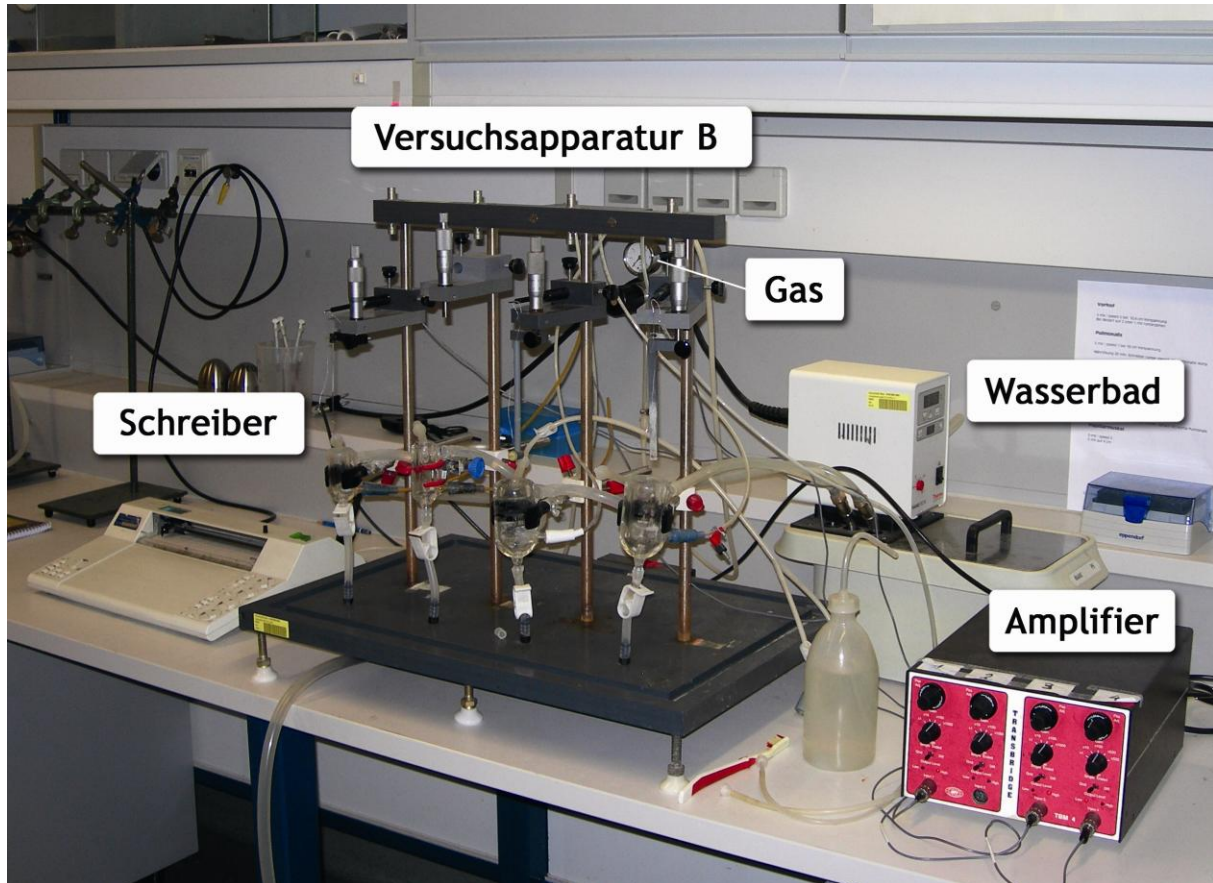
#### **Legende zu Abb. 4:**

Das Wasserbad dieser Apparatur war aus einem doppelwandigen Glasgefäß, durch welches zwischen den Wänden 37°C warmes Wasser zirkulierte. Die Einleitung des Heizwassers und die Sauerstoffzufuhr war über ein Schlauchsystem geregelt. Der Ablaufschlauch, welcher sich unter dem Boden des Organbades befand, ermöglichte durch eine Quetschklemme den Wechsel der Lösungen und die Reinigung des Gefäßes.

Die Aufhängevorrichtung, welche an den Kraftwandler montiert war, war ein Silberdraht. Dieser endete mit einer Drahtschlaufe in welche das obere Häkchen des präparierten terminalen Ileums eingehängt werden konnte. Während bei der Organhalterung das untere Ende eine Drahtschlaufe besaß in welche wiederum das untere Häkchen eingehängt werden konnte. Die präparierten Ringstücke der Aorta und Arteria pulmonalis konnten aufgrund ihrer Ringform direkt auf die Drahtschlaufen aufgezogen werden.

Dann wurde mit Hilfe des Feintriebs eine Vorspannung, welche die größtmögliche Kontraktionskraft am isolierten Organ induzierte, angelegt.

**Abb. 5: Originalfotos der Versuchsanordnung B mit dem angeschlossenen Amplifier (Verstärker) und dem Schreiber**



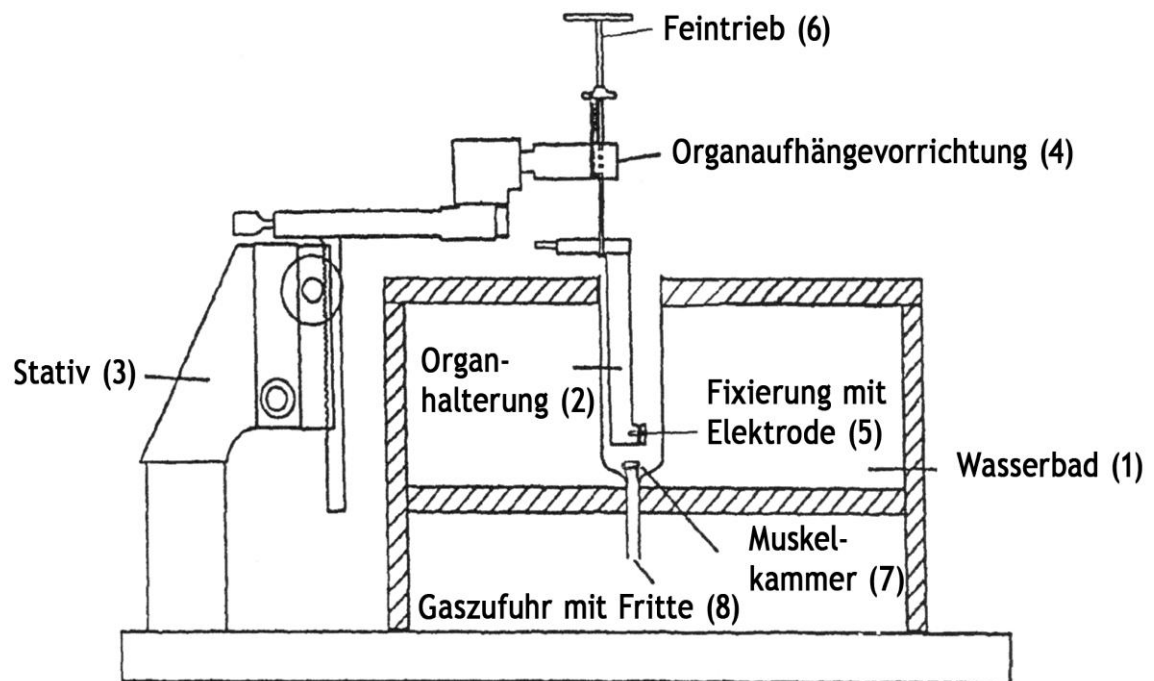
**Legende zu Abb. 5:**

Der Kraftwandler (hergestellt von World Precision Instruments, Sarasoto, Florida, USA) wandelte die mechanischen Kontraktionen des Organs in elektrische Impulse um. Die Signale wurden von einem angeschlossenen Verstärker („4-Channel-Transducer Amplifier“, von World Precision Instruments, Sarasoto, Florida, USA) vergrößert und konnten von einem angeschlossenen Schreiber (Flatbed Recorder BD-112 Dual Chanel von der FA. Kipp&Zonen, Niederlande) aufgezeichnet werden. In den Schreiber mit automatischem Papiervorschub war Millimeterpapier eingespannt.

Die aufgezeichneten Signale waren somit sichtbar und konnten ausgewertet werden.

### 3.4.2. Verwendete Versuchsanordnung für den rechten Vorhof und den Papillarmuskel

**Abb.6:** Apparatur für die Versuche am isolierten rechten Vorhof und am Papillarmuskel





### **Legende zu Abb. 6:**

Diese Versuchsanordnung A bestand aus einem aus Plexiglas hergestellten Wasserbad. Die Temperatur des sich im Wasserbad befindenden Wassers ist mittels eines Thermostats konstant gehalten worden. Beim rechten Vorhof betrug die Wassertemperatur 37°C und beim Papillarmuskel 35°C.

Im Deckel des Wasserbades befand sich das Organbad, welches beim Versuch in das temperierte Wasser abgesenkt wurde.

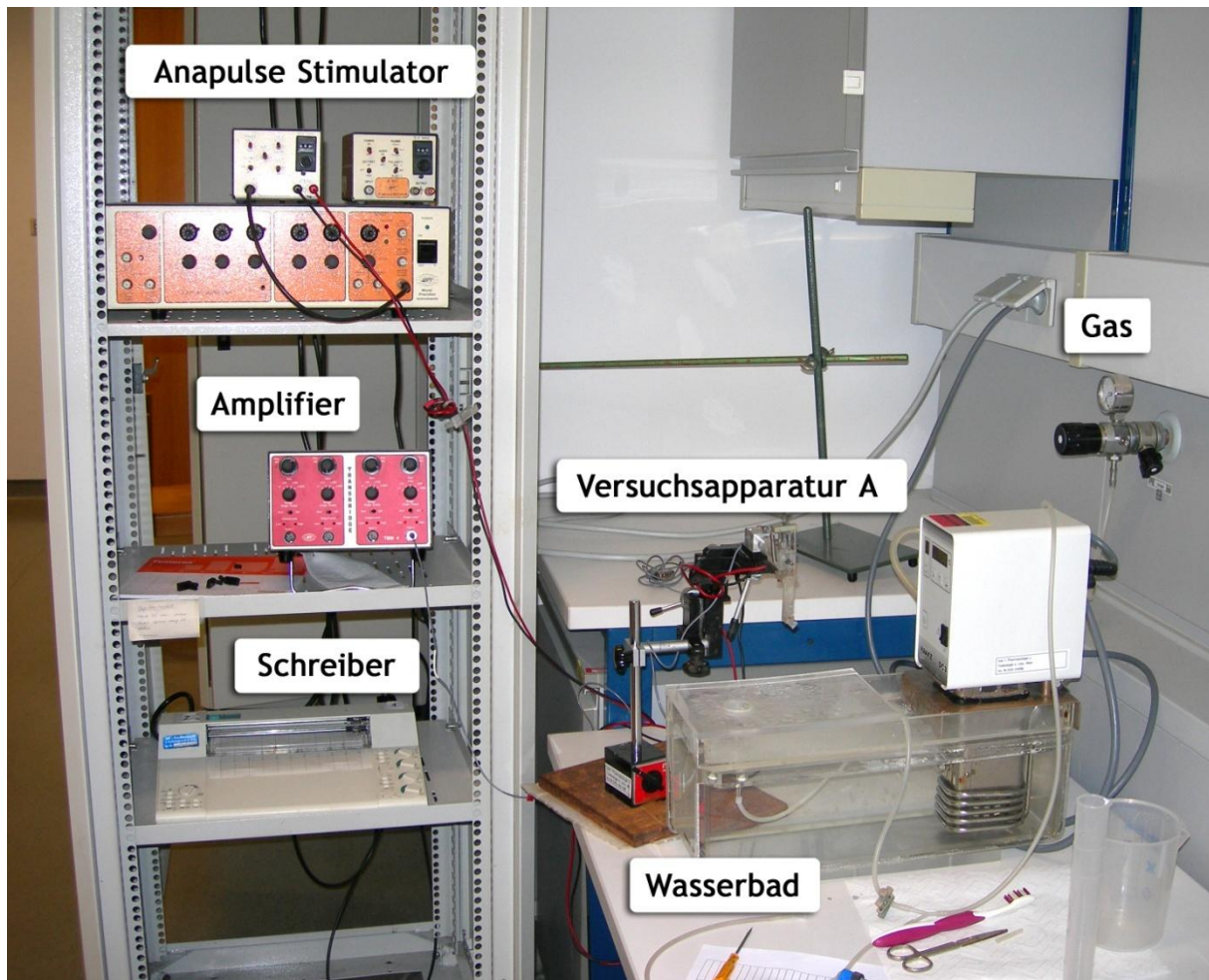
Bevor das präparierte Organ mit Hilfe von einem oben befestigten Haken in die Apparatur eingespannt werden konnte, musste das Organbad mit Tyrode gefüllt werden. Dann konnte das Haken mit dem Organ in die Drahtschleife des Silberdrahtes, welcher an der Aufhängevorrichtung des Kraftwandlers montiert war, eingehängt werden.

Am Steg des Stativschlittens befanden sich Plexiglasplättchen und eine Pt-Kathode. Zwischen diesen beiden wurde das untere Ende des Organs eingeklemmt und mit Hilfe einer Schraube befestigt. Danach konnte der Stativschlitten mit dem montierten Organ in das Organbad eingetaucht werden.

Die nötige Vorspannung wurde mittels Feintrieb angelegt, um die größtmögliche Kontraktionskraft zu induzieren.

Wiederrum wandelt der auch bei dieser Apparatur der Kraftwandler die Kontraktionen des Organs in Stromimpulse um, die vom angeschlossenen Schreiber aufgezeichnet und sichtbar gemacht werden konnten.

**Abb. 7: Originalfotos der Versuchsanordnung A für den rechten Vorhof und den Papillarmuskel**



Das Gas, genannt Oxymix, welches die Nährstofflösungen in den Organbädern versorgte, bestand aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid.

Die Versorgung mit diesem Gasgemisch ging von einer zentralen Gasflasche aus, welche außerhalb der Versuchsräume platziert war. Die Ventile, die die Oxymix Versorgung sicherten waren an den Wänden bei den jeweiligen Versuchsplätzen montiert. Durch Gummischläuche, welche von den Ventilen wegführten gelang das Gas zu den Versuchsanordnungen. Der Gasstrom konnte durch Schraubklemmen kontrolliert werden. Ein zu schwacher Gasstrom bewirkte einen Sauerstoffmangel des Organs, während ein zu starker den Versuchsablauf störte.

Zur feinen und gleichmäßigen Verteilung des Gases im Organbad war eine am zur Apparatur führenden Ende des Schlauches platzierte Fritte nötig.

Die Gasversorgung musste während des gesamten Versuches konstant aufrecht erhalten werden, damit den isolierten Organen eine ausreichende Sauerstoffversorgung und ein physiologischer pH- Wert von 7,2- 7,4 im Organbad gesichert werden konnte.

### **3.5. Versuchsablauf**

#### **3.5.1. Versuchspräparat des terminalen Ileums**

Der explantierte Darm wurde wie in Kapitel 3.2.1 beschrieben präpariert und danach mittels den Silberdrahthäkchen mit dem jejunalen Ende nach oben und dem caecalen Ende nach unten in die Drahtschlaufen der Versuchsanordnung gehängt. Dann wurde der Stativschlitten mit dem montierten Darmstück in das mit Nährlösung gefüllte Organbad abgesenkt. Der Schreiber und Verstärker wurde eingeschaltet und mittels Feintrieb konnte die benötigte Vorspannung von 4.90 mN (0,5g) angelegt werden. Nach einer 20minütigen Anpassungsphase wurde die leichte Veränderung der eingestellten Vorspannung mittels Feintrieb zurück an die Nulllinie des Schreibers korrigiert.

Da bei diesem Versuch die Abnahme der Kontraktionskraft der glatten Muskulatur des Darms durch die Testsubstanzen GK3s und LKR1 gemessen wurde, musste vorher eine maximale Kontraktion des präparierten Organs ausgelöst werden. Dies konnte mit einer 60 mmolaren KCL-Lösung erzielt werden. Die Lösung wurde durch Lösen von 0,44g KCL in 100,00 ml Nährlösung hergestellt.

Nach der Anpassungszeit wurde die Tyrode aus dem Organbad abgelassen und das Versuchsgefäß wurde mit KCL-Lösung aufgefüllt. Die KCL-Lösung rief eine vollständige Kontraktion des terminalen Ileums hervor. Als diese Kontraktion über einen längeren Zeitraum konstant blieb, konnte die erste Testsubstanzzugabe erfolgen. Dies konnte durch die Aufzeichnung des Plateauwertes („steady-state“) des angeschlossenen Schreibers sichtbar gemacht werden.

Die Testsubstanzen GK3s und LKR1 wurden in 5 Konzentrationen 1; 3; 10; 30; 100  $\mu\text{mol/l}$  bei einem Organbadvolumen von 25ml untersucht. Dies entsprach einer kumulativen Substanzzugabe von 1; 2; 7; 20; und 70  $\mu\text{mol/l}$  der Testsubstanz.

Alle 45 Minuten injizierte man mit Hilfe einer Pipette die nächsthöhere Konzentration von GK3s bzw. LKR1 bis die Endkonzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  erreicht wurde.

### **3.5.2. Versuchspräparat der Arteria pulmonalis**

Das kleine ringförmige Stück der Arteria pulmonalis (siehe Kap.3.4.1.) wurde in die Silberdrahtschlaufen der Versuchsanordnung eingespannt und mit dem Stativschlitten in das Organbad abgesenkt. Die Tyrode wurde vorher auf 37°C temperiert.

Anschließend nach Aktivierung des Verstärkers und Schreibers wurde die Nulllinie auf dem Millimeterpapier eingestellt und eine Vorspannung von 9,81 mN (1g) wurde angelegt. Nach einer Anpassungszeit von ca. 30 Minuten korrigierte man mittels Feintrieb die Veränderungen an der Nulllinie. Um die Veränderung der Kontraktionskraft der glatten Muskulatur zu untersuchen, war es nötig vor der Zugabe der Testsubstanz das Organ maximal zu kontrahieren. Dies geschah mit Hilfe der 90 mmolaren KCL- Lösung, welche durch Lösen von 0,67g KCL in 100,00 ml Nährlösung, hergestellt wurde.

Nach der Anpassungszeit wurde die Tyrode aus dem Organbad abgelassen und mit KCL- Lösung ersetzt. Die vollständige Kontraktion wurde von Schreiber aufgezeichnet und nach Erreichen des Plateaus konnte die erste Testsubstanzzugabe erfolgen.

Die Testsubstanzen GK3s und LKR1 wurden bei diesen Versuch in fünf Badkonzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l untersucht. Dies entsprach einer kumulativen Substanzkonzentration von 1; 2; 7; 20; und 70 µmol/l.

Die Zugabe der jeweiligen Testsubstanz erfolgte alle 45 Minuten bis man die Endkonzentration von 100 µmol/l erreichte.

### **3.5.3. Versuchspräparat der Aorta**

Der Arbeitsvorgang und der Versuchsaufbau verliefen identisch wie schon zuvor bei der Arteria pulmonalis (siehe Kap.3.5.2) beschrieben. Die untersuchten Badkonzentrationen waren ebenfalls bei den verwendeten Testsubstanzen GK3s und LKR1 ident wie jene bei der Beschreibung des Versuchspräparates der Arteria pulmonalis

### **3.5.4. Versuchspräparat des rechten Vorhofs**

Zu Versuchsbeginn wurde der präparierte (siehe Kap.3.2.3) rechte Vorhof in die Versuchsanordnung eingespannt. Das obere am rechten Vorhof zuvor montierte Silberdrahthäkchen wurde in die Drahtschleife des Silberdrahtes, an welchen der Kraftwandler befestigt war, eingehängt. Das untere Organende wurde zwischen der am Steg befindlichen Pt- Kathode und einem Kunststoffplättchen eingeklemmt und mittels Schraube fixiert. Die Kathode diente der elektrischen Reizübertragung sowie der Stabilisierung des isolierten Organs.

Danach wurde das eingespannte Organ in das mit Nährlösung gefüllte und mit Oxygengas begaste Organbad abgesenkt. Der Verstärker und Schreiber wurden eingeschaltet und es wurde eine Vorspannung von 10,4 mN angelegt. Die Vorspannung musste während des gesamten Versuchs nachkorrigiert werden, da die Elastizität des Gewebes des rechten Vorhofs nachgab. Außerdem wurde durch diese Nachkorrektur die Abnahme der Schlagfrequenz des Sinusknoten durch eine zu geringe Ausgangsspannung verhindert.

Nach ca. 50 Minuten, in welchen sich der isolierte Vorhof an die äußeren Bedingungen anpassen konnte, wurde die erste Kontrollmessung durchgeführt. Es wurden exakt alle fünf Minuten die Kontraktionen des isolierten rechten Vorhofs mit Hilfe des angeschlossenen Schreibers über eine Länge von 6 cm auf dem Millimeterpapier aufgezeichnet. Sobald der Sinusknoten ca.120 Schläge pro Minute hatte konnte mit der ersten Substanzzugabe begonnen werden.

Das Ziel des Versuchsablaufs war eine Veränderung der Schlagfrequenz an der quergestreiften Muskulatur des rechten Vorhofs durch die Zugabe der Testsubstanz GK3s bzw. LKR1 zu messen. Die Testsubstanzen wurden in fünf Badkonzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  untersucht. Dies entsprach einer kumulativen Substanzzugabe von 1; 2; 7; 20 und 70  $\mu\text{mol/l}$  der jeweiligen Testsubstanz.

Alle 45 Minuten injizierte man mit Hilfe einer Pipette die nächsthöhere Konzentration von GK3s bzw. LKR1 bis die Endkonzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  erreicht wurde.

### **3.5.5. Versuchspräparat des Papillarmuskels**

Zu Versuchsbeginn wurde der präparierte (siehe Kap.3.2.5) Papillarmuskel in die Versuchsanordnung eingespannt. Das obere am Papillarmuskel zuvor montierte Silberdrahthäkchen wurde in die Drahtschleife des Silberdrahtes, an welchen der Kraftwandler befestigt war, eingehängt. Das untere Organende wurde zwischen der am Steg befindlichen Pt- Kathode und einem Kunststoffplättchen eingeklemmt und mittels Schraube fixiert. Die Kathode diente der elektrischen Reizübertragung sowie der Stabilisierung des isolierten Organs.

Danach wurde das eingespannte Organ in das mit Nährlösung gefüllte und mit Oxygengas begaste Organbad abgesenkt. Der Verstärker und Schreiber wurden eingeschaltet und es wurde eine Vorspannung von 3,92 mN angelegt. Die Vorspannung musste während des gesamten Versuchs nachkorrigiert werden, da die Elastizität des Gewebes des Papillarmuskels nachgab. Außerdem wurde durch diese Nachkorrektur die Abnahme der Kontraktionskraft durch eine zu geringe Ausgangsspannung verhindert.

Der Papillarmuskel wies im Gegensatz zum rechten Vorhof keine Spontanaktivität auf und musste deshalb durch elektrische Reizung zu Kontraktionen angeregt werden. Mit Hilfe der Silberchloridelektroden des Reizgerätes Accupulser A310 von World Precision Instruments, Hamden, Florida, USA konnte der Papillarmuskel zu Kontraktionen angeregt werden. Nach einer 10minütigen Anpassungszeit wurde das Organ mit Rechteckimpulsen mit einer Dauer von 3 ms und einer Stromstärke, die 10% über der minimalen Reizschwelle lag, gereizt. Die angewandte Stromstärke durfte nicht zu hoch sein, da es sonst zu einer vollständigen Entleerung der Catecholaminspeicher des Papillarmuskels kommen hätte können und dies das Versuchsergebnis verfälschen konnte. (Furchgott et al.1959)

Danach wurde mit den Kontrollmessungen begonnen. Es wurden alle fünf Minuten mittels Schreiber jeweils fünf Amplituden aufgezeichnet und der Amplitudendurchmesser bestimmt. War dieser konstant, konnte mit der ersten Substanzzugabe begonnen werden.

Bei diesen Versuchen wurde die Abnahme der Kontraktionskraft der quergestreiften Muskulatur des isolierten Papillarmuskels durch Zugabe der Testsubstanz GK3s bzw. LKR1 untersucht.

Zu diesem Zweck wurde die jeweilige Testsubstanz in fünf Badkonzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  untersucht. Dies entsprach einer kumulativen Substanzzugabe von 1; 2; 7; 20 und 70  $\mu\text{mol/l}$  der jeweiligen Testsubstanz.

Alle 45 Minuten injizierte man mit Hilfe einer Pipette die nächsthöhere Konzentration von GK3s bzw. LKR1 bis die Endkonzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  erreicht wurde.

### **3.5.6. Ablauf der Lösungsmittelversuche**

Da sowohl die Testsubstanz GK3s als auch LKR1 wasserunlöslich waren, wurden die entsprechende Einwaage der Testsubstanz in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. Da dieses Lösungsmittel aber auf die isolierten Organe des Meerschweinchens eine Eigenwirkung besaß, musste das bei der Berechnung der Endergebnisse berücksichtigt werden.

Zu diesem Zweck wurden Versuche durchgeführt, welche analog zu den Testsubstanzversuchen abliefen. Allerdings wurde bei diesen Versuchsreihen nur DMSO als Stammlösung- ohne Zugabe von Testsubstanz GK3s oder LKR1- verwendet.

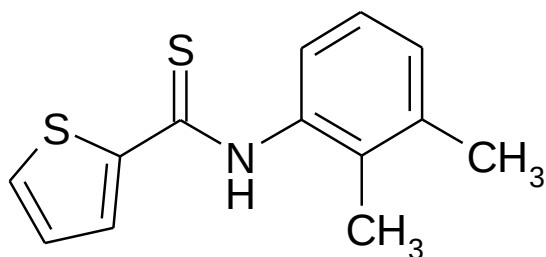


### 3.6. Untersuchte Substanzen

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden die Substanzen GK3S und LKR1 bezüglich ihrer unterschiedlichen Wirkungen an isolierten Organen von Meerschweinchen untersucht.

Die Substanzen GK3S und LKR1 wurden am Department für Medizinische und Pharmazeutische Chemie der Universität Wien synthetisiert und von Prof. Dr. Thomas Erker zu Verfügung gestellt.

**Abb. 8:** Struktur und Nomenklatur von GK3S



*N*-(2,3-Dimethylphenyl)-2-thiophencarbothioamid

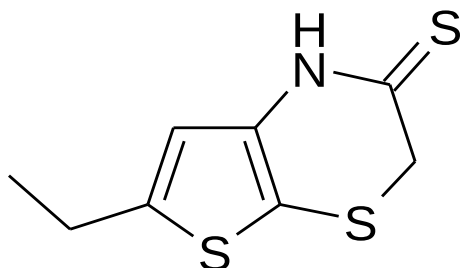
#### Chemische und physikalische Charakteristika:

Molekulargewicht: 247,38 g/l

Löslichkeit: DMSO- löslich

Farbe: gelb

**Abb. 9:** Struktur und Nomenklatur von LKR1



6-Ethyl-2,3-dihydro-1*H*-thieno[2,3-*b*][1,4]thiazin-2-thion

Chemische und physikalische Charakteristika:

Molekulargewicht: 215,36 g/l

Löslichkeit: DMSO- löslich

Farbe: weiss

Damit die Versuche auf den isolierten Organen durchgeführt werden konnten, musste die entsprechende Einwaage der Testsubstanzen im Lösungsmittel DMSO (siehe Kap.3.5.6.) gelöst werden. Diese Stammlösung wurde an jedem Versuchstag neu zubereitet.

Da die Versuchsaapparatur mit unterschiedlichen Organbadvolumina ausgestattet war und die verschiedenen Testsubstanzkonzentrationen im Verhältnis gleich bleiben mussten, wurden vorher die Einwaagen und Lösungsmittelmengen berechnet.

Die Versuche an den Organen Ileum, Arteria pulmonalis und Aorta wurden mit der Versuchsaapparatur, die Organbäder mit einem Füllvolumen von 25 ml besaß, durchgeführt. Für diese Füllmenge von 25 ml benötigte man eine Einwaage von 0,62 mg von GK3S und 0,54 mg von LKR1.

Für die Versuche am Papillarmuskel und am rechten Vorhof war eine Apparatur mit einem Organbadvolumen von 8 ml vorgesehen. Für dieses Badvolumen wurde 0,2 mg GK3S und 0,17 mg LKR1 benötigt.

Alle Versuche wurden in fünf Badkonzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  durchgeführt. Dies entsprach einer kumulativen 1; 2; 7; 20 und 70  $\mu\text{mol/l}$  Zugabe der Stammlösung der jeweiligen Testsubstanz. Die Zugabe der Substanz erfolgte immer als Injektion mittels einer Eppendorf- oder Finnpiquette.

Bei allen Versuchen betrug das Zeitintervall zwischen den einzelnen Injektionen der Testsubstanzen jeweils 45 Minuten. Durch diesen Zeitraum wurde eine vollständige Wirkungsentfaltung der Substanz auf das isolierte Organ sichergestellt.

### 3.7. Messgrößen – Statistik

Bei allen Versuchen und auf allen isolierten Organen wurde die Testsubstanz GK3S und LKR1 in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  durchgeführt.

Bei den Versuchen am terminalen Ileum, an der Aorta und an der Arteria pulmonalis wurde mit Hilfe der aufgezeichneten Kontraktionskurven war die Änderung der Kontraktionskraft ersichtlich. Dabei wurde die Zugabe der Testsubstanz in der jeweiligen Konzentrationsstufe in einem zeitlichen Abstand von 45 Minuten mit einem Punkt auf der Kurve markiert. Dann wurde der Abstand zwischen den Punkten und der definierten Nulllinie mit einem Lineal auf dem Millimeterpapier in Zentimeter gemessen. Die Werte wurden mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert und in mN umgerechnet. Außerdem gab man die Kontraktionskraft in Prozent an.

Der Kontrollwert wurde als jener Punkt, der kurz vor der ersten Substanzzugabe an dem „steady state“- Bedingungen herrschten, definiert. Für diesen Punkt wurden 100 Prozent angenommen.

Bei den Versuchen am isolierten rechten Vorhof wurde die Änderung der Herzfrequenz nach Zugabe der jeweiligen Testsubstanz untersucht. Auf dem Millimeterpapier wurden sechs Zentimeter lang Kontraktionen mittels Schreiber aufgezeichnet. Die Strecke entsprach der Schlagfrequenz des Sinusknoten für etwa 12 Sekunden. Der Papiervorschub des Schreibers betrug 5 mm pro Sekunde.

Man multiplizierte anschließend die Schläge der jeweils sechs Zentimeter langen Strecke mit dem Faktor 5 und erhielt die Herzfrequenz pro Minute.

Mit Hilfe der Kontrollmessungen und deren Kontrollwerte vor der Substanzzugabe konnte man den Mittelwert berechnen. Dieser wurde als 100 Prozent definiert. Alle anderen Werte wurden unter Verwendung des Mittelwertes in mN und in % ausgedrückt.

Anhand der Versuche am isolierten Papillarmuskel sollte die Änderung der Kontraktionskraft des Muskels in mN berechnet werden. Auch hier wurden die Kontrollwerte aus den Kontrollmessungen zur Berechnung des Mittelwertes herbeigezogen. Die Änderung der Kontraktionskraft wurde wieder in Prozent angegeben.

Der Schreiber zeichnete die Amplituden des Papillarmuskels auf, welche mit einem Lineal in Zentimeter abgemessen und mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert wurden.

Bei den Versuchen am terminalen Ileum, am Papillarmuskel, an der Arteria pulmonalis und an der Aorta musste die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO in die Berechnung einbezogen werden.

Die Messdaten aus den Versuchen am jeweiligen isolierten Organ wurden als arithmetische Mittelwerte einschließlich ihrer Standardfehler (SEM) berechnet. Weiters wurden sie in Konzentrations- Wirkungs- Kurven graphisch dargestellt. Mittels dieser Kurven konnten die EC 50- Werte ermittelt werden. Der EC 50- Wert ist die Konzentration der injizierten Testsubstanz in  $\mu\text{mol/l}$ , bei welcher die Kontraktionskraft bzw. Schlagfrequenz um die Hälfte des Kontrollwertes (Ausgangswertes) vermindert wurde.

Zur Beurteilung der Messwerte 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.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Wirkung von GK3S auf diverse isolierte Organe des Meerschweinchens

#### 4.1.1. Wirkung von GK3S auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums

Es wurde eine Veränderung an der glatten Muskulatur des terminalen Ileums durch den Einfluss von der Substanz GK3S gemessen.

Es wurden insgesamt 6 Organe des terminalen Ileums präpariert. (siehe Kap. 3.2.1) Der Versuchsablauf ereignete sich wie zuvor in Kapitel 3.5.1. beschrieben. Die Präparate wurden mit 60 mmolarer KCL- Lösung maximal vorkontrahiert. Als sich der Plateauwert gebildet hat, konnte mit der ersten Substanzzugabe von GK3s begonnen werden. Die Zugabe erfolgte kumulativ in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  jeweils alle 45 Minuten.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in die Berechnungen miteinbezogen. GK3s bewirkte mit steigender Konzentration eine Relaxation der glatten Muskulatur des terminalen Ileums. Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 6 Versuchen mit  $11,16 \pm 0,95 \text{ mN}$  gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab 1  $\mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch signifikant (  $-17,99 \pm 3,45 \%$  des Kontrollwertes), ab einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  sogar statistisch hochsignifikant ( $-67,00 \pm 3,67 \%$  des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ - Wert bei 4,7  $\mu\text{mol/l}$ .

Nach Erreichen der höchsten Badkonzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  sank die Kontraktionskraft auf  $0,70 \pm 0,45 \text{ mN}$  ab, was  $-93,51 \pm 3,42 \%$  des Kontrollwertes entsprach und somit statistisch hochsignifikant war.

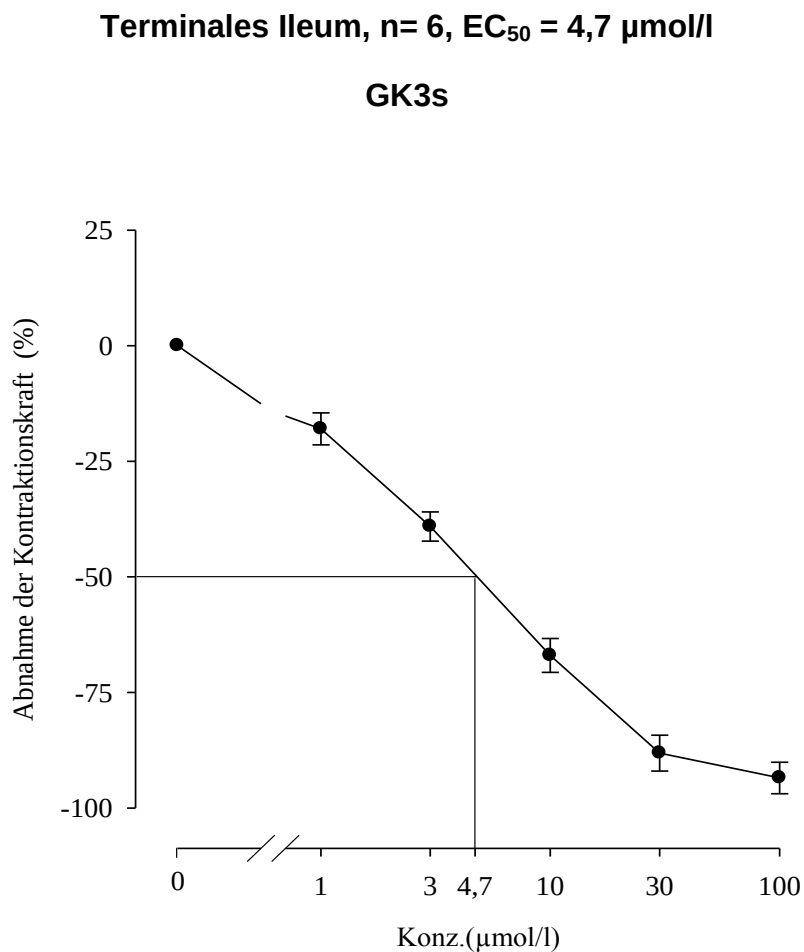
**Tabelle 2:** Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums

| GK3s<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $11,16 \pm 0,95$             | $0,00 \pm 0,00$             | 6                           | -                                   |
| 1                             | $9,17 \pm 0,93$              | $-17,99 \pm 3,45$           | 6                           | 0,05                                |
| 3                             | $6,86 \pm 0,84$              | $-39,10 \pm 3,17$           | 6                           | 0,01                                |
| 10                            | $3,73 \pm 0,55$              | $-67,00 \pm 3,67$           | 6                           | 0,001                               |
| 30                            | $1,36 \pm 0,47$              | $-88,14 \pm 3,88$           | 6                           | 0,001                               |
| 100                           | $0,70 \pm 0,45$              | $-93,51 \pm 3,42$           | 6                           | 0,001                               |

**Legende zu Tabelle 2:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $11,16 \pm 0,95$  mN beziehen. Es wurden 6 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

**Abb. 10:** Konzentrations- Wirkungskurve von GK3s am isolierten terminalen Ileum

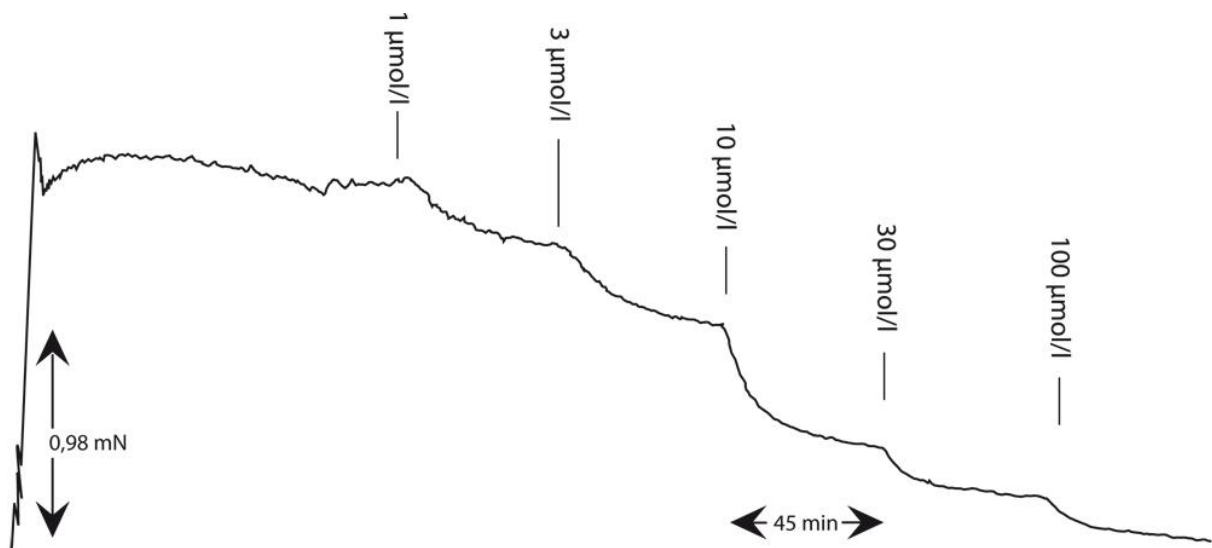


**Legende zu Abb. 10:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums an 6 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz GK3s der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von GK3s in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t- förmige Verlängerungen. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten. Der EC<sub>50</sub>- Wert beträgt 4,7µmol/l.



**Abb. 11:** Originalaufzeichnung der Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums



**Legende zu Abb. 11:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine Relaxation der glatten Muskulatur des terminalen Ileums bei der Zugabe von GK3s in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Pfeile markieren die Zeitpunkte der einzelnen Injektionen von GK3s in der jeweiligen Konzentration. Der Abstand zwischen je zwei benachbarten Pfeilen entspricht einem Zeitintervall von 45 Minuten.

#### **4.1.2. Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta**

An der glatten Muskulatur der isolierten Aorta wurde der Einfluss von GK3s auf die Kontraktion untersucht.

Zu diesem Zweck wurden insgesamt 5 Organe präpariert. (siehe Kap. 3.2.2.). Der Versuchsablauf gestaltete sich wie bereits in Kapitel 3.5.3. beschrieben. Die Präparate wurden mit 60 mmolarer KCL- Lösung maximal vorkontrahiert. Nach Abwarten des Plateauwertes konnte mit der ersten Substanzzugabe von GK3s begonnen werden. Die Zugabe erfolgte kumulativ in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  jeweils alle 45 Minuten.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in die Berechnungen miteinbezogen. GK3s bewirkte mit steigender Konzentration eine leichte Relaxation der glatten Muskulatur der Aorta. Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $18,15 \pm 0,92 \text{ mN}$  gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab 30  $\mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch signifikant ( $-22,49 \pm 3,37 \%$  des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Kontraktilität des isolierten Organs ab.

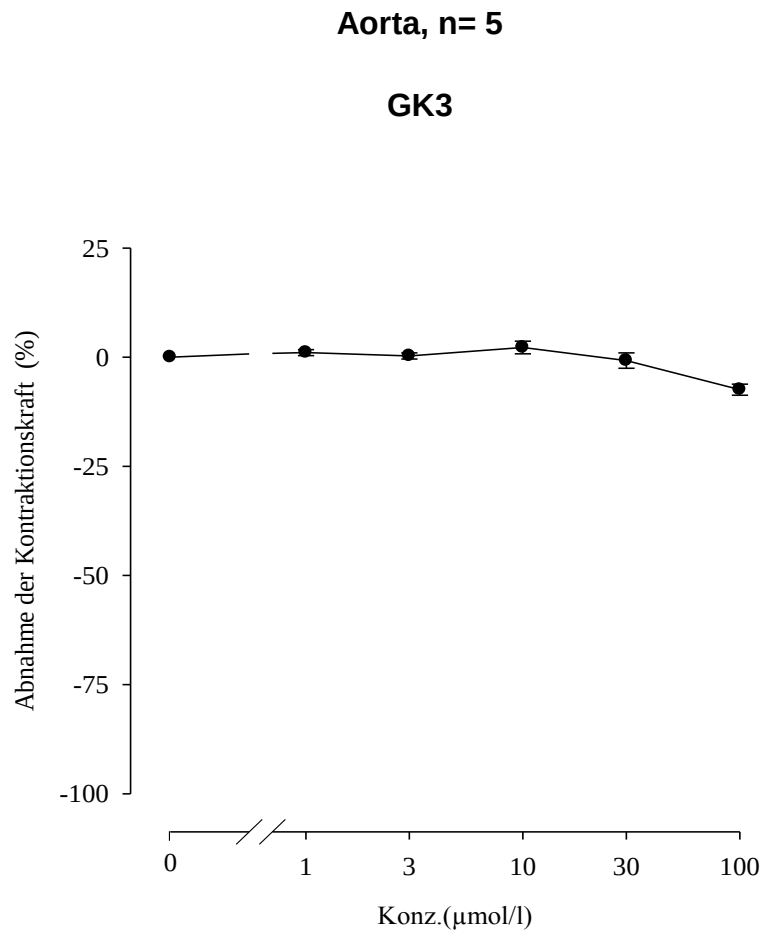
**Tabelle 3:** Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der Aorta

| GK3s<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $8,15 \pm 0,92$              | $0,00 \pm 0,00$             | 5                           | -                                   |
| 1                             | $7,98 \pm 0,93$              | $-2,27 \pm 0,91$            | 5                           | n.s.                                |
| 3                             | $7,86 \pm 0,97$              | $-4,14 \pm 2,08$            | 5                           | n.s.                                |
| 10                            | $7,29 \pm 0,96$              | $-11,47 \pm 2,68$           | 5                           | n.s.                                |
| 30                            | $6,40 \pm 0,92$              | $-22,49 \pm 3,37$           | 5                           | 0,05                                |
| 100                           | $5,19 \pm 0,72$              | $-36,81 \pm 3,45$           | 5                           | 0,05                                |

**Legende zu Tabelle 3:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $8,15 \pm 0,92$  mN beziehen. Es wurden 5 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

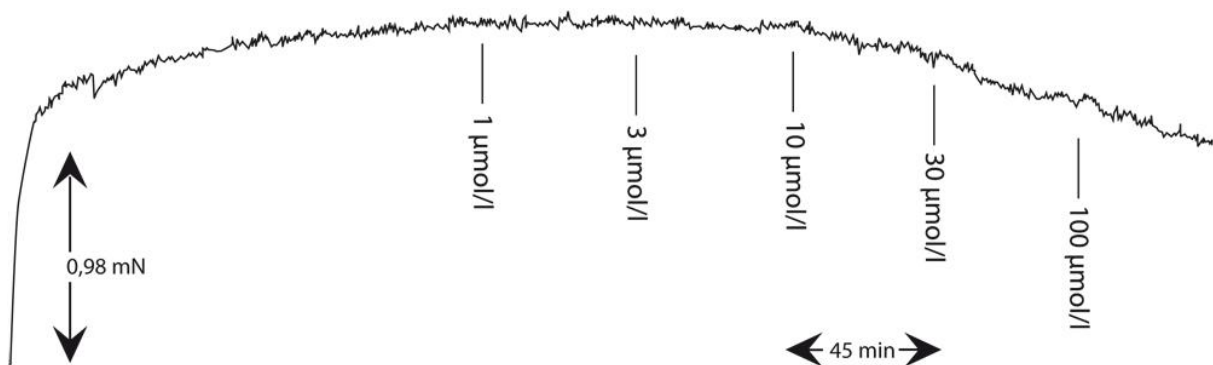
**Abb. 12:** Konzentrations- Wirkungskurve von GK3s an der isolierten Aorta



**Legende zu Abb. 9:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft der isolierten Aorta an 5 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz GK3s der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von GK3s in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t-förmige Verlängerungen. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten.

**Abb. 13:** Originalaufzeichnung der Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der Aorta



**Legende zu Abb. 13:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine sehr schwache Relaxation der glatten Muskulatur der Aorta bei der Zugabe von GK3s in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Pfeile markieren die Zeitpunkte der einzelnen Injektionen von GK3s in der jeweiligen Konzentration. Der Abstand zwischen je zwei benachbarten Pfeilen entspricht einem Zeitintervall von 45 Minuten.

#### **4.1.3. Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis**

An der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis wurde der Einfluss der Substanz GK3S auf die Kontraktionskraft gemessen.

Es wurden insgesamt 5 Organe der Arteria pulmonalis präpariert. (siehe Kap. 3.2.4) Der Versuchsablauf ereignete sich wie zuvor in Kapitel 3.5.2. beschrieben. Die Präparate wurden mit 60 mmolarer KCL- Lösung maximal vorkontrahiert. Als sich der Plateauwert gebildet hat, konnte mit der ersten Substanzzugabe von GK3s begonnen werden. Die Zugabe erfolgte kumulativ in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  jeweils alle 45 Minuten.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in die Berechnungen miteinbezogen. GK3s bewirkte mit steigender Konzentration eine Relaxation der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis. Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $114,52 \pm 1,43 \text{ mN}$  gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab 10  $\mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch signifikant (  $-24,77 \pm 2,20 \%$  des Kontrollwertes) und ab 100  $\mu\text{mol/l}$  sogar statistisch hochsignifikant (  $-80,57 \pm 4,18 \%$  des Kontrollwertes)

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ - Wert bei 24,5  $\mu\text{mol/l}$ .

**Tabelle 4:** Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis

| GK3s<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $14,52 \pm 1,43$             | $0,00 \pm 0,00$             | 5                           | -                                   |
| 1                             | $13,91 \pm 1,35$             | $-4,18 \pm 0,42$            | 5                           | n.s.                                |
| 3                             | $13,09 \pm 1,30$             | $-10,01 \pm 1,10$           | 5                           | n.s.                                |
| 10                            | $10,97 \pm 1,22$             | $-24,77 \pm 2,20$           | 5                           | 0,05                                |
| 30                            | $6,67 \pm 1,06$              | $-54,82 \pm 3,82$           | 5                           | 0,01                                |
| 100                           | $3,00 \pm 0,80$              | $-80,57 \pm 4,18$           | 5                           | 0,001                               |

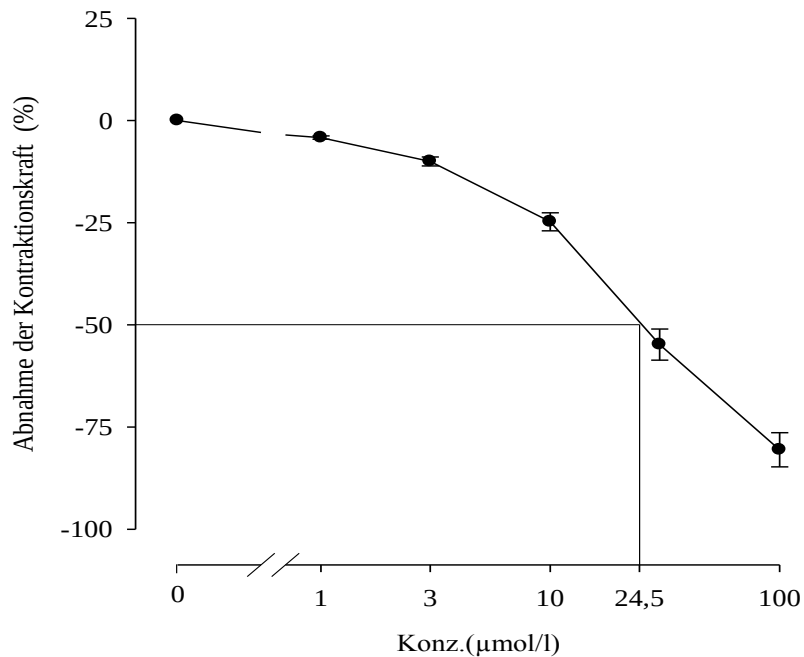
**Legende zu Tabelle 4:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $14,52 \pm 1,43$  mN beziehen. Es wurden 5 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

**Abb. 14:** Konzentrations- Wirkungskurve von GK3s an der isolierten Arteria pulmonalis

**Arteria pulmonalis, n= 5, EC<sub>50</sub>= 24,5 µmol/l**

**GK3s**



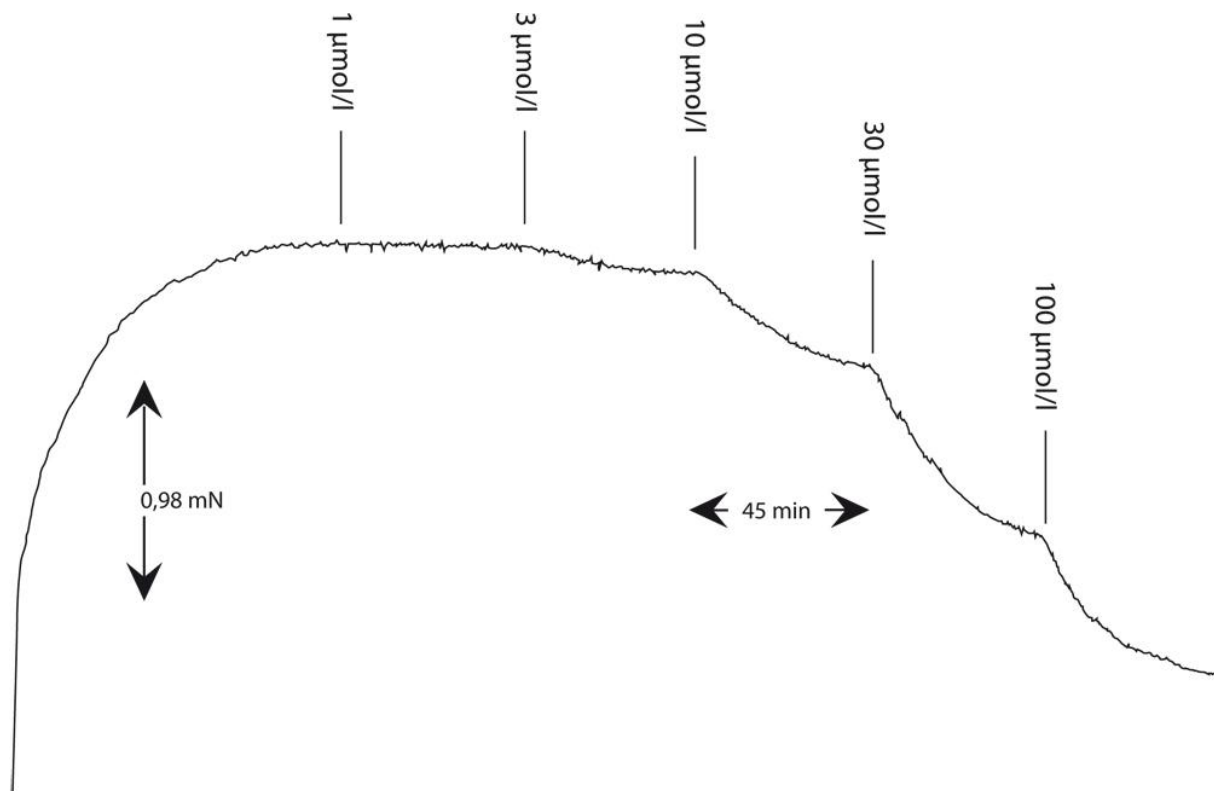
**Legende zu Abb. 14:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis an 5 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz GK3s der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von GK3s in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t-förmige Verlängerungen.

Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten. Der EC<sub>50</sub>- Wert beträgt 24,5 µmol/l.



**Abb. 15:** Originalaufzeichnung der Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis



**Legende zu Abb. 15:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine Relaxation der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis bei der Zugabe von GK3s in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Pfeile markieren die Zeitpunkte der einzelnen Injektionen von GK3s in der jeweiligen Konzentration. Der Abstand zwischen je zwei benachbarten Pfeilen entspricht einem Zeitintervall von 45 Minuten.

#### **4.1.4. Wirkung von GK3s auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs**

An der quergestreiften Muskulatur des präparierten rechten Vorhofs wurde der Einfluss von GK3s auf die Schlagfrequenz gemessen.

Es wurden insgesamt 6 Organe präpariert (siehe Kapitel 3.2.3.). Der Versuchsablauf gestaltete sich wie zuvor in Kapitel 3.5.4. geschildert. Als eine konstante Schlagfrequenz des Sinusknoten einsetzte, konnte man die Testsubstanz GK3s in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; und 30  $\mu\text{mol/l}$  kumulativ alle 45 Minuten injizieren. GK3s bewirkte mit steigender Konzentration eine Abnahme der Schlagfrequenz des Sinusknoten. Während der Kontrollphase wurde die Herzfrequenz im Mittel aus 6 Versuchen mit  $223 \pm 7$  Schlägen pro Minute gemessen.

Die negative chronotrope Wirkung war ab 30  $\mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch hochsignifikant ( $-71,04 \pm 18,47$  % des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Schlagfrequenz kontinuierlich ab und erreichte den  $\text{EC}_{50}$ -Wert bei 21,5  $\mu\text{mol/l}$ .

Nach Erreichen der Organbadkonzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  sank die Herzfrequenz auf  $0,00 \pm 0,00$  mN, was  $-100 \pm 0,00$  % des Kontrollwertes entsprach und somit statistisch hochsignifikant war.

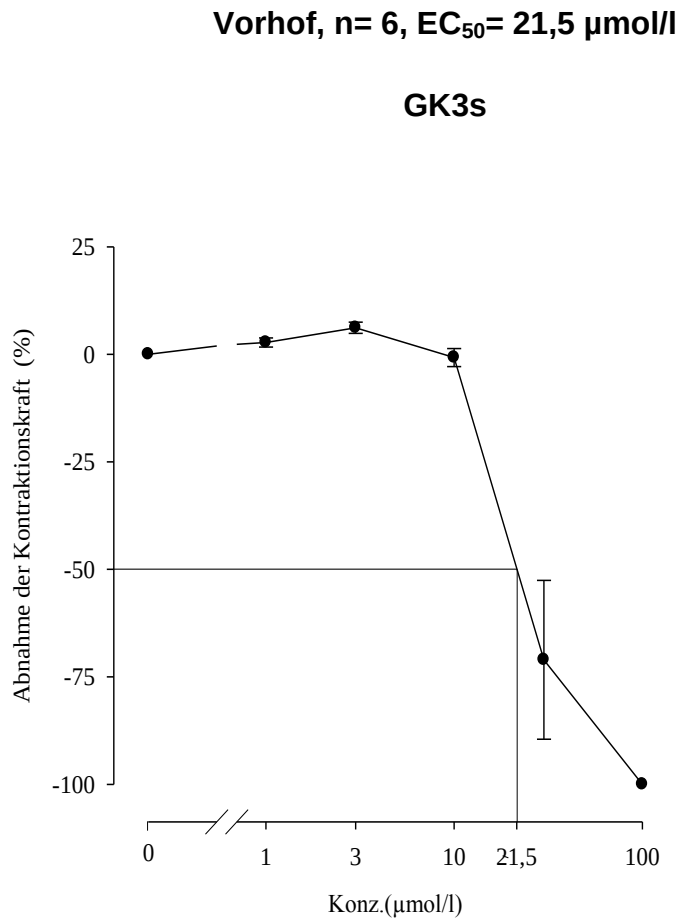
**Tabelle 5:** Wirkung von GK3s auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs

| GK3s<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | f $\pm$ SEM<br>(mN) | f $\pm$ SEM<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|---------------------|--------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | 223 $\pm$ 7,48      | 0,00 $\pm$ 0,00    | 6                           | -                                   |
| 1                             | 229 $\pm$ 8,31      | 2,77 $\pm$ 1,06    | 6                           | n.s.                                |
| 3                             | 237 $\pm$ 8,43      | 6,18 $\pm$ 1,3     | 6                           | n.s.                                |
| 10                            | 221 $\pm$ 6,25      | -0,74 $\pm$ 2,1    | 6                           | n.s.                                |
| 30                            | 60 $\pm$ 37,97      | -71,04 $\pm$ 18,47 | 6                           | 0,001                               |
| 100                           | 0 $\pm$ 0,00        | -100 $\pm$ 0,00    | 6                           | 0,001                               |

**Legende zu Tabelle 5:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Schlagfrequenz des Sinusknoten pro Minute (f) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte 223  $\pm$  7,48 mN beziehen. Es wurden 6 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

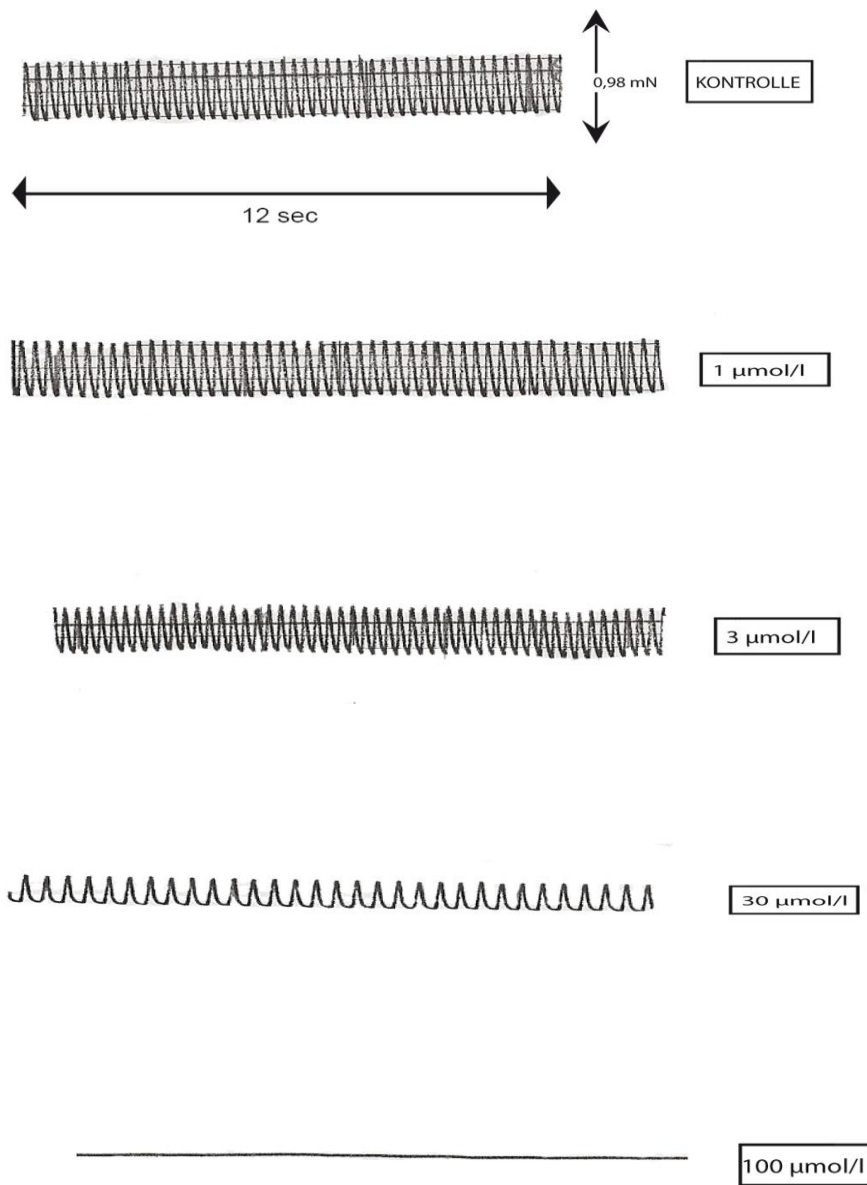
**Abb. 16:** Konzentrations- Wirkungskurve von GK3s am isolierten rechten Vorhof



**Legende zu Abb. 16:**

In dieser Graphik wird die Änderung der Schlagfrequenz des rechten Vorhofs auf der Abszisse linear gegen den Logarithmus der verwendeten Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l von GK3s auf der Ordinate aufgetragen. Die Punkte auf der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t- förmige Verlängerungen. Die Werte wurden aus 6 Versuchen ermittelt. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten. Der EC<sub>50</sub>- Wert beträgt 21,4 µmol/l.

**Abb. 17:** Originalaufzeichnung der Wirkung von GK3s auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs



**Legende zu Abb. 17:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt den Einfluß von GK3s auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs. Die Testsubstanz GK3s wurde in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l zugesetzt. Die Konzentrationserhöhung fand in einem Zeitintervall von 45 Minuten statt.

#### **4.1.5. Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels**

An der quergestreiften Muskulatur des isolierten Papillarmuskels wurde der Einfluss der Testsubstanz GK3s auf die Kontraktionskraft untersucht. Zu diesem Zweck wurden 5 Organe präpariert (siehe Kap.3.2.5.). Der Ablauf der Versuche ging wie zuvor in Kapitel 3.5.5. beschrieben vor sich. Nach Erreichen einer konstanten Kontraktionskraft des Papillarmuskels wurde die Testsubstanz in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  kumulativ alle 45 Minuten mittels Eppendorf- pipette zugesetzt.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in den Berechnungen berücksichtigt. GK3s bewirkte mit steigender Konzentration eine Relaxation der glatten Muskulatur des Papillarmuskels. Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $0,75 \pm 0,05 \text{ mN}$  ermittelt.

Die negative chronotrope Wirkung von GK3s war ab 1  $\mu\text{mol/l}$  statistisch signifikant ( $-20,25 \pm 3,12 \%$  des Kontrollwertes).

Durch die kumulative Zugabe von GK3s nahm die Kontraktionskraft des isolierten Organs bis zu einer Konzentration von 3  $\mu\text{mol/l}$  ab. Während sie nach einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  wieder etwas anstieg.

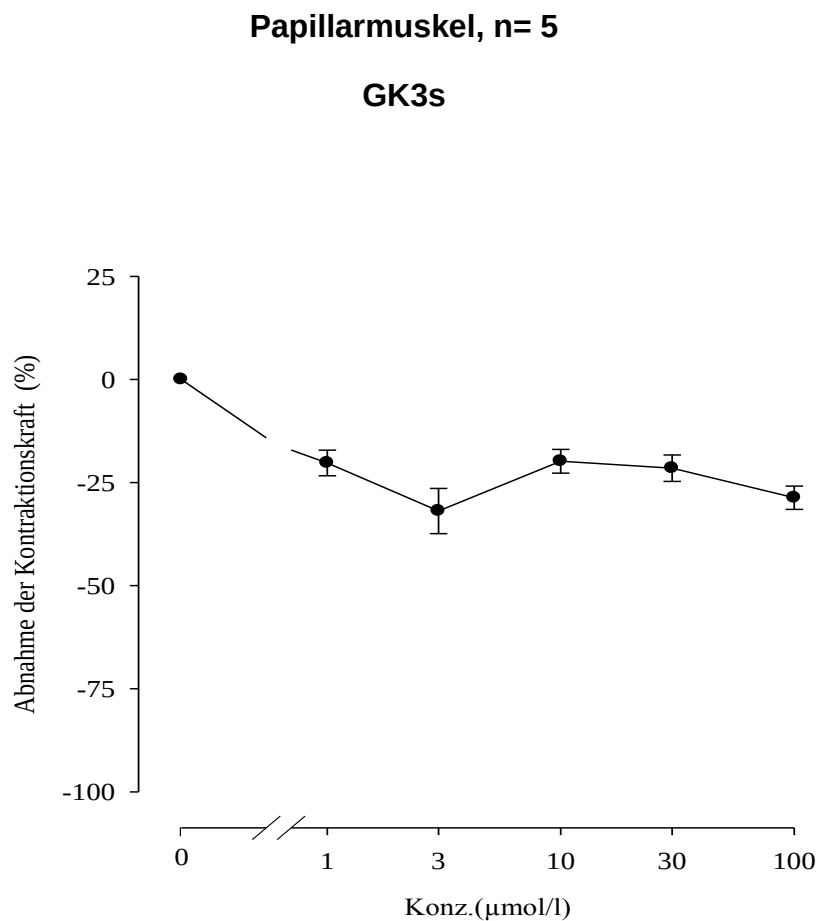
**Tabelle 6:** Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels

| GK3s<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $0,75 \pm 0,05$              | $0,00 \pm 0,00$             | 5                           | -                                   |
| 1                             | $0,60 \pm 0,42$              | $-20,25 \pm 3,12$           | 5                           | 0,05                                |
| 3                             | $0,52 \pm 0,06$              | $-31,90 \pm 5,48$           | 5                           | 0,05                                |
| 10                            | $0,60 \pm 0,04$              | $-19,84 \pm 2,87$           | 5                           | 0,05                                |
| 30                            | $0,60 \pm 0,06$              | $-21,52 \pm 3,21$           | 5                           | 0,05                                |
| 100                           | $0,54 \pm 0,04$              | $-28,68 \pm 2,83$           | 5                           | 0,05                                |

**Legende zu Tabelle 6:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren entsprechenden Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $0,60 \pm 0,42$  mN beziehen. Es wurden 5 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

**Abb. 18:** Konzentrations- Wirkungskurve von GK3s am isolierten Papillarmuskel

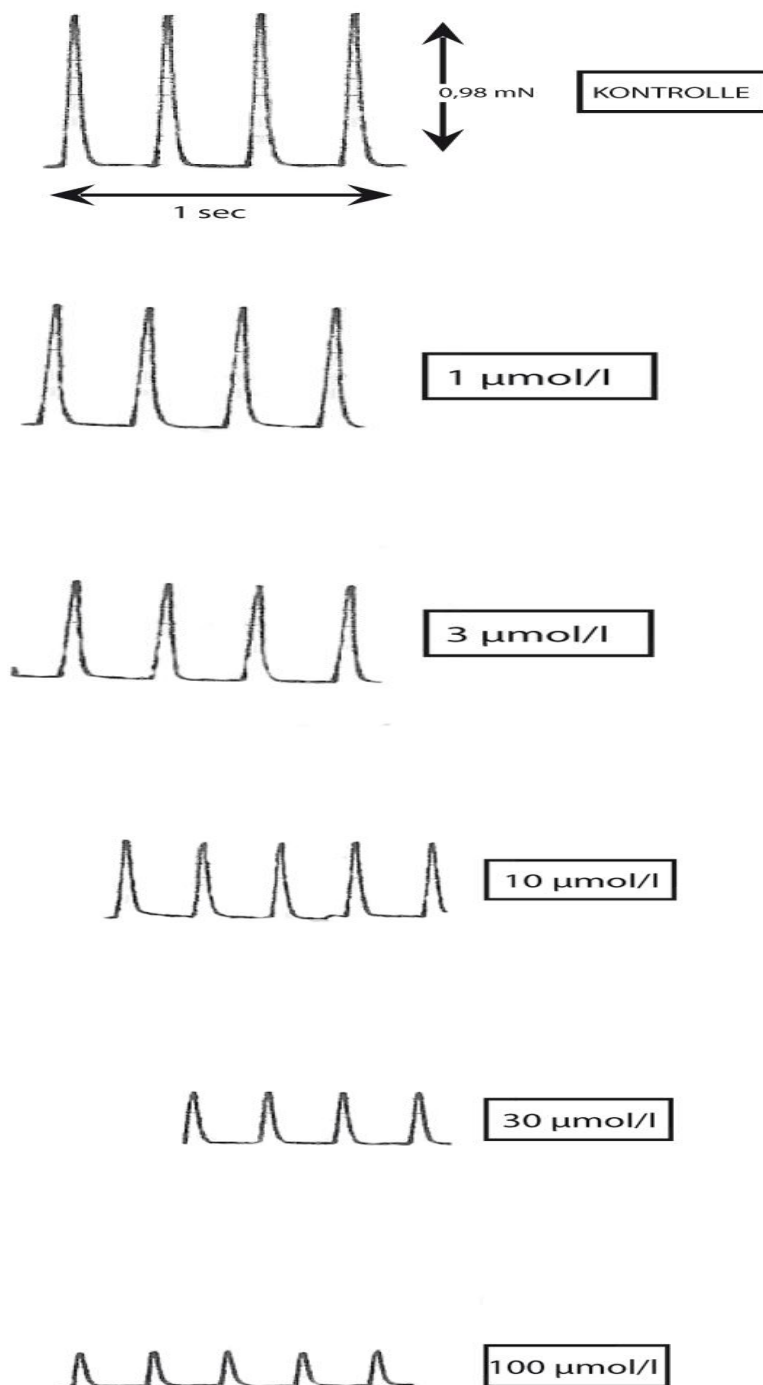


**Legende zu Abb. 18:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels an 5 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz GK3s der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von GK3s in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t- förmige Verlängerungen. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten.



**Abb. 19:** Originalaufzeichnung der Wirkung von GK3s auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskel



**Legende zu Abb. 19:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft des Papillarmuskels bei der Zugabe von GK3s in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Konzentrationserhöhungen durch GK3s fanden alle 45 Minuten statt.

## **4.2. Wirkung von LKR1 auf diverse isolierte Organe**

### **4.2.1. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums**

Es wurde eine Veränderung an der glatten Muskulatur des terminalen Ileums durch den Einfluss von der Substanz LKR1 gemessen.

Es wurden insgesamt 5 Organe des terminalen Ileums präpariert. (siehe Kap. 3.2.1) Der Versuchsablauf ereignete sich wie zuvor in Kapitel 3.5.1. beschrieben. Die Präparate wurden mit 60 mmolarer KCL- Lösung maximal vorkontrahiert. Als sich der Plateauwert gebildet hat, konnte mit der ersten Substanzzugabe von LKR1 begonnen werden. Die Zugabe erfolgte kumulativ in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  jeweils alle 45 Minuten.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in die Berechnungen miteinbezogen. LKR1 bewirkte mit steigender Konzentration eine Relaxation der glatten Muskulatur des terminalen Ileums. Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $120,38 \pm 1,58 \text{ mN}$  gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab 10  $\mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-30,39 \pm 4,41 \%$  des Kontrollwertes) und ab 100  $\mu\text{mol/l}$  LKR1 sogar statistisch hoch signifikant , was  $-80,6 \pm 5,21 \%$  des Kontrollwertes entsprach.

Während der kumulativen Zugabe von LKR1 nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ - Wert bei 18  $\mu\text{mol/l}$ .

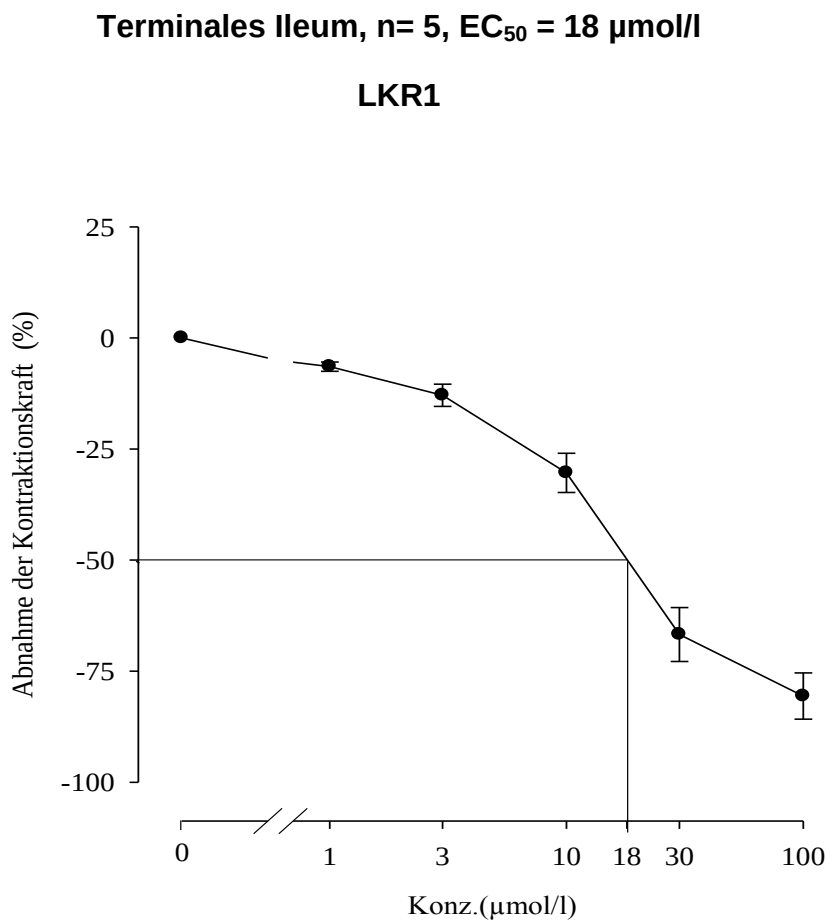
**Tabelle 7:** Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums

| LKR1<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $20,38 \pm 1,58$             | $0,00 \pm 0,00$             | 5                           | -                                   |
| 1                             | $19,04 \pm 1,44$             | $-6,47 \pm 1,03$            | 5                           | n.s.                                |
| 3                             | $17,76 \pm 1,54$             | $-12,92 \pm 2,50$           | 5                           | n.s.                                |
| 10                            | $14,31 \pm 1,75$             | $-30,39 \pm 4,41$           | 5                           | 0,05                                |
| 30                            | $7,10 \pm 1,74$              | $-66,76 \pm 6,07$           | 5                           | 0,01                                |
| 100                           | $4,10 \pm 1,21$              | $-80,6 \pm 5,21$            | 5                           | 0,001                               |

**Legende zu Tabelle 7:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $20,38 \pm 1,58$  mN beziehen. Es wurden 6 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

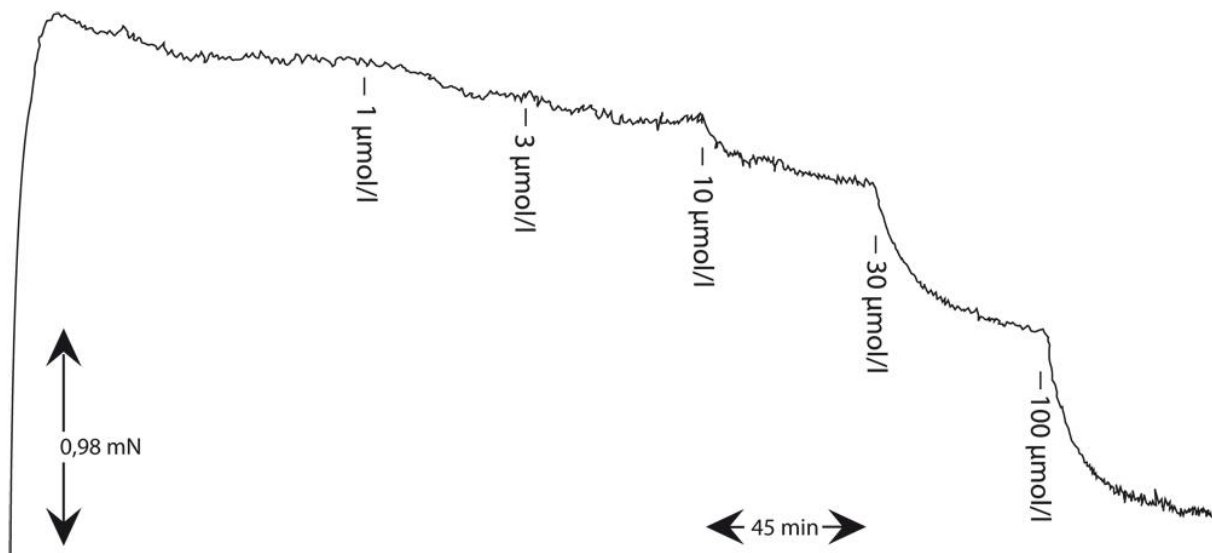
**Abb. 20:** Konzentrations- Wirkungskurve von LKR1 am isolierten terminalen Ileum



**Legende zu Abb. 20:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums an 5 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz LKR1 der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von LKR1 in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t- förmige Verlängerungen. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten. Der EC<sub>50</sub>- Wert beträgt 18 µmol/l.

**Abb. 21:** Originalaufzeichnung der Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums



**Legende zu Abb. 21:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine Relaxation der glatten Muskulatur des terminalen Ileums bei der Zugabe von LKR1 in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Pfeile markieren die Zeitpunkte der einzelnen Injektionen von LKR1 in der jeweiligen Konzentration. Der Abstand zwischen je zwei benachbarten Pfeilen entspricht einem Zeitintervall von 45 Minuten.

#### **4.2.2. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta**

An der glatten Muskulatur der isolierten Aorta wurde der Einfluss von LKR1 auf die Kontraktion untersucht.

Zu diesem Zweck wurden insgesamt 5 Organe präpariert. (siehe Kap. 3.2.2.). Der Versuchsablauf gestaltete sich wie bereits in Kapitel 3.5.3. beschrieben. Die Präparate wurden mit 60 mmolarer KCL- Lösung maximal vorkontrahiert. Nach Abwarten des Plateauwertes konnte mit der ersten Substanzzugabe von LKR1 begonnen werden. Die Zugabe erfolgte kumulativ in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  jeweils alle 45 Minuten.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in die Berechnungen miteinbezogen. LKR1 bewirkte mit steigender Konzentration anfangs eine leichte Relaxation der glatten Muskulatur der Aorta. Nach der Konzentration von 30  $\mu\text{mol/l}$  wurde die glatte Muskulatur der Aorta etwas stärker relaxiert. Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $8,98 \pm 0,57$  mN gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab 30  $\mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-30,24 \pm 5,18$  % des Kontrollwertes).

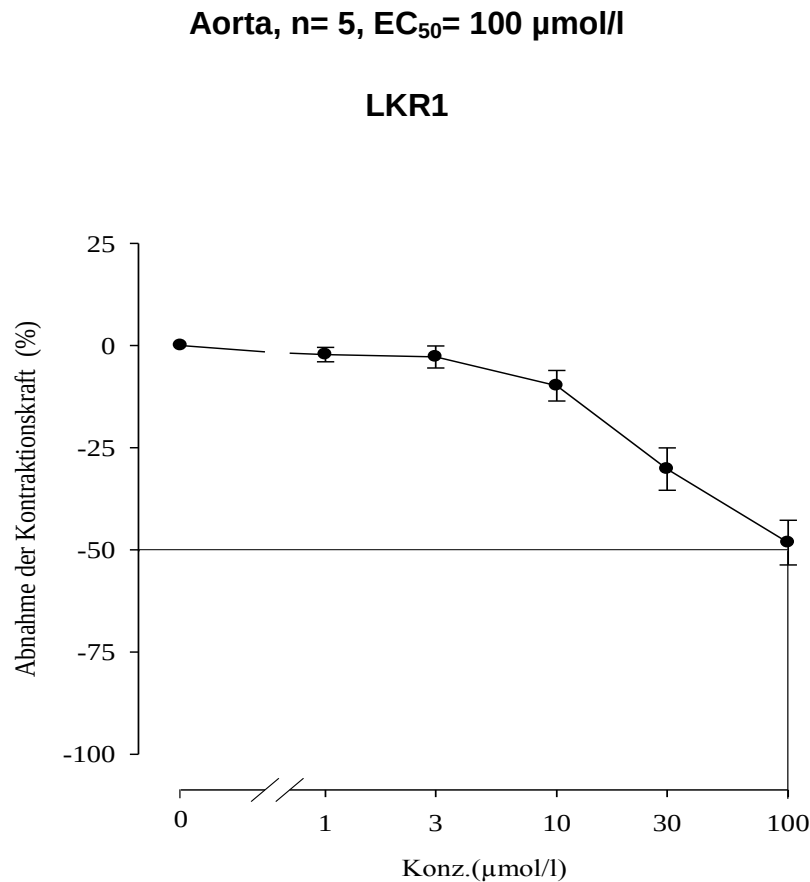
**Tabelle 8:** Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der Aorta

| LKR1<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $8,98 \pm 0,57$              | $0,00 \pm 0,00$             | 5                           | -                                   |
| 1                             | $8,79 \pm 0,64$              | $-2,22 \pm 1,75$            | 5                           | n.s.                                |
| 3                             | $8,72 \pm 0,61$              | $-2,79 \pm 2,70$            | 5                           | n.s.                                |
| 10                            | $8,08 \pm 0,54$              | $-9,84 \pm 3,75$            | 5                           | n.s.                                |
| 30                            | $6,21 \pm 0,43$              | $-30,24 \pm 5,18$           | 5                           | 0,05                                |
| 100                           | $4,59 \pm 0,42$              | $-48,23 \pm 5,48$           | 5                           | 0,01                                |

**Legende zu Tabelle 8:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $8,98 \pm 0,57$  mN beziehen. Es wurden 5 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

**Abb. 22:** Konzentrations- Wirkungskurve von LKR1 an der isolierten Aorta



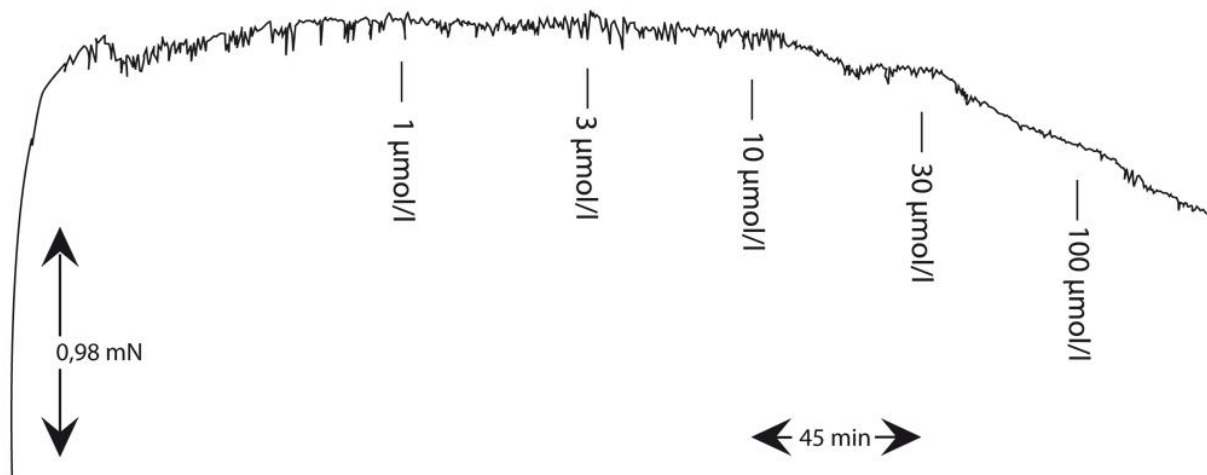
**Legende zu Abb. 22:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft der isolierten Aorta an 5 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz LKR1 der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von LKR1 in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t-förmige Verlängerungen. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten.

Der EC<sub>50</sub>- Wert beträgt 100 µmol/l.



**Abb. 23:** Originalaufzeichnung der Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der Aorta



**Legende zu Abb. 23:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine schwache Relaxation der glatten Muskulatur der Aorta bei der Zugabe von LKR1 in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Pfeile markieren die Zeitpunkte der einzelnen Injektionen von LKR1 in der jeweiligen Konzentration. Der Abstand zwischen je zwei benachbarten Pfeilen entspricht einem Zeitintervall von 45 Minuten.

#### **4.2.3. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis**

An der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis wurde der Einfluss der Substanz LKR1 auf die Kontraktionskraft gemessen.

Es wurden insgesamt 4 Organe der Arteria pulmonalis präpariert. (siehe Kap. 3.2.4) Der Versuchsablauf ereignete sich wie zuvor in Kapitel 3.5.2. beschrieben. Die Präparate wurden mit 60 mmolarer KCL- Lösung maximal vorkontrahiert. Als sich der Plateauwert gebildet hat, konnte mit der ersten Substanzzugabe von LKR1 begonnen werden. Die Zugabe erfolgte kumulativ in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  jeweils alle 45 Minuten.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in die Berechnungen miteinbezogen.

LKR1 bewirkte mit steigender Konzentration eine Relaxation der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis. Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 4 Versuchen mit  $12,40 \pm 2,42 \text{ mN}$  gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab 10  $\mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-14,01 \pm 4,32 \%$  des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von LKR1 nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ - Wert bei 40  $\mu\text{mol/l}$ .

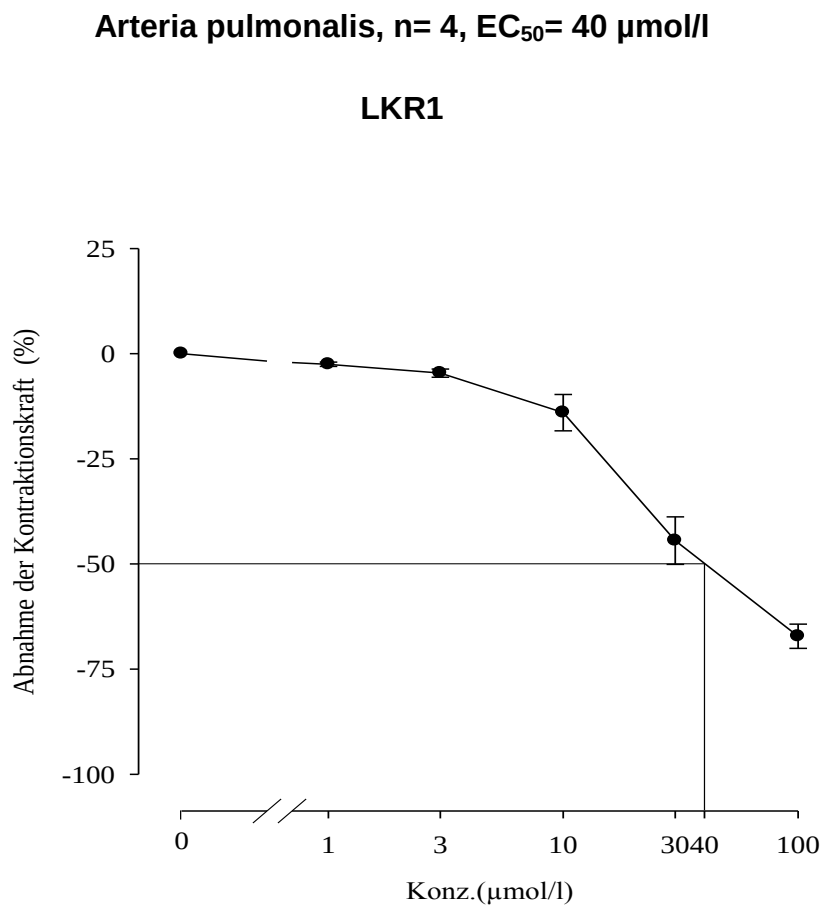
**Tabelle 9:** Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis

| LKR1<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $12,40 \pm 2,42$             | $0,00 \pm 0,00$             | 4                           | -                                   |
| 1                             | $12,11 \pm 2,42$             | $-2,52 \pm 0,50$            | 4                           | n.s.                                |
| 3                             | $11,78 \pm 2,22$             | $-4,63 \pm 0,98$            | 4                           | n.s.                                |
| 10                            | $10,38 \pm 1,51$             | $-14,01 \pm 4,32$           | 4                           | 0,05                                |
| 30                            | $6,52 \pm 0,60$              | $-44,46 \pm 5,65$           | 4                           | 0,01                                |
| 100                           | $4,15 \pm 0,98$              | $-67,19 \pm 2,86$           | 4                           | 0,01                                |

**Legende zu Tabelle 9:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $12,11 \pm 2,42$  mN beziehen. Es wurden 4 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

**Abb. 24:** Konzentrations- Wirkungskurve von LKR1 an der isolierten Arteria pulmonalis

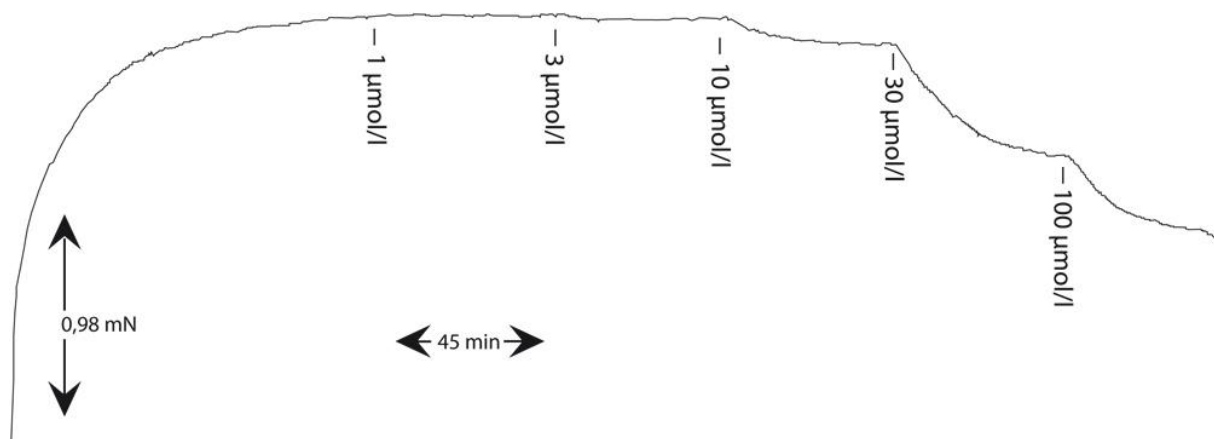


**Legende zu Abb. 24:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis an 4 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz LKR1 der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von LKR1 in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t-förmige Verlängerungen.

Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten. Der EC<sub>50</sub>- Wert beträgt 40 µmol/l.

**Abb. 25:** Originalaufzeichnung der Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis



**Legende zu Abb. 25:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine Relaxation der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis bei der Zugabe von LKR1 in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Pfeile markieren die Zeitpunkte der einzelnen Injektionen von LKR1 in der jeweiligen Konzentration. Der Abstand zwischen je zwei benachbarten Pfeilen entspricht einem Zeitintervall von 45 Minuten.

#### **4.2.4. Wirkung von LKR1 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs**

An der quergestreiften Muskulatur des präparierten rechten Vorhofs wurde der Einfluss von LKR1 auf die Schlagfrequenz gemessen.

Es wurden insgesamt 4 Organe präpariert (siehe Kapitel 3.2.3.). Der Versuchsablauf gestaltete sich wie zuvor in Kapitel 3.5.4. geschildert. Als eine konstante Schlagfrequenz des Sinusknoten einsetzte, konnte man die Testsubstanz LKR1 in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; und 30  $\mu\text{mol/l}$  kumulativ alle 45 Minuten injizieren. LKR1 bewirkte mit steigender Konzentration eine Abnahme der Schlagfrequenz des Sinusknoten. Während der Kontrollphase wurde die Herzfrequenz im Mittel aus 4 Versuchen mit  $254 \pm 17$  Schlägen pro Minute gemessen.

Die negative chronotrope Wirkung war ab 10  $\mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-12,31 \pm 3,86$  % des Kontrollwertes). Während der kumulativen Zugabe von LKR1 nahm die Schlagfrequenz kontinuierlich ab und erreichte den  $\text{EC}_{50}$ - Wert bei 17,9  $\mu\text{mol/l}$ . Nach Erreichen der Organbadkonzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  sank die Herzfrequenz auf  $0,00 \pm 0,00$  mN, was  $-100 \pm 0,00$  % des Kontrollwertes entsprach und somit statistisch hochsignifikant war.

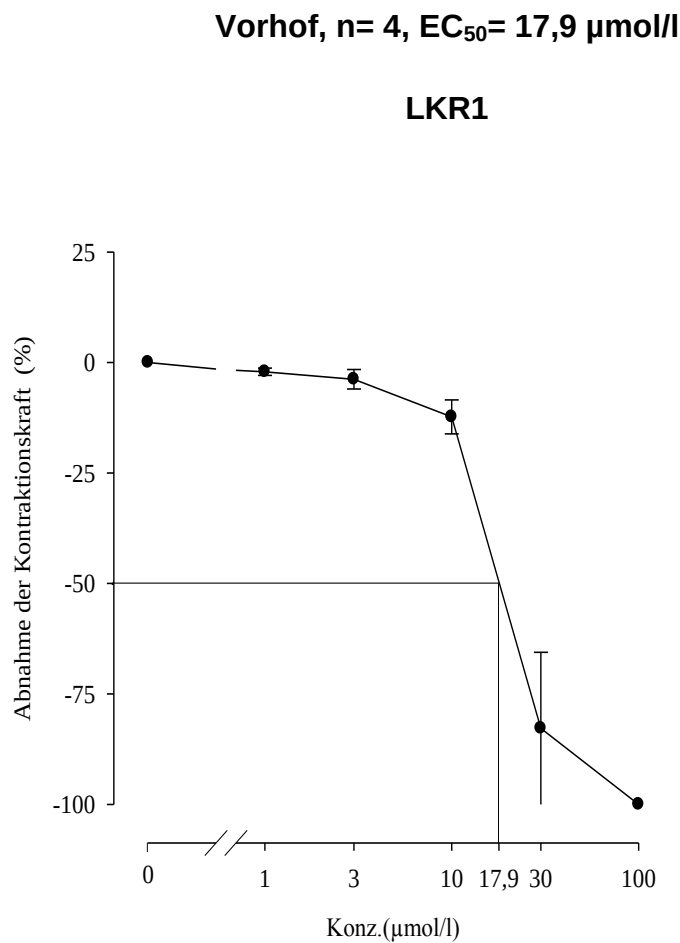
**Tabelle 10:** Wirkung von LKR1 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs

| LKR1<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $254 \pm 17,36$            | $0,00 \pm 0,00$           | 4                           | -                                   |
| 1                             | $249 \pm 18,86$            | $-2,1 \pm 0,84$           | 4                           | n.s.                                |
| 3                             | $245 \pm 21,89$            | $-3,8 \pm 2,21$           | 4                           | n.s.                                |
| 10                            | $224 \pm 23,22$            | $-12,31 \pm 3,86$         | 4                           | 0,05                                |
| 30                            | $53 \pm 52,5$              | $-82,79 \pm 17,21$        | 4                           | 0,01                                |
| 100                           | $0 \pm 0,00$               | $-100 \pm 0,00$           | 4                           | 0,01                                |

**Legende zu Tabelle 10:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Schlagfrequenz des Sinusknoten pro Minute (f) mit ihren Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $254 \pm 17,36$  mN beziehen. Es wurden 4 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

**Abb. 26:** Konzentrations- Wirkungskurve von LKR1 am isolierten rechten Vorhof

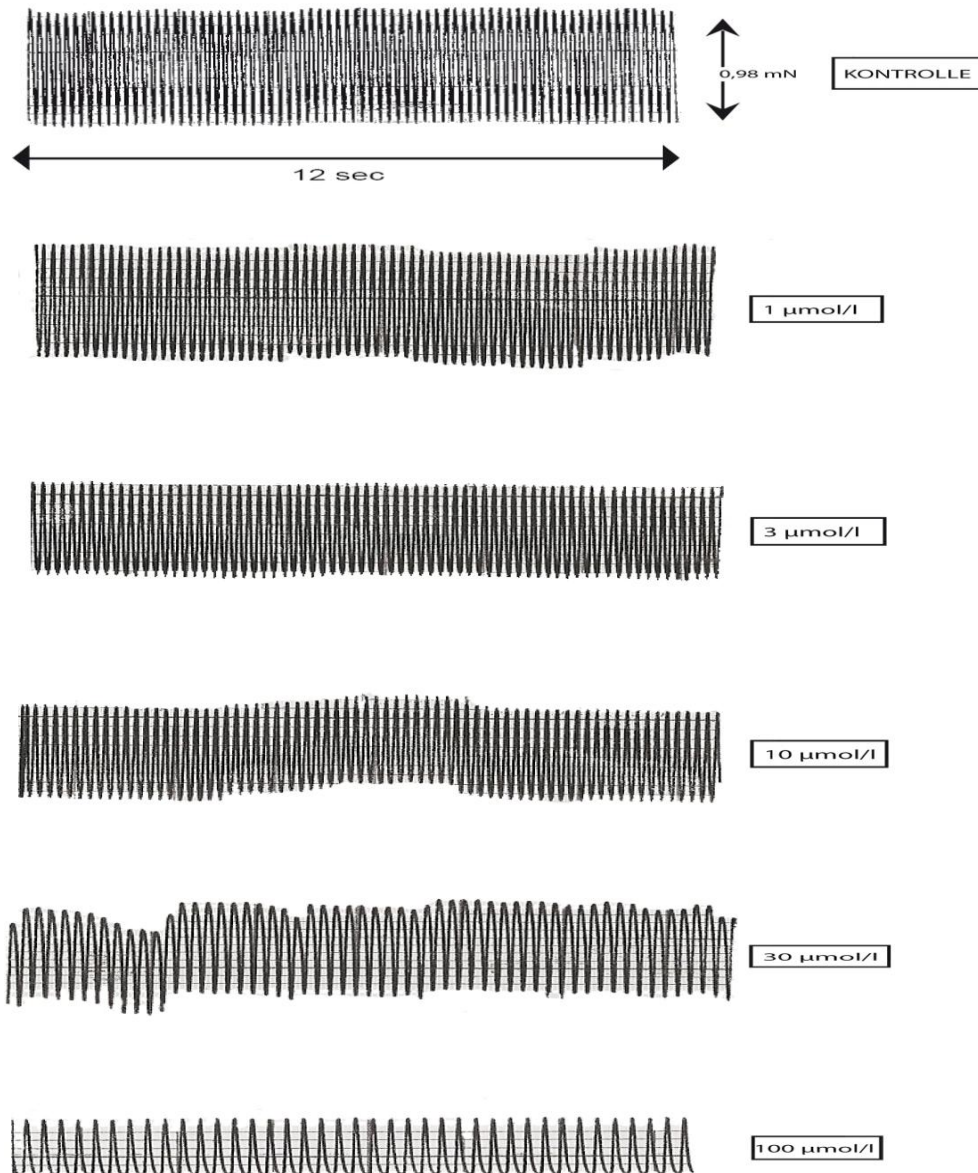


**Legende zu Abb. 26:**

In dieser Graphik wird die Änderung der Schlagfrequenz des rechten Vorhofs auf der Abszisse linear gegen den Logarithmus der verwendeten Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l von LKR1 auf der Ordinate aufgetragen. Die Punkte auf der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t- förmige Verlängerungen. Die Werte wurden aus 4 Versuchen ermittelt. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten. Der EC<sub>50</sub>- Wert beträgt 17,9 µmol/l.



**Abb. 27:** Originalaufzeichnung der Wirkung von LKR1 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs



**Legende zu Abb. 27:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt den Einfluss von LKR1 auf die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs. Die Testsubstanz LKR1 wurde in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l zugesetzt. Die Konzentrationserhöhung fand in einem Zeitintervall von 45 Minuten statt

#### **4.2.5. Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels**

An der quergestreiften Muskulatur des isolierten Papillarmuskels wurde der Einfluss der Testsubstanz LKR1 auf die Kontraktionskraft untersucht. Zu diesem Zweck wurden 4 Organe präpariert (siehe Kap.3.2.5.). Der Ablauf der Versuche ging wie zuvor in Kapitel 3.5.5. beschrieben vor sich. Nach Erreichen einer konstanten Kontraktionskraft des Papillarmuskels wurde die Testsubstanz in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  kumulativ alle 45 Minuten mittels Eppendorf- pipette zugesetzt.

Die Eigenwirkung des Lösungsmittels DMSO wurde in den Berechnungen berücksichtigt. LKR1 bewirkte mit steigender Konzentration eine Relaxation der glatten Muskulatur des Papillarmuskels.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 4 Versuchen mit  $01,02 \pm 0,21 \text{ mN}$  ermittelt. Die negative chronotrope Wirkung von LKR1 war ab einer Konzentration von 10  $\mu\text{mol/l}$  statistisch signifikant ( $-20,25 \pm 4,53 \%$  des Kontrollwertes).

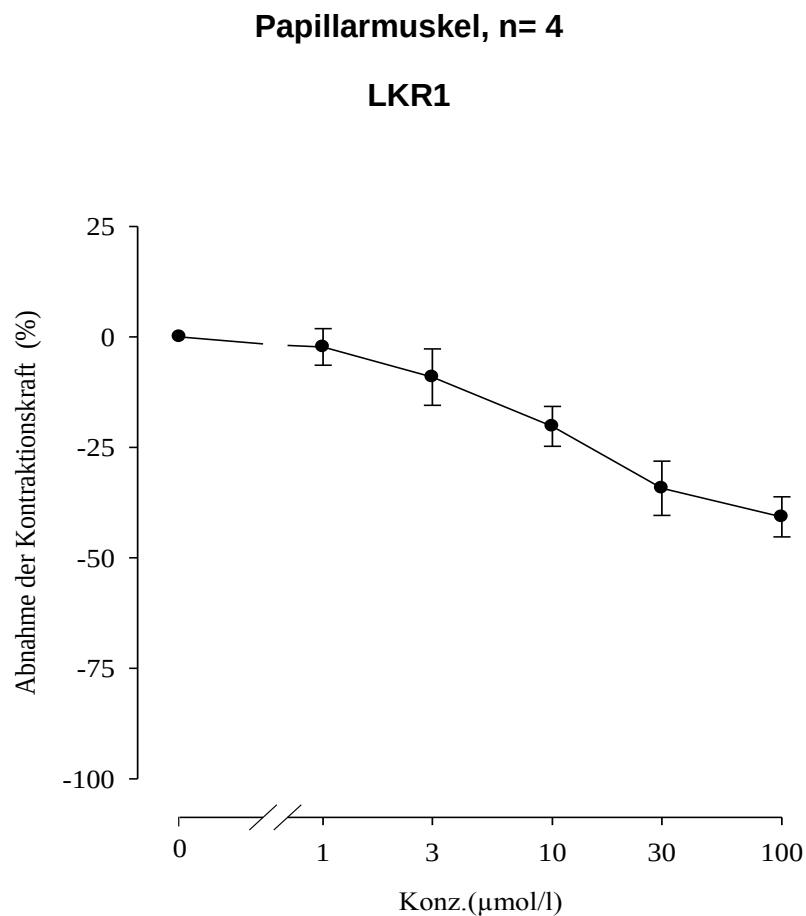
**Tabelle 11:** Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels

| LKR1<br>( $\mu\text{mol/l}$ ) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(mN) | $f_c \pm \text{SEM}$<br>(%) | Anzahl der<br>Versuche<br>n | Irrtumswahr-<br>scheinlichkeit<br>P |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 0 (Kontrolle)                 | $1,02 \pm 0,21$              | $0,00 \pm 0,00$             | 4                           | -                                   |
| 1                             | $1,00 \pm 0,17$              | $-2,28 \pm 4,14$            | 4                           | n.s.                                |
| 3                             | $0,09 \pm 0,12$              | $-9,10 \pm 6,40$            | 4                           | n.s.                                |
| 10                            | $0,80 \pm 0,13$              | $-20,25 \pm 4,53$           | 4                           | 0,05                                |
| 30                            | $0,65 \pm 0,10$              | $-34,26 \pm 6,15$           | 4                           | 0,05                                |
| 100                           | $0,60 \pm 0,10$              | $-40,74 \pm 4,53$           | 4                           | 0,05                                |

**Legende zu Tabelle 11:**

Die Tabelle zeigt arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft ( $f_c$ ) mit ihren entsprechenden Standardfehlern (SEM) in mN und in % die sich auf die Kontrollwerte  $1,02 \pm 0,21$  mN beziehen. Es wurden 4 Versuche durchgeführt. Die Signifikanz wird durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P ausgedrückt.

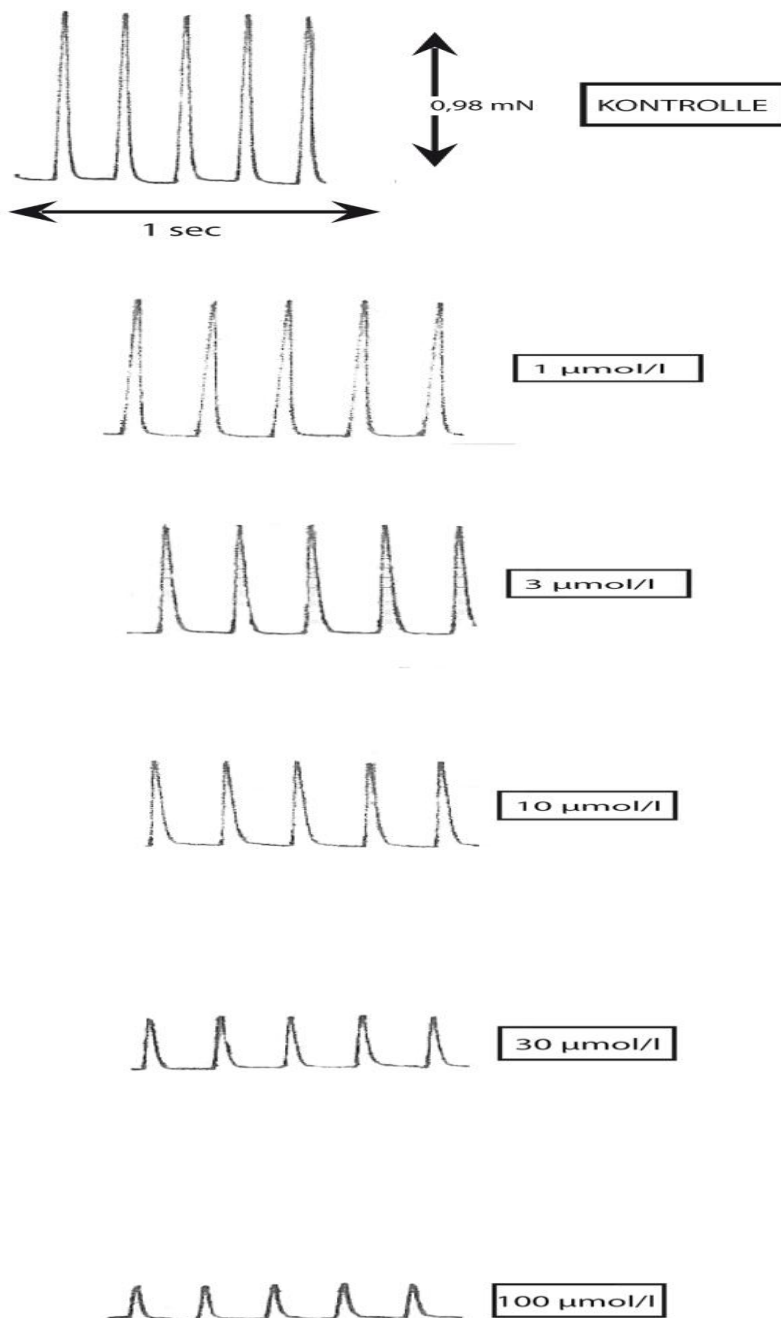
**Abb. 28:** Konzentrations- Wirkungskurve von LKR1 am isolierten Papillarmuskel



**Legende zu Abb. 28:**

Der Graph zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels an 4 Versuchen durch die kumulative Zugabe der Testsubstanz LKR1 der Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Auf der Abszisse wurde die Konzentration von LKR1 in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft des Präparates in % aufgetragen. Die Punkte entlang der Kurve markieren die arithmetischen Mittelwerte mit ihren Standardfehlern als t- förmige Verlängerungen. Der zeitliche Abstand zwischen der Zugabe der Substanz betrug jeweils 45 Minuten.

**Abb. 29:** Originalaufzeichnung der Wirkung von LKR1 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskel



**Legende zu Abb. 29:**

Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt eine Abnahme der Kontraktionskraft des Papillarmuskels bei der Zugabe von LKR1 in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l. Die Konzentrationserhöhungen durch LKR1 fanden alle 45 Minuten statt.

## 5. Diskussion

Im Rahmen der Diplomarbeit wurde die Wirkung der Schwefelwasserstoff freisetzenden Testsubstanz LKR1 und des Resveratrolderivates GK3s an verschiedenen isolierten und danach präparierten Organen des Meerschweinchens untersucht.

Zu diesem Zweck wurden die Testsubstanzen GK3s und LKR1 an der glatten Muskulatur des terminalen Ileums, der Aorta, der Arteria pulmonalis, dem rechten Vorhof und dem Papillarmuskel in den Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  erforscht.

Zum Abschluss der Arbeit galt es das erhaltene Wirkprofil der Testsubstanz LKR1 mit dem in Studien untersuchten Schwefelwasserstoff zu vergleichen, sowie das erhaltene Wirkprofil von GK3s mit dem erforschten Naturstoff Resveratrol bezüglich der Wirkung gegenüber zu stellen und zu vergleichen.

## **5.1. Wirkung von GK3s auf die isolierten Organe vom Meerschweinchen**

### **5.1.1. Untersuchung am terminalen Ileum**

Die Testsubstanz GK3s bewirkte eine sehr ausgeprägte Relaxation der glatten Muskulatur des isolierten terminalen Ileums.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft des Präparates im Mittel aus 6 Versuchen mit  $11,16 \pm 0,95$  mN ermittelt.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab  $1 \mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch signifikant ( $-17,99 \pm 3,45$  % des Kontrollwertes), ab einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  sogar statistisch hochsignifikant ( $-67,00 \pm 3,67$  % des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ -Wert schon bei  $4,7 \mu\text{mol/l}$ .

Nach Erreichen der höchsten Badkonzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$  sank die Kontraktionskraft auf  $0,70 \pm 0,45$  mN ab, was  $-93,51 \pm 3,42$  % des Kontrollwertes entsprach und somit statistisch hochsignifikant war.

Resveratrol führte zu einer starken Relaxation der glatten Muskulatur des terminalen Ileums. Diese war ab einer Konzentration von  $30 \mu\text{mol/l}$  signifikant, und ab einer Konzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$  hochsignifikant. Die Abnahme betrug in dieser Konzentrationsstufe  $-69,77 \pm 2,62$  % des Kontrollwertes. (Lösch 2004)

Durch den Vergleich der oben angeführten Messdaten der Testsubstanz GK3s und des Naturstoffs Resveratrol lässt sich aussagen, dass das synthetische Derivat GK3s den Naturstoff Resveratrol in seiner relaxierenden Wirkung auf die glatte Muskulatur des isolierten terminalen Ileums bei weitem übertrifft.

### 5.1.2. Untersuchung an der Aorta

Die Testsubstanz GK3s bewirkte eine wenig ausgeprägt konzentrationsabhängige Relaxation der glatten Muskulatur der isolierten Aorta des Meerschweinchens.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $18,15 \pm 0,92$  mN gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab  $30 \mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch signifikant ( $-22,49 \pm 3,37$  % des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Kontraktilität des isolierten Organs nur wenig ab und erreichte bis zur Endkonzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$  sowohl keinen  $\text{EC}_{50}$ -Wert als auch keine statistisch hohe Signifikanz.

Das natürliche Vorbild Resveratrol bewirkte die Relaxation der glatten Muskulatur der isolierten Aorta erst ab einer Konzentration von  $300 \mu\text{mol/l}$ , was statistisch signifikant war. Der  $\text{EC}_{50}$ -Wert lag bei  $145 \mu\text{mol/l}$ . (Lösch 2004)

Durch den Vergleich lässt sich aussagen, dass GK3s dem Naturstoff Resveratrol in Bezug auf die relaxierende Wirkung auf die glatte Muskulatur der isolierten Aorta nicht überlegen ist und die erwartete Wirkung bei weitem ausblieb.

An dieser Stelle kann eine Studie zum Thema „Untersuchung von Resveratrol auf der isolierten Aorta“ erwähnt werden:

In einer Studie führten Chen und Pace-Asciak (1996) Versuche an isolierten Aorten von Ratten durch. Nach einer Vorkonstriktion der Aorta mit Noradrenalin und Phenylephrin wirkte Resveratrol auf diese relaxierend. Außerdem besagt die Studie, dass Resveratrol eine indirekte und direkte gefäßerweiternde Wirkung aufweist. (Chen et al. 1996)



### 5.1.3. Untersuchung an der Arteria pulmonalis

Die Testsubstanz GK3s bewirkte eine ausgeprägte konzentrationsabhängige Relaxation der glatten Muskulatur der isolierten Arteria pulmonalis.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $114,52 \pm 1,43$  mN gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab  $10 \mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch signifikant ( $-24,77 \pm 2,20$  % des Kontrollwertes) und ab  $100 \mu\text{mol/l}$  sogar statistisch hochsignifikant ( $-80,57 \pm 4,18$  % des Kontrollwertes)

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ -Wert bei  $24,5 \mu\text{mol/l}$ .

Resveratrol bewirkte eine Relaxation der glatten Muskulatur der isolierten Arteria pulmonalis, welche bei  $100 \mu\text{mol/l}$  statistisch signifikant war. Die Abnahme der Kontraktilität des isolierten Organs betrug in dieser Konzentrationsstufe  $-43,56 \pm 7,10$  % des Kontrollwertes. Der  $\text{EC}_{50}$ -Wert lag bei  $126 \mu\text{mol/l}$ . (Lösch 2004)

Durch den Vergleich der Messdaten lässt sich sagen, dass die vasodilatierende Wirkung von GK3s die Wirkung des natürlichen Vorbildes Resveratrol bei weitem übertrifft

#### 5.1.4. Untersuchung am rechten Vorhof

Die Testsubstanz GK3s bewirkte eine sehr stark ausgeprägte negative chronotrope Wirkung am Sinusknoten des isolierten rechten Vorhofs.

Während der Kontrollphase wurde die Herzfrequenz im Mittel aus 6 Versuchen mit  $223 \pm 7$  Schlägen pro Minute gemessen.

Die negative chronotrope Wirkung war ab  $30 \mu\text{mol/l}$  GK3s statistisch hochsignifikant ( $-71,04 \pm 18,47$  % des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von GK3s nahm die Schlagfrequenz kontinuierlich ab und erreichte den  $\text{EC}_{50}$ -Wert bei  $21,5 \mu\text{mol/l}$ .

Nach Erreichen der Organbadkonzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$  sank die Herzfrequenz auf  $0,00 \pm 0,00 \text{ mN}$ , was  $-100 \pm 0,00$  % des Kontrollwertes entsprach und somit statistisch hochsignifikant war.

Hingegen beim Naturstoff Resveratrol begann die Herzfrequenz ab einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  kontinuierlich zu sinken. Erst ab einer Konzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$  erreichte diese Abnahme eine statistische Signifikanz. In dieser Konzentrationsstufe betrug die Schlagfrequenz des isolierten rechten Vorhofs  $-18,45 \pm 7,52$  % des Kontrollwertes. Außerdem wurde kein  $\text{EC}_{50}$ -Wert erreicht. (Lösch 2004)

Durch den Vergleich der Messdaten von GK3s und vom Naturstoff Resveratrol lässt sich feststellen, dass GK3s das natürliche Vorbild Resveratrol bezüglich der negativen chronotropen Wirkung auf den isolierten rechten Vorhof bei weitem übertrifft.

### 5.1.5. Untersuchung am Papillarmuskel

Die Testsubstanz GK3s führte zu einer konzentrationsabhängigen negativen inotropen Wirkung am isolierten Papillarmuskel.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $0,75 \pm 0,05$  mN ermittelt.

Die negative chronotrope Wirkung von GK3s war ab  $1 \mu\text{mol/l}$  statistisch signifikant ( $-20,25 \pm 3,12$  % des Kontrollwertes). Die Testsubstanz erreichte bis zur Endkonzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$  sowohl keinen  $\text{EC}_{50}$ -Wert als auch keine statistisch hohe Signifikanz.

Durch die kumulative Zugabe von GK3s nahm die Kontraktionskraft des isolierten Organs bis zu einer Konzentration von  $3 \mu\text{mol/l}$  ab. Während sie nach einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  wieder etwas anstieg und somit leicht positiv inotrop war.

Beim natürlichen Vorbild Resveratrol konnte am isolierten Papillarmuskel nur eine leichte positive inotrope Wirkung festgestellt werden, welche jedoch nicht statistisch signifikant war. Es wurde kein  $\text{EC}_{50}$ -Wert an diesem Organ erreicht.

Durch den Vergleich der Messdaten kann gesagt werden, dass GK3s sich zu Resveratrol in seiner Wirkung ähnlich verhält.

## **5.2. Wirkung von LKR1 auf die isolierten Organe vom Meerschweinchen**

### **5.2.1. Untersuchung am terminalen Ileum**

Die Testsubstanz LKR1 bewirkte eine ausgeprägte konzentrationsabhängige Relaxation der glatten Muskulatur des isolierten terminalen Ileums.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $120,38 \pm 1,58$  mN gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab  $10 \mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-30,39 \pm 4,41$  % des Kontrollwertes) und ab  $100 \mu\text{mol/l}$  LKR1 sogar statistisch hochsignifikant, was  $-80,6 \pm 5,21$  % des Kontrollwertes entsprach.

Während der kumulativen Zugabe von LKR1 nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ -Wert bei  $18 \mu\text{mol/l}$ .

Das synthetische Derivat LKR1 wirkt ausgeprägt relaxierend auf die intestinale glatte Muskulatur des terminalen Ileums.

Das Ergebnis der stark dilatierenden Wirkung von LKR1 ist auch sehr deutlich in der Konzentrations- Wirkungskurve von LKR1 am isolierten terminalen Ileum (siehe Abb. 18) zu sehen.

Aus diesem Grund kann gesagt werden, dass LKR1 den laut Studie (Zhao et al. 2002) besagten Effekt der Gefäßerweiterung von Schwefelwasserstoff auf vaskuläre und intestinale glatte Muskel Zellen, bei weitem erreicht.

### 5.2.2. Untersuchung an der Aorta

Die Testsubstanz LKR1 bewirkte eine konzentrationsabhängige Relaxation der glatten Muskulatur der isolierten Aorta.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 5 Versuchen mit  $8,98 \pm 0,57$  mN gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab  $30 \mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-30,24 \pm 5,18$  % des Kontrollwertes).

Die Kontraktilität der glatten Muskulatur des isolierten Organs sank durch kumulative Substanzzugabe von LKR1 zuerst wenig und nach einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  stärker kontinuierlich ab. Der  $\text{EC}_{50}$ -Wert wurde schließlich bei  $100 \mu\text{mol/l}$  erreicht.

Laut Studie der Universität von Saskatchewan in Kanada wurde sowohl in der Aorta als auch in der Pfortader von Ratten eine Schwefelwasserstoff induzierte und dosisabhängige Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur gemessen werden. Weiters konnte ein hoher Blutdruck der Ratten durch eine intravenöse Bolusinjektion gesenkt werden. (Zhao et al. 2002)

Grundsätzlich lässt sich sagen, dass die relaxierende Wirkung von LKR1 auf die glatte Muskulatur der Aorta weit schwächer eingetreten ist als erwartet.

### 5.2.3. Untersuchung an der Arteria pulmonalis

Die Testsubstanz LKR1 bewirkte eine ausgeprägte konzentrationsabhängige Relaxation der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 4 Versuchen mit  $12,40 \pm 2,42$  mN gemessen.

Die Abnahme der Kontraktionskraft war ab  $10 \mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-14,01 \pm 4,32$  % des Kontrollwertes).

Während der kumulativen Zugabe von LKR1 nahm die Kontraktilität des isolierten Organs kontinuierlich ab und erreichte ihren  $\text{EC}_{50}$ -Wert bei  $40 \mu\text{mol/l}$ .

Anhand von einer Studie (Hosoki et al. 1997) wurde festgestellt, dass Schwefelwasserstoff eine physiologisch protective Funktion im Kardiovaskulärensysteem hat. Die Studie ergab eine Relaxation glatter Gefäßmuskulatur einschließlich der Aorta und Pfortader.

Die synthetische Schwefelwasserstoff freisetzende Verbindung LKR1 wirkt, wie aufgrund der Aussage der oben angeführten Studie (Hosoki et al. 1997) erwartet, ausgeprägt relaxierend auf die glatte Muskulatur der Arteria pulmonalis.

#### 5.2.4. Untersuchung am rechten Vorhof

Die Testsubstanz LKR1 bewirkte eine ausgeprägte negative chronotrope Wirkung am Sinusknoten.

Während der Kontrollphase wurde die Herzfrequenz im Mittel aus 4 Versuchen mit  $254 \pm 17$  Schlägen pro Minute gemessen.

Die negative chronotrope Wirkung war ab  $10 \mu\text{mol/l}$  LKR1 statistisch signifikant ( $-12,31 \pm 3,86$  % des Kontrollwertes).

Die Schlagfrequenz nahm während der kumulativen Zugabe von LKR1 kontinuierlich ab und erreichte den  $\text{EC}_{50}$ -Wert bei  $17,9 \mu\text{mol/l}$ . Nach Erreichen der Organbadkonzentration von  $100 \mu\text{mol/l}$  sank die Herzfrequenz auf  $0,00 \pm 0,00$  mN, was  $-100 \pm 0,00$  % des Kontrollwertes entsprach und somit statistisch hochsignifikant war.

Anhand von einer Studie (Hosoki et al. 1997) wurde festgestellt, dass Schwefelwasserstoff eine physiologisch protective Funktion im Kardiovaskulärensistem hat.

An dieser Stelle kann gesagt werden, dass die synthetische Schwefelwasserstoff freisetzende Verbindung LKR1 die laut Studienergebnisse (Hosoki et al. 1997) erwartete Wirkung erfüllt.

### 5.2.5. Untersuchung am Papillarmuskel

Die Testsubstanz LKR1 führte zu einer nicht stark ausgeprägten konzentrationsabhängigen negativen inotropen Wirkung am isolierten Papillarmuskel.

Während der Kontrollphase wurde die Kontraktionskraft im Mittel aus 4 Versuchen mit  $01,02 \pm 0,21$  mN ermittelt.

Die negative chronotrope Wirkung von LKR1 war ab einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  statistisch signifikant ( $-20,25 \pm 4,53$  % des Kontrollwertes).

Die Kontraktionskraft der glatten Muskulatur des Papillarmuskels sank durch kumulative Substanzzugabe von LKR1 nur wenig ab und erreichte keinen  $\text{EC}_{50}$ -Wert.

Daher kann gesagt werden, dass eine leichte Wirkung von LKR1 wie nach der Studie von Hosoki (Hosoki et al. 1997), in welcher festgestellt wurde, dass Schwefelwasserstoff eine physiologisch protective Funktion im Kardiovaskulärensystem hat, eingetreten ist



## 6. Zusammenfassung

Zu Beginn der Diplomarbeit galt es einige Theoretische Hintergründe zu der Schwefelwasserstoff freisetzenden Testsubstanz LKR1 und zu dem synthetischen Resveratrolderivat GK3s zu erörtern.

Danach wurden die Materialien, die Methodik sowie der Versuchsablauf und die Versuchsbedingungen detailliert geschildert.

Weiters wurde schließlich die Testsubstanz GK3s und LKR1 bezüglich ihrer Eigenwirkung an den isolierten Organen des Meerschweinchens untersucht. Die Versuche wurden jeweils am isolierten terminalen Ileum, an der Aorta, an der Arteria pulmonalis, am rechten Vorhof und am Papillarmuskel in verschiedenen Konzentrationsstufen durchgeführt.

Im Anschluss wurden die Ergebnisse in einer Konzentrations- Wirkungskurve und in der jeweiligen Originalaufzeichnung der Wirkung des angeschlossenen Schreibers, welcher die Stromimpulse sichtbar machte, veranschaulicht.

Im darauffolgenden Kapitel wurden die Ergebnisse und Messdaten diskutiert.

Das erhaltene Wirkprofil der Testsubstanz LKR1 wurde mit dem in Studien untersuchten Schwefelwasserstoff verglichen. Sowie das erhaltene Wirkprofil von GK3s wurde dem erforschten Naturstoff Resveratrol bezüglich der Wirkung gegenüber gestellt.

Prinzipiell kann gesagt werden, dass die beiden neu synthetisierten heterocyclischen Derivate LKR1 und GK3s ihren natürlichen Vorbildern aufgrund des in Studien untersuchten Wirkprofils entsprechen, jedoch in ihrer Wirkstärke nicht immer übereinstimmen.

## 7. Literaturverzeichnis

Cantos E, Garcia- Viguera C, de Pascual- Teresa S, Tomas- Baberan FA (2000) Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. J Agrical Food Chem 48: 4406- 4612

Celotti E, Ferrarini R, Zironi R, Conte LS (1996) Resveratrol content of some wines obtained from dried Valpolicella grapes: Rescioto and Amarone. Journal Chromatography A 730: 47- 52

Chen CK und Pace- Asciak CR (1996) Vasorelaxing activity of Resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. Gen Pharmacol 27: 363- 366

Fontecave M, Lepoivre M, Elleingand E, Gerez C, Guittet O (1998) Resveratrol, a remarkable inhibitor of ribonucleotids reductase. FEBS Lett 421: 159- 182

Fankel EN, Kaner J, German JB, Parks L, Kinsella JE (1993) Inhibition of oxidation of human low- density lipoprotein by phenolic substances in red wine. Lancet 341: 454- 457

Furchgott RF, De Gubareff T, Grassmann A (1959) Release of automatic mediators in cardiac tissue by suprathreshold stimulation. Science 129: 328- 39

Hosoki R, Matsuki N, and 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

Hung IM, Chen JK, Hung SS (1997) Cardio protective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. Science 275: 218- 220

Kirk RI, Deitch JA, Wu JM, Lerea KM (2000) Resveratrol decreases early signalling events in washed platelets but has little effects on platelet aggregation in whole blood. Blood cells Mol Dis 26: 144- 150

Kompek A (2006) Rotwein, Oliven, Tomaten Österreichische Apothekerzeitung, Sonderdruck

Kopp P (1998) Resveratrol, a phytoestrogene found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the „French paradox“? Eur J Endocrinol 138: 619- 620

Lösch V (2004) Wirkung von Resveratrol und eines neu synthetisierten Derivates (STPAR29A) auf verschiedene isolierte Präparate von Meerschweinchen. Diplomarbeit Universität Wien

Orogozo JM, Lemeshow S, Letenneur L, Dartigues JF, Lafont S, Commenges D (1998) Illustration of analysis taking into account complex survey considerations: the association between wine and dementia in the PAQUID study. Personnes Ages Quid. American Journal of epidemiology 148 3): 298- 306

Pace- Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM (1995) The red wine phenolics trans- resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis- implication of protection against coronary heart disease. Clin Chem Acta 235: 207- 219

Schmandke H (2002) Resveratrol and Piceid im Wein und Erdnüssen sowie daraus hergestellte Produkte. Ernährungsumschau 9: 349- 353

Soleas GJ, Diamandis EP and Goldberg DM (1997) Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? Clin Biochem 30: 91- 113

Soleas GJ, Diamandis EP and Goldberg DM (2001) The world of resveratrol. Adv Exp Med Biol 492: 159- 182

Thews G, Mutschler E, Vaupel P (1999) Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen: wissenschaftliche Verlagsgesellschaft bH, Stuttgart 97, 99, 356, 326, 658

Urea G (2003) Improving postharvest residence in fruits by external application of trans- resveratrol. J Agrical Food Chem 51: 81- 89

Yu C, Shin YG, Chow A, Li Y, Kosmeder JW, Lee YS, Hirschelman WH, Pezzuto JM, Mehta RG, van Breeman RB (2002) Human Rat and Mouse Metabolism of Resveratrol. Pharm Res. 19: 1907- 1914

Zhao W, Wang R (2002) Am J Physiol Heart Circ Physiol 283: 474- 480

## 8. Curriculum vitae

### Persönliche Daten:

Name: Gracjana Gaweda  
Geburtsdatum: 13. April 1984  
Geburtsort: Lwowek sl.  
Wohnort: Wien  
Staatsangehörigkeit: Polen

### Ausbildung:

1990 bis 1994 Volksschule, 1100 Wien, Jagdgasse 23  
1994 bis 2002 Gymnasium, Sacré Coeur 1030 Wien, Rennweg 32  
17. Juni 2002 Reifeprüfung in den Fächern Deutsch, Mathematik, Englisch, Französisch, Geschichte, Psychologie und Philosophie mit gutem Erfolg abgelegt  
September 2002 Immatrikulation an der Universität Wien und Inskription an der Formal- und Naturwissenschaftlichen Fakultät - Studienrichtung: Pharmazie  
15. Dezember 2002 Abschluss der 1. Diplomprüfung  
WS 2006 Diplomarbeit am Institut für Pharmakologie und Toxikologie Der Universität Wien  
27. Februar 2009 Abschluss der 2. Diplomprüfung  
2002- 2009 Studium an der Universität Wien