



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Pharmakologisches Screening von zwei neu synthetisierten
Resveratrol-Derivaten (KJ 8 und KJ 21) an isolierten Präparaten
von Meerschweinchen

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasser:	Martin Abadir
Matrikel-Nummer:	0104742
Studienrichtung /Studienzweig (lt. Studienblatt):	Pharmazie
Betreuer:	Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik

Wien, im Dezember 2009

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Ao. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik für seine außerordentlich freundliche und hervorragende Betreuung bedanken.

Natürlich möchte ich mich auch bei Frau Pakiza Rawnduzi und Herrn Peter Höflich für ihre Unterstützung in allen technischen Belangen bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich moralisch im Zuge dieses Studiums immer unterstützt hat

Inhaltsverzeichnis

1.1. Geschichte des Resveratrols	4
1.2. Vorkommen von Resveratrol	5
1.3. Bildung von Resveratrol-Biosynthese	5
1.4 . Wirkung von Resveratrol	7
2. Zielsetzung	9
3 Material und Methodik	10
3.1 . Testsubstanzen	10
3.2. Versuchstiere	12
3.3. Isolierung der Präparate	12
3.3.1. Isolierung des terminalen Ileums	12
3.3.2. Isolierung des rechten Vorhofes	13
3.3.3. Isolierung der Aorta	14
3.3.4. Isolierung der Arteria pulmonalis	14
3.3.5. Isolierung des Papillarmuskels	14
3.4. Physiologische Elektrolytlösung (Tyroden)	15
3.4.1. Nährlösung für den rechten Vorhof, den Darm, den Papillarmuskel und die Pulmonal Arterie	15
3.4.2. Nährlösung für die Aorta	16
3.5. Versuchsanordnung	17
3.5.1. Versuchsassparatur	17
3.5.2. Apparatur für den Papillarmuskel	18
3.5.3. Schematische Darstellung des Kraftwandlers und seine Registrierung	19
3.6. Versuchsablauf	22
3.6.1. Durchführung der Untersuchung am rechten Vorhof	22
3.6.2. Durchführung der Untersuchung am Papillarmuskel	22
3.6.3. Durchführung der Untersuchung am terminalen Ileum	23
3.6.4. Durchführung der Untersuchung an der Aorta	23
3.6. 5. Durchführung der Untersuchung an der Pulmonalarterie	24
3.7. Messgrößen und Statistik	24
4. Ergebnisse	26
4.1. Testsubstanz KJ 8	26
4.1.1. Wirkung von KJ 8 auf das terminale Ileum	26

4.1.2. Wirkung von KJ 8 auf die isolierte Aorta	29
4.1.3. Wirkung von KJ 8 auf die Arteria pulmonalis	32
4.1.4. Wirkung von KJ8 auf das Atrium dexter	35
4.1.5. Wirkung von KJ 8 auf den Papillarmuskel	38
4.2 .Testsubstanz KJ 21	41
4.2.1. Wirkung von KJ 21 auf das terminale Ileum	41
4.2.2 .Wirkung von KJ 21 auf die isolierte Aorta	44
4.2.3. Wirkung von KJ 21 auf die Arteria pulmonalis	47
4.2.4 .Wirkung von KJ 21 auf das Atrium dexter	50
4.2.5. Wirkung von KJ 21 auf den Papillarmuskel	53
5. Diskussion	56
5.1. Vergleich der beiden Testsubstanzen an isolierten Organen.....	56
5.1.1. Vergleich bei dem Ileum terminalis	56
5.1.2. Vergleich bei der isolierter Aorta.....	57
5.1.3. Vergleich bei der Arteria pulmonalis	57
5.1.4. Vergleich bei dem Atrium dexter.....	58
5.1.5. Vergleich bei dem Musculi papillares.....	58
5.2. Die beiden Testsubstanzen im Vergleich mit Resveratrol	59
6. Zusammenfassung	61
7. Literaturverzeichnis.....	62
8. Curriculum vitae.....	65

1.1. Geschichte des Resveratrols

Resveratrol wurde erstmals im Jahr 1963 aus den Wurzeln der Knöterich-Pflanze (*Polygonum cuspidatum*) isoliert und identifiziert. Diese Pflanze wird traditionell in der chinesischen Medizin angewendet, um beispielsweise Pilze, Hautentzündungen sowie Krankheiten des Herzens und der Blutgefäße zu behandeln.

1976 wurde Resveratrol in Weintrauben nachgewiesen, heute weiß man, dass es vor allem in Rotweinen vorkommt.

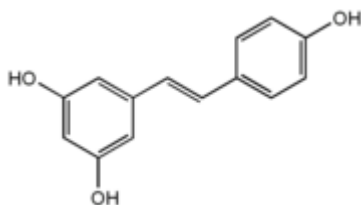
Resveratrol gehört zu den Flavanoiden und wird der Klasse der Phytoalexine zugeordnet, es ist Wasser- und Fettlöslich. Der Begriff Alexin stammt aus dem Griechischen und bedeutet soviel wie *sich schützen* oder *von sich weisen*. Phytoalexine sind eine Klasse von antibiotischen Polyphenol-Verbindungen, die das Abwehrsystem von Pflanzen stärken.

Resveratrol wird als Stress-Metabolit bei erhöhter Belastung, beispielsweise durch hohe Ozonbildung, UV-Strahlung, Insekten und Pilzbefall, Infektionen und Schadstoffe, in der Pflanze selbst gebildet.

Chemisch gesehen handelt es sich bei Resveratrol um ein Stilbenderivat, genauer um ein 3,4',5-Trihydroxy-trans-stilben.

Die Substanz ist verwandt mit dem synthetischen Östrogen Diethylstilbestrol (Gehm et al.1997).

Abb.1: Resveratrol



1.2. Vorkommen von Resveratrol

Resveratrol findet sich in einer Anzahl von Pflanzen bzw. pflanzlichen Lebensmitteln, vor allem in Weintrauben, Himbeeren, Maulbeeren und Erdnüssen. Man findet es auch in den Schalen von Weintrauben sowie in den Traubenkernen, Stielen, Reben und Wurzeln vor. Am stärksten ist Resveratrol aber in den Schalen konzentriert. Traubensaft enthält im Vergleich zu Rotwein nur wenig Resveratrol. Der höhere Gehalt im Rotwein beruht auf dem Fermentierungsprozess, an dem die Schalen länger beteiligt sind. Bei der Herstellung von Weißwein werden die Traubenschalen früher entfernt, daher enthält auch Rotwein etwa die 15-fache Menge an Polyphenolen.

Viele bei uns erhältliche französische und italienische Rotweine enthalten bis zu 6 mg Resveratrol pro Liter. Beispielsweise müsste man etwa 10 kg Weintrauben oder 1 kg Erdnüsse verzehren, um auf denselben Resveratrolgehalt zu kommen, der in einem halben Liter Rotwein steckt. Der Gehalt kann allerdings durch die Lagerung in Eichenfässern schon nach einem Jahr um etwa die Hälfte absinken.

Meist wird nur von „dem“ Resveratrol gesprochen, auch wenn es in der Natur in verschiedenen Isomeren vorkommt. Man unterscheidet das *trans*- und *cis*- Resveratrol, sowie deren jeweilige Glucoside, die auch als Piceide bezeichnet werden. Das häufigste in der Natur vorkommende Derivat ist jedoch das *trans*- Resveratrol. (Hung et al. 1997).

1.3. Bildung von Resveratrol-Biosynthese

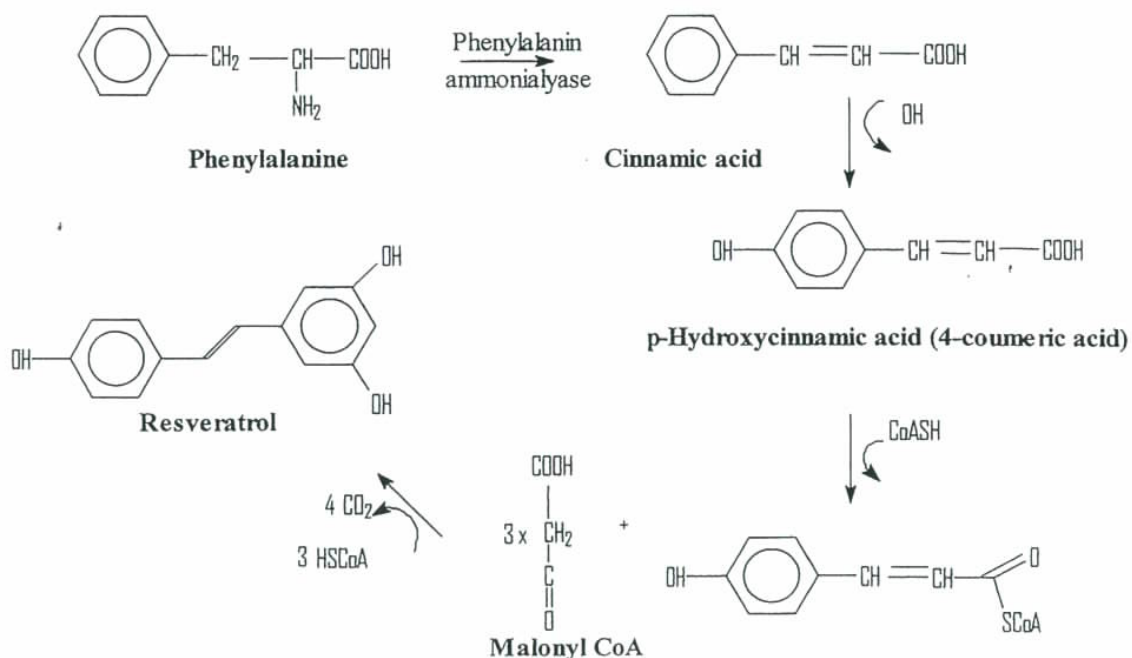
Es wurde bereits erwähnt, in welchen Pflanzen Resveratrol zu finden ist.

Aber warum gerade in diesen und warum enthalten nicht alle Pflanzen Resveratrol?

Der Grund liegt darin, dass die meisten Pflanzen das für die Resveratrol Bildung erforderliche Enzym, nämlich die Resveratrol-Synthetase nicht besitzen.

Der generelle Name für die nötigen Biosynthese-Enzyme ist die Stilben-Synthetase. Ebenfalls in die gleiche Proteinfamilie gehört die Chalcon-Synthetase. Dieses Enzym kommt im Gegensatz zur Stilben-Synthetase in allen Pflanzen vor, denn die Chalcon-Synthetase ist ein essentielles Enzym bei der Synthese der Blütenfarbstoffe. Beide Enzyme sind eng miteinander verwandt.

Abb.2: Biosynthese von Resveratrol



Die Biosynthese des Resveratrols geht von der Aminosäure Phenylalanin aus. Zuerst kommt es durch Oxidation und Desaminierung zur Bildung von Zimtsäure. Diese wird in der Folge enzymatisch zur p-Cumarinsäure hydroxyliert. Die Cumarinsäure wird durch eine spezifische CoA-Ligase zum Ester umgesetzt. Im letzten Schritt erfolgt mit drei Malonyl CoA und der Resveratrol-Synthetase die Kondensation zum Resveratrol. (Wu et al. 2001).

Beide Enzyme, sowohl die Chalcon- als auch die Stilben-Synthetase, gehören zur Gruppe der Polyketid-Synthetasen und die Reaktionen verlaufen völlig identisch bis zur Entstehung des Tetraketides nach der dreimaligen Kondensation mit Malonyl-CoA. Erst dann unterscheiden sie sich. Bei der Ringbildung zum Resveratrol wird CoA. Erst jetzt unterscheiden sie sich. Bei der Ringbildung zum Resveratrol wird die endständige Carboxylgruppe als CO₂ abgespalten. Bei der Chalcon-Bildung hingegen bleibt die Carboxylgruppe erhalten.

Durch den Austausch weniger Schlüsselaminosäuren wäre es also, so die Spekulationen der Wissenschaftler möglich, auch anderen Pflanzen durch Genmanipulation die Bildung von Resveratrol zu ermöglichen (Austin et al. 2004).

Ob dies in naher Zukunft eine Möglichkeit wäre, Resveratrol mit der Nahrung als functional food, also gleichsam als lebensverlängerndes Nahrungsmittel, zu konsumieren, bleibt aber wohl eine eher allzu optimistische Spekulation und vorerst einmal abzuwarten.

1.4 . Wirkung von Resveratrol

Seit Resveratrol im Rotwein nachgewiesen wurde, wurden auch zahlreiche Studien über dessen positive biologische Effekte veröffentlicht. Resveratrol hat seither einen enormen Boom erlebt und inzwischen kann man Resveratrol als Nahrungsergänzungsmittel im freien Verkauf erwerben. Im folgenden Abschnitt soll lediglich die wichtigsten und am besten untersuchten Wirkungen behandelt werden.

So haben Studien ergeben, dass Resveratrol seine Abwehr stärkenden Fähigkeiten nicht allein in der Pflanze, sondern auch im menschlichen Körper entfaltet. Das beruht vorwiegend auf seinen antioxidativen Wirkungen.

Resveratrol ist vor allem ein Fänger von Peroxyl-Radikalen, senkt außerdem die Lipidperoxidation von Lipoproteinen (LDL) und Zellen, und schützt vor den schädlichen Folgen von oxidiertem LDL. Da Resveratrol sowohl Wasser als auch fettlöslich ist, bietet es vermutlich einen sehr viel breiteren antioxidativen Schutz als andere Antioxidantien, beispielsweise als die Vitamine C und E.

Möglicherweise ist das so genannte „französische Paradox“ durch die Wirkung von Resveratrol zu erklären.

Obwohl sich die Franzosen generell eher fettreich ernähren, neigen sie dennoch weniger zu koronaren Herzkrankheiten als andere Völker, was Forscher auf den höheren Rotweinkonsum der Franzosen zurückführen. Untersuchungen haben ergeben, dass Rotwein die LDL- Oxidation selbst in 1000-facher Verdünnung noch signifikant stärker hemmt, als zum Beispiel Vitamin E.

Auf die antioxidative Wirkung lässt sich auch die kardioprotektive Wirkung und somit ein gewisser Schutz vor koronaren Herzkrankheiten zurückführen.

Außerdem wird diskutiert, dass Resveratrol einen gewissen Schutz vor Arteriosklerose besitzt und zwar durch die Hemmung der Cyclooxygenase (COX) und die Hydroperoxidaseaktivität von COX-1. ist eine antiphlogistische Wirkung und somit auch Schutz vor Arteriosklerose gegeben.

Resveratrol wirkt antientzündlich, hemmt einige Pilze sowie Herpes-Viren und hat antimutagene und antikanzerogene Potentiale. Es kann zum Schutz vor verschiedenen

Krebskrankheiten auf mehreren Wegen beitragen. Resveratrol kann sowohl die Entstehung von Krebszellen als auch ihre weitere Entwicklung hemmen, indem es den NF- κ B inhibiert. Der NF- κ B (=nuclear factor kappa B) findet sich als Schlüsselpotein in allen Zellkernen, wo er für die Aktivierung jener Gene zuständig ist, die den Zellen ein überleben ermöglichen. Durch die Wirkung des Resveratrols kann der NF- κ B seine überlebensfördernde Wirkung nicht mehr entfalten und in den Krebszellen wird folglich die Apoptose induziert (Yeung et al. 2004).

Die schützende Wirkung von Resveratrol ist speziell bei Brustkrebs experimentell nachgewiesen. Sie ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass Resveratrol ähnlich wie ein Phytoöstroren wirkt und Krebszellen an ihrer Entwicklung hindert. Bisher hat sich die antikanzerogene Wirkung bei Mammatumoren zwar an Zellkulturen von Mäusen bestätigt, bei menschlichen Mammatumoren konnte sie aber bislang noch nicht bewiesen werden (Gehm et al 1997).

Eine eventuelle Schutzfunktion bei Darmkrebs, Leukämie, Haut-, Lungen- und Prostatakrebs wird ebenfalls diskutiert.

Abschließend bleibt zu sagen, dass wohl trotz der vorliegenden zum Teil sehr viel versprechenden Ergebnisse von zu großem Optimismus abgesehen werden muss, denn die Forschung beschränkt sich bisher auf in-vitro-Studien und Untersuchungen am Tiermodell. Studien am Menschen jedoch, sowie genaue Versuche bezüglich Bioverfügbarkeit und Metabolismus stehen noch aus.

Auch der Rotwein ist, als Hauptquelle des Resveratrol, momentan ein brisantes Thema, der von zahlreichen Wissenschaftlern genau untersucht wird. Doch auch hier gilt, dass eindeutige Beweise der positiven Wirkung noch ausstehen. Die negativen Auswirkungen von chronischen Alkoholgenuss hingegen sind zweifelsfrei bewiesen. Leberzirrhose und körperliche Abhängigkeit sind nur zwei der Folgen von chronischen Alkoholkonsums. Hier bleibt nur mehr die Frage, um mit den Worten von Gehm et al 1997 zu sprechen: *Was ist schützenswerter? Das Herz oder die Leber?*

Unbestritten bleibt jedoch, dass es sich bei Resveratrol um eine interessante Substanz mit vielfältigem Potential handelt, von der man noch einiges hören wird. Es bleibt also mit großer Spannung abzuwarten, welche Ergebnisse weitere Studien mit dieser beachtlichen Substanz bringen werden.

2.Zielsetzung

Ziel dieser Diplomarbeit war es, die vorliegenden Substanzen KJ 8 und KJ 21 zu untersuchen und mit dem bereits gut erforschten Resveratrol zu vergleichen.

Die zu untersuchenden Substanzen wurden am Departement für medizinische und pharmazeutische Chemie der Universität Wien synthetisiert. Dabei handelt es sich, ebenso wie bei der Substanz Resveratrol, um ein Stilbenderivat.

Dabei wurde vorerst der Einfluss von KJ 8 und KJ 21 auf die glatte Muskulatur der Arteria pulmonalis, dem terminalen Ileum und der Aorta getestet.

Am Sinusknoten und Papillarmuskel wurde eine eventuell positiv oder negativ chronotrope bzw. inotrope Wirkung untersucht.

Letztendlich wurde dies durchgeführt um herauszufinden ob die getesteten Substanzen an den oben genannten Organen eventuell ein ähnliches Wirkungsprofil zeigen, wie der pflanzliche Inhaltsstoff Resveratrol.

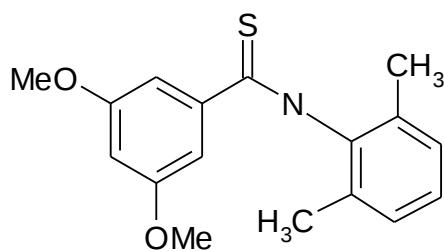
3 Material und Methodik

3.1 .Testsubstanzen

Diese wissenschaftliche Arbeit beschäftigt sich mit der Aufklärung der Wirkung von KJ8 und KJ21, bei denen es sich um neu synthetisierte Verbindungen handelt und Derivate des Naturstoffes Resveratrol darstellen. Die Substanzen wurden am Departement für medizinische und pharmazeutische Chemie an der Universität Wien synthetisiert und von Prof. Dr. Erker für Versuche im Rahmen dieser Diplomarbeit zur Verfügung gestellt.

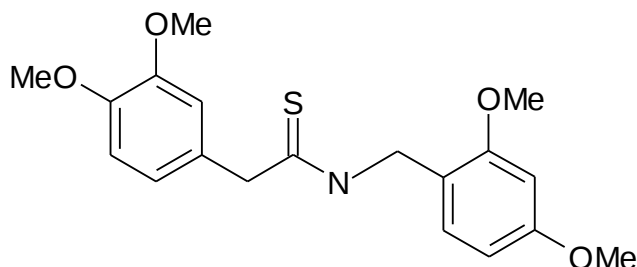
Abbildung 3:Strukturformel der Testsubstanzen KJ8 und KJ21 samt Nomenklatur und Molekulargewicht

KJ 8



N-(2,6-Dimethylphenyl)-3,5-dimethoxybenzothioamid

KJ 21



N-(2,4-Dimethoxybenzyl)-2-(3,4-dimethoxyphenyl)acetthioamid

Täglich wurden Stammlösungen der Substanz mit DMSO frisch hergestellt, wobei die Einwaage so gewählt wurde, dass durch kumulative Substanzzugabe jeweilige Konzentrationsmaxima von 100µg bzw. 300µg in den Organbädern erreicht wurden. Zu beachten war die Tatsache, dass sich auch die Bäder für die isolierten Organe des Meerschweinchens hinsichtlich ihrer Volumina unterschieden (8, 25ml), was natürlich in die Berechnung der jeweiligen Einwaage mit einbezogen werden musste.

Die Badkonzentrationen wurden für 0.1µmol/l, 0.3µmol/l, 1.0µmol/l, 10µmol/l, 30.0µmol/l, 100.0µmol/l, 300.0µmol/l berechnet und im anschließenden Versuchsablauf, im Abstand von jeweils 45min, mit Finnpiptetten als Volumina von 1.0µl, 2.0µl, 7.0µl, 20µl, 70µl, injiziert, um durch die kumulative Zugabe bei jeder Konzentration ein Plateau, sog. „steady state Bedingungen“, zu erreichen.

3.2. Versuchstiere

Die Versuche wurden an verschiedenen isolierten Organen männlicher Meerschweinchen durchgeführt. Diese wiesen alle ein durchschnittliches Körpergewicht von 330-600g auf, waren wenige Wochen alt und stammten aus dem Institut für Labortierkunde und Genetik in Himberg Österreich (Stamm DH) und aus der Versuchstierzucht in Dobro Voda Slowakei (Stamm DH bzw. TRIK) .

Die verwendeten Tiere wurden alle am Tag vor der Versuchsdurchführung nüchtern gestellt, um einen konstanten Ruhetonus der glatten Muskulatur des Dünndarms gewährleisten zu können.

Nachdem die Tiere durch einen gezielten Genickschlag getötet wurden, um den Tieren einen raschen, schmerzlosen Tod zu beschern, musste das Herz möglichst schnell entnommen werden, um einen Sauerstoffmangel des Herzens zu verhindern.

Um im weiteren Verlauf bis zur fertigen Präparation eine ausreichende Sauerstoffversorgung der einzelnen Organe sicherzustellen, wurden sie in einer Nährlösung aufbewahrt, die zusätzlich mit Oxymix (95% O₂, 5% CO₂) durchströmt wurden.

3.3. Isolierung der Präparate

3.3.1. Isolierung des terminalen Ileums

Nach der Tötung der Meerschweinchen wurde der Bauchraum geöffnet und ein Teil des vor dem Caecum gelegenen terminalen Ileums entnommen, ohne dieses durch zu starken Druck oder Zug zu beschädigen. Das dem Jejunum zugewandte Ende wurde mit einem Zwirnsfaden markiert, um bei der weiteren Präparation eine Orientierungshilfe zu haben.

Die vor dem Caecum gelegenen Peyer'schen Plaques wurden verworfen. Der entnommene Teil des Darms wurde möglichst rasch in ein mit der entsprechenden physiologischen Nährlösung gefülltes Becherglas überführt.

Die weitere Präparation erfolgte unter einem Mikroskop (Nikon SMZ-10A, Japan). Vom caecal gelegenen Ende des Darms wurden ca. 0,5-1 cm große Stücke abgeschnitten. Hierbei erwies es sich als Vorteil, den Schnitt leicht schräg anzusetzen, um die Stückchen in der Folge leichter befestigen zu können. Die Darmstücke wurden in eine mit Kork ausgekleideten und

mit Tyrode gefüllten Petrischale gelegt, und an beiden Enden mit Präpariernadeln festgesteckt. Dabei war darauf zu achten, dass die Darmwand von innen nach außen durchstoßen wurde ohne diese zu verletzen.

Anschließend wurden die Stückchen vorsichtig mit einer Federschere von anhaftendem Fettgewebe befreit und der Darm von oben nach unten vorsichtig glatt gestrichen, ohne ein Loch in die Darmwand zu stechen.

Als nächsten wurde an jedem Darmende ein Häkchen aus Silberdraht befestigt. Das obere Ende wurde mit einem roten Zwirnsfaden markiert, das Untere mit einem schwarzen , um später beim Einspannen in die Apparatur eine Verwechslung der Enden ausschließen zu können. Das Häkchen wurde vorsichtig durch den Faden gezogen, ohne die Organwand zu durchstechen und mit einem zweifachen Knoten befestigt. Der Faden wurde allerdings nur an der Rückwand des Organs befestigt, so dass an beiden Enden des Darmrohres eine Öffnung frei blieb, die in späterer Folge ein gleichmäßiges durchströmen der Substanz ermöglichte. Bis zu ihrer Verwendung wurden die Präparate wiederum mit Oxynix durchperl.

3.3.2. Isolierung des rechten Vorhofes

Die Präparation des Herzens wurde ebenfalls unter dem Mikroskop durchgeführt. Das entnommene Herz wurde, wie der Darm, in eine Kork ausgelegte Tyrode befüllte Petrischale transferiert und in der Zwischenzeit mit Oxymix durchströmt.

Zuerst wurden mit einer Federschere die angrenzenden Lungenteile, das Fettgewebe und das Perikard entfernt. Anschließend wurde das Herz mit Präpariernadeln an Basis und Spitze fixiert, um den Vorhof abzutrennen und diesen wiederum an den beiden Spitzen zu befestigen.

Der Sinusknoten befindet sich im rechten Vorhof, kann aber dort nicht ganz genau lokalisiert werden, daher musste besonders vorsichtig gearbeitet werden beim Entfernen der Fettreste um ihn nicht zu beschädigen, da ein Weiterschlagen somit unmöglich gemacht werden würde. Dann wurde, wie auch beim Ileum, an beiden Spitzen mit einem Zwirnsfaden ein Silberdrahthäkchen angebracht. Bis zum Einspannen in die Apparatur wurde der Sinusknoten wieder in der entsprechenden Nährlösung aufbewahrt und mit Oxymix durchperl.

3.3.3. Isolierung der Aorta

Um die Aorta isolieren zu können, wurde der Thorax mit einer Schere geöffnet und das Herz entfernt. Nach der Herzentfernung wurde die Aorta vorsichtig entlang des Rückrates heraus präpariert und möglichst nahe am Herzen abgeschnitten, ohne die Wand der Aorta zu verletzen.

Die weitere Präparation erfolgte unter dem Mikroskop. Nach der Fixierung der Aorta in einer mit Nährlösung gefüllten Petrischale, wurden die Reste von Fettgewebe mit einer Federschere abgetrennt und Teile die Löcher aufwiesen verworfen. Es wurde wieder darauf geachtet, die Aorta nicht zu stark zu dehnen. Ringe von ca. 2 cm Breite wurden geschnitten und in die Versuchsanordnung eingespannt.

3.3.4. Isolierung der Arteria pulmonalis

Um die Arteria pulmonalis entnehmen zu können, wurde das Herz wieder möglichst schnell heraus präpariert und in eine Nährlösung gefüllte Schale überführt. Die Pulmonalarterie wurde möglichst nahe am Herzen abgetrennt, wobei nur das direkt vom Herz wegführende Stück, bis zur Aufteilung in rechte und linke Arterie, verwendet wurde. Das Präparat wurde in einer Petrischale mit Präpariernadeln befestigt und analog zur Aorta von Fett- und Muskelgewebe gereinigt. Dann wurden ebenfalls ringförmige Stückchen von 3-4 mm geschnitten und diese bis zum Einspannen in die Apparatur mit Oxymix behandelt.

3.3.5. Isolierung des Papillarmuskels

Das dem Meerschweinchen entnommene Herz wurde an der Spitze und der Basis mit Präpariernadeln befestigt, nachdem überflüssige Fettreste und der Herzbeutel zuvor vorsichtig entfernt wurden.

Um die Papillarmuskeln zu erreichen wurde der rechte Ventrikel über die Arteria pulmonalis entlang des Septums bis zur Herzspitze geöffnet, aufgeklappt und dann wieder mit Präpariernadeln fixiert. Die Purkinjefasern, die zuständig sind für die Herzschrittmachertätigkeit und die durch ihre Spontanaktivität den Versuchsverlauf möglicherweise negativ beeinflusst hätten, wurden vorher vom Muskel entfernt.

Anschließend wurde am Ansatz der Papillarmuskelsehne mit einem Stück Zwirn ein Silberdrahthäkchen befestigt, die Sehne durchtrennt und der Muskel vorsichtig herausgearbeitet.

Um eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu garantieren, wurden ausschließlich Papillarmuskeln mit einem maximalen Durchmesser von 0,87mm verwendet (Koch-Weser 1963)

3.4. Physiologische Elektrolytlösung (Tyroden)

3.4.1. Nährlösung für den rechten Vorhof, den Darm, den Papillarmuskel und die Pulmonal Arterie

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

Tabelle1.: Tyrode für den rechten Vorhof, Papillarmuskel, Darm und Pulmonal Arterie

Stocklösung	mmol/l
NaCl	114,9
KCl	4,73
NaHCO ₃	24,90
MgSO ₄	3,20
KH ₂ PO ₄	1,180
CaCl ₂	1,180
Glucose	10,00

Legende zu Tabelle 1:

Tabelle 1 zeigt die Zusammensetzung der Tyrode, die bei allen Versuchen an den oben genannten Organen verwendet wurde.

Die Tyrode wurde jeden Tag frisch zubereitet. Zu diesem Zweck wurde die Stocklösung in der entsprechenden Menge in einen Meßkolben gefüllt (siehe Tab.1.).

Anschließend wurde mit Aqua bidestillata auf ungefähr $\frac{3}{4}$ des gewünschten Volumens ergänzt. Nach Zugabe der Glucose folgte eine ca. 10 Minuten lange Begasung mit Oxymix (einer Mischung aus 95% O₂ und 5% CO₂) bevor zuletzt die Calciumchloridlösung zugegeben und das restliche Wasser ergänzt wurde. Um die Bildung schwerlöslicher Calciumsalze und in Folge eine Trübung zu vermeiden, wurde die CaCl₂-Lösung langsam dazu pipettiert.

Die Organbäder wurden mit destilliertem Wasser gereinigt und mit Tyrode gefüllt. Eine Wärmepumpe sorgte für eine konstante Temperatur während der gesamten Versuchsdauer. So wurde bei Papillarmuskel und Vorhof bei einer Temperatur von 35,5°C gearbeitet, bei allen anderen Organen bei 37°C.

Um genügend Sauerstoff zu den Organen zu transportieren und den pH-Wert im physiologischen Bereich zwischen 7,2-7,4 konstant zu halten, wurde die Nährlösung während der gesamten Versuchsdauer mit Oxymix begast.

3.4.2. Nährlösung für die Aorta

Für die Aorta wurde eine modifizierte Krebs-Henseleit Lösung verwendet, wie bereits zuvor in Kapitel 3.4.1. erklärt wurde, die sich aus folgenden Komponenten zusammensetzte.

Tabelle 2.: Tyrode für die Aorta

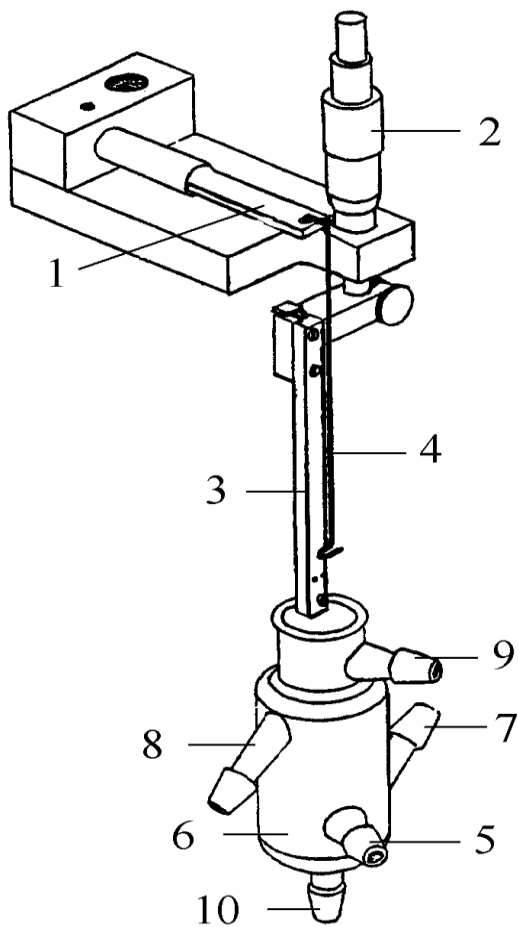
Stocklösung	mmol/l
NaCl	118,0
KCl	4,73
NaHCO ₃	11,90
MgSO ₄	5,80
KH ₂ PO ₄	1,40
CaCl ₂	3,20
Glucose	10,0

Legende zu Tab.2.:

Tabelle 2 zeigt die Zusammensetzung der Tyrode die bei alle Aortenversuchen verwendet wurde.

3.5. Versuchsanordnung

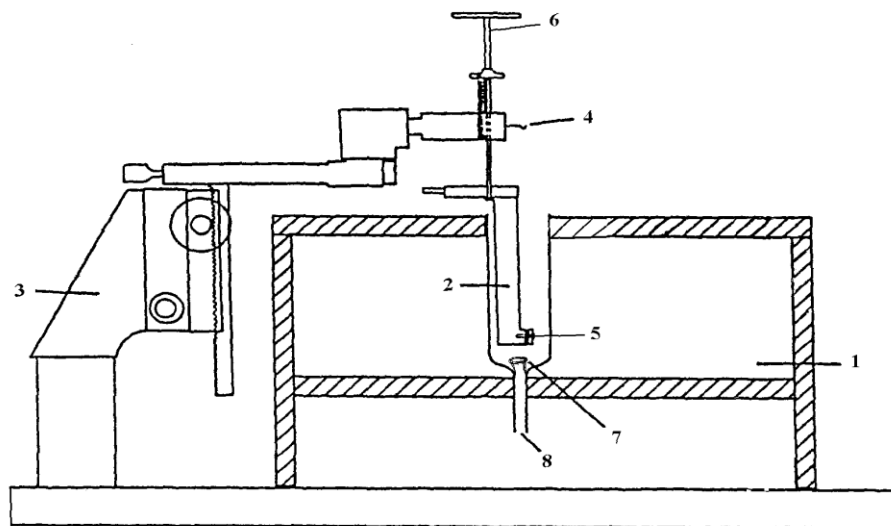
3.5.1. Versuchsaapparatur



Legende zur Abbildung :

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

3.5.2. Apparatur für den Papillarmuskel



Legende zur Abbildung :

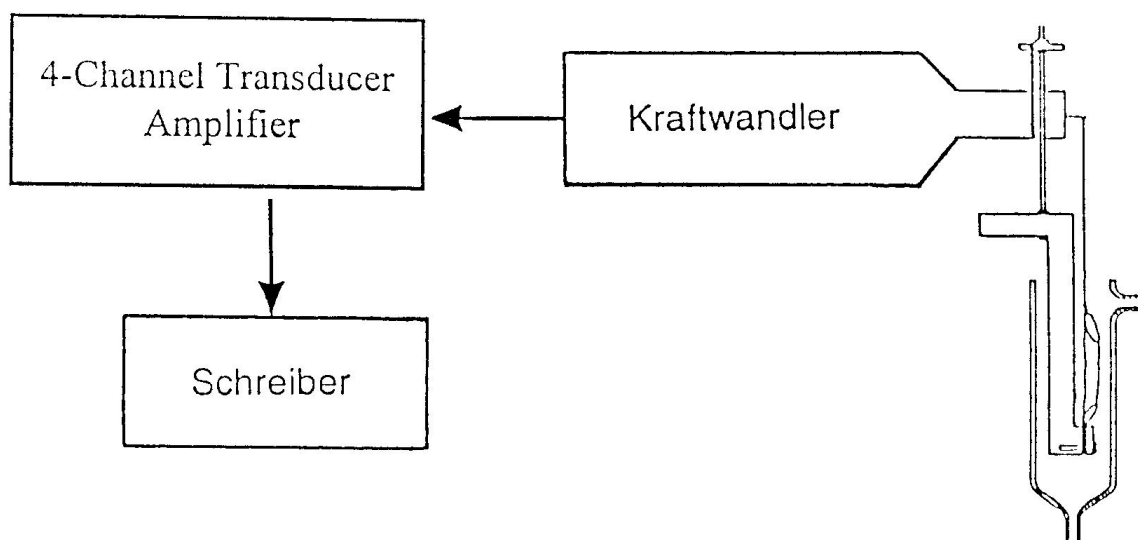
1. Wasserbad
2. Organhalterung
3. Stativ
4. Aufhängevorrichtung Organ
5. Fixierung mit Elektrode
6. Feintrieb für Vorspannung
7. Muskelkammer
8. Gaszufuhr Fritte und Abfluss

3.5.3. Schematische Darstellung des Kraftwandlers und seine Registrierung

Das Prinzip beruht auf der Umwandlung des mechanischen Vorgangs in eine elektrische Größe über einen Wandler („Transducer“)

Verwendet wurde ein Widerstandswandler mit Dehnungsstreifen in Wheatstone'scher Brückenschaltung vom Typ AE875 (Firma Aksjeselskapet, Horten, Norwegen). Durch die Dehnung wird der elektrische Widerstand des Meßstreifens so verändert, dass ein Strom proportional zu den Dehnungsstreifen fließt (Ther 1965). Die nötige Exzitationsspannung für den Kraftwandler lieferten zwei 6 Volt Batterien. Die von den Muskelkontraktionen ausgelösten Signale verstärkte ein „4 Channel Transducer Amplifier“ (WPI, FL, USA). Die Kontraktionen wurden von einem Schreiber (Dual Channel Model BD 112 Flatbed Recorder, Firma Kipp&Zonen, Niederlande) aufgezeichnet.

Abbildung 4 : Kraftwandler



Die Apparatur bestand aus einem Wasserbad aus Acrylglas. Die Temperatur wurde mittels eines Thermostats konstant gehalten, beim Herzen auf $35 \pm 1^\circ\text{C}$, bei allen übrigen Organen auf $37 \pm 1^\circ\text{C}$. In dieses Organbad wurde die Muskelkammer (Abb.: eingetaucht, die je nach Versuch mit unterschiedlichen Kammervolumina gefüllt worden war. In der Muskelkammer wurde über eine Glasfritte die Nährlösung permanent mit Oxymix durchströmt, um die Sauerstoffversorgung, sowie den physiologischen pH-Wert zu garantieren.

In der Abbildung erfolgte die Spülung bzw. der Wechsel der physiologischen Nährlösung von Hand mit einer Kunststoffspritze, an die ein Gummischlauch befestigt worden war.

Bei den Präparaten Ileum und Vorhof wurde in die zuvor befestigten Haken ein Silberdraht eingeführt, welcher die Verbindung zum Kraftwandler darstellte.

Die Aorta und die Arteria pulmonalis wurden ohne Haken, direkt zwischen 2 Silberdrähten eingespannt, der Papillarmuskel wurde in der Muskelkammer zwischen 2 Plexiglasplättchen eingespannt, wobei der Muskel die Platin-Kathode berühren musste.

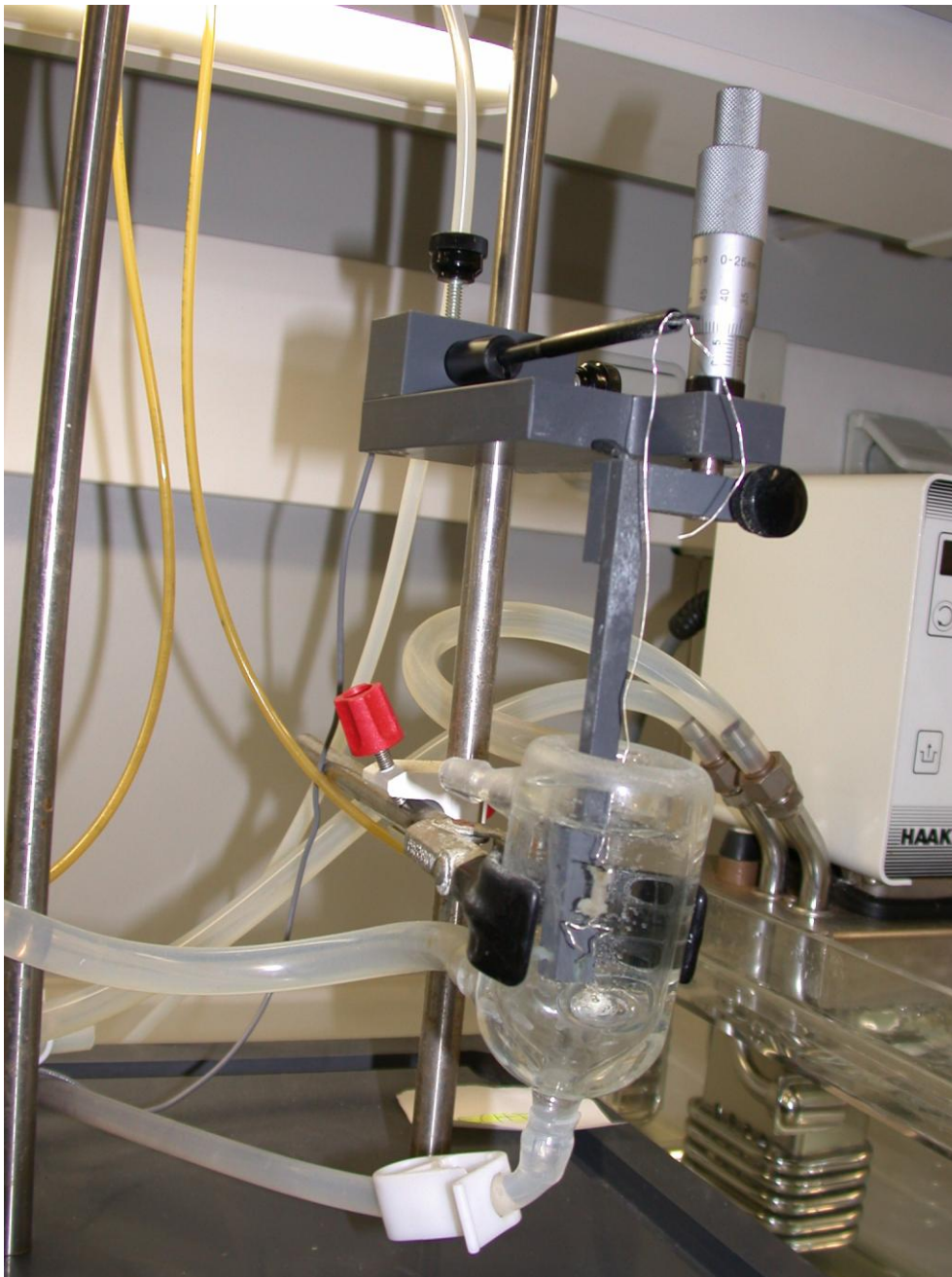
Der Stativschlitten ermöglichte ein Problemloses Absenken, bzw. Herausführen der Organhalterung in die, bzw. aus der Muskelkammer.

Die nötige Vorspannung, um die maximale Kontraktionskraft zu erreichen, wurde über den Feintrieb (Abb.:) exakt geregelt.

Ein Kraftwandler (Abb.: 4), der die Kontraktionen in Stromimpulse transformierte und ein Verstärker (Transbridgetm-4 Channel Transducer Amplifier, World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) dienten zur Messung der Kraft unter isometrischen Bedingungen.

Aufgezeichnet wurden die Ergebnisse mit einem Schreiber (Flatbed Recorder BD-112 Dual Channel; Firma Kipp&Zonen, Niederlande).

Abb 5: Originalabbildung einer Versuchsanordnung



3.6. Versuchsablauf

3.6.1. Durchführung der Untersuchung am rechten Vorhof

Der Sinusknoten wurde, wie in Kapitel 3.3.2 beschrieben, präpariert, in die Versuchsausrüstung eingespannt und in die bereits temperierte Tyrode eingesenkt. Bei der Vorspannung wurde eine Kraft von 10,4mN angewandt, um die Maximale Kontraktion zu erzielen. Diese Kraft wurde konstant gehalten und so lange kontinuierlich mit dem Feintrieb nachjustiert, bis der Vorhof eine Schlagzahl von etwa 120 Schläge aufwies. Dies geschah nach etwa 50-60 min. Die Kontrolle erfolgte alle 5 min und nach 5 konstanten Werten wurde mit der Substanzzugabe begonnen. Die Konzentrationen wurden kumulativ alle 45 min mit einer Finnpiquette nahe am Organ zugegeben, wobei zu beachten war, das Organ und den Kraftwandler nicht zu berühren.

Die Messung der Schlagfrequenz erfolgte alle 5 min bis zum Ende des Versuchs.

3.6.2. Durchführung der Untersuchung am Papillarmuskel

Hier wurde vorerst nach dem gleichen Schema vorgegangen, wie in 3.5.1.1. beschrieben. Nach dem Einspannen und dem Eintauchen in die physiologische Elektrolytlösung, wurde eine Vorspannung von 3,92mN angelegt. Diese Spannung wurde auch während des Versuchsverlaufes immer wieder nachgestellt, um eine Abnahme der Kontraktionskraft durch eine Verringerung der Ausgangsspannung zu verhindern. (Reiter 1967)

Im Gegensatz zum Sinusknoten, der eine Spontanaktivität aufwies, war beim Papillarmuskel eine elektrische Reizung erforderlich. Die Stimulierung des Muskels, erfolgte mit Hilfe eines Reizgerätes Accupulser A 310 (World Precision Instruments Hamden, FL, USA) über Silberchloridelektroden. Nach einer ca. 20-minütigen Anpassungszeit wurde mit Rechtecksimpulsen von 3 ms Dauer gereizt, mit einer Frequenz von 1 Hz und einer Stromstärke, die 10% über der minimalen Reizschwelle lag. Um eine regelmäßige Kontraktion des Papillarmuskels zu garantieren, durfte die Stromstärke nur so gering sein, dass sie nur knapp über der minimalen Reizschwelle lag. Eine zu hohe Stromstärke hätte eventuell zu einer Entleerung der Catecholaminspeicher geführt und so die Versuchsergebnisse verfälscht. (Furchgott et al. 1959)

Nach einer Kontrollphase von ca. 45 min., während dieser die Kontraktion alle 5 min. aufgezeichnet wurde und die Amplitude am mm-Papier abgemessen wurden, wurde mit der kumulativen Zugabe der Substanz begonnen. Die Amplituden wurden alle 5 min. aufgezeichnet, jeweils über 3 peaks. Der Wert der 45. min. wurde immer mit 20 mV vergrößert, um eine bessere Vermessung der Amplitude zu ermöglichen.

3.6.3.Durchführung der Untersuchung am terminalen Ileum

Beim terminalen Ileum wurde mit einer Vorspannung von 4,9 mN gearbeitet. Während der etwa 20 min. dauernden Anpassungszeit wurde mit dem Feintrieb der Stellschraube auf die definierte Nulllinie nachjustiert. Nach Erreichung einer konstanten Bewegung des Darms, wurde dieser mit einer 60 mM (=0,45g) KCL-Lösung vorkontrahiert. Diese wurde zuvor mit Tyrode in einem Meßkolben auf 100ml aufgefüllt. Die Nährlösung im Organbad wurde über einen Schlauchanschluss an der Unterseite, mit Hilfe einer Klammer abgelassen und die KCL-Lösung eingefüllt. Dadurch erfolgte augenblicklich eine Kontraktion des Darmstückes. Nach 45 min. war dann ein Plateau erreicht, das der 100-prozentigen Kontraktion entsprach.

Sodann konnte mit der Zugabe der Substanz begonnen werden. Dabei wurde, wie bereits erwähnt, darauf geachtet, die Substanz möglichst immer an der gleichen Stelle einzuspritzen, ohne mit der Finnpiquette den Kraftwandler oder das Organ zu berühren. Nach 45 min. Einwirkzeit wurde die nächst höhere Konzentration zugesetzt.

3.6.4.Durchführung der Untersuchung an der Aorta

Die etwa 2mm dicken Aorta ringe wurden in die Apparatur eingespannt, ohne diese zu stark zu dehnen und dadurch möglicherweise zu verletzen. Dann wurden sie in das, auf 37°C temperierte Organbad eingesenkt und mit 19,6 mN vorgespannt. Hier war eine Anpassungszeit von mindestens 45 min. einzuhalten. Während dieser wurde, wieder über den Feintrieb der Stellschraube, eine eventuelle Abweichung von der definierten Nulllinie ausgeglichen. In der Folge wurde die im Organbad befindliche Tyrode über den Schlauch, wie unter 3.5.1.3. beschrieben, gegen eine 90 mM (=0,67) KCL-Lösung, die zuvor mit Tyrode auf 100 ml ergänzt wurde, ausgewechselt. So wurde eine Vorkontraktion erreicht und nach etwa 90-120 min. kam es zur Plateaubildung, die der maximalen Kontraktion entsprach und

daher als 100 % angenommen wurde. Sobald das Plateau erreicht war, konnte mit der Substanzzugabe begonnen werden, wobei wider alle 45 min. die nächst höhere Konzentration eingespritzt wurde.

3.6. 5.Durchführung der Untersuchung an der Pulmonalarterie

Die Versuche an der Arteria pulmonalis wurden analog zu denen der Aorta ausgeführt, wie unter 3.5.1.4. beschrieben. Der einzige Unterschied bestand darin, dass in diesem Fall die Vorspannung lediglich mit einer Kraft von 9,81 mN ausgeführt wurde.

3.7. Messgrößen und Statistik

Bei der Auswertung von der Aorta, dem terminalen Ileum und der Arteria pulmonalis wurden auf der Kontraktionskurve jene Punkte markiert, wo die Substanz zugesetzt worden war und in der Folge die Abstände zur definierten Nulllinie vermessen. Der ermittelte Wert in cm wurde mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert (bei 5 mV galt: 1 cm entspricht 0,98 mN), um den Wert in mN zu erhalten.

Die Kontraktionskraft der Papillarmuskeln wurde in mN bestimmt, indem die auf dem Millimeterpapier aufgezeichnete Amplitude mit dem Lineal abgemessen wurde. Der erhaltene Wert in cm wurde wieder mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert.

Beim rechten Vorhof wurde die spontane Schlagfrequenz Änderung ausgewertet. Der Schreiber registrierte die Schlagfrequenz während einer Zeitspanne von 12 Sekunden, was bei einem Papiervorschub von 5mm/sec. einer Aufzeichnungsstrecke von 6 cm entsprach. Die Schläge dieser Strecke wurden auf dem Millimeterpapier abgezählt und mit dem Faktor 5 multipliziert, um die Anzahl der Schläge pro Minute zu berechnen.

Die Messdaten aus einer Anzahl von „n“ Versuchen wurden als arithmetische Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) graphisch dargestellt. Die EC_{50} ist jene Konzentration in $\mu\text{mol/l}$, bei der die Kontraktionskraft bzw. die Schlagfrequenz auf die Hälfte des Kontrollwertes

absinkt. Dies wurde mit Hilfe der graphischen Darstellung der Konzentrations-Wirkungskurve ermittelt.

Die Signifikanz der erhaltenen Ergebnisse wurde mit dem „ungepaarten Student-t-Test“ beurteilt, wobei Werte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $< 5\%$ ($P < 0,05$) bzw. $< 1\%$ ($P < 0,01$) als signifikant galten, jene mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $< 0,1\%$ ($P < 0,001$) als hochsignifikant.

4. Ergebnisse

Ergebnisse der Wirkung von KJ 8 und KJ 21 auf verschiedene isolierte Organe des Meerschweinchens.

4.1. Testsubstanz KJ 8

4.1.1. Wirkung von KJ 8 auf das terminale Ileum

Gemäß Kapitel 3.5.1.3. wurde die spasmolytische Wirkung von KJ 8 auf das terminale Ileum an 5 Präparaten getestet. Der Darm wurde mit einer 60mmol/l KCL-Lösung vorkontrahiert und anschließend wurde die Substanz in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ in einem Abstand von 45 min zugesetzt.

Die Testsubstanz führte zu einer Relaxation der glatten Muskulatur. Nach der Kontrolle wurde der Mittelwert aus den 5 Versuchen mit 21,49 mN definiert und als 100% angenommen.

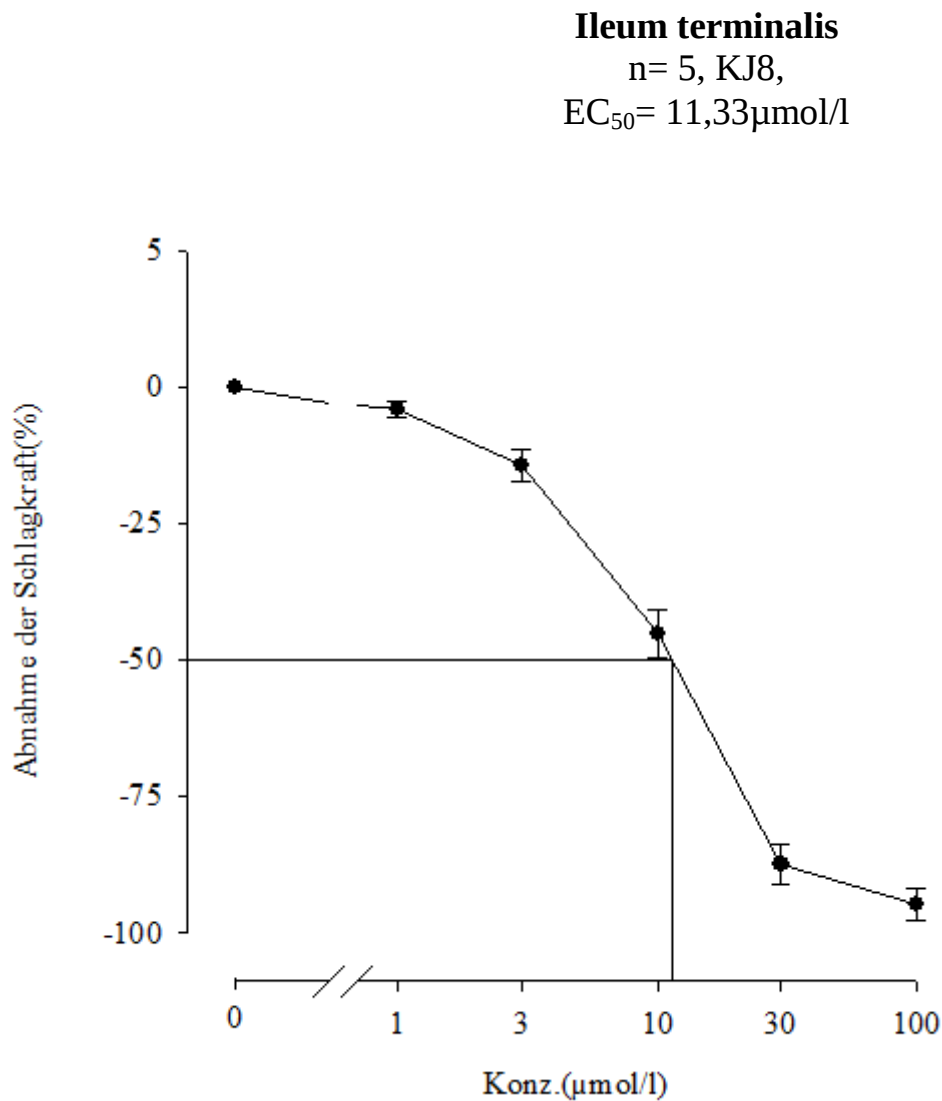
Tab.3: Wirkung von KJ 8 auf das Ileum terminalis

KJ8 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	21,49 $\pm$ 2,63	0 $\pm$ 0	5	---
1	20,79 $\pm$ 2,73	-4,08 $\pm$ 1,63	5	n.s.
3	18,67 $\pm$ 2,54	-14,31 $\pm$ 3,05	5	0,05
10	12,04 $\pm$ 1,82	-45,31 $\pm$ 4,52	5	0,01
30	3,06 $\pm$ 0,86	-87,40 $\pm$ 3,76	5	0,01
100	1,51 $\pm$ 0,73	-94,91 $\pm$ 2,99	5	0,01

Legende zu Tabelle 3:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft f_c und deren Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen.

Abbildung 6.: Konzentrations- Wirkungskurve von KJ 8 am terminalen Ileum

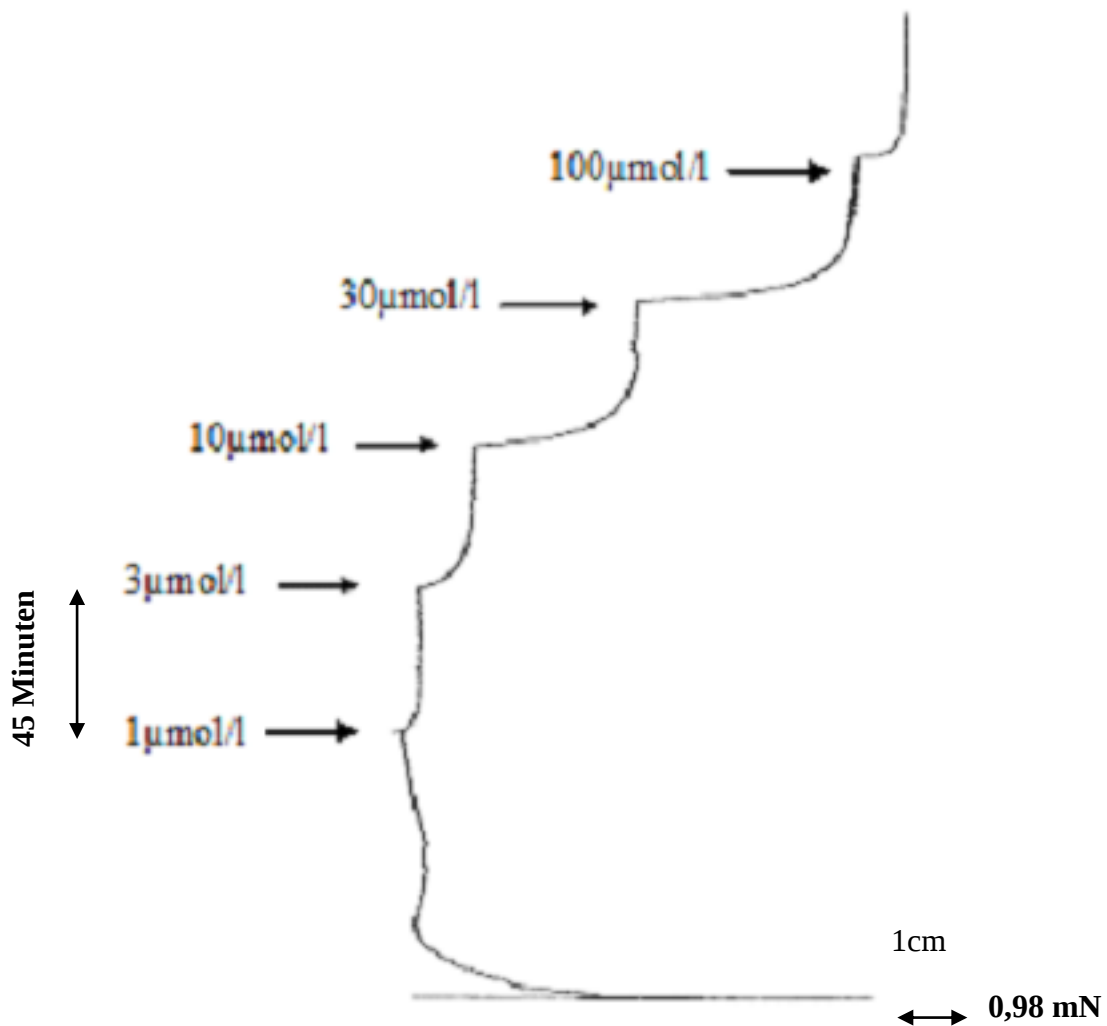


Legende zur Abbildung 6:

Die Abbildung stellt die Kontraktionskraft des terminalen Ileums nach der kumulativen Zugabe von KJ 8 dar. Auf der Abszisse wurden die Konzentrationen der Testsubstanz in µmol/l aufgetragen, auf der Ordinate die Kontraktionsabnahme in %.

Die Punkte zeigen die arithmetischen Mittelwerte und deren Standardfehler in Form von Balken. Die EC₅₀ wurde graphisch ermittelt.

Abbildung 7: Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 8 auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums



Legende zur Abbildung 7:

Die originale Aufzeichnung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft durch die Einwirkung von KJ 8 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100 $\mu\text{mol/l}$. Der Zeitabstand zwischen den Substanzzugaben betrug jeweils 45min.

4.1.2. Wirkung von KJ 8 auf die isolierte Aorta

An 5 verschiedenen Präparaten der Aorta wurde KJ8 getestet und mit einer 90mmol/l KCL-Lösung vorkontrahiert.

Anschließend wurde die Testsubstanz in einem Abstand von 45min in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100µmol/l injiziert, um eine mögliche dilatierende Wirkung zu messen.

Während der Kontrollphase wurde als Mittelwert aus den 5 Versuchen eine Kontraktionskraft von 8,14 mN ermittelt.

Tabelle 4: Wirkung von KJ8 auf die Aorta

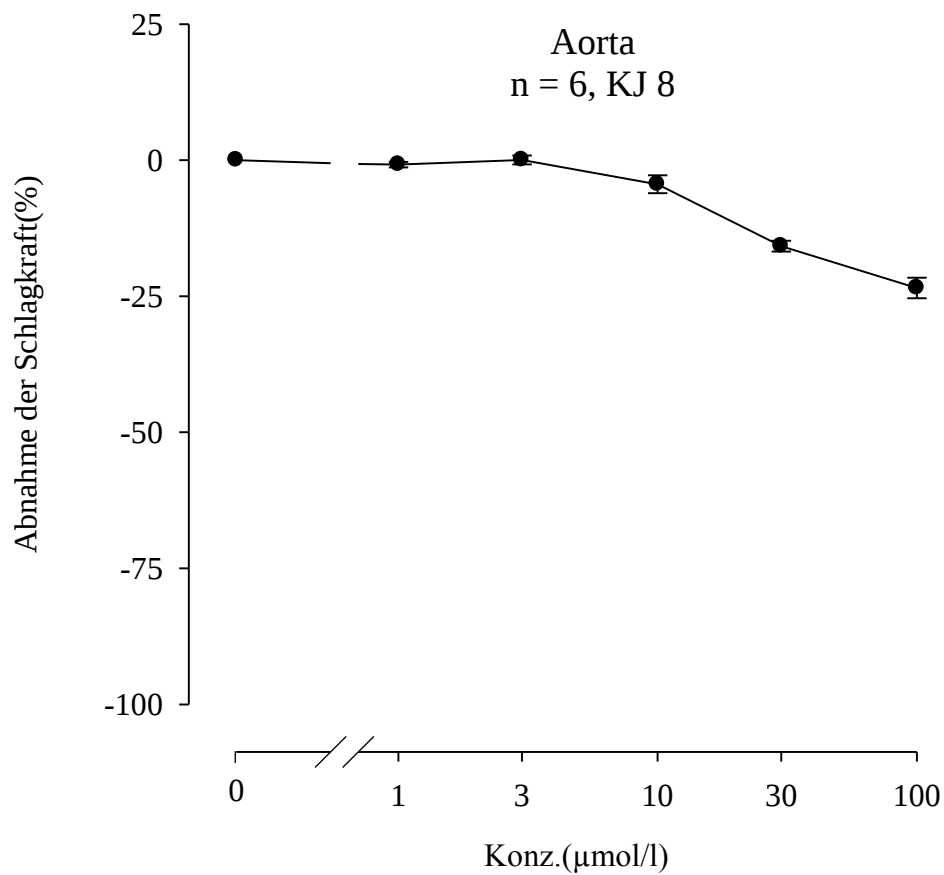
KJ8 (µmol/l)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	8,14±0,75	0±0	5	---
1	8,09±0,78	-0,82±0,52	5	n.s.
3	8,15±0,78	0,04±0,80	5	n.s.
10	7,80±0,76	-4,43±1,65	5	n.s.
30	6,88±0,70	-15,80±0,99	5	n.s.
100	6,22±0,60	-23,49±1,89	5	n.s.

Legende zu Tabelle 4:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 8:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 8 an der Aorta

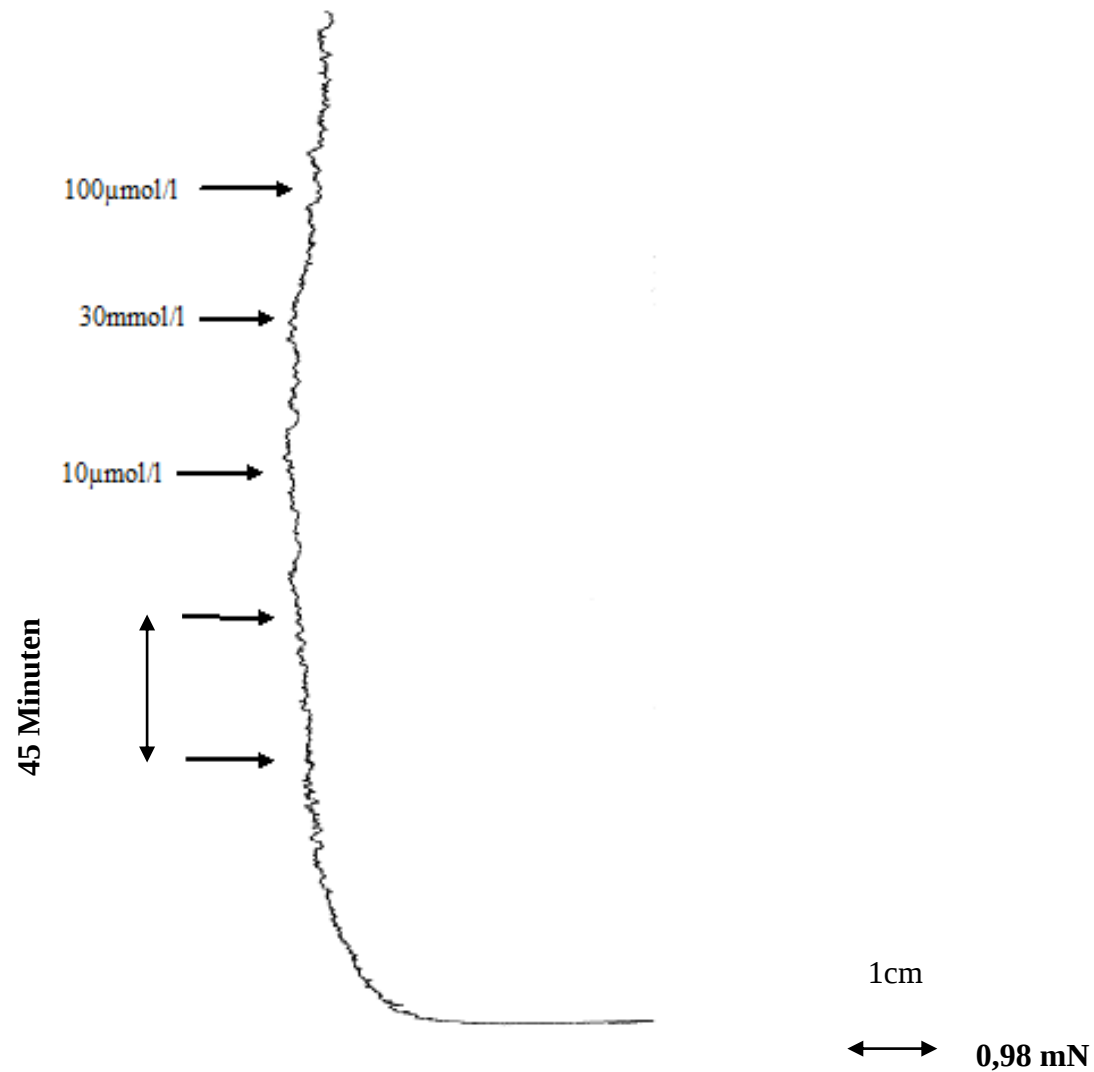


Legende zur Abbildung 8:

Die Graphik zeigt die Darstellung der isolierten Aorta nach der kumulativen Zugabe von KJ 8. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 8 in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 9:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 8 auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta.



Legende zur Abbildung 9:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft durch den Einfluss von KJ 8 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100 $\mu\text{mol/L}$. Die Pfeile markieren die Substanzzugabe der jeweiligen Konzentrationen die in Zeitabständen von 45min zugegeben wurden.

4.1.3. Wirkung von KJ 8 auf die Arteria pulmonalis

An der Arteria pulmonalis wurde die dilatierende Wirkung von KJ8 an 5 verschiedenen Organen getestet. Dabei war schon ab einer Konzentration von $1\mu\text{mol/l}$ eine signifikante Abnahme der Kontraktion zu beobachten. Ab einer Konzentration von $12.80\mu\text{mol/l}$ wurde ein EC_{50} -Wert erreicht.

Der Mittelwert aus den 5 Versuchen, ergab einen Wert von $14,02\pm 0,84\text{ mN}$.

Tabelle 5: Wirkung von KJ8 auf die Arteria pulmonalis

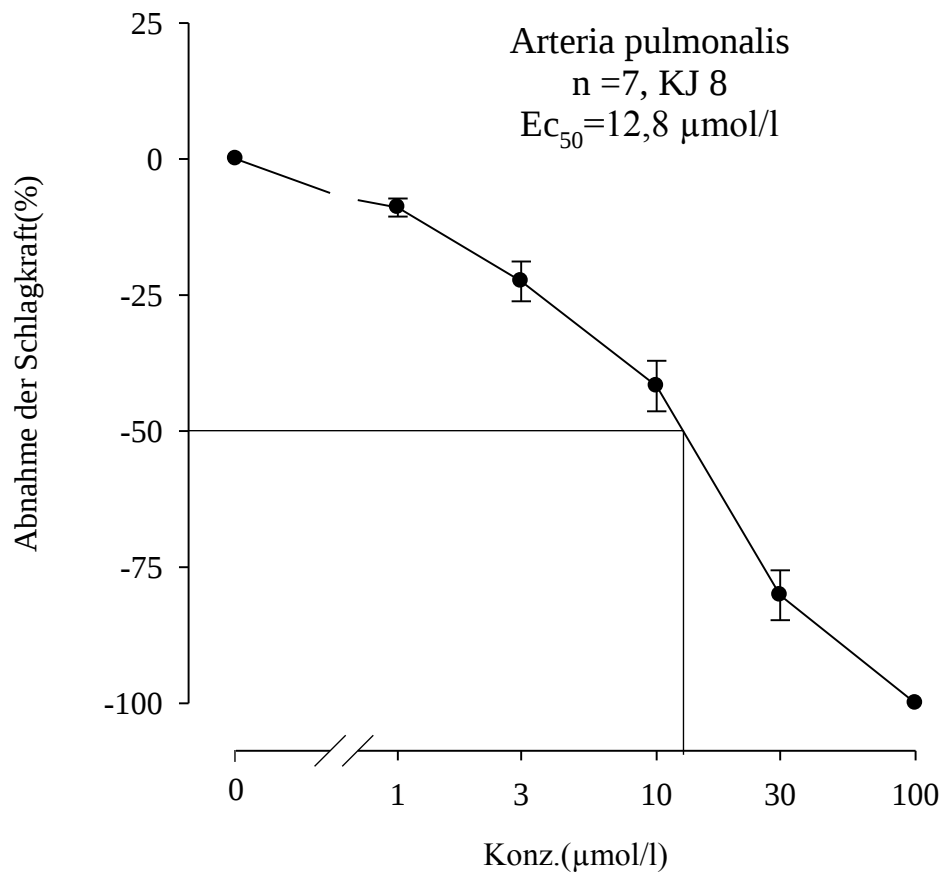
KJ8 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$14,02\pm 0,84$	0 ± 0	5	---
1	$12,70\pm 0,61$	$-8,93\pm 1,66$	5	n.s.
3	$10,74\pm 0,49$	$-22,48\pm 3,66$	5	0,05
10	$8,07\pm 0,60$	$-41,73\pm 4,64$	5	0,01
30	$2,78\pm 0,64$	$-80,16\pm 4,59$	5	0,01
100	0 ± 0	-100 ± 0	5	0,001

Legende zu Tabelle 5:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 10:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 8 auf die Arteria pulmonalis

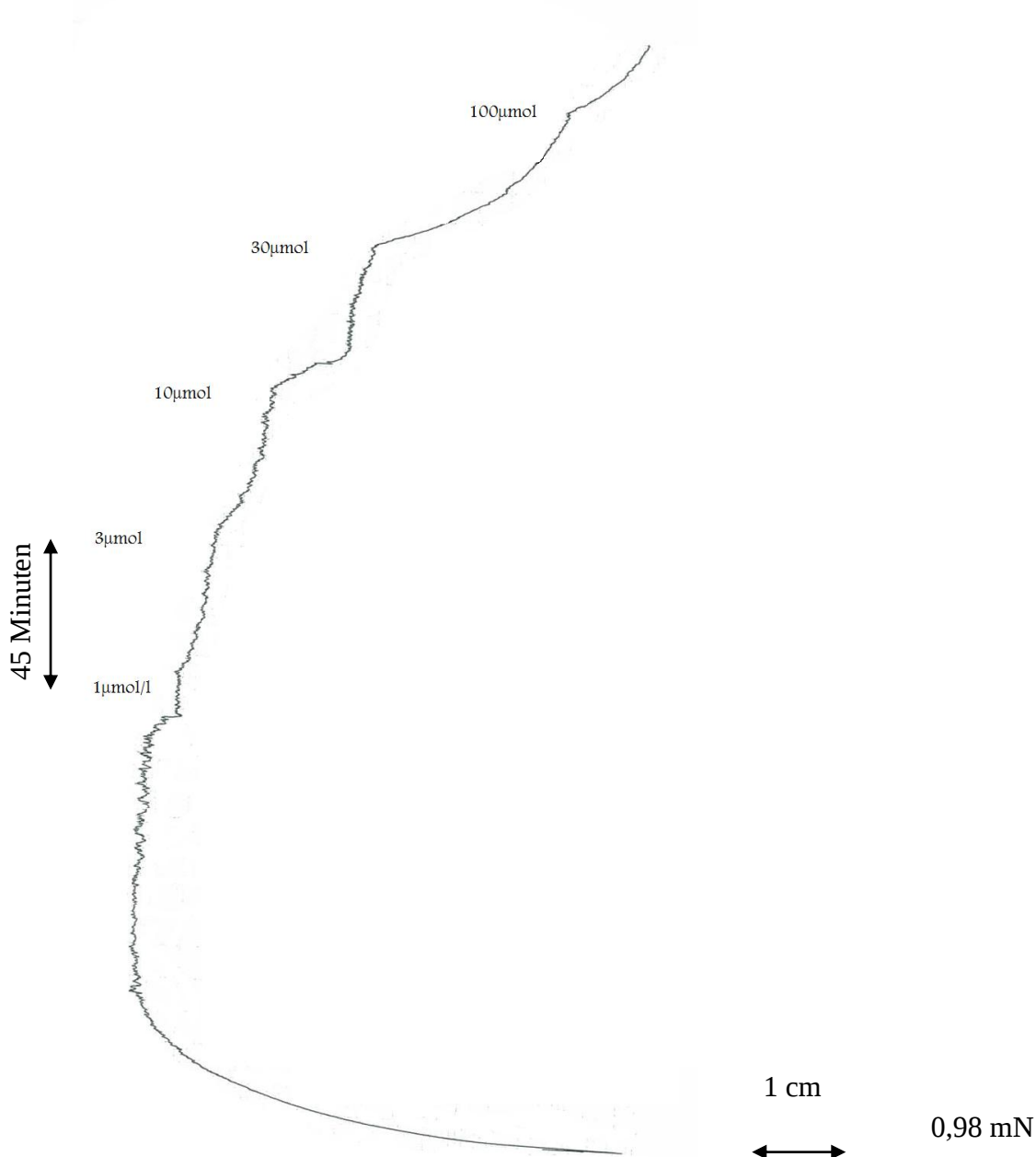


Legende zu Abbildung 10:

Die Graphik zeigt die Darstellung der Arteria pulmonalis nach der kumulativen Zugabe von KJ 8. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 8 in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 11:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 8 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis



Legende zur Abbildung 11:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft durch den Einfluss von KJ 8 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100 µmol/L. Die Pfeile markieren die Substanzzugabe der jeweiligen Konzentrationen die in Zeitabständen von 45min zugegeben wurden.

4.1.4. Wirkung von KJ8 auf das Atrium dexter

Am rechten Vorhof, wurde im Gegensatz zu den anderen isolierten Organen, nicht auf eine dilatierende Wirkung der Testsubstanz getestet, sondern der Einfluss von KJ8 auf die Schlagfrequenz beobachtet.

Bei dieser Testreihe wurde der Atrium dexter, nicht wie gewohnt mit einer KCl- Lösung vorkontrahiert, da es sich bei diesem Organ um ein autonom schlagendes handelt.

Nachdem sich eine konstante Schlagfrequenz eingestellt hatte, konnte erst mit der Zugabe der jeweiligen Konzentrationen begonnen werden.

Ab einer Konzentration von 10µmol/l konnte eine deutliche Reduktion der Schlagfrequenz festgestellt werden. Bei einer Konzentration von 100µmol/l konnte keine Schlagfrequenz mehr gemessen werden. Aus 5 Versuchen ergab sich ein Kontrollwert von 228,33±7,92 Schlägen/Minute. Bei einer Konzentration von 41,50µmol/l konnte ein EC₅₀- Wert erreicht werden.

Tabelle 6: Wirkung von KJ8 auf das Atrium dexter

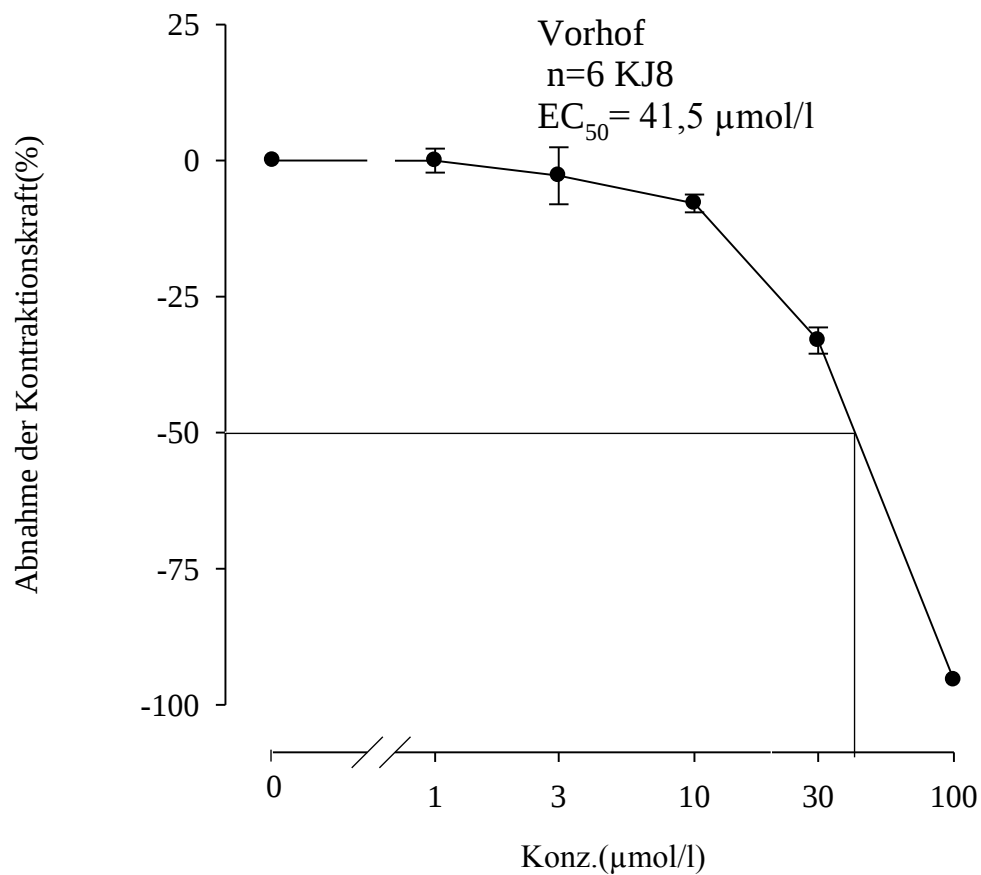
KJ8 (µmol/l)	f ±-SEM (mN)	f ±-SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	228,33±7,92	0±0	5	---
1	228,33±9,54	-0,02±2,20	5	n.s.
3	223,33±17,91	-2,80±5,24	5	n.s.
10	210±6,19	-7,88±1,65	5	n.s.
30	153,33±9,18	-33,07±2,41	5	0,01
100	0±0	-100±0	5	0,001

Legende zu Tabelle 6:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 12:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 8 auf das Atrium dexter

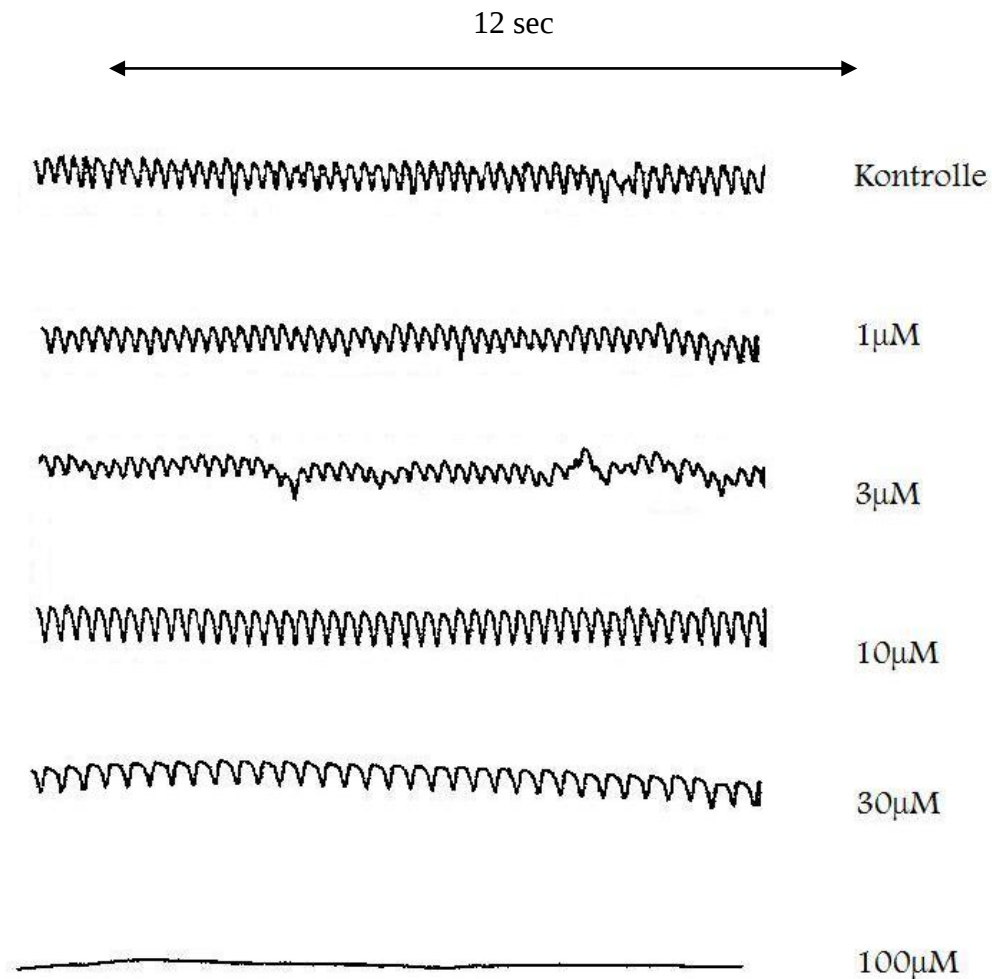


Legende zu Abbildung 12:

Die Graphik zeigt die Darstellung von Atrium dexter nach der kumulativen Zugabe von KJ 8. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 8 in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Schlagfrequenz in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 13:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 8 auf die Schlagfrequenz des isolierten Atrium dexters



Legende zur Abbildung 13:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Schlagfrequenz durch den Einfluss von KJ 8 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100 μ mol/L.

4.1.5. Wirkung von KJ 8 auf den Papillarmuskel

Um die Wirkung von KJ8 am Papillarmuskel zu testen, wurden 5 Präparate herangezogen und wie in Kapitel 3.5.1.2 beschrieben, durchgeführt.

Bei einer Zugabe von 1 $\mu\text{mol/l}$ Testsubstanz konnte man zuerst eine leicht negativ inotrope Wirkung beobachten. Bei den weiteren Konzentrationen von KJ8, konnte man bis zur höchsten Konzentrationsstufe eine alternierende inotrope Wirkung beobachten.

Der Mittelwert der Kontrollwerte aus 5 Versuchen wurde mit $1,68 \pm 0,12$ mN ermittelt und als 100%-Wert definiert. Bei dieser Testreihe konnte kein EC_{50} erreicht werden.

Tabelle 7: Wirkung von KJ8 auf den Papillarmuskel

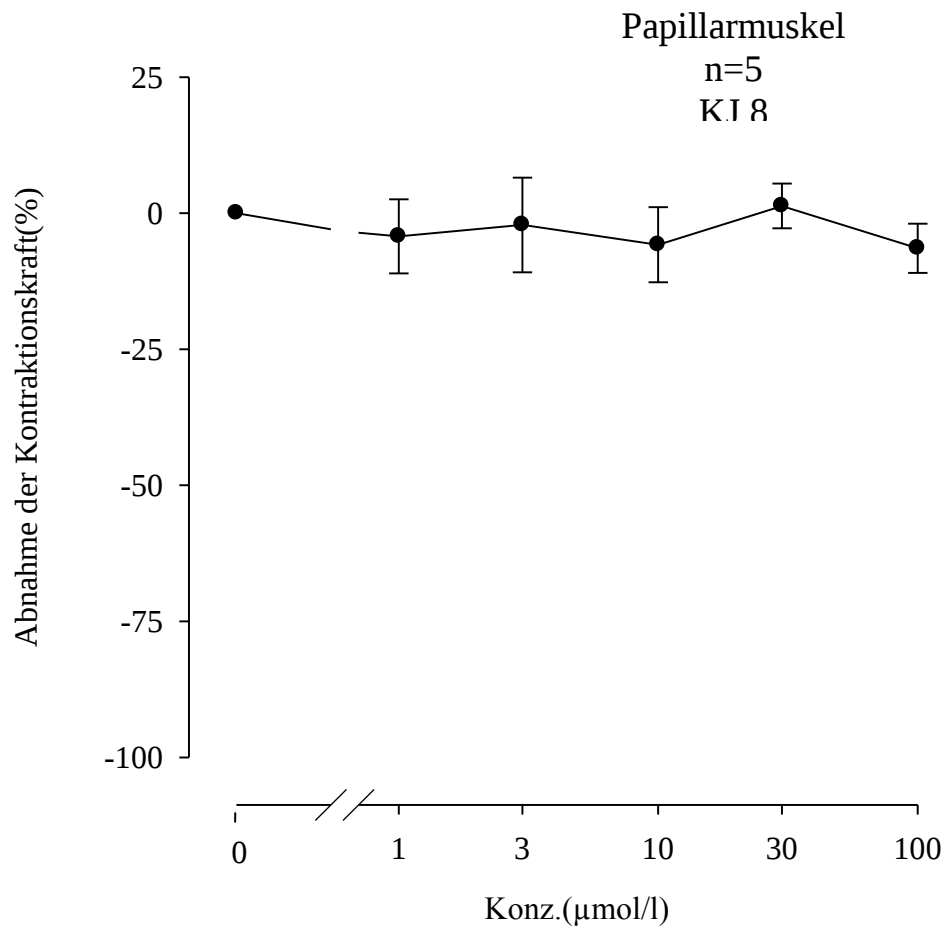
KJ8 ($\mu\text{mol/l}$)	f $\pm$ -SEM (mN)	f $\pm$ -SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$1,68 \pm 0,25$	0 ± 0	5	---
1	$1,61 \pm 0,26$	$-4,26 \pm 6,82$	5	n.s.
3	$1,65 \pm 0,28$	$-2,16 \pm 8,70$	5	n.s.
10	$1,59 \pm 0,26$	$-5,81 \pm 6,89$	5	n.s.
30	$1,69 \pm 0,25$	$1,32 \pm 4,10$	5	n.s.
100	$1,58 \pm 0,28$	$-6,45 \pm 4,53$	5	n.s.

Legende zu Tabelle 7:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 14:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 8 auf den Papillarmuskel:

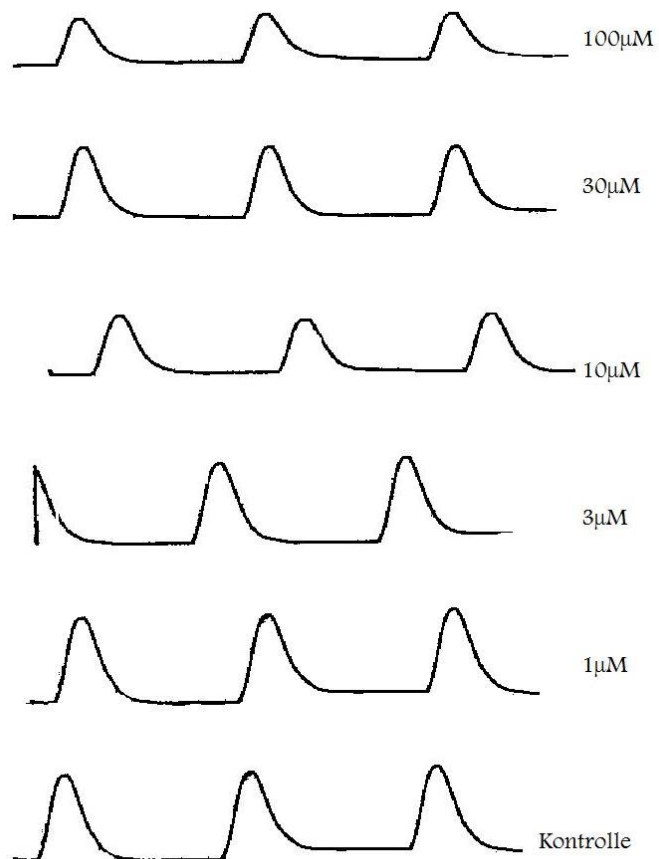


Legende zu Abbildung 14:

Die Graphik zeigt die Darstellung des Papillarmuskels nach der kumulativen Zugabe von KJ 8. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 8 in µmol/l aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Kontraktion in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 15:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 8 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels



Legende zu Abbildung 15:

Die Abbildung zeigt die Originalaufzeichnung des Schreibers und die durch KJ 8 bedingte Veränderung der Amplitude. Der zeitliche Abstand zwischen den Konzentrationszugaben betrug 45 min. KJ 8 wurde in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30 und 100 µmol/l injiziert.

4.2 .Testsubstanz KJ 21

4.2.1. Wirkung von KJ 21 auf das terminale Ileum

Wie besprochen wurde auch hier die spasmolytische Wirkung von KJ 21 auf das terminale Ileum an 5 Präparaten getestet. Der Darm wurde mit einer 60mmol/l KCL-Lösung vorkontrahiert und anschließend wurde die Substanz in den Konzentrationen 1, 3,10,30 und 100µmol/l in einem Abstand von 45 min zugesetzt.

Nach der Kontrolle wurde der Mittelwert aus den 5 Versuchen mit 14,79 mN definiert und als 100% angenommen.

Die Testsubstanz zeigte eine spasmolytische Wirkung auf die glatte Muskulatur. Schon ab der Konzentration vom 1µmol/l konnte man eine deutliche Relaxation feststellen, die bei den weiteren Zugaben von KJ 21 signifikanter wurden. Bei dieser Testreihe konnte ein EC₅₀ von 8,4µmol/l erreicht werden.

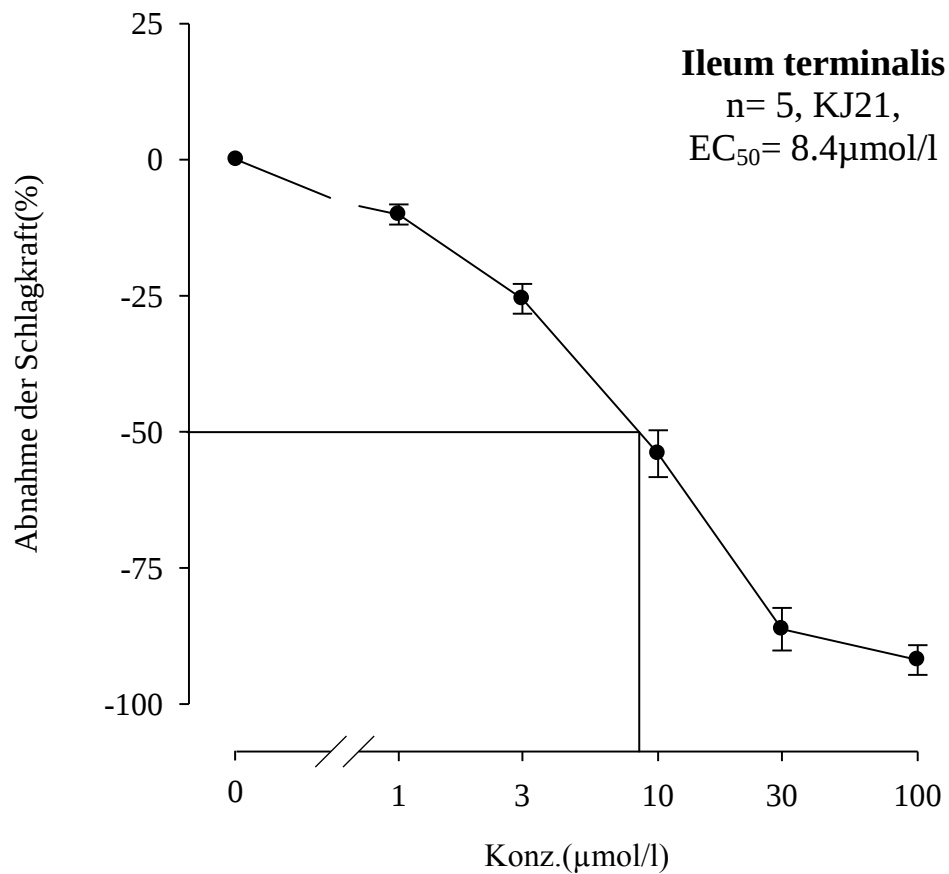
Tab.8: Wirkung von KJ 21 auf das Ileum terminalis

KJ21 (µmol/l)	f _c +-SEM (mN)	f _c +-SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	14,79±0,86	0±0	5	---
1	13,27±0,70	-10,07±1,85	5	n.s.
3	10,98±0,66	-25,56±2,72	5	0,05
10	6,77±0,67	-54,00±4,30	5	0,01
30	2,02±0,57	-86,27±3,92	5	0,001
100	1,21±0,43	-91,92±2,74	5	0,001

Legende zu Tabelle 8:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft f_c und deren Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 16.: Konzentrations- Wirkungskurve von KJ 21 am terminalen Ileum

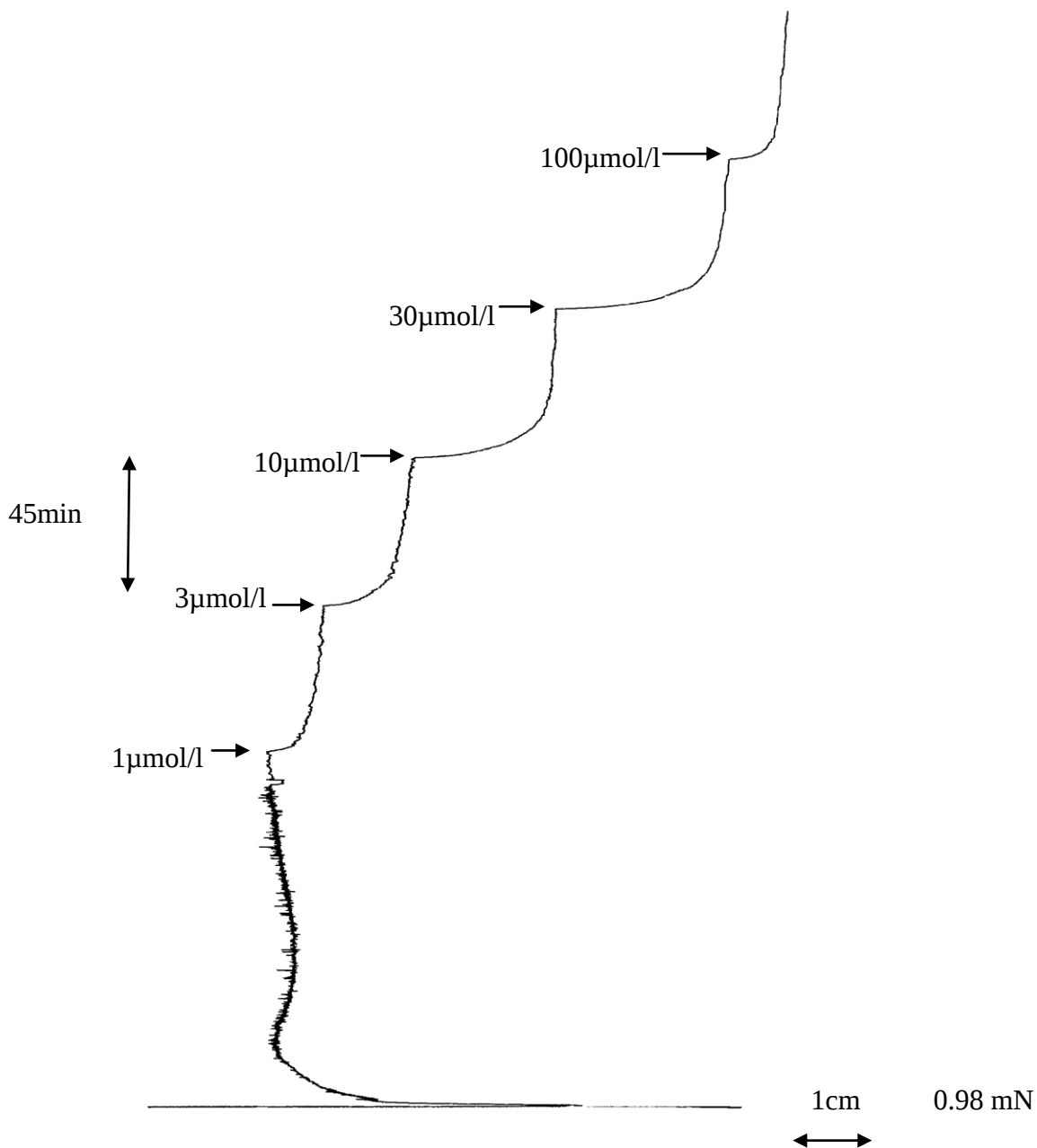


Legende zur Abbildung 16:

Die Abbildung stellt die Kontraktionskraft des terminalen Ileums nach der kumulativen Zugabe von KJ 21 dar. Auf der Abszisse wurden die Konzentrationen der Testsubstanz in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen, auf der Ordinate die Kontraktionsabnahme in %.

Die Punkte zeigen die arithmetischen Mittelwerte und deren Standardfehler in Form von Balken. Die EC_{50} wurde graphisch ermittelt.

Abbildung 17: Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 21 auf die Kontraktionskraft des isolierten terminalen Ileums



Legende zur Abbildung:

Die originale Aufzeichnung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft durch die Einwirkung von KJ 21 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100 $\mu\text{mol/l}$. Der Zeitabstand zwischen den Substanzzugaben betrug jeweils 45min.

4.2.2 .Wirkung von KJ 21 auf die isolierte Aorta

An 5 verschiedenen Präparaten der Aorta wurde KJ21 getestet und mit einer 90mmol/l KCL-Lösung vorkontrahiert.

Anschließend wurde die Testsubstanz in einem Abstand von 45min in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100µmol/l injiziert, um eine mögliche dilatierende Wirkung zu messen.

Während der Kontrollphase wurde als Mittelwert aus den 5 Versuchen eine Kontraktionskraft von 10,17 mN ermittelt.

Bei einer Zugabe der Testsubstanz von 10µmol/l konnte eine deutliche Abnahme der Kontraktion beobachtet werden. Auch bei den beiden weiteren Konzentrationsstufen konnte eine starke dilatierende Wirkung gemessen werden. Ab einer Konzentration von 8,4µmol/l konnte ein EC₅₀ erreicht werden.

Tabelle 9: Wirkung von KJ 21 auf die Aorta

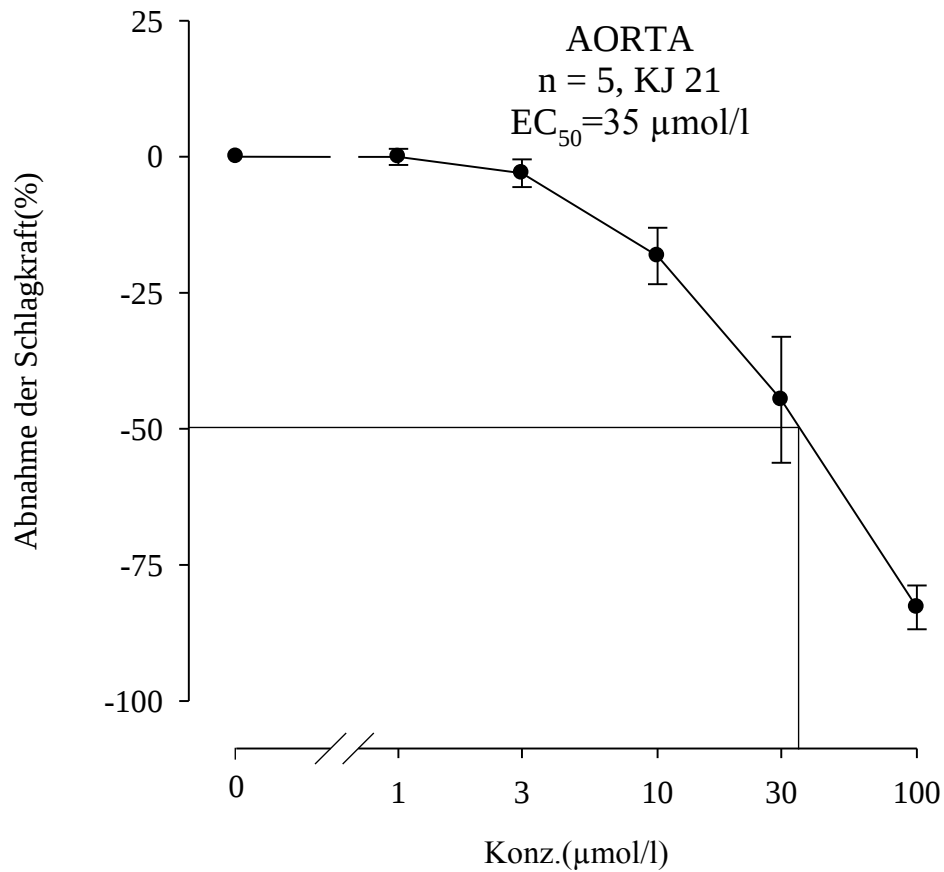
KJ21 (µmol/l)	f _c +-SEM (mN)	f _c +-SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	10,17±1,59	0±0	5	---
1	10,06±1,42	-0,03±1,49	5	n.s.
3	9,70±1,27	-3,03±2,53	5	n.s.
10	8,01±0,82	-18,24±5,20	5	0,05
30	5,17±0,78	-44,66±11,58	5	0,01
100	1,66±0,43	-82,80±4,02	5	0,001

Legende zu Tabelle 9:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 18:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 21 an der Aorta

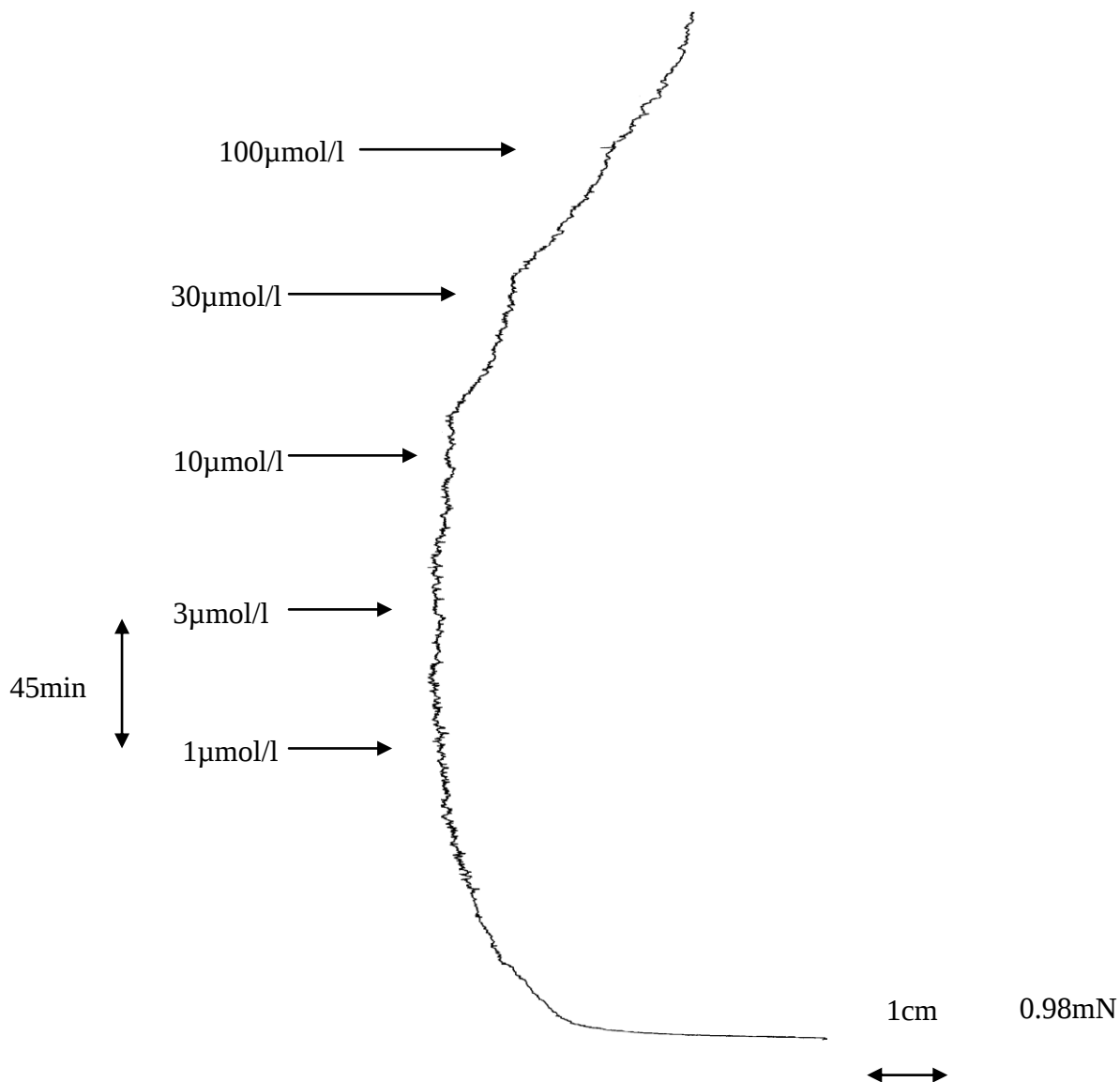


Legende zu Abbildung 18:

Die Graphik zeigt die Darstellung der isolierten Aorta nach der kumulativen Zugabe von KJ 21. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 21 in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 19:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 21 auf die Kontraktionskraft der isolierten Aorta.



Legende zur Abbildung 19:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft durch den Einfluss von KJ 21 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100 μmol/L. Die Pfeile markieren die Substanzzugabe der jeweiligen Konzentrationen die in Zeitabständen von 45min zugegeben wurden.

4.2.3. Wirkung von KJ 21 auf die Arteria pulmonalis

An der Arteria pulmonalis wurde die dilatierende Wirkung von KJ21 an 5 verschiedenen Organen getestet. Bei den ersten beiden Konzentrationen konnte nur eine leichte Abnahme registriert werden, jedoch bei der Zugabe von 10µmol/l eine signifikante Abnahme der Kontraktion zu beobachten war. Ab einer Konzentration von 27,20µmol/l wurde ein EC₅₀-Wert erreicht.

Der Mittelwert aus den 5 Versuchen, ergab einen Wert von 7,76±1,14 mN.

Tabelle 10: Wirkung von KJ21 auf die Arteria pulmonalis

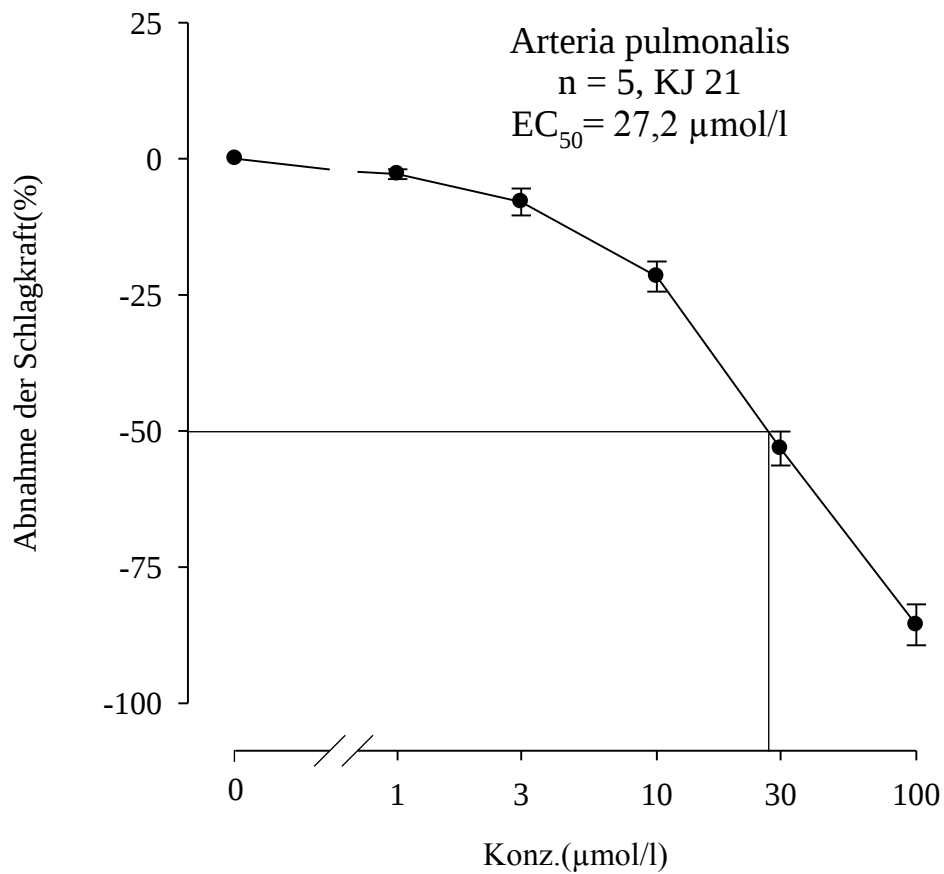
KJ21 (µmol/l)	f _c +-SEM (mN)	f _c +-SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	7,76±1,14	0±0	5	---
1	7,51±1,07	-2,83±0,89	5	n.s.
3	7,23±1,11	-7,92±2,47	5	n.s.
10	6,12±0,99	-21,64±2,76	5	0,05
30	3,73±0,76	-53,23±3,12	5	0,01
100	1,23±0,48	-85,62±3,76	5	0,001

Legende zu Tabelle 10:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 20:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 21 auf die Arteria pulmonalis

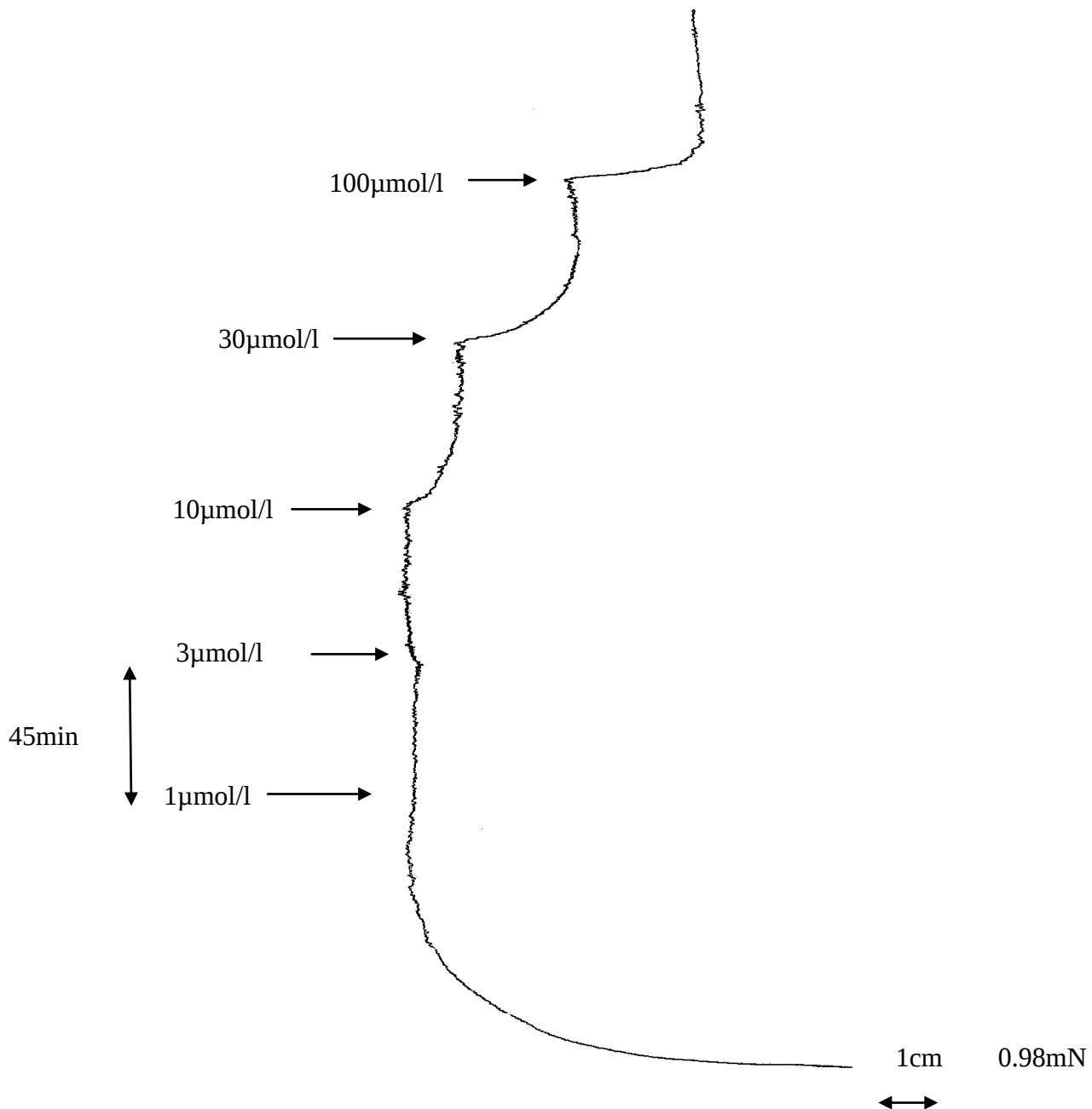


Legende zu Abbildung 20:

Die Graphik zeigt die Darstellung der Arteria pulmonalis nach der kumulativen Zugabe von KJ 21. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 21 in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 21:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 21 auf die Kontraktionskraft der isolierten Arteria pulmonalis



Legende zur Abbildung 21:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft durch den Einfluss von KJ 21 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100 $\mu\text{mol/L}$. Die Pfeile markieren die Substanzzugabe der jeweiligen Konzentrationen die in Zeitabständen von 45min zugegeben wurden.

4.2.4 .Wirkung von KJ 21 auf das Atrium dexter

Auch hier wurde im Gegensatz zu den anderen isolierten Organen, nicht auf eine dilatierende Wirkung der Testsubstanz getestet, sondern der Einfluss von KJ 21 auf die Schlagfrequenz beobachtet.

Bei dieser Testreihe wurde der Atrium dexter, nicht wie gewohnt mit einer KCl- Lösung vorkontrahiert, da es sich bei diesem Organ um ein autonom schlagendes handelt.

Nachdem sich eine konstante Schlagfrequenz eingestellt hatte, konnte erst mit der Zugabe der jeweiligen Konzentrationen begonnen werden.

Ab den Konzentrationen von 1, 3, 10µmol/l konnte eine geringe Reduktion der Schlagfrequenz festgestellt werden. Bei der Zugabe von 30µmol/l Testsubstanz wurde eine mäßige Abnahme der Schlagfrequenz beobachtet. Bei einer Konzentration von 100µmol/l konnte keine Schlagfrequenz mehr gemessen werden. Aus 5 Versuchen ergab sich ein Kontrollwert von $233 \pm 12,30$ Schlägen/Minute.

Tabelle 11: Wirkung von KJ21 auf das Atrium dexter

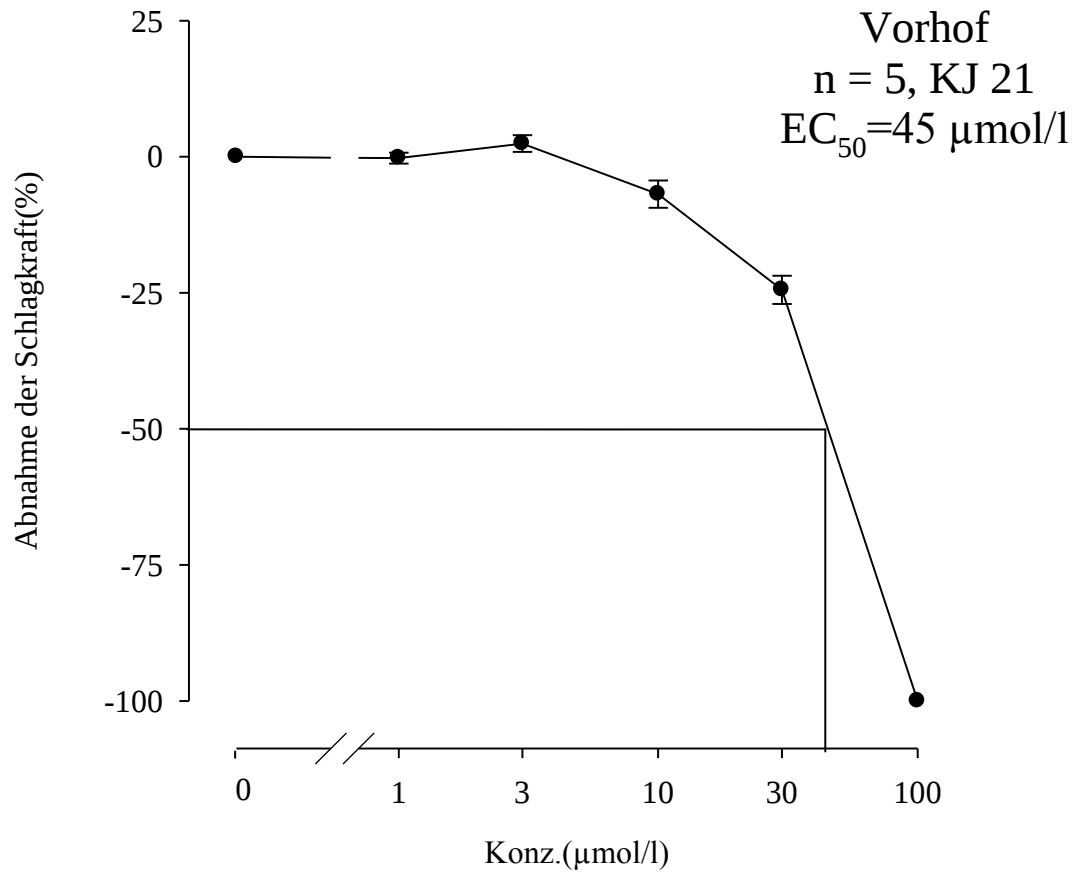
KJ21 (µmol/l)	f +-SEM (mN)	f +-SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$233 \pm 12,30$	0 ± 0	5	---
1	$232 \pm 10,55$	$-0,26 \pm 1,02$	5	n.s.
3	$238 \pm 9,82$	$2,42 \pm 1,53$	5	n.s.
10	$216 \pm 7,81$	$-6,88 \pm 2,51$	5	n.s.
30	$175 \pm 5,91$	$-24,45 \pm 2,59$	5	0,05
100	0 ± 0	0 ± 0	5	0,001

Legende zu Tabelle 11:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 22:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 21 auf das Atrium dexter

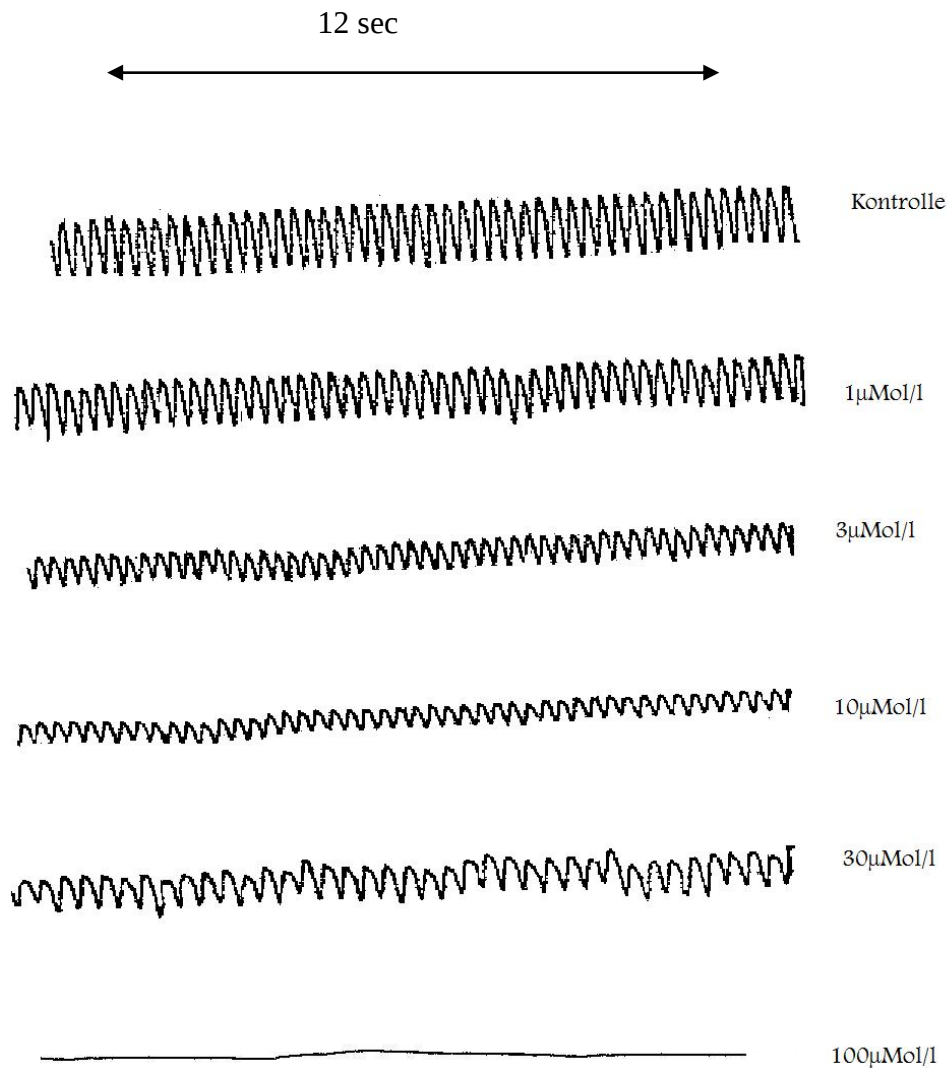


Legende zu Abbildung 22:

Die Graphik zeigt die Darstellung von Atrium dexter nach der kumulativen Zugabe von KJ 21. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 21 in $\mu\text{mol/l}$ aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Schlagfrequenz in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 23:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 21 auf die Schlagfrequenz des isolierten Atriumdexter



Legende zur Abbildung 23:

Die Originalregistrierung des Schreibers zeigt die Abnahme der Schlagfrequenz durch den Einfluss von KJ 21 in den Konzentrationen 1,3,10,30 und 100µmol/L.

4.2.5. Wirkung von KJ 21 auf den Papillarmuskel

Um die Wirkung von KJ21 am Papillarmuskel zu testen, wurden auch wie schon bei der Substanz KJ8, 5 Präparate herangezogen und wie in Kapitel 3.5.1.2 beschrieben, durchgeführt.

Bei einer Zugabe von 1µmol/l Testsubstanz konnte man zuerst eine leicht negativ inotrope Wirkung beobachten. Dieser Trend konnte auch bei den Konzentrationen 3,10 und 30µmol/l registriert werden. Bei der höchsten Konzentrationsstufe von KJ21, konnte man allerdings eine positiv inotrope Wirkung verzeichnen.

Der Mittelwert der Kontrollwerte aus 5 Versuchen wurde mit $1,38 \pm 0,29$ mN ermittelt und als 100%-Wert definiert. Bei dieser Testreihe konnte kein EC_{50} erreicht werden.

Tabelle 12: Wirkung von KJ21 auf den Papillarmuskel

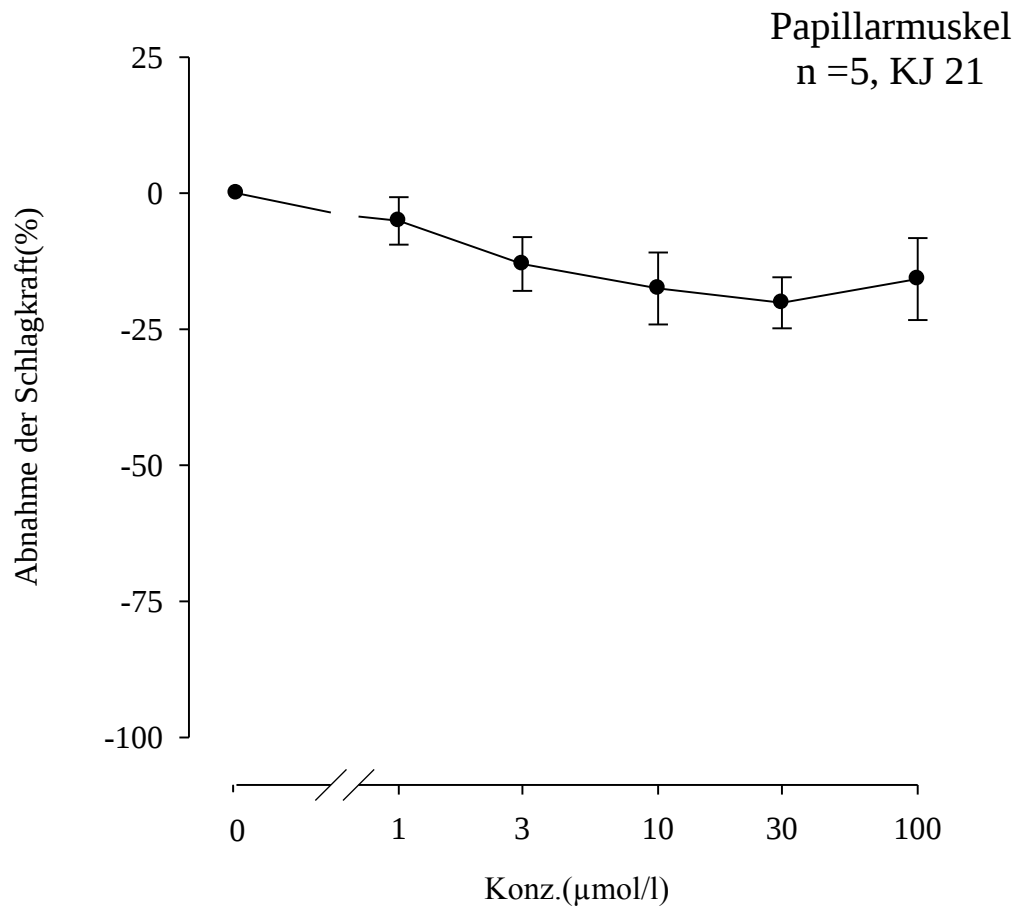
KJ21 (µmol/l)	f +-SEM (mN)	f +-SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtums- wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$1,38 \pm 0,29$	0 ± 0	5	---
1	$1,32 \pm 0,30$	$-5,08 \pm 4,36$	5	n.s.
3	$1,23 \pm 0,32$	$-13,03 \pm 4,94$	5	n.s.
10	$1,17 \pm 0,33$	$-17,51 \pm 6,62$	5	n.s.
30	$1,13 \pm 0,28$	$-20,15 \pm 4,70$	5	n.s.
100	$1,16 \pm 0,29$	$-15,78 \pm 7,52$	5	n.s.

Legende zu Tabelle 12:

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz und ihre Standardfehler (SEM) aus 5 Versuchen. Die Werte wurden alle auf die Kontrolle bezogen und wurden in mN und % angegeben.

Abbildung 24:

Konzentrations-Wirkungskurve von KJ 21 auf den Papillarmuskel:

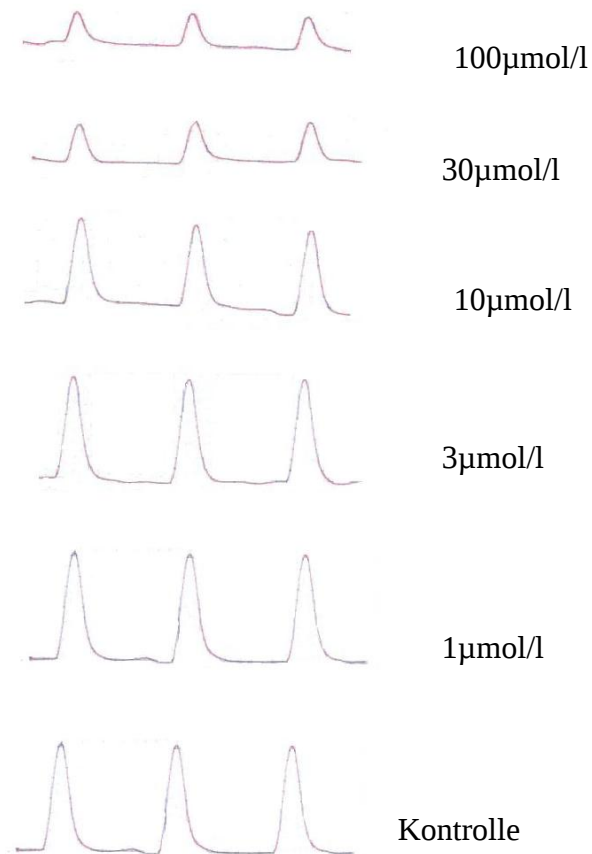


Legende zu Abbildung 24:

Die Graphik zeigt die Darstellung des Papillarmuskels nach der kumulativen Zugabe von KJ 21. Dabei wurden auf der Abszisse die Konzentrationen von KJ 21 in µmol/l aufgetragen, auf die Ordinate die Abnahme der Kontraktion in %. Die arithmetischen Mittelwerte wurden als Punkte dargestellt, ihre Standardfehler als Balken.

Abbildung 25:

Originalaufzeichnung der Wirkung von KJ 21 auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels



Legende zu Abbildung 25:

Die Abbildung zeigt die Originalaufzeichnung des Schreibers und die durch KJ 21 bedingte Veränderung der Amplitude. Der zeitliche Abstand zwischen den Konzentrationszugaben betrug 45 min. KJ 21 wurde in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30 und 100 µmol/l injiziert.

5. Diskussion

Wie in der Einleitung der Diplomarbeit bereits besprochen, war das Ziel, die Wirkung an isolierten Organen der neu synthetisierten Verbindungen KJ 8 und KJ 21 zu untersuchen.

Unter den isolierten Organen konnte man sowohl zwischen den Präparaten der glatten Muskulatur wie der Arteria pulmonalis, der Aorta und dem terminalem Ileum als auch der Herzmuskulatur wie dem Atrium dexter und dem Musculi papillares unterscheiden.

Die ausgewerteten Daten wurden im ersten Schritt unter einander verglichen und in weiterer Folge mit dem gut erforschten Resveratrol gegenüber gestellt.

5.1. Vergleich der beiden Testsubstanzen an isolierten Organen

Dazu wurde die Wirkung der beiden Testsubstanzen KJ 8 und KJ 21 an fünf verschiedenen Präparaten (der Arteria pulmonalis, der Aorta, dem terminalen Ileum, dem Atrium dexter und dem Musculi papillares.) in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30, 100µmol/l getestet.

5.1.1. Vergleich beim Ileum terminalis

Die beiden Derivate KJ 8 und KJ 21 zeigen jeweils eine starke relaxierende Wirkung

Testsubstanz KJ 8 zeigte bereits bei 10µmol/l eine deutliche spasmolytische Wirkung und es wurde bei dieser Konzentration beinahe der EC₅₀-Wert erreicht. Dieser lag bei 11,33 µmol/l. Bei den weiteren Konzentrationszugaben wurde die relaxierende Wirkung der Testsubstanz noch deutlicher.

KJ 21 zeigte zu KJ8 keine besonderen Unterschiede, nur das der EC₅₀-Wert bereits bei 8,4µmol/l erreicht worden ist. Sonst konnte auch eine starke relaxierende Wirkung, beobachtet werden.

5.1.2. Vergleich bei der isolierten Aorta

Bei beiden getesteten Substanzen stellte man eine relaxierende Wirkung an der Aorta fest.

Man muß jedoch sagen, dass die Abnahme der Kontraktionskraft bei der Testsubstanz KJ 8 gering ist.

Bei einer Konzentration von 100µmol/l entspricht die Abnahme $-23,49 \pm 1,89$ % bezogen auf die Kontrolle. Bei der Testsubstanz KJ 21 ist dagegen bereits ab einer Konzentration von 10µmol/l eine leichte relaxierende Wirkung zu beobachten, die sich bei den beiden weiteren Konzentrationsstufen bei 30 und 100µmol/l deutlich manifestiert. Zusätzlich wurde ein EC_{50} -Wert bei einer Konzentration von 35µmol/l bestimmt.

5.1.3. Vergleich bei der Arteria pulmonalis

Beide Testsubstanzen zeigten eine relaxierende Wirkung

Bei dieser Testreihe konnte sowohl bei KJ 8 als auch bei KJ 21 ein EC_{50} -Wert erreicht werden. Dieser lag bei der Testsubstanz KJ 8 bei 12,8µmol/l und wurde bei dem Derivat KJ 21 bei 27,2µmol/l erreicht.

Beim Vergleich der beiden Testsubstanzen untereinander, konnte bei KJ 8 bereits ab einer Konzentration von 3µmol/l eine Abnahme der Konzentration festgestellt werden. Für eine nahe zu gleiche Wirkung an der glatten Muskulatur ist von KJ 21 eine Konzentration von 10µmol/l notwendig.

Bei den weiteren Konzentrationsstufen konnte kein ähnlicher Unterschied festgestellt werden, denn beide Substanzen lieferten idente Werte.

5.1.4. Vergleich beim Atrium dexter

Beide Testsubstanzen hatten bei den Konzentrationsstufen 1, 3 und 10 $\mu\text{mol/l}$ keine nennenswerte Wirkung. Am Vorhof zeigten KJ 8 und KJ 21 jedoch in den Konzentrationen 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ eine stark negativ chronotrope Wirkung.

Übereinstimmend war auch, dass bei 100 $\mu\text{mol/l}$ keine eindeutige Schlagfrequenz mehr zu messen war. Resultierend daraus, wurde jeweils der EC_{50} -Wert erreicht.

5.1.5. Vergleich beim Musculus papillaris

Allgemein kann man sagen, dass beide Testsubstanzen äußerst schwache, bei KJ 8 nach Abzug des Standardfehlers praktisch keine Abnahme der Kontraktionskraft zu messen war. Fest zuhalten ist aber, dass bei KJ 21 in allen Konzentrationsstufen eine leichte negative chronotrope Wirkung vorhanden war. Ab einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ zeigte sich jedoch, dass diese negative sich in eine positive chronotrope Wirkung veränderte.

Aufgrund der schwachen negativen chronotropen Wirkung der beiden Derivate KJ 8 und KJ 21, konnte kein EC_{50} -Wert fest gestellt werden.

5.2. Die beiden Testsubstanzen im Vergleich mit Resveratrol

Tabelle 13: Vergleich der beiden Testsubstanzen mit Resveratrol an der glatten Muskulatur

Substanz	Arteria pulmonalis	Terminales Ileum	Aorta
KJ 8			
EC ₅₀ (μmol/l)	12,80	11,33	>100
KJ 21			
EC ₅₀ (μmol/l)	27,20	8,40	35
Resveratrol (Lötsch V 2004)			
EC ₅₀ (μmol/l)	126	46,40	145

Aufgrund dieser Werte kann gesagt werden, dass trotz struktureller Ähnlichkeit der beiden Testsubstanzen KJ 8 und KJ 21 zu Resveratrol, eine unterschiedliche Wirkung vorhanden ist. Resveratrol, das eine relaxierende Wirkung auf die glatte Muskulatur ausübte, hatte einen EC₅₀-Wert von 145 μmol/l bei der Aorta, Bei der Arteria pulmonalis einen EC₅₀-Wert von 126 μmol/l und das Terminale Ileum erreichte 46,40 μmol/l.

Bei den Präparaten von Arteria pulmonalis und dem Termialem Ileum konnten sowohl bei KJ 8 als auch bei KJ 21 eine Relaxation fest gestellt werden, der EC₅₀-Wert lag aber deutlich unter dem von Resveratrol.

Lediglich bei dem Versuch an der Aorta konnte bei der Testsubstanz KJ 8 kein EC₅₀-Wert erreicht werden, bei dem Derivat KJ 21 sehr wohl, der allerdings auch deutlich darunter lag.

Tabelle 14: Vergleich der beiden Testsubstanzen mit Resveratrol an der Herzmuskulatur

Substanz	Atrium dexter	Musculi papillares
KJ 8		
EC ₅₀ ($\mu\text{mol/l}$)	41,50	>100
KJ 21		
EC ₅₀ ($\mu\text{mol/l}$)	45	>100
Resveratrol (Lötsch V 2004)		
EC ₅₀ ($\mu\text{mol/l}$)	>100	>100

Bei den Testsubstanzen KJ 8 und KJ 21 konnte eine deutlichere Abnahme der Schlagfrequenz registriert werden, wo hingegen beim Resveratrol die Abnahme nicht sehr ausgeprägt war.

An den Präparaten der Musculi papillares zeigten die Derivate KJ 8 und KJ 21 nur eine leichte negative chronotrope Wirkung.

Resveratrol wies eine leichte positive chronotrope Wirkung auf, die aber nicht statistisch von Bedeutung war. Bei den Versuchen mit Resveratrol wurde kaum eine Wirkung auf die Herzmuskulatur ausgeübt (Lötsch 2004).

6.Zusammenfassung

Ausgangspunkt dieser Diplomarbeit, waren 2 neu synthetisierte Verbindungen, die als chemisches Vorbild den Naturstoff Resveratrol, der bereits sehr gut erforscht ist, hatten. Im ersten Schritt der Diplomarbeit wurden die zwei neu modifizierten Substanzen an isolierten Organen nämlich am terminalen Ileum, der Aorta, der Arteria pulmonalis, dem Vorhof und am Papillarmuskel auf ihre Wirkung getestet. Es wurden dabei Konzentrationen von 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ in das Organbad injiziert. Dabei wurde stets auf die Reproduzierbarkeit und auf gleichbleibende Qualität bei den Versuchen geachtet.

Durch chemische Modifikationen der beiden Testmoleküle KJ 8 und KJ 21 wurde eine mögliche Wirkungssteigerung untersucht.

Das erhaltene Datenmaterial wurde ausgewertet und anschließend mit dem Resveratrol verglichen. Außerdem wurden beide Testsubstanzen hinsichtlich ihrer chemischen Struktur und auch ihren Wirkungen untereinander verglichen.

Die Untersuchung ergab, dass beide Substanzen an den isolierten Organen eine relaxierende Wirkung zeigte. Im Vergleich der beiden Substanzen zueinander, konnte bei KJ 21 eine ausgeprägtere Wirkung an der isolierten Aorta fest gestellt werden. Bei den restlichen Organen zeigte sich eine nahe zu idente Wirkung.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Testsubstanzen KJ 8 und KJ 21 eine beinahe idente Wirkung auf die isolierten Herzpräparate zeigten.

Im Vergleich zu Resveratrol an der glatten Muskulatur mit den beiden Derivaten, konnte man keinen signifikanten Unterschied erkennen. Allerdings zeigte Resveratrol eine leicht positive inotrope Wirkung an den Präparaten von Musculi papillares, im Gegensatz dazu jedoch konnte bei KJ 8 und KJ 21 eine leichte negativ inotrope Wirkung beobachtet werden.

7.Literaturverzeichnis

Arraim O, Ballantyne J, Waterhouse AL Sumpio BE (2000) Inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation with red wine and red wine polyphenols. *J Vasc Surg* 35: 1226-1232

Austin MB, Bowman ME, Ferrer JL, Schröder J, Noel JP (2004) An aldol switch discovered in stilben synthetases mediates cyclization specificity of type 3 polyketide synthetases. *Chem Biol* 11: 1179-1194

Bianchini F & Vainio H.: Wine and Resveratrol: mechanisms of cancer prevention? *Eur J Cancer Prev*; 12(5): 417-425. (2003)

Burger A, Wachter H (1998) *Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter Berlin New York pp 1064

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

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

Ding XZ and Aldrian TE (2002) Resveratrol inhibits proliferation and induces apoptosis in human cancer cells. *Pancreas* 25: 71-76

Furchgott RF, De Gubareff T, Grossmann A (1959) Release of autonomic mediators in cardiac tissue by suprathreshold stimulations *Science* 129: 328-329

Gehm BD, Mc. Andrews JM, Chien PY, Jameson JL, (1991) Resveratrol a polyphenolic compound found in grapes and wine is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 14138

Haider UG, Sorescu D, Griendling KK, Vollmar AM, Dirsch VM, (2002)

Resveratrol supresses angiotensin-2-induced Akt/protein kinase B and p70S6 kinase phosphrylation and subsequent hypertrophy in rat aortic smooth muscle cells. Mol Pharmacol 62: 772-777

Hung L-M, Chen J-K, Hung S-S (1997) Cardioprotective effect of Resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. Science 275: 218-220

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

Liu Y, Liu G, (2004) Isorhapontigenin and resveratrol supress ox.LDL-induced proliferation and activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinases of bovine aortic smooth muscle cells. Biochem Pharmacol 67:777-785

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

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer – Korting M (2001) Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart pp332, 455-456

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

Silbernagl S, Lang F (1998) Taschenatlas der Pathophysiologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart pp 294

Ther L (1965) Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart : pp 286-303

Wu S, Liang Yu, Ke-Wei Meng, Xing-Lei Qin, Cheng- En Pan (2004) Effect of resveratrol and in combination with 5 FU on murine liver cancer. World J Gastroenterol 10: 3048-3052

Wu JM, Wang ZR, HsiehTC; Bruder JL, Zou JG, Huang YZ, (2001) Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine Int J Mol Med 8: 3-17

8. Curriculum vitae

Name	Martin Karol Abadir
Geburtsdatum	19.06.1981
Geburtsort	Olesnica (Polen)
Wohnort	Wienerstrasse 66 2345 Brunn am Gebirge
Staatsbürgerschaft	Österreich
Mutter	Hanna Abadir 12.05.55
Vater	Wagih Abadir 30.01 53
Geschwister	Karoline Abadir 17.06. 86

Ausbildung

1987-1991	Volksschule Liebhartschasse, 1160 Wien
1991-1995	Hauptschule Gebrüder Langgasse, 1150 Wien
1995-2000	ORG für Leistungssportler Maroltingergasse, 1160 Wien
2000-2001	Heeressport und Nahkampfschule (HSNS)
Ab 10.2001	Immatrikulation Pharmazie Universität Wien