



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Untersuchung von zwei neu synthetisierten Substanzen (SWS 33 und JB 35s) an isolierten Präparaten von Meerschweinchen

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasserin:	Stephanie Reischl
Matrikel-Nummer:	0204129
Studienrichtung /Studienzweig (lt. Studienblatt):	A 449 Diplomstudium Pharmazie
Betreuer:	Ao. Univ. Prof. Dr. Mag. Christian Studenik

Wien, im Februar 2010

Danksagung

Diese Diplomarbeit wurde im Rahmen des Pharmaziestudiums an der Universität Wien zur Erreichung des akademischen Grades „Magistra der Pharmazie“ erstellt.

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, um mich bei all jenen Personen zu bedanken, die mich unterstützt und so bei der Entstehung dieser Diplomarbeit mitgewirkt haben, insbesondere Ao. Univ. Prof. Dr. Mag. Christian Studenik, der mir mit vielen Anleitungen und guten Ratschlägen zur Seite gestanden ist und damit wesentlich zum Erfolg meiner Diplomarbeit beigetragen hat. Dieser hat mich während meiner gesamten Arbeit betreut und mich bei meinen Laborarbeiten tatkräftig unterstützt.

Mein Dank gilt auch Herrn Ao. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker und Frau Dr. Gerda Brunhofer für die Synthese und Bereitstellung meiner beiden Testsubstanzen.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich meinen Kollegen aussprechen, die mich fachkundig ins Labor eingeführt und mir zu Beginn meiner praktischen Arbeit wichtige Hilfestellungen gegeben haben.

Abschließend möchte ich die Anteilnahme und moralische Unterstützung meiner Familie und meines Freundeskreises an der vorliegenden Arbeit sowie während meines gesamten Studiums erwähnen.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung.....	I
Inhaltsverzeichnis	II
1. Einleitung.....	1
1.1 Schwefelwasserstoff – H ₂ S	1
1.1.1 Allgemein.....	1
1.1.2 Wirkungen von H ₂ S	2
1.1.3 H ₂ S-Vergiftungen.....	4
1.2 Resveratrol	5
1.2.1 Allgemein.....	5
1.2.2 Wirkungen von Resveratrol	7
2. Ziel der Diplomarbeit	10
3. Material und Methodik	11
3.1 SWS 33 & JB 35s – die Testsubstanzen	11
3.1.1 Allgemein.....	11
3.1.2 SWS 33	12
3.1.3 JB 35s.....	13
3.2 Versuchstiere.....	13
3.3 Tyrode – physiologische Nährstofflösung	14
3.4 Isolierung und Präparation der Tierorgane	15
3.4.1 Aorta descendens	17
3.4.2 Arteria pulmonalis (Lungenarterie).....	18
3.4.3 Atrium cordis dextrum (Rechter Vorhof)	18
3.4.4 Musculus papillaris (Papillarmuskel).....	20
3.4.5 Terminales Ileum (Darm).....	20
3.5 Apparaturen und Versuchsanordnung.....	22
3.5.1 Allgemein.....	22
3.5.2 Apparatur I	22
3.5.3 Apparatur II.....	24
3.5.4 Gasversorgung.....	25
3.5.5 Kraftwandler	26
3.5.6 Wasserbad	27
3.6 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33.....	27

3.6.1 Versuch an der Aorta descendens	27
3.6.2 Versuch an der Arteria pulmonalis	28
3.6.3 Versuch am Atrium cordis dextrum.....	28
3.6.4 Versuch am Musculus papillaris	29
3.6.5 Versuch am terminalen Ileum	30
3.7 Wirkungsmechanismus von SWS 33 an der Aorta descendens unter dem Einfluss von Glibenclamid, Nitro-L-Arginin und Phenylephrin.....	31
3.7.1 Versuche von SWS 33 mit Glibenclamid	31
3.7.2 Versuche von SWS 33 mit Nitro-L-Arginin	31
3.7.3 Versuche von SWS 33 mit Phenylephrin-HCl.....	32
3.8 Verwendete Agonisten bzw. Antagonisten	33
3.8.1 Glibenclamid.....	33
3.8.2 Nitro-L-Arginin.....	34
3.8.3 Phenylephrin	35
3.9 Auswertungen und Statistik	36
3.9.1 Aorta descendens, Arteria pulmonalis, terminales Ileum	36
3.9.2 Atrium cordis dextrum	36
3.9.3 Musculus papillaris	37
3.9.4 Statistik.....	37
4. Ergebnisse	38
4.1 Ergebnisse der Testsubstanz SWS 33	38
4.1.1 Wirkung von SWS 33 auf die Aorta descendens	38
4.1.2 Wirkung von SWS 33 auf die Arteria pulmonalis	41
4.1.3 Wirkung von SWS 33 auf den Atrium cordis dextrum.....	44
4.1.4 Wirkung von SWS 33 auf den Musculus papillaris.....	47
4.1.5 Wirkung von SWS 33 auf das terminale Ileum	50
4.2 Ergebnisse der Testsubstanz JB 35s.....	53
4.2.1 Wirkung von JB 35s auf die Aorta descendens	53
4.2.2 Wirkung von JB 35s auf die Arteria pulmonalis.....	56
4.2.3 Wirkung von JB 35s auf den Atrium cordis dextrum	59
4.2.4 Wirkung von JB 35s auf den Musculus papillaris	62
4.2.5 Wirkung von JB 35s auf das terminale Ileum.....	65
4.3 Untersuchung des Wirkungsmechanismus von SWS 33 an der Aorta	68

4.3.1 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Glibenclamid 30 μ mol.....	68
4.3.2 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Glibenclamid 100 μ mol.....	71
4.3.3 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Nitro-L-Arginin	74
4.3.4 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Phenylephrin-HCl.....	77
5. Diskussion	81
5.1 Allgemein.....	81
5.2 SWS 33 verglichen mit Schwefelwasserstoff	81
5.2.1 Wirkung von SWS 33 im Überblick	81
5.2.2 Versuchsreihen an der Aorta descendens.....	82
5.2.3 Versuchsreihen an der Arteria pulmonalis	82
5.2.4 Versuchsreihen am Atrium cordis dextrum	83
5.2.5 Versuchsreihen am Musculus papillaris.....	83
5.2.6 Versuchsreihen am terminalen Ileum.....	83
5.2.7 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33 gemeinsam mit Glibenclamid.....	84
5.2.8 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33 gemeinsam mit Nitro-L-Arginin	85
5.2.9 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33 gemeinsam mit Phenylephrin	85
5.3 JB 35s verglichen mit Resveratrol	87
5.3.1 Wirkung von JB 35s im Überblick	88
5.3.2 Versuchsreihen an der Aorta descendens.....	88
5.3.3 Versuchsreihen an der Arteria pulmonalis	89
5.3.4 Versuchsreihen am Atrium cordis dextrum	90
5.3.5 Versuchsreihen am Musculus papillaris.....	90
5.3.6 Versuchsreihen am terminalen Ileum.....	91
6. Zusammenfassung.....	92
7. Literaturverzeichnis.....	93
8. Lebenslauf.....	96

1. Einleitung

1.1 Schwefelwasserstoff – H₂S

1.1.1 Allgemein

Abbildung 1: Struktur von Schwefelwasserstoff



Die Verbindung setzt sich aus einem Molekül Schwefel und zwei Molekülen Wasserstoff zusammen.

Schwefelwasserstoff, auch Wasserstoffsulfid oder Dihydrogensulfid genannt, ist ein stark giftiges und ein sehr unangenehm riechendes Gas. Es war über lange Zeit als äußerst toxisches Gas bekannt, dessen Geruch faulen Eiern ähnelt (Winder and Winder, 1933; Smith and Gosselin, 1979). H₂S ist auch ein biologisches Gas, welches endogen aus den zwei Cysteinen Cystathionin-β-Synthase (CBS) und/oder Cystathionin-γ-Lyase (CSE) in einer Reaktion entsteht (Stipanuk and Beck, 1982; Hosoki et al. 1997).

Cystathionin-γ-Lyase spielt eine wichtige Rolle beim Zellwachstum (Yang et al. 2010).

Hosoki et al. 1997 konnte in einer Studie zeigen, dass der spezifische CSE-Inhibitor – DL-Propargylglycin – die Produktion von H₂S in den getesteten Arterien komplett aufheben konnte. Somit wurde die Annahme bestätigt, dass die Herstellung von Dihydrogensulfid auf die katalytische Aktivität von CSE zurückzuführen ist.

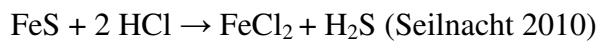
Während H₂S in niedrigen Konzentrationen an seinem charakteristischen Geruch erkennbar ist, riecht er hingegen in höheren Konzentrationen süßlich (Mutschler et al. 2008).

Der MAK-Wert des Dihydrogensulfids beträgt laut dem Institut für angewandte Umweltforschung 10 ml/m³, was 15 mg/m³ entspricht.

Die maximale Arbeitsplatzkonzentration ist diejenige Konzentration eines Stoffes oder die seiner Produkte in Form eines Gases, als Dampf oder Schwebstoff in der Atmosphäre bzw. Luft am Arbeitsplatz, bei der es bei einer durchschnittlichen Arbeitszeit von 40 Stunden pro Woche auf Dauer grundsätzlich zu keiner gesundheitlichen Schädigung des Arbeitnehmers kommt (Mutschler et al. 2008).

Herstellung:

Durch die Einwirkung von Salzsäure (HCl) auf Eisen(II)-sulfid (FeS) entsteht der Schwefelwasserstoff (H₂S).



1.1.2 Wirkungen von H₂S

Ähnlich wie andere endogene, gasförmige Moleküle, beispielsweise Stickstoffmonoxid (NO) und Kohlenmonoxid (CO) (Wang et al. 1997a, b), kommt H₂S bei der Regulierung der kardiovaskulären Funktionen zum Einsatz.

Der kardiovaskuläre Effekt von H₂S in vivo wurde in einer Studie belegt. Schwefelwasserstoff wurde i.v. (intravenös) mittels einer Bolusinjektion den Ratten, sowohl in vivo, als auch in vitro verabreicht, wobei die K_{ATP}-Kanäle der glatten Muskelzellen geöffnet wurden und dadurch der arterielle Blutdruck signifikant gesenkt wurde. Durch eine Injektion eines K_{ATP}-Kanal-Öffners namens Pinacidil, welches den hypotensiven Effekt von H₂S nachahmt, konnte der Blutdruck ebenfalls gesenkt werden. Nachdem nun Glibenclamid, ein K_{ATP}-Kanal-Blocker, der Ratte injiziert worden war, wurde keine Veränderung bzw. Anstieg des Blutdrucks beobachtet (Zhao et al. 2001).

ATP-abhängige Kalium-Kanäle sind Heterooktamere und bestehen aus jeweils vier homologen Untereinheiten eines regulierenden Sulfonylharnstoff-Rezeptors (SUR) und vier homologen KIR (killer cell immunoglobulin-like receptor)-Untereinheiten (Holzwarth 2004).

K_{ATP}-Kanäle fungieren für etliche Krankheiten wie Angina, Hypertonie und Diabetes als therapeutische Ziele. Bei Stimulierung dieser Kanäle kommt es zu einer

Gefäßerweiterung und einem myokardialen Schutz vor einer Ischämie, wohingegen eine Hemmung bzw. Schließung der Kanäle die Insulinsekretion fördert (Yokoshiki et al. 1998).

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass H_2S eine relaxierende Wirkung auf die Aorten von Ratten in vitro hervorruft (Hosoki et al. 1997). Dabei wirkt Schwefelwasserstoff als vasodilatierender Faktor auf die ATP-abhängigen Kalium-Kanäle und hyperpolarisiert das Membranpotential von vaskulären, glatten Muskelzellen.

Grossi 2009 stellte fest, dass H_2S die Freisetzung von NO aus Nitraten induziert. In einer neueren Studie konnte gezeigt werden, dass Dihydrogensulfid eventuell einen neuroprotektiven Effekt bei Parkinson Disease besitzt. Die Versuchsreihen wurden an Ratten durchgeführt und diese Thesen daraufhin aufgestellt (Lu et al. 2009).

Es wurden schon viele Studien hinsichtlich der antiinflammatorischen, antineuronalen und kardiovaskulären Wirkung des H_2S in Bezug auf diverse Erkrankungen durchgeführt, z.B. bei Pankreatitis (Sidhapuriwala et al. 2009), Parkinson Disease (Lu et al. 2009) und Hypertonie (Zhao et al. 2001).

Kürzlich wurde in einer Studie der Effekt eines H_2S -spendenden Derivats von Sildenafil (ACS6), verglichen mit einem Sildenafil-Konzentrat und Natriumhydrogensulfid (NaHS), auf die erektile Dysfunktion, Nicotinamidadenindinukleotidphosphat-Oxidase (NADPH) und Phosphodiesterase-5-Expression (PDE5) am corpus cavernosum (Schwellkörper) und an glatten Muskelzellen von isolierten Hasen getestet. Die Ergebnisse zeigten, dass das ACS6 und das Sildenafil-Konzentrat eine gleichmäßig relaxierende Wirkung auf die glatten Muskelzellen im Schwellkörper verursachten. Die Bildung von PDE5 war bei ACS6, Sildenafil und NaHS reduziert, wobei das H_2S -spendende Derivat die Esterase über eine Blockierung der Proteinkinase A (PKA) und Proteinkinase G (PKG) hemmte. Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass ACS6 nicht nur die Erektion fördert, sondern auch einen positiven Effekt auf die Hemmung des oxidativen Stresses sowie auf eine Down-Regulation der Phosphodiesterase-5 haben könnte (Shukla et al. 2009).

In einer weiteren Pilot-Studie konnte erwiesen werden, dass Dihydrogensulfid im weiblichen Genitaltrakt die glatten Muskelzellen relaxiert, herbeigeführt durch cyclisches Adenosin-3', 5'-Monophosphat, NO-cyclisches Guanosin-Monophosphat und ATP-abhängige Kalium-Kanäle. H₂S könnte also demnach einen wichtigen und effektiv beitragenden Faktor in der weiblichen sexuellen Erwidern darstellen (Srilatha et al. 2009).

1.1.3 H₂S-Vergiftungen

Dihydrogensulfid-Vergiftungen kommen sehr oft bei Arbeitern vor, die in den Abwasserkanälen beschäftigt sind, sowie bei Jauchegrubenunfällen. In höheren Konzentrationen blockiert H₂S bzw. das aus diesem im Menschen gebildete Hydrogensulfid-Ion die eisenhaltige Atmungskette. Außerdem stört es den Zellstoffwechsel mit konsekutiver Hypoxie. Der genaue Wirkungsmechanismus ist jedoch noch nicht erklärt. Bei einer akuten und schnellen Vergiftung kann es zu einer zentralen Atemlähmung kommen, da der Geruchssinn rasch gelähmt wird und der Gestank so nicht wahrgenommen werden kann. Bei einer langsam verlaufenden H₂S-Vergiftung können die Augen und Atemwege gereizt werden und es kann in weiterer Folge zu Übelkeit, Erbrechen, Atemnot und Krämpfen kommen (Mutschler et al. 2008). Die Giftwirkung beruht auf einer Umwandlung des Blutfarbstoffes Hämoglobin zu Sulfhämoglobin, einer Schwefelverbindung, wodurch das Atemzentrum gelähmt wird (Seilnacht 2010).

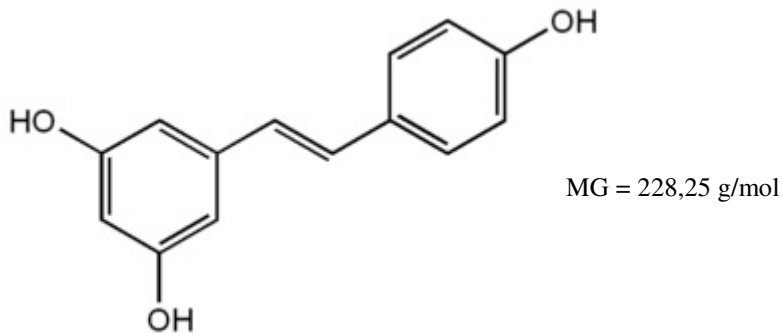
Therapie bei Schwefelwasserstoff-Vergiftungen:

Der Patient muss zuerst künstlich beatmet und in weiterer Folge symptomatisch behandelt werden. Es wird dringend empfohlen, 4-DMAP (Dimethylaminophenol), das eine hohe Affinität zu Hydrogensulfid-Ionen aufweist, zur Bildung von Methämoglobin in einer Konzentration von 3,0 mg/kg i.v. (intravenös) zu applizieren. Darüber hinaus kann ein Glucocorticoid als Inhalat verabreicht werden (Mutschler et al. 2008).

1.2 Resveratrol

1.2.1 Allgemein

Abbildung 2: Struktur von Resveratrol



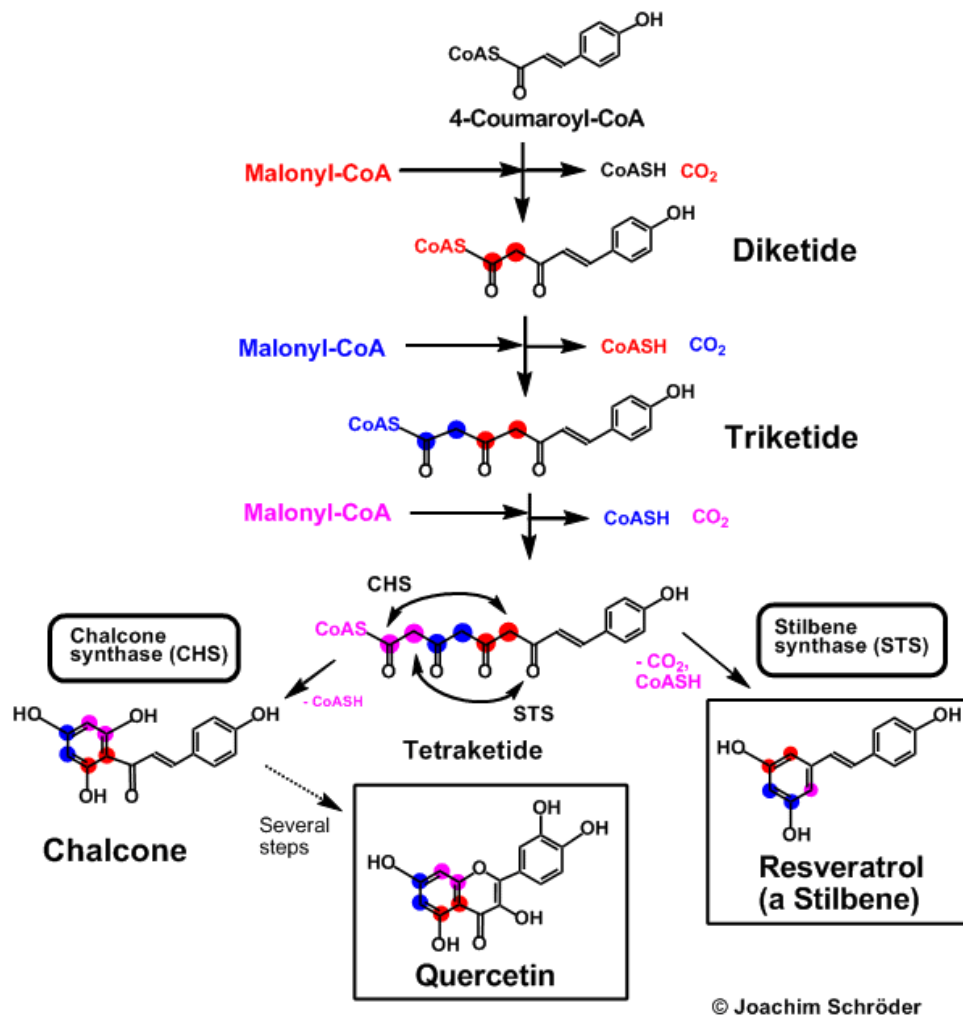
Trans – 3, 5, 4' – Trihydroxystilben

Resveratrol wird zu den Polyphenolen gezählt und seine chemische Struktur ist der des synthetischen Estrogens Diethylstilbestrol sehr ähnlich (Kleine-Gunk 2007).

Isoliert wurde es erstmals 1940 aus den Blättern der weißen Lilie (Kleine-Gunk 2007).

Dieses Stilben gilt auch als „Wirkstoff des Rotweins“. Es kommt größtenteils in der Weintraubenschale und in geringeren Konzentrationen in den Weintraubenkernen, Reben und Wurzeln des Weinstocks vor. Im weißen Traubensaft beträgt die Konzentration von Resveratrol 200 µg/l, im roten bis zu 1100 µg/l und im Rotwein zwischen 30 und 50 mg/l.

Die Schlüsselenzyme bei der Resveratrol-Synthese sind Stilbensynthase (STS) und Chalconsynthase (CHS). Beide verwenden 4-Coumaroyl-Coenzym A (CoA) und führen drei Kondensationsreaktionen mit Malonyl-CoA durch. Der entscheidende Unterschied zwischen der Synthese von Resveratrol und Chalcon liegt in der Faltung des resultierenden Tetraketids. Bei der STS wird bei der Ringfaltung CO₂ abgespalten (Schröder 2009).

*Biosynthese:***Abbildung 3:** Biosynthese von Resveratrol (Schröder 2009)

Der japanische Staudenknöterich *Polygonum cuspidatum* weist den höchsten Gehalt an Resveratrol auf. Diese Heilpflanze ist sowohl in der traditionellen japanischen Medizin als *Ko-jo-kon*, als auch in der indischen Ayurveda-Medizin als *Darakchasava* verbreitet. *Darakchasava* ist eine gut bekannte indische Kräuter-Zubereitung, deren hauptsächlicher Bestandteil aus der *Vitis vinifera* (Weinrebe) besteht (Paul et al. 1999).

Resveratrol wurde erst in den 1990-er Jahren international bekannt, vor allem als mögliche Erklärung für das „französische Paradoxon“ (Kleine-Gunk 2007).

Pharmakokinetik:

In Studien konnte aufgezeigt werden, dass Resveratrol nach peroraler Verabreichung vom Menschen gut resorbiert, jedoch rasch metabolisiert wird. Circa 30 Minuten nach Wirkstoffzufuhr lag nahezu die gesamte Menge in glukuronidierter oder konjugierter Form vor. Freies Resveratrol konnte nur noch vereinzelt nachgewiesen werden (Walle et al. 2004).

Interessante Versuche und Studien konnten Vermutungen und Hinweise aufstellen, dass die Sulfatierung durch andere sich im Rotwein befindlichen Phenole, z.B. Quercetin, blockiert wird (Mertens-Talcott et al. 2005). Dies könnte erklären, warum die niedrigen Konzentrationen von Resveratrol, die in ein bis zwei Gläsern Rotwein enthalten sind, dennoch eine positive gesundheitliche Wirkung zeigen (Kleine-Gunk 2007).

1.2.2 Wirkungen von Resveratrol

In den meisten Ländern führt eine große Zufuhr an gesättigten Fettsäuren zu einer erhöhten Sterberate aufgrund koronarer Herzkrankheiten. In Frankreich jedoch ist die Situation paradox, da trotz hoher Einnahme an gesättigten Fettsäuren die coronary heart disease (CHD)-Mortalitätsrate sehr gering ist. Dieses Paradoxon ist zum Teil dem hohen Weinkonsum zuzuschreiben. Epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass ein täglicher Weinkonsum von 20-30 g das Risiko einer CHD-Erkrankung um 40 % reduziert. Alkohol soll dabei der Grund für die Prävention sein (Renaud et al. 1992).

Eine andere Möglichkeit stellt die im Rotwein in hoher Konzentration vorliegende Substanz Resveratrol dar (Kleine-Gunk 2007).

In einer Studie wurden die kardioprotektiven Effekte des Resveratrols an narkotisierten Ratten überprüft. Die Ergebnisse zeigten, dass eine Trihydroxystilben-Vorbehandlung bei an Ischämie leidenden Ratten eine deutlich positive Wirkung hervorruft. Resveratrol setzt sowohl die Häufigkeit als auch Dauer von ventrikulärer Tachykardie (Kammertachykardie) und ventrikulärer Fibrillation (Kreislaufstillstand) herab. Nebenbei erhöht es die Konzentration an NO im Körper und vermindert den Lactat-Dehydrogenase-Level im Blut. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Resveratrol eine antiarrhythmische Wirkung mit kardioprotektiven Eigenschaften an Ischämie erkrankten Ratten besitzt (Hung et al. 2000).

Resveratrol ist ein Phytoalexin, welches bei Pflanzen aktiviert wird, wenn diese unter Stress stehen (Wang et al. 2010).

Phytoalexine sind niedermolekulare, antimikrobiell wirkende, chemische Verbindungen, die unmittelbar nach Eintritt von Mikroorganismen in den Organismus von der Pflanze selbst gebildet werden. Deren Ausbreitung, Vermehrung und Wachstum wird dadurch unterbrochen und gehemmt.

In Studien konnte nachgewiesen werden, dass Resveratrol sowohl eine hemmende Wirkung auf die Cyclooxygenase 2 (COX-2) (Subbaramaiha et al. 1999), als auch auf die intrinsische Stickstoffmonoxid-Synthetase (iNOS) (Tsai et al. 1999), zwei wesentliche Schlüsselenzyme der Entzündungsreaktion, besitzt (Kleine-Gunk 2007).

In Weintrauben stellt Resveratrol einen großen Anteil dar und besitzt gesundheitsfördernde sowie anti-Tumor-Eigenschaften (Wang et al. 2010).

Es übt inhibitorische Effekte auf die drei Krankheitsstadien – Initiation, Promotion und Progression – der Krebsentstehung bei Nagetieren aus. Die Hemmung der Tumor-Initiation durch Resveratrol erfolgt voraussichtlich durch die Verhinderung der Aktivierung des Aryl-hydrocarbon (Ah)-Rezeptors. Die chemopreventiven Eigenschaften des Stilbens stehen auch im Zusammenhang mit der Blockierung eines Transkriptionsfaktors, dem Nuclear-Factor von aktivierten B-Zellen (NF-kappaB) (Ignatowicz et al. 2001).

Das polycystische Ovarial-Syndrom ist eine Stoffwechselstörung geschlechtsreifer Frauen und wird mit einem Thekazelltumor, Insulinüberschuss, einer systemischen Entzündung und oxidativem Stress in Verbindung gebracht (Wong et al. 2010).

Ein Thekazelltumor ist ein seltener, eventuell hormonbildender Ovarialtumor, der von den Thekazellen abgeleitet wird und fibromatös und lipoidreich aufgebaut ist. In den meisten Fällen ist er einseitig und oft sehr groß, entartet aber selten malign (Roche Lexikon Medizin 1999).

In einer in vitro Studie mit Ratten wurde getestet, ob das Thekazellen-Wachstum mit oder ohne Insulin durch Resveratrol verändert werden kann, da dem Polyphenol anti-

Tumor, antiinflammatorische, antiproliferative und antioxidative Eigenschaften zugeschrieben werden. Als Ergebnis stellte sich heraus, dass Resveratrol konzentrationsabhängig das Zellwachstum mittels Blockierung der Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Synthese hemmt und die Zahl der funktionsfähigen Zellen senkt. Weiters fördert das Stilben die Apoptose der Thekazellen. Aus diesen Studien geht hervor, dass Resveratrol möglicherweise zukünftig eine effektive Behandlungsmethode bei PCOS (polycystic ovary syndrome) darstellen wird (Wong et al. 2010).

Viele Studien haben die Wirkung von Resveratrol auf die Kardioprotektion demonstriert, welche die Modulation über den Lipid-Umsatz und die Blockierung der Eicosanoid-Produktion beinhaltet (Ignatowicz et al. 2001).

In einer italienischen Studie wurde Resveratrol als anti-aging Mittel an Fischen der Sorte *Nothobranchius furzeri*, der zu den Kärpflingen zählt, überprüft und getestet. Dieser Fisch lebt ungefähr neun Wochen und zeigt an seinem Lebensende typische Alterserscheinungen sowie abfallende Lern- und Leistungsfähigkeit. In dieser anti-aging Studie wurde das Futter der Fische mit Resveratrol versetzt und die daraus entstehenden Resultate miteinander verglichen. Das Ergebnis zeigte deutlich, dass sich die Lebenserwartung dieser Fische um 30-60 % erhöhte. Darüber hinaus waren die Kärpflinge selbst im hohen Alter noch aktiv sowie lern- und leistungsfähig. Der Wirkungsmechanismus des Stilbens konnte noch nicht genau geklärt werden, jedoch wird vermutet, dass der Stoff ähnliche Vorgänge in den Zellen auslöst wie eine Verminderung der Kalorienzufuhr, die ebenfalls in vielen Organismen die Lebenserwartung erhöht (Valenzo 2006).

2. Ziel der Diplomarbeit

Im praktischen Teil der Diplomarbeit wurde die Wirkung der beiden von der pharmazeutischen Chemie bereit gestellten Testsubstanzen SWS 33 (Kapitel 3.1.2) und JB 35s (Kapitel 3.1.3) an isolierten Meerschweinchen-Organen überprüft.

Die Präparation und eine dem jeweiligen Organ – Aorta descendens, Arteria pulmonalis, Atrium cordis dextrum, Musculus papillaris und terminales Ileum – vorgegebene Vorspannung mit dem Zweck, ähnliche bzw. gleiche Ausgangsbedingungen zu schaffen, hatten dabei oberste Priorität.

Die vasodilatierende Wirkung der beiden Wirkstoffe wurde an der Aorta und der Pulmonalarterie, der spasmolytische Effekt am Darm untersucht.

Eine negative oder positive Chronotropie konnte am präparierten rechten Vorhof gemessen und eine negative oder positive Inotropie am isolierten Papillarmuskel eruiert werden.

Der EC_{50} -Wert, wenn vorhanden, musste in den einzelnen Versuchsreihen ermittelt werden und in Verbindung mit dem Organ, das den niedrigsten EC_{50} -Wert aufwies, wurde mit Hilfe zweier Antagonisten – Glibenclamid und Nitro-L-Arginin – und eines Agonisten – Phenylephrin – auf den Wirkungsmechanismus der Wirkstoffsubstanz detaillierter eingegangen.

EC_{50} ist die mittlere effektive Konzentration und stellt jene Konzentration dar, bei der die Hälfte des Maximaleffektes beobachtet wird. Dieser Wert kann nicht direkt gemessen werden, sondern muss aus Dosis-Wirkungs-Kurven abgeleitet werden.

3. Material und Methodik

3.1 SWS 33 & JB 35s – die Testsubstanzen

3.1.1 Allgemein

Ao. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker und Dr. Gerda Brunhofer vom Department für medizinische und pharmazeutische Chemie waren für die Synthetisierung der beiden Wirkstoffsubstanzen zuständig und stellten diese dann für die einzelnen Versuche und Experimente zur Verfügung.

Jeden Morgen vor Versuchsbeginn mussten die beiden Testsubstanzen in 100 μ l Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und frisch hergestellt werden. Da zwei verschiedene Organbad-Volumina von 25 ml und 8 ml zur Auswahl an den jeweiligen Apparaturen (I und II) standen, mussten die Einwaagen für die beiden Bäder so gewählt bzw. errechnet werden, dass nach den unterschiedlichen Konzentrationszugaben der Testsubstanz am Schluss eine Konzentration von 100 μ mol/l im Organbad vorlag.

Abbildung 4: Stammlösungen der beiden Testsubstanzen SWS 33 und JB 35s

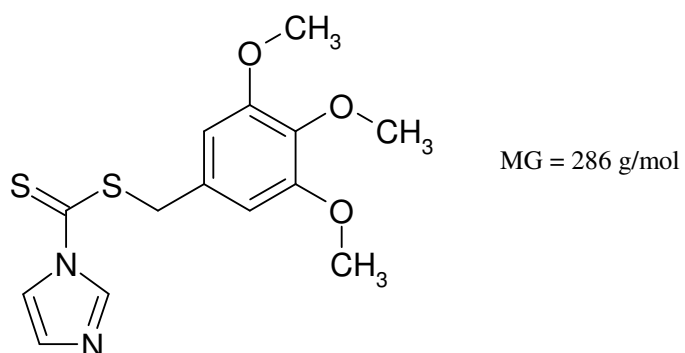
Testsubstanz	Molare Masse (g/mol/l)	Organbad- Volumen (ml)	Einwaage für 100 μ mol/l (mg)
SWS 33	324,42	8	0,260
		25	0,811
JB 35s	281	8	0,225
		25	0,703

Nach einer ungefähr 45-70-minütigen Anpassungs- und Gewöhnungsphase im Organbad stellte sich bei den einzelnen, präparierten Organen die Kontraktionskurve auf einem konstanten Plateau ein. Nun konnte die erste Konzentration von 1 μ l der Stammlösung der Testsubstanz mit Hilfe einer Finnmikropipette in das Bad eingespritzt werden. In einem 45-Minutenintervall erfolgten dann die weiteren Konzentrationszugaben von 2 μ l, 7 μ l, 20 μ l und 70 μ l. Mit diesen Mengen wurde am Ende des Versuches eine Badkonzentration von 100 μ mol/l angestrebt.

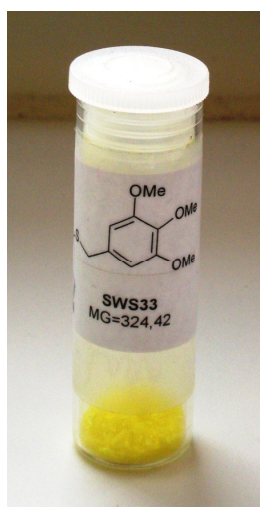
Abbildung 5: Kumulative Wirkstoffzugabe in das Organbad

Eingespritzte Menge (μl)	Bad-Endkonzentration ($\mu\text{mol/l}$)
1	1
2	3
7	10
20	30
70	100

3.1.2 SWS 33

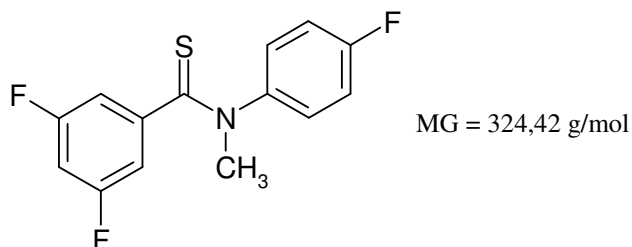
Abbildung 6: Struktur der Testsubstanz SWS 33

1 H – Imidazol – 1 yl – carbodithiosäure – 3,4,5 – trimethoxybenzylester

Abbildung 7: SWS 33

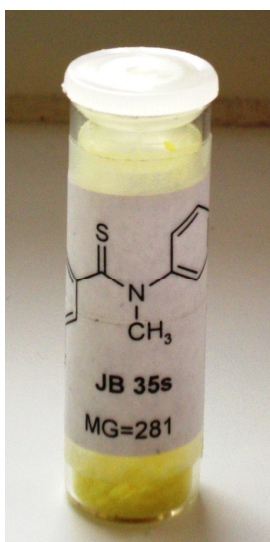
3.1.3 JB 35s

Abbildung 8: Struktur der Testsubstanz JB 35s



N – (4 – Fluorphenyl) – N – methyl – 3,5 – difluorbenzothioamid

Abbildung 9: JB 35s



3.2 Versuchstiere

Für die jeweiligen Versuche und Experimente wurden Meerschweinchen männlichen und weiblichen Geschlechtes herangezogen, die ein durchschnittliches Körpergewicht zwischen 300 g und 600 g sowie ein Lebensalter von nicht mehr als acht Wochen aufwiesen. Die Meerschweinchen stammten vom Department für Toxikologie und Labortierzucht in Dobrá Voda, Universität Bratislava (Slowakei), und gehörten den Stämmen DH (Inzucht) und TRIK (Auszucht) an.

Am jeweiligen Morgen eines Versuchstages wurden die Meerschweinchen durch einen Genickschlag getötet. Auf diese Weise mussten die Meerschweinchen nicht leiden und erfuhren einen schnellen Tod. Daraufhin wurde der Bauchraum geöffnet und das noch

schlagende Herz aus dem Thorax (Brustkorb) herausgenommen. Anschließend wurden die Aorta descendens entlang des Rückgrats sowie ein Stück des terminalen Ileum aus dem Körper entfernt. Die entnommenen Tierorgane wurden sofort in die begaste Tyrode (Nährstofflösung, Kapitel 3.3) gelegt, um ihnen eine Sauerstoffversorgung zu gewährleisten und sie dadurch künstlich am Leben zu erhalten.

3.3 Tyrode – physiologische Nährstofflösung

Die Tyrode ist eine physiologische Nährstofflösung, in der die jeweiligen Tierorgane eingelegt und mit einem Gasgemisch versetzt wurden. Dieses Gemisch besteht aus 95 % O₂ (Sauerstoff) und 5 % CO₂ (Kohlendioxid) und wird auch Carbogen oder Oxy mix genannt.

Die physiologische Elektrolytlösung Tyrode wurde nach einer entsprechenden Anleitung hergestellt und entsprach einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung (Reiter 1967). Während des gesamten Versuchsvorgangs, der Präparation und der Lagerung mussten die Organe in der begasten Tyrode aufbewahrt werden, um eine ausreichende Sauerstoffversorgung aufrecht zu erhalten.

Abbildung 10: Krebs-Henseleit-Lösung – Zusammensetzung

Substanz	Molare Masse (g/mol)	Stocklösung	ml Stocklösung/ l Tyrode	mmol/l
NaCl	58,442	1000,25 g/5l	33,6	115,01
KCl	74,55	50,33 g/5l	35,0	4,73
NaHCO ₃	84,01	125,0 g/5l	83,7	24,91
MgSO ₄	120,37	147,02 g/5l	1,18	0,29
KH ₂ PO ₄	136,09	62,0 g/250ml	1,18	2,15
CaCl ₂	110,98	34 g/250ml	3,2	3,92
Glucose	180,16	Reinsubstanz	1,98	

Die physiologische Nährstofflösung Tyrode musste jeden Morgen frisch angefertigt werden. Die in der Tabelle angeführten entsprechenden Mengen an NaCl, KCl, NaHCO₃, MgSO₄ und KH₂PO₄ wurden auf zwei Liter umgerechnet und mit einer Pürette dem 2 l-Messkolben beigelegt und durchmischt. Danach wurde die Glucose

beigefügt und mit Aqua bidestillata auf ungefähr $\frac{3}{4}$ des Messkolbens aufgefüllt. Nachdem sich die Glucose im Kolben vollständig gelöst hatte, wurde diese Flüssigkeit 20 Minuten lang mit Oxy mix, auch Carbogen genannt, begast. Nun konnte die entsprechende Menge an CaCl_2 tropfenweise hinzugefügt werden. Dabei kam es darauf an, die CaCl_2 -Lösung der Mischung langsam zuzuführen, um so eine starke Trübung der Elektrolytlösung zu verhindern, die aufgrund der Bildung bzw. Ausfällung von schwer-löslichen Calciumsalzen entsteht. Anschließend wurde der 2 l-Messkolben mit Aqua bidestillata bis zur Markierung aufgefüllt.

Abbildung 11: Begaste Nährstofflösung



3.4 Isolierung und Präparation der Tierorgane

Die Aorta pulmonalis, das terminale Ileum und das Herz, welches den rechten Vorhof und die Papillarmuskeln enthält, mussten für die Versuche und Experimente mit den beiden Wirkstoffen isoliert und präpariert werden.

Abbildung 12: Sezierbesteck

Die Isolierung der einzelnen Organe des Meerschweinchens und die Reihenfolge wurden schon in Kapitel 3.2 erläutert.

Die Präparation konnte nach der Entnahme der einzelnen Tierorgane aus dem Thorax bzw. Bauchraum erfolgen. Dabei war wichtig, dass sich die Organe immer in der begasten Tyrode befanden, um sie mit ausreichend Sauerstoff versorgen zu können.

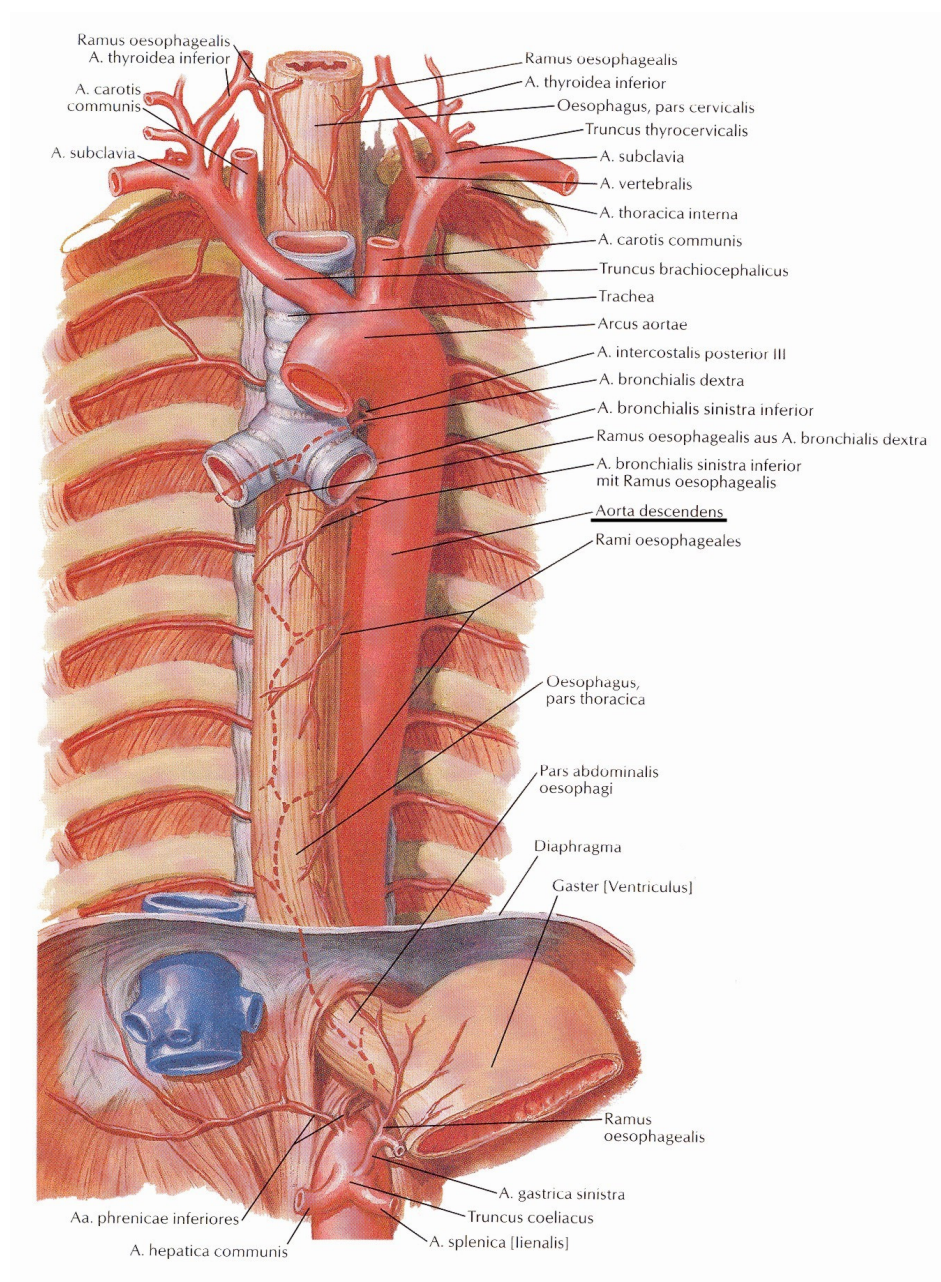
Der Boden der Petrischale wurde mit einem runden Korkstück versehen, wobei ein Gummischlauch diese Konstruktion zusammenhielt. Danach wurde die Tyrode in die Petrischale gegossen und diese Lösung mit Carbogen versetzt. Mit Hilfe eines Auflichtmikroskops wurden die Organe in der Nährstofflösung mit Stecknadeln fixiert und unter der Verwendung eines Präparierbestecks – Federgriffscheren und Pinzetten – für die einzelnen Versuchsreihen präpariert.

Abbildung 13: Präparationsbesteck und Mikroskop

3.4.1 Aorta descendens

Um die Aorta isolieren zu können, wurde der gesamte Thorax mit einer Schere aufgeschnitten sowie das Herz herausgenommen. Mit Hilfe einer Pinzette konnte das obere Ende der Aorta erfasst und diese anschließend entlang des Rückgrats mit einer Schere vorsichtig herausgetrennt werden. Dabei kam es darauf an, dass während dieses Vorgangs keine Überdehnung der Aorta erfolgte oder Löcher in das Organ hinzugefügt wurden.

Abbildung 14: Aorta descendens - Verlauf (Netter FH 2003)



Nachdem die Isolierung der Aorta erfolgreich durchgeführt worden war, konnte diese in eine vorgefertigte Petrischale mit begaster Tyrode gegeben und an ihren Enden mit Präpariernadeln fixiert werden. Mit der Federschere wurde daraufhin das Aorta-Teilstück vom umliegenden Fettgewebe befreit und anschließend ungefähr zwei Millimeter starke Aortenringe für die Versuche zugeschnitten.

Abbildung 15: Originalbild einer Aorta descendens



3.4.2 Arteria pulmonalis (Lungenarterie)

Bei unseren Versuchen war nur der Truncus pulmonalis von Bedeutung. Dies ist derjenige Teil der Arteria pulmonalis, der der rechten Herzkammer entspringt. Aus diesem Grund musste das Herz vom umliegenden Fettgewebe getrennt werden, um auf den Truncus pulmonalis zu stoßen. Dieser Teil der Lungenarterie, der direkt am Herzen sitzt, entspricht einer Länge von etwa einem Zentimeter. Anschließend wurden ungefähr zwei Millimeter starke Arterienringe zugeschnitten. Die Teilstücke wurden bis zum Einspannen in die jeweilige Versuchsanordnung I in ein mit Tyrode befülltes Becherglas, das mit Oxymix begast wurde, übergeführt.

3.4.3 Atrium cordis dextrum (Rechter Vorhof)

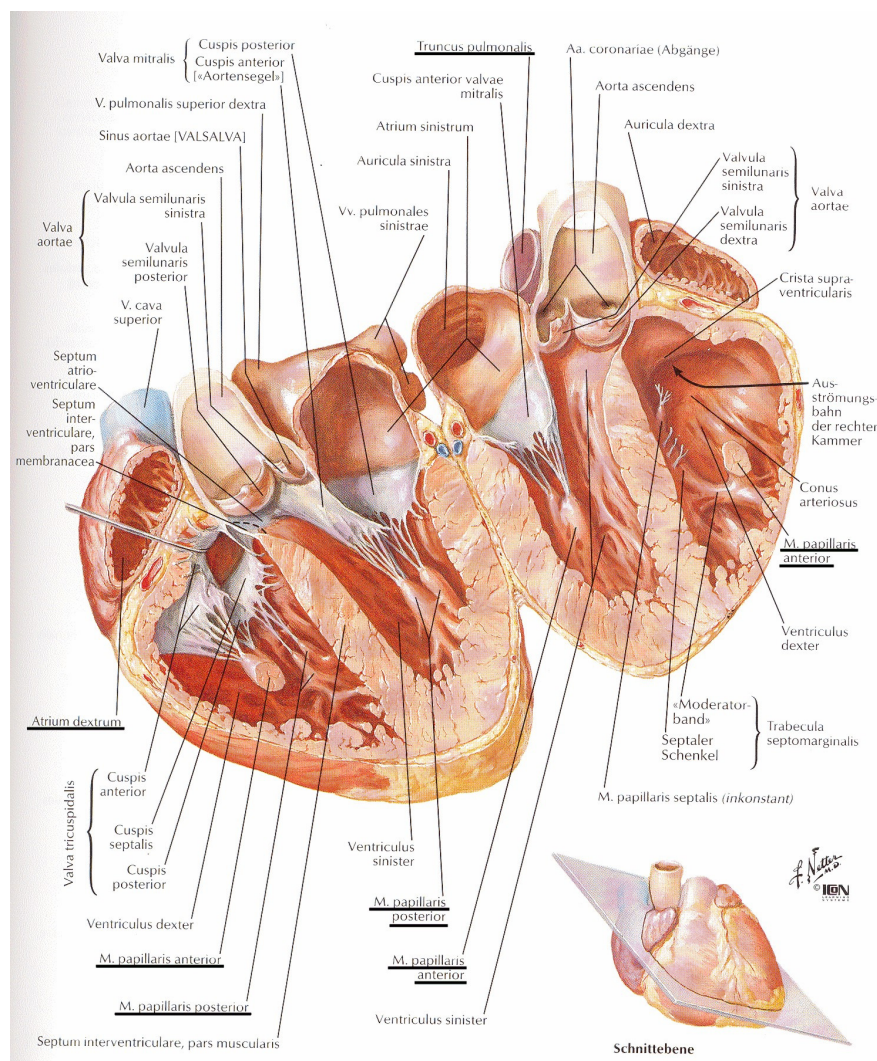
Das Herz wurde in mit einer begasten Tyrode vorbereiteten Petrischale (Kapitel 3.4) mit zwei Präpariernadeln an der Basis und an der Spitze am Korkboden fixiert. Nun wurde das restliche Fettgewebe mit einer Schere entfernt und noch am Herzen befindliche Fragmente der Lunge abgetrennt. Anschließend wurde der Atrium cordis dextrum vorsichtig vom Ventrikel, der Herzkammer, eliminiert. Dabei war wichtig, dass der rechte Vorhof, in dessen Wand der Sinusknoten sitzt, nicht verletzt wurde, da daraus

eine Unterbrechung des Schlagens des Vorhofes resultieren könnte. Der Sinusknoten im rechten Vorhof ist sehr schwer aufzufinden, wodurch das sorgfältige Entfernen von Fettgeweberesten sowie das Abbinden höchste Priorität hatte.

Nach der Abtrennung des Atrium cordis dextrum vom Herzen wurde dieser mit zwei Präpariernadeln an Basis und Spitze am Korkboden befestigt. Nun wurden zwei verschieden gefärbte Bindfäden unter den jeweiligen Nadeln platziert (an der Spitze: roter Bindfaden; an der Basis: schwarzer Bindfaden). Anschließend wurde mit dem Faden ein Knoten gelegt und mit einem Silberhäkchen dann in das Knötchen eingefädelt sowie mit einem zweiten Knoten die Konstruktion festgemacht. Dieser Arbeitsschritt wurde an beiden Enden des rechten Vorhofes durchgeführt.

Abschließend wurde das präparierte Organ wieder bis zum Start des Versuchs in ein mit begaster Tyrode versetztes Becherglas übergeführt.

Abbildung 16: Herz – Querschnitt (Netter FH 2003)



3.4.4 Musculus papillaris (Papillarmuskel)

Nachdem die Arteria pulmonalis und der Atrium cordis dextrum vom Herzen abgetrennt worden waren, wurden die Papillarmuskeln aus der rechten Herzkammer isoliert. Das Herz wurde wieder an Spitze und Basis mit Nadeln befestigt und am Ansatz der Papillarmuskelsehne erneut ein Silberhäkchen mit einem Bindfaden fixiert. Nun wurde diese Sehne durchtrennt und der Musculus papillaris unter größter Sorgfalt isoliert. Um weitere Papillarmuskeln freisetzen zu können, wurde auch zur linken Herzkammer übergegangen und diese dort entnommen. Die Papillarmuskeln mussten von Purkinje Fasern vorsichtig befreit werden, da letztere eine Spontanaktivität besitzen und dadurch beim Versuchsablauf störend und hinderlich gewesen wären.

Die einzelnen, präparierten Papillarmuskeln wurden erneut in einem mit begaster Elektrolytlösung befüllten Becherglas bis zum Einspannen der Organe in die jeweiligen Apparaturen II übergeführt.

3.4.5 Terminales Ileum (Darm)

Nach der Isolierung des Herzens konnte zur Entnahme des Darms übergegangen werden. Ein Teil des Darms wurde dann in die Hand genommen und aus dem Bauchraum gezogen, um ein Stück des terminalen Ileum vor dem Caecum (Blinddarm) abzutrennen. Das dem Jejunum (Leerdarm) zugewandte Ende wurde mit einem Bindfaden versehen, wodurch die beiden Enden bei der weiteren Präparation nicht mehr vertauscht werden konnten. Abermals war äußerste Vorsicht geboten, um das Darmgewebe bei der Isolierung nicht zu verletzen.

Abbildung 17: Originalbild eines terminalen Ileum



Das terminale Ileum wurde wieder in einem Becherglas aufbewahrt, welches mit einer begasten Nährstofflösung gefüllt war.

Unter einem Auflichtmikroskop in einer vorbereiteten Petrischale wurde nun ein ungefähr ein Zentimeter langes Stück des Darms abgetrennt und die beiden Enden für die Präparation schräg abgeschnitten. Mit Hilfe von Präpariernadeln wurden die Spitzen am jeweiligen Darmende befestigt. Nun konnten, wie in Kapitel 3.4.3 beschrieben, die beiden Silberhäkchen mit unterschiedlich gefärbten Bindfäden angelegt und fixiert werden (oberes Ende: roter Bindfaden; unteres Ende: schwarzer Bindfaden).

Mit Hilfe einer Pasteurpipette wurde das Darmstück nach der Präparation durchgespült, um es vom restlichen Chymus zu befreien und um sicher zu stellen, dass beim anschließenden Versuchsablauf die Wirkstofflösung durch das Darmstück durchfließen konnte. Beim Durchspülen musste erneut beachtet werden, dass das Darmfragment nicht zu stark überdehnt und dabei verletzt wurde.

Bis zum Einspannen des präparierten Organs in die Versuchsanordnung I wurde es in einem mit einer begasten Tyrode befüllten Becherglas aufbewahrt.

Abbildung 18: Präpariertes Darmstück



3.5 Apparaturen und Versuchsanordnung

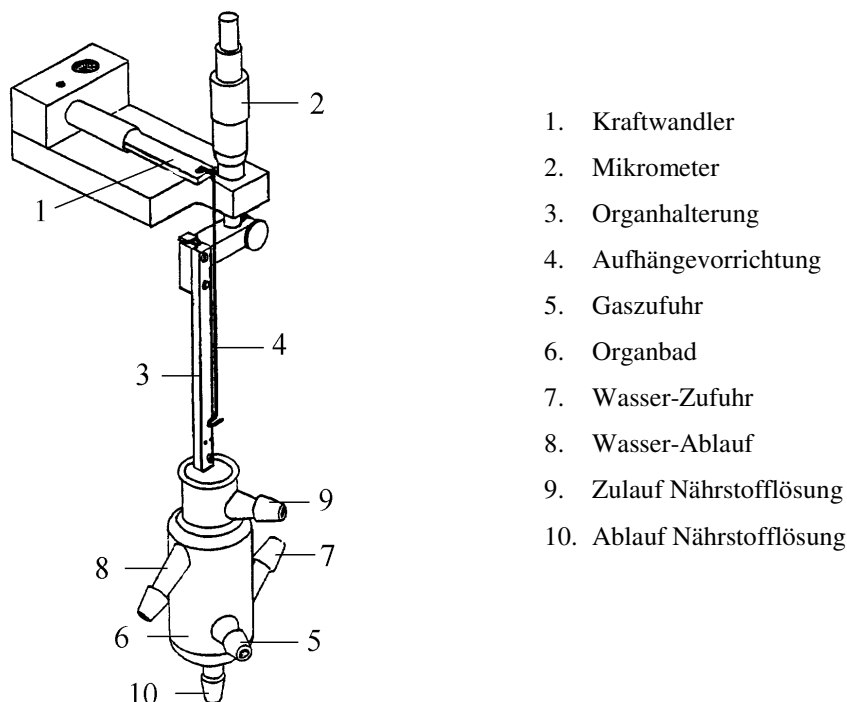
3.5.1 Allgemein

Um die Wirkung der beiden Testsubstanzen – SWS 33 und JB 35s – an den einzelnen Tierorganen erforschen zu können, standen im Labor zwei verschiedene Versuchsapparaturen bereit. Für das Einspannen der Aorta descendens, Arteria pulmonalis, Atrium cordis dextrum und des terminalen Ileum wurde die Apparatur I und für das Fixieren des Musculus papillaris die Apparatur II verwendet. Über einen feinen Draht wurden dann die jeweiligen Organe an einem Kraftwandler befestigt, welcher Stromimpulse an einen Amplifier weiterleitete. Dieser wiederum intensivierte das ankommende Signal, welches daraufhin mit Hilfe eines Schreibers auf einem Millimeterpapier aufgezeichnet werden konnte.

3.5.2 Apparatur I

Wie schon in Kapitel 3.5.1 erwähnt, diente diese Versuchsapparatur für die Untersuchung der beiden Wirkstoffsubstanzen an der Aorta descendens, Arteria pulmonalis, sowie am Atrium cordis dextrum und am terminalen Ileum.

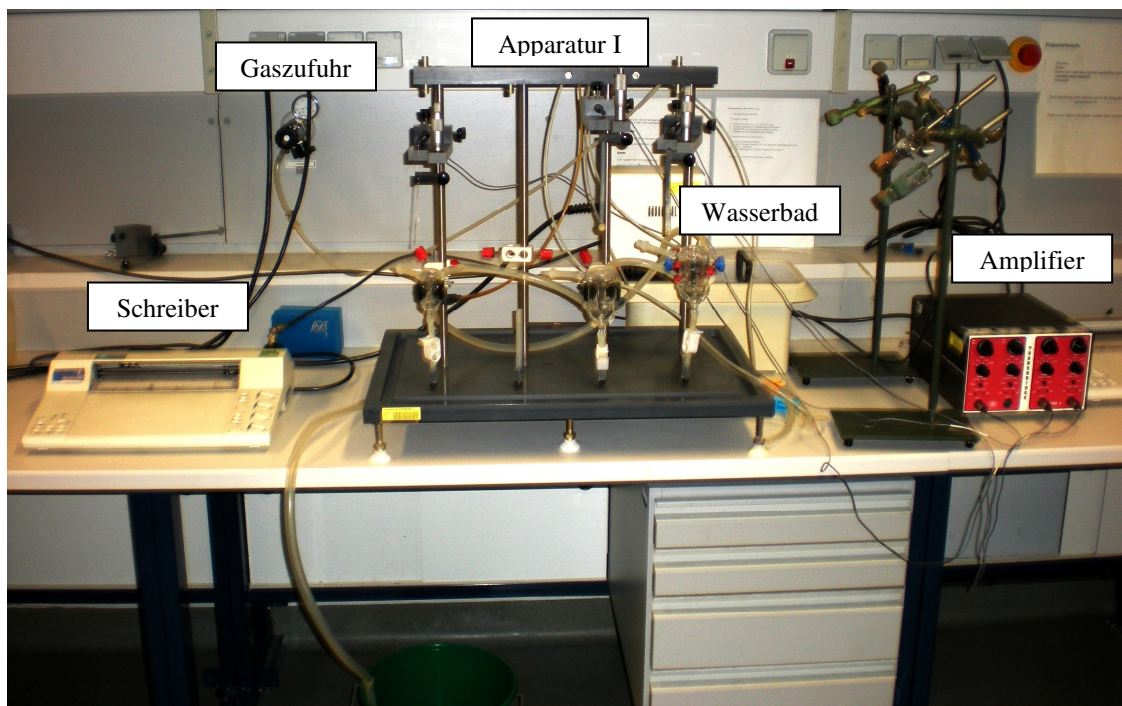
Abbildung 19: Apparatur I



Die einzelnen Organe wurden in zwei Silberdrähtchen eingefädelt und fixiert. Die beiden gebogenen Drähte wurden in die präparierten Aorta- und Pulmonalarterien-Stücke bzw. -Ringe direkt durchgesteckt und das Organ mit dem Stativ in das Wasserbad abgesenkt. Mit dem Feintrieb konnte das Organ vorgespannt und fixiert werden. Im Gegensatz dazu mussten bei der Präparation des Vorhofes und Darms Silberhäkchen festgemacht werden (siehe Kapitel 3.4.3 und 3.4.5), um die jeweiligen Präparate in die Apparatur einspannen zu können.

Bevor nun die einzelnen Organe, die in der Halterung befestigt wurden, in die jeweiligen Organbäder eingetaucht werden konnten, mussten diese mit der Elektrolytlösung befüllt und temperiert sein. Durch das Oxytmix wurden die Tierorgane mit Sauerstoff versorgt. Mit Hilfe des Feintriebs konnte dann die jeweilige Vorspannung des Organs erfolgen und die Kontraktion wurde über die Umwandlung in Stromimpulse an den Schreiber gesendet und auf Papier aufgezeichnet.

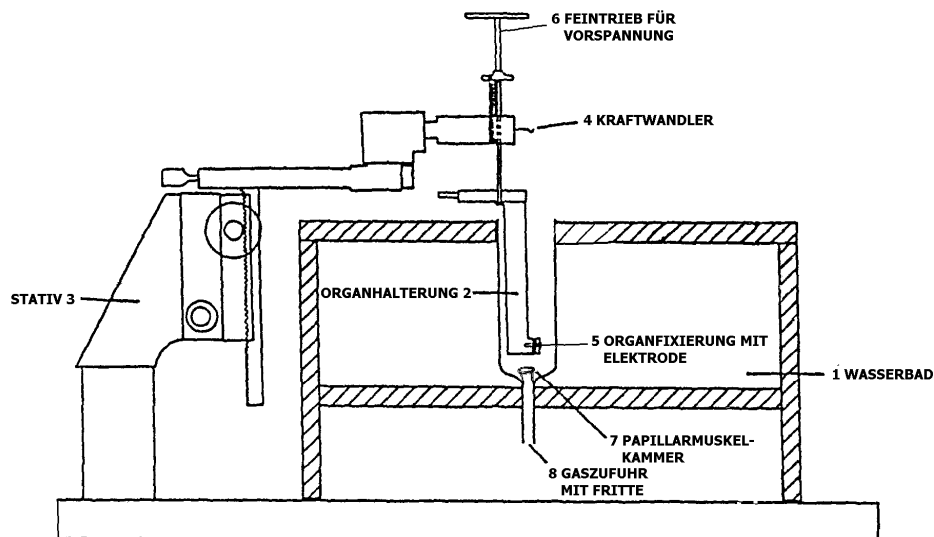
Abbildung 20: Originalbild der Apparatur I



3.5.3 Apparat II

Diese Apparat II wurde zur Messung der Kontraktionskraft des Musculus papillaris benötigt. Über einen Accupulse Stimulator (Model Isostim 301T, WPI, Hamden, CT, USA) wurde der Papillarmuskel elektrisch gereizt.

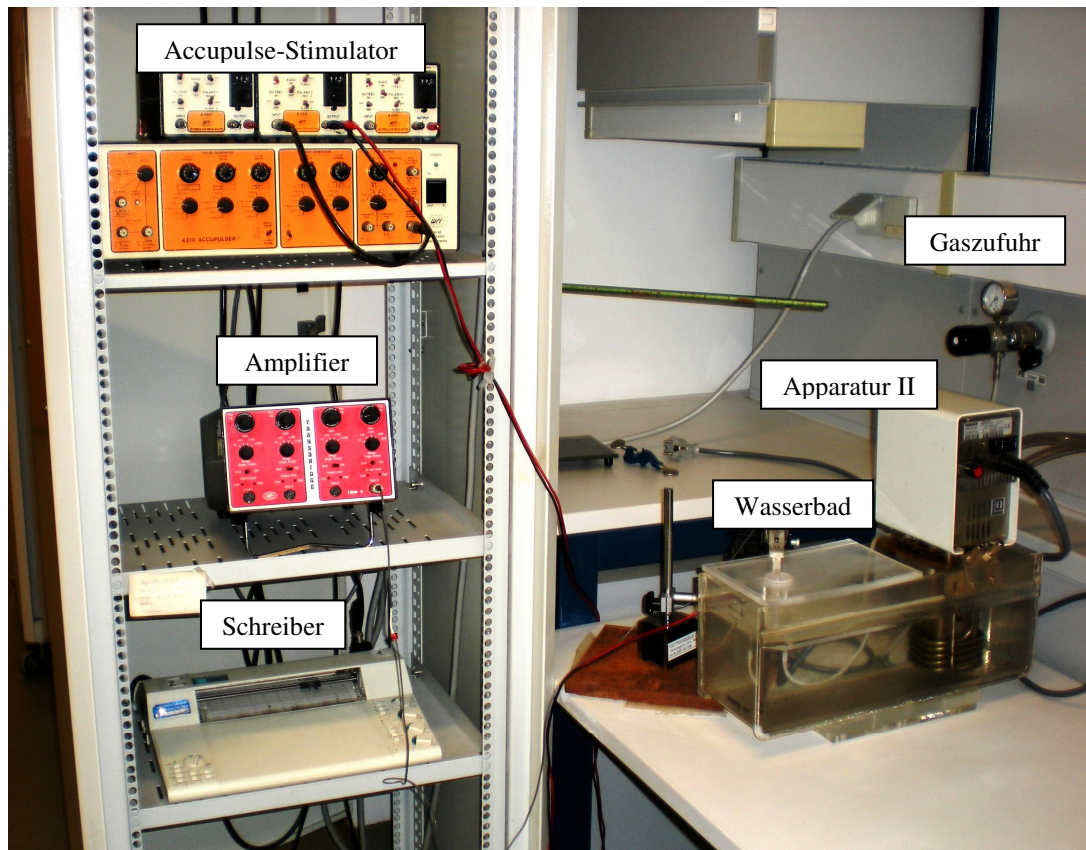
Abbildung 21: Apparat II



Die Apparat II besaß eine Wasserbad-Wanne, in der eine Muskelkammer Platz fand. Die Wasserbad-Temperatur wurde mittels eines Thermostats kontrolliert und wies eine konstante Temperatur von 35 ± 1 Grad Celsius auf. Über die am Boden sitzende Glasfritte wurde die Muskelkammer optimal mit Sauerstoff versorgt. Wie schon in Kapitel 3.5.2 erwähnt, musste die Kammer mit 25 ml Tyrode befüllt sein und sich schon ungefähr zehn Minuten im Wasserbad befinden, bevor der präparierte Papillarmuskel mittels Stativ in die Nährstofflösung abgesenkt werden konnte. Die Tyrode musste immer die jeweilige Temperatur vorweisen, um dem Organ physiologische Bedingungen gewährleisten zu können. Nun wurde der bereits präparierte Musculus papillaris (siehe Kapitel 3.4.4) mit Hilfe des Silberdrahtes in die Apparat eingefädelt. Das andere Ende des Muskels wurde zwischen eine Plexiglasscheibe und eine Elektrode gelegt, fest eingequetscht und eingespannt. Die Kontraktionskraft des Musculus papillaris wurde über den Silberdraht an den Kraftwandler weitergeleitet und mittels Verstärker in elektrische Signale übergeführt. Nun konnte das eingespannte Tierorgan mit Hilfe des Stativs in die Kammer abgelassen werden. Mit Hilfe des Accupulse

Stimulators wurde der Papillarmuskel elektrisch gereizt, da er im Gegensatz zum rechten Vorhof über kein spontanes Schlagen verfügte.

Abbildung 22: Originalbild der Apparatur II



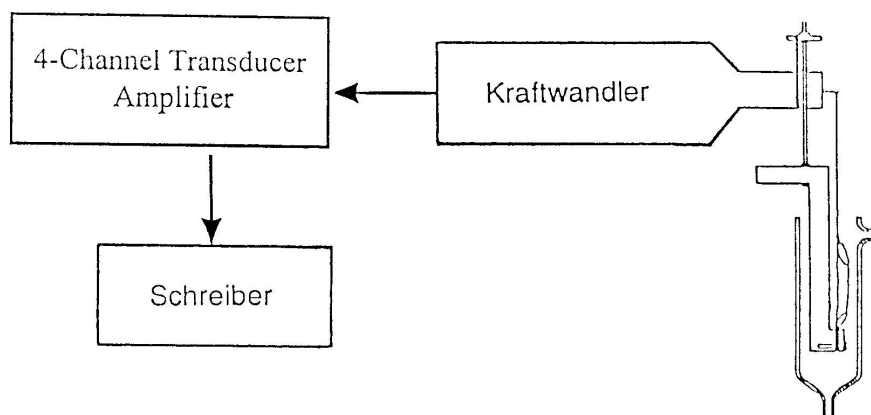
3.5.4 Gasversorgung

Die einzelnen Organe mussten während der Isolierung, Präparation und des Versuchsablaufs mit einer Mischung aus 95 % O₂ und 5 % CO₂ ständig und konstant begast werden, um sie so optimal mit Sauerstoff zu versorgen und einen physiologischen pH-Wert von ungefähr 7,2 aufrecht zu erhalten. Die Gummischläuche, über die die Präparate während des Experiments mit Oxymix versorgt wurden, wiesen an ihrem Ende eine Glasfritte, die als Filter diente, auf. Mit Schraubklemmen an den Schläuchen konnte die Sauerstoffversorgung nochmals fein reguliert werden.

Abbildung 23: Gaszufuhr

3.5.5 Kraftwandler

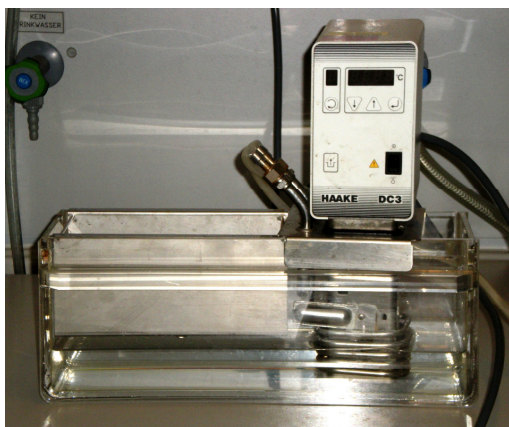
Der Kraftwandler hatte die Aufgabe, einen mechanischen Vorgang in eine elektrische Größe umzuwandeln. Der Verstärker (4-Channel Transducer Amplifier, Firma WPI) besaß einen Dehnungsmessstreifen, der durch die anfallende Dehnung den Widerstand des Messstreifens und den dazu proportional fließenden Strom verändern konnte. Die Kontraktionskraft des Papillarmuskels wurde über den Amplifier an den Schreiber (Flatbed Recorder BD-112 Dual Channel, Firma Kipp & Zonen) weitergeleitet, welcher die Kurvenaufzeichnungen auf dem Millimeterpapier vornahm.

Abbildung 24: Kraftwandler

3.5.6 Wasserbad

Für die Apparatur I, die für die jeweiligen präparierten Organe (siehe Kapitel 3.5.2) verwendet wurde, musste das Wasserbad eine Temperatur von 37 ± 1 Grad Celsius aufweisen, beim Versuchsablauf des Musculus papillaris mit der Apparatur II lediglich 35 ± 1 °C. Mit Hilfe eines Thermostats in den einzelnen Wasserbädern konnten die konstanten Temperaturen erzielt und optimale Bedingungen während des Versuchsablaufs geschaffen werden.

Abbildung 25: Wasserbad



3.6 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33

3.6.1 Versuch an der Aorta descendens

Die beiden Silberdrähte der Apparatur I wurden in den präparierten Aortenring vorsichtig eingefädelt und mittels Stativ wurde die Organhalterung in das vortemperierte Organbad abgesenkt. Dabei war darauf zu achten, dass die Organbäder vor Versuchsbeginn immer mit Aqua bidestillata und einmal mit einer Nährstofflösung durchgespült worden waren, um etwaigen Verschmutzungen entgegen zu wirken. Die Tyroden-Flüssigkeit musste das gesamte Aortenstück umspülen und das Organ durfte den Boden nicht berühren. Nun wurde der Amplifier mit Schreiber in Gang gesetzt und die Aorta mit einer Kraft von 19,6 mN, das entspricht am Millimeterpapier 10 cm bei 10 mV, vorgespannt. Nachdem ungefähr 20 Minuten verstrichen waren, wurde der Amplifier auf 5 mV zurückgestellt und mit dem Feintrieb die Spitze des Schreibers wieder auf die Nulllinie gefahren. Der Schreiber wurde hinabgelassen und eingeschaltet,

wodurch die Kurvenaufzeichnung beginnen konnte. Die Tyrode wurde aus dem Organbad abgelassen und durch genau 25 ml einer 90 mmol konzentrierten Kaliumchlorid-Lösung ersetzt. Diese wurde vor dem Versuchsbeginn in einem 100 ml Messkolben mit einer Kaliumchlorid-Einwaage von 0,67 g auf 100 ml mit der physiologischen Elektrolytlösung angefertigt. Durch die Kaliumchlorid-Lösung kam es zu einer schnellen Kontraktion der Aorta, die mittels Schreiber entsprechend verfolgt werden konnte. Nach ungefähr 45-60 Minuten stellte sich die Kontraktionskurve auf einem konstanten Plateau, einer bestimmten Höhe, ein, wodurch ein Ausgangswert für den Beginn der Testsubstanz-Zugabe geschaffen werden konnte. Nun wurde die erste Konzentration der Wirkstoffsubstanz eingespritzt und der Schreiber verfolgte den Wirkungsverlauf unter Aufzeichnung der daraus resultierenden Kurve.

3.6.2 Versuch an der Arteria pulmonalis

Das Einspannen in die Apparatur I erfolgte auf die gleiche Weise wie bei der Aorta descendens in Kapitel 3.6.1. Nach dem Eintauchen der Pulmonalarterie in die Nährstofflösung wurde sie jedoch mit einer Kraft von 9,81 mN, welches 5 mV entspricht, auf 10 cm vorgespannt. Nachdem sich die Kontraktionskurve nach circa 45-60 Minuten wieder auf ein gleichbleibendes Plateau eingependelt hatte, konnte mit der Versuchsreihe der Testsubstanz begonnen werden.

3.6.3 Versuch am Atrium cordis dextrum

Nachdem der Atrium cordis dextrum, wie in Kapitel 3.4.3 erwähnt, isoliert und präpariert worden war, wurde er in die Versuchsapparatur I eingefädelt. Danach wurde das Präparat mit Hilfe des Stativs in das mit Oxymix begaste, mit 25 ml Tyrode befüllte und vortemperierte Organbad eingetaucht. Da der rechte Vorhof ein spontanes Schlagen vorwies, musste er nicht wie der Papillarmuskel elektrisch gereizt werden, wodurch das Einspannen und Absenken in das Bad zügig zu erfolgen hatte. Anschließend wurden die dazugehörigen Geräte eingeschaltet und der Schreiber wurde auf 5 mm/sec und auf 5 mV gedreht. Mit einem „Zero-Drehknopf“ wurde die Nulllinie anvisiert und mit dem Amplifier nachkorrigiert. Nun wurde der rechte Vorhof auf 10,4 mN vorgespannt. Mit Hilfe des Feintriebs musste während des gesamten Versuchsablaufs ständig die konstant zu haltende Kontraktionskraft nachreguliert werden. Nachdem sich der Atrium cordis

dextrum nach ungefähr 45 Minuten an die vorherrschenden Bedingungen gewöhnt und angepasst hatte, konnte mit der Kontrollmessung fortgefahren werden. Der Schreiber wurde mit „Pen down“ auf das Millimeterpapier aufgesetzt und sechs Kästchen lang, das entsprach sechs Zentimetern und gleichzeitig 12 Sekunden, die Schlagfrequenz gemessen, wobei alle fünf Minuten eine solche Aufzeichnung erfolgte. Nachdem sich die Frequenz der Schläge über drei bis vier Messungen nicht mehr verändert hatte, wurde die erste Konzentration der Testsubstanz vorsichtig in das Organbad eingespritzt. Dabei galt es zu beachten, mit der Pipette weder am Kraftwandler anzustoßen, noch an den Silberdrähtchen anzustreifen, da es sonst zu verfälschten Aufzeichnungen und Ergebnissen gekommen wäre.

Darüber hinaus wurden weiterhin alle fünf Minuten Messungen des rechten Vorhofes vorgenommen und nach jeweils 45 Minuten wurde eine neue Konzentration des Wirkstoffs hinzugefügt.

3.6.4 Versuch am Musculus papillaris

Der Musculus papillaris wurde, wie in Kapitel 3.4.4 beschrieben, präpariert und in die Organhalterung der Apparatur II eingefädelt und fixiert (siehe Kapitel 3.5.3). Mittels Stativ konnte der Papillarmuskel in die mit 25 ml Elektrolytlösung befüllte, vortemperierte und mit Oxy mix versetzte Muskelkammer hinuntergelassen werden. Danach wurde das Organ mit 3,92 mN vorgespannt. Für die Dauer des Versuchs am Papillarmuskel musste der Feintrieb, wie bereits in Kapitel 3.6.3 erwähnt, ständig nachreguliert werden, um einer Abnahme der Inotropie des Muskels entgegen zu wirken, die auf eine Verringerung der Ausgangsspannung zurückzuführen war (Reiter 1967).

Da der Musculus papillaris im Gegensatz zum rechten Vorhof kein spontanes Schlagen aufwies, wurde er mit dem Accupulser A310 – Akkumulator Stimulus Isolator A360 (World Precision Instrument, Hamden, FL, USA) – elektrisch gereizt, wodurch es somit auch beim Papillarmuskel zu einer Kontraktion kommen konnte. Nach einer ungefähr 15-minütigen Anpassungs- und Gewöhnungsphase wurde das Organ mit Hilfe von Rechteckimpulsen von 10 ms^{-1} sowie mit einer Frequenz von einem Hertz stimuliert. Über ein Gerät (Isolation Unit) wurde die Stromstärke reguliert, die sich circa 10 % über der minimalen Reizschwelle befand. Wäre die Stromstärke höher als 10 %, würde dies eine unkontrollierte Ausschüttung der beiden Katecholaminspeicher – Adrenalin

und Noradrenalin – hervorrufen und damit das Ergebnis des Versuchs verfälschen (Furchgott et al. 1959). Für die Kontroll- und eigentlichen Messungen musste der Schreiber mit „Pen down“ auf das Millimeterpapier abgesetzt werden und jede fünf Minuten eine Aufzeichnung von ungefähr sieben Amplituden erfolgen. Nachdem die Längen der Amplituden konstant und gleichmäßig geblieben waren, konnte mit dem Einspritzen der ersten Wirkstoffkonzentration begonnen werden. Im 45-Minutenintervall erfolgten dann die weiteren Konzentrationszugaben der Testsubstanz. Bei der letzten Aufzeichnung eines Intervalls wurde eine Messung mit Speed 20 mm/sec aufgenommen.

3.6.5 Versuch am terminalen Ileum

Das terminale Ileum wurde, wie in Kapitel 3.4.5 dargelegt, isoliert, präpariert und anschließend in Apparatur I mit Hilfe der Silberdrähte eingefädelt. Das Ende mit dem roten Bindfaden, welches das dem Jejunum zugewandte Ende symbolisierte, musste mit dem Häkchen in den oberen Draht der Organhalterung eingehängt werden. Nachdem der Darm in das Organbad, welches mit einer 37 Grad Celsius temperierten Tyrode versetzt war, abgesenkt worden war, musste der Amplifier eingeschaltet werden. Bei 5 mV erfolgte die Vorspannung von 4,92 mN und die Gewöhnungsphase des Darms an die vorherrschenden physiologischen Bedingungen dauerte ungefähr 20 Minuten. Nach dieser Zeit wurde die Nulllinie erneut mittels Feintrieb eingestellt und der Schreiber konnte auf das Millimeterpapier aufgesetzt werden. Die im Organbad befindliche Tyrode wurde, wie in Kapitel 3.6.1 beschrieben, über einen Gummischlauch abgelassen und durch genau 25 ml einer 60 mmolaren Kaliumchlorid-Lösung ersetzt. Diese Kaliumchlorid-Lösung wurde, wie die 90 mmolare Lösung für die Aorta descendens und Arteria pulmonalis, schon am Morgen jedes Labortages frisch in einem 100 ml Messkolben zubereitet, wobei 0,45 g KCl auf 100 ml mit der Tyrode aufgefüllt wurden. Im Gegensatz zur Kontraktionskurve der Aorta und Pulmonalarterie kam es nach Zugabe dieser Lösung zu einer schnellen und stark ansteigenden Kontraktion des Darms, die nach einiger Zeit wieder etwas nachließ und dann erst langsam nach ungefähr 50-70 Minuten ein konstantes Plateau ausbildete. Nun wurde die erste Konzentration der Testsubstanz eingespritzt und es konnte mit der Versuchsreihe begonnen werden.

3.7 Wirkungsmechanismus von SWS 33 an der Aorta descendens unter dem Einfluss von Glibenclamid, Nitro-L-Arginin und Phenylephrin

3.7.1 Versuche von SWS 33 mit Glibenclamid

Nachdem der Aortenring, wie in Kapitel 3.4.1 beschrieben, präpariert und in die Apparatur I eingespannt wurde, konnte die Organhalterung mittels Stativ in die mit Carbogen versetzte und temperierte Elektrolytlösung abgesenkt werden. Die Aorta descendens wurde bei 10 mV mit einem Zug von 19,6 mN vorgespannt. Nach einer 20-minütigen Gewöhnungs- und Anpassungsphase des Organs an die physiologischen Bedingungen wurde der Amplifier auf 5 mV zurückgedreht und die Schreiberspitzze mit dem Feintrieb auf die Nulllinie gestellt. Der Schreiber wurde mit „Pen down“ eingeschaltet und die Aufzeichnung der Konzentrations-Wirkungs-Kurve konnte starten. Nun wurde die Tyrode über das Öffnen einer an dem Gummischlauch befindlichen Klammer abgelassen und eine 90 mmolare Kaliumchlorid-Lösung zugegeben. Nachdem die Plateau-Phase – 100 % Kontraktion – eingetreten war, konnte der Antagonist eingespritzt werden.

Bei den Experimenten mit Glibenclamid wurden Abläufe mit 30 μmol und 100 μmol des Antagonisten erstellt und aufgezeichnet. Zunächst wurde bei den einzelnen Versuchen immer Glibenclamid in der jeweiligen Konzentration zugespritzt und nach einem Abstand von 45 Minuten der EC_{50} -Wert der Testsubstanz SWS 33, in meinem Fall 3 μmol .

3.7.2 Versuche von SWS 33 mit Nitro-L-Arginin

Im Gegensatz zu den Versuchsabläufen mit Glibenclamid wurde bei Nitro-L-Arginin nur eine Versuchsreihe mit 100 μmol des Antagonisten getestet. Sobald die steady-state-Phase erreicht wurde, musste eine 100 μmol konzentrierte Lösung von Nitro-L-Arginin in das Organbad eingespritzt werden. Nach einem Intervall von 45 Minuten wurde dann die Testsubstanz SWS 33 mit einer Konzentration von 3 μmol zugegeben und der Wirkungsmechanismus der Testsubstanz an dem Tierorgan eruiert.

3.7.3 Versuche von SWS 33 mit Phenylephrin-HCl

Bei diesem Agonisten musste am Anfang der Versuche eine Verdünnungsreihe mit den Konzentrationen 0,1; 0,3; 1; 3 und 10 $\mu\text{mol/l}$ angefertigt werden. Ein präpariertes Aortenstück wurde, wie in Kapitel 3.6.1 erwähnt, in die Versuchsanordnung I eingefädelt, in das Organbad eingetaucht und vorgespannt. Bei diesem Versuch musste das Organbad ein Volumen von 18 ml aufweisen und dadurch auch die Einwaage der Testsubstanz SWS 33 neu errechnet werden. Nachdem sich der Aortenring ungefähr 20 Minuten an die vorherrschenden Bedingungen gewöhnt hatte, wurden 0,64 ml der 10 $\mu\text{mol/l}$ -Konzentration mit einer Injektionsspritze in die Tyroden-Lösung eingespritzt und mit dem Schreiber – „Pen down“ – 30 Sekunden lang die Wirkung auf Millimeterpapier aufgezeichnet. In einer Zeit von zehn Minuten wurde das Organbad zweimal mit einer Elektrolyt-Lösung gespült und danach wieder auf ein Volumen von 18 ml aufgefüllt. Nun konnte die nächste Konzentration des Agonisten eingebracht werden und abermals eine Aufzeichnung von 30 Sekunden vorgenommen werden.

Bei diesen Versuchsreihen mit Phenylephrinhydrochlorid wurde mit der höchsten Konzentration des Agonisten begonnen und mit der kleinsten abgeschlossen. Diese Aufzeichnungen galten als Kontrolle für die Versuchsabläufe mit dem EC_{50} -Wert der Wirkstoffsubstanz SWS 33.

Bei den Versuchsreihen mit der Testsubstanz wurde zunächst eine Konzentration von 3 μmol der Substanz SWS 33 in das mit 18 ml Nährstofflösung befüllte Organbad eingespritzt und eine Dauer von 45 Minuten abgewartet, um auf das Organ einwirken zu können. Danach erfolgte das Einbringen des Agonisten in den jeweiligen Konzentrationen in das Organbad, wobei die Spülung diesmal mit einer Elektrolyt-Lösung samt 3 μmol der Wirkstoffsubstanz erfolgen musste.

Die Versuchsreihen mit dem Agonisten Phenylephrin-HCl gliederten sich in drei Abschnitte:

1. Kontrollphase
2. 45-minütige Einwirkphase, bestehend aus Tyrode plus Agonist
3. Auswaschphase

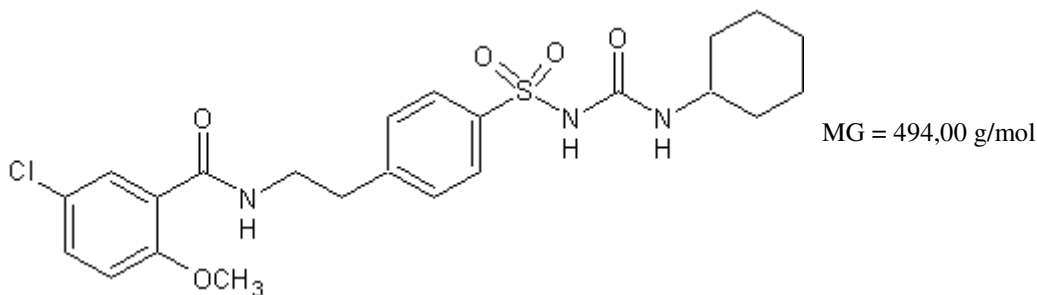
Der gesamte Versuchsablauf musste innerhalb der vorgegebenen Zeit ablaufen, weshalb zu einer Stoppuhr als Hilfestellung für die Einhaltung des Zehn-Minuten-Rhythmus gegriffen wurde. Abgesehen davon war besondere Sorgfalt geboten, um die jeweiligen

Konzentrationen des Agonisten Phenylephrinhydrochlorid an der gleichen Stelle, nämlich in der Nähe des Aortenrings, mit derselben Geschwindigkeit einzuspritzen.

3.8 Verwendete Agonisten bzw. Antagonisten

3.8.1 Glibenclamid

Abbildung 26: Struktur von Glibenclamid



5 – Chlor – N – [2 – [4 – (cyclohexylcarbamoylsulfamoyl) phenyl] ethyl] – 2 – methoxybenzamid

Sulfonylharnstoffe, zu denen das Glibenclamid zählt, stimulieren die Insulinfreisetzung unabhängig vom Blutglucosespiegel und setzen Insulin aus den B-Zellen des Pankreas frei. Das bedeutet, dass sie nur wirksam sind, wenn die körpereigene Insulinproduktion wenigstens noch teilweise erhalten ist, was auf Typ 2-Diabetiker zutrifft (Aktories et al. 2006, Mutschler et al. 2008).

Glibenclamid bindet in der B-Zelle an SUR1 und schließt dadurch K_{ATP} -Kanäle. Nun kommt es zu einer Membrandepolarisation und die spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanäle öffnen sich. Ca^{2+} strömt in die B-Zelle ein, wodurch die Insulinsekretion stimuliert wird (Aktories et al. 2006).

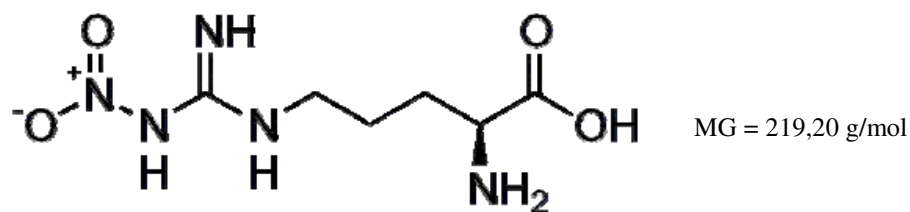
UAW (unerwünschte Wirkungen):

Die wichtigsten unerwünschten Nebenwirkungen sind Hypoglykämien, vor allem bei älteren Typ 2-Diabetikern, die unregelmäßig essen und bei denen interkurrente Erkrankungen die Möglichkeit zur Gegenregulation einengen. Sulfonylharnstoffhypoglykämien entwickeln sich langsam und können daher verkannt werden. Da sie aber lange anhält, muss Glucose fortlaufend infundiert werden, um einen Rückfall in die Hypoglykämie zu vermeiden. Die Gefahr von hypoglykämischen

Zwischenfällen sinkt, wenn die Patienten ihre Diät strikt einhalten und keine Mahlzeiten auslassen. Die Therapie mit Sulfonharnstoffen sollte daher einschleichend mit niedrigen Tagesdosen erfolgen. Darüber hinaus kann es zur Gewichtszunahme kommen (Aktories et al. 2006).

3.8.2 Nitro-L-Arginin

Abbildung 27: Struktur von Nitro-L-Arginin



Nitro-L-Arginin ist ein kompetitiver Inhibitor der NO-Synthase und hemmt die NO-Freisetzung und führt zur Kontraktionssteigerung der glatten Muskulatur des GI-Traktes (Rosemann et al. 2002). NO stimuliert die cytosolische Guanylylcyclase, welche die Bildung von cGMP (cyclischem Guanosinmonophosphat) katalysiert. cGMP bewirkt dann seinerseits eine Abnahme der intrazellulären Ca^{2+} -Ionenkonzentration und dadurch eine Erniedrigung des Gefäßtonus (Mutschler et al. 2008).

Bei dem bereits seit langem bekannten und vom Gefäßendothel gebildeten und durch eine Reihe von Substanzen freigesetzten relaxierenden Faktor – EDRF (endothelium derived relaxing factor) – handelt es sich um NO. Neben der Vasodilatation hat NO noch Thrombozytenaggregations-hemmende Effekte (Mutschler et al. 2008).

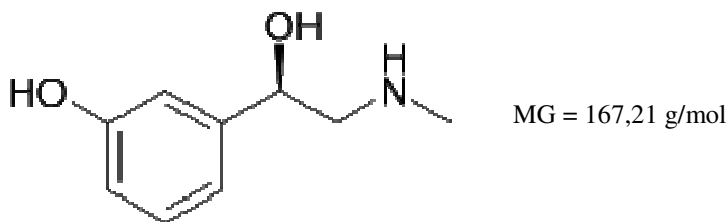
Wird nun die NO-Synthase durch Nitro-L-Arginin inhibiert, fällt die Konzentration von Stickstoffmonoxid und es kommt zu keiner Dilatierung der Blutgefäße.

Es gibt drei Isoformen der NOs:

1. *induzierbare Form (iNOs)*: kommen in den peripheren Blutzellen, im Endothel und in der glatten Gefäßmuskulatur vor und können als Antwort auf pathologische Stimuli massiv hochreguliert werden.
2. *konstitutive, endotheliale Form (eNOs)*: wurden im Endothel, in Kardiomyozyten und in Thrombozyten nachgewiesen. Sie dienen zur Aufrechterhaltung des Gefäßtonus und damit der Blutdruckregulation.
3. *konstitutive, neuronale Form (nNOs)*: werden in den NO-produzierenden Neuronen gefunden (Mutschler et al. 2008).

3.8.3 Phenylephrin

Abbildung 28: Struktur von Phenylephrin



(R) – 1 – (3 – Hydroxyphenyl) – 2 – (methylamino) ethanol

Phenylephrin zählt zu den direkt wirkenden Sympathomimetika und ist ein α -Adrenozeptoragonist. Es ist bis auf eine fehlende 4-Hydroxylgruppe strukturgleich mit Adrenalin und findet in Europa hauptsächlich als lokaler Vasokonstriktor Verwendung. Phenylephrin wird hauptsächlich lokal zur Schleimhautabschwellung bei unspezifischer und allergischer Konjunktivitis, Sinusitis und Nasopharyngitis angewendet (Mutschler et al. 2008).

Bei Säuglingen und Kleinkindern dürfen α -Adrenozeptoragonisten nur in Form besonders stark verdünnter Tropfen, nicht dagegen als Spray verordnet werden, da sonst unter Umständen Atemstörungen und komatöse Zustände infolge Resorption auftreten können. Eine vorsichtige Dosierung ist auch bei empfindlichen Patienten (Hypertonikern und Hyperthyreotikern) aufgrund der Gefahr systemischer Nebenwirkungen wie Herzklopfen, ventrikuläre Rhythmusstörungen und pektanginöse Beschwerden geboten (Mutschler et al. 2008).

3.9 Auswertungen und Statistik

3.9.1 Aorta descendens, Arteria pulmonalis, terminales Ileum

Die einzelnen präparierten Organe wurden, wie in den Kapiteln 3.6.1, 3.6.2 und 3.6.5 beschrieben, in die Apparatur I eingehängt, in das Organbad abgesenkt und vorgespannt. Nachdem die Tyrode durch die jeweilige Kaliumchlorid-Lösung ersetzt worden war, kam es zu einer schnellen Kontraktion, welche nach ungefähr 45-70 Minuten ihr Maximum unter Bildung eines steady-state bzw. Plateau erreichte. Nun wurde die Testsubstanz im 45-Minutenintervall in das Organbad implementiert, wobei die jeweilige Einspritzstelle immer eingezeichnet werden musste. Nach Beendigung des Versuchs wurden die Abstände zwischen der gekennzeichneten Markierung und der Nulllinie auf dem Millimeterpapier in Zentimetern abgemessen und mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert. Bei einem Versuchsablauf mit 5 mV entsprach 1 cm 0,98 mN, bei einer Messung mit 2 mV und 10 mV musste das Ergebnis mit 0,2 bzw. mit 2 multipliziert werden. Die Markierung bei der ersten Einspritzung stellte den Kontrollwert dar, der immer gleich Null gesetzt wurde, um daraus auf die dilatierende Wirkung der Testsubstanz rückschließen zu können.

3.9.2 Atrium cordis dextrum

Bei dieser Versuchsreihe wurde auf die Chronotropie (Schlagfrequenz) des rechten Vorhofes eingegangen. Nach einer Anpassungsphase des Organs wurde mit der Kontrollphase begonnen und im Abstand von fünf Minuten eine $\frac{3}{4}$ Stunde lang eine Messung von 12 Sekunden, das entsprach sechs Kästchen bzw. sechs Zentimetern, vorgenommen. Danach konnte, wie bereits in Kapitel 3.6.3 angeführt, die erste Konzentration der Testsubstanz zugegeben werden und die Messung erfolgen. Die Anzahl der Schläge des rechten Vorhofes wurde dann mit dem Faktor fünf multipliziert, um die Schlagfrequenz pro Minute eruieren zu können. Somit konnte durch die einzelnen Konzentrationszugaben der Wirkstoffsubstanz auf einen positiven oder negativen chronotropen Effekt geschlossen werden.

3.9.3 Musculus papillaris

Bei dieser Versuchsreihe wurde die Inotropie (Kontraktionskraft) des Papillarmuskels in mN ermittelt. Wie auch beim rechten Vorhof, wurden hier alle fünf Minuten Aufzeichnungen gemacht und im Abstand von 45 Minuten die nächst höhere Konzentration der Wirkstoffsubstanz zugespritzt. Mit einem Lineal wurden die Längen der jeweils sieben aufgenommenen Amplituden in Zentimetern gemessen und mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert. Die meisten Messungen wurden bei 2 mV aufgezeichnet und somit mit dem Faktor 0,2 multipliziert. Nach Einbringen der einzelnen Konzentrationen der Testsubstanz konnten durch Vergleiche mit der anfangs aufgenommenen Kontroll-Amplitude, die gleich Null gesetzt wurde, Rückschlüsse auf einen positiven oder negativen inotropen Effekt gezogen werden.

3.9.4 Statistik

Da die beiden Testsubstanzen SWS 33 und JB 35s in DMSO gelöst werden mussten, wurde eine analoge Versuchsreihe an den jeweiligen Organen für den Effekt des Lösungsmittels erstellt. Im Rahmen dieser Experimente stellte sich heraus, dass DMSO eine Eigenwirkung an den einzelnen Tierorganen aufwies. In weiterer Folge mussten diese Ergebnisse von den rechnerisch ermittelten Werten der Testsubstanzen organabhängig subtrahiert oder addiert werden.

Aus den jeweiligen Messergebnissen einer Versuchsreihe wurden die arithmetischen Mittelwerte inklusive Standardfehler berechnet. Die gesamten Daten und Messwerte wurden in Sigma Plot 9.0 graphisch dargestellt und der EC_{50} -Wert konnte mit Hilfe der Konzentrations-Wirkungs-Kurve eruiert und vom Graphen abgelesen werden. Der EC_{50} -Wert deutet jene Konzentration in $\mu\text{mol/l}$, bei der die Chronotropie (Schlagfrequenz) bzw. die Inotropie (Kontraktionskraft) auf die Hälfte des Kontrollwertes abgefallen ist.

Am Schluss wurden die Auswertungen mittels Signifikanztest, der den „student-t-test für gepaarte Beobachtungen“ beinhaltet, bewertet. Messwerte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % ($P < 0,05$) bzw. weniger als 1 % ($P < 0,01$) wurden als signifikant klassifiziert, eine Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 0,1 % ($P < 0,001$) hingegen als hochsignifikant.

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Testsubstanz SWS 33

4.1.1 Wirkung von SWS 33 auf die Aorta descendens

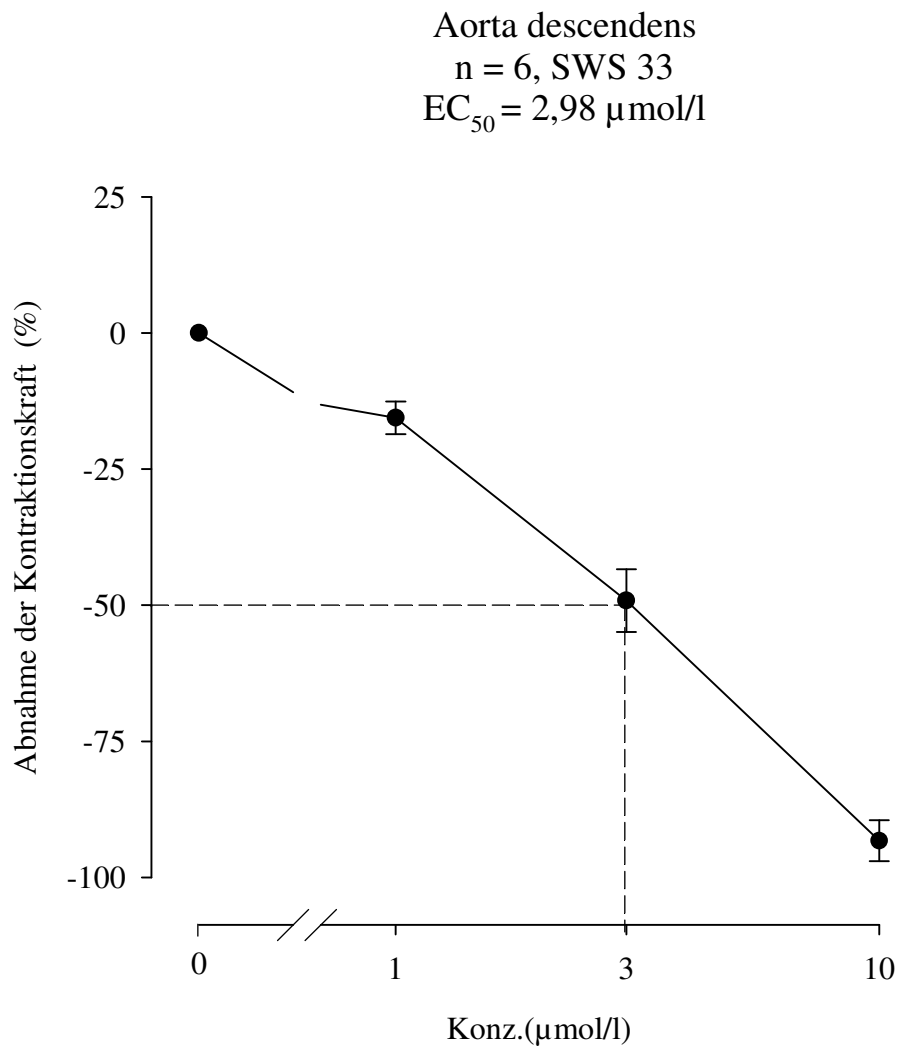
In sechs Versuchen wurde die dilatierende Wirkung von SWS 33 auf die Aorta, wie in Kapitel 3.6.1 beschrieben, untersucht. Der Mittelwert und Standardfehler der sechs Kontrollwerte entsprach $10,064 \pm 1,12$ mN und wurde als 0 % der Kontraktionskraft angesehen. Nachdem die erste Konzentration von 1 μmol der Wirkstoffsubstanz SWS 33 in das Organbad eingespritzt worden war, konnte schon eine deutlich dilatierende Wirkung beobachtet werden, die bei Zugabe der weiteren Konzentrationen immer stärker zunahm. Ab dem Einspritzen von 30 μmol wurde eine vollständige Dilatation der Aorta descendens festgestellt. Der EC_{50} -Wert dieses Organs betrug 2,98 $\mu\text{mol/l}$.

Abbildung 29: Wirkung von SWS 33 auf die Aorta descendens

SWS 33 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$10,064 \pm 1,12$	$0,00 \pm 0,00$	6	-
1	$8,57 \pm 1,16$	$-15,55 \pm 3,00$	6	0,01
3	$5,30 \pm 1,11$	$-49,15 \pm 5,77$	6	0,001
10	$0,84 \pm 0,49$	$-93,27 \pm 3,76$	6	0,001

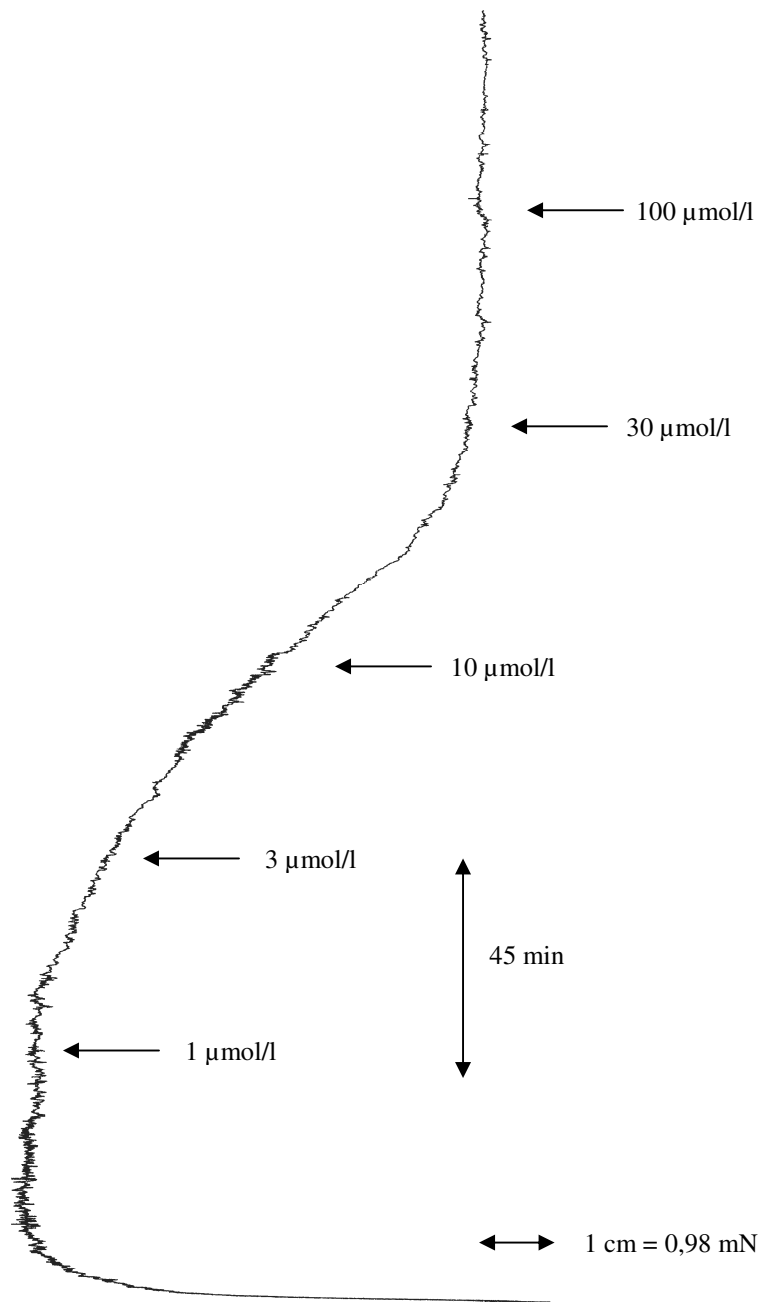
Legende zu Abbildung 29:

Die Tabelle beinhaltet die arithmetischen Mittelwerte (f_c) inklusive Standardfehler (SEM) aus sechs Versuchsreihen. F_c , die Kontraktionskraft, wird sowohl in der Einheit mN, als auch in % (Prozent) angeführt.

Abbildung 30: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von SWS 33 an der Aorta descendens

Legende zu Abbildung 30:

In dieser Abbildung ist die stetig, deutlich zunehmende Dilatation der Aorta descendens gut zu erkennen. Die jeweiligen Konzentrationen ($\mu\text{mol/l}$) sind auf der Abszisse und die relaxierende Wirkung auf der Ordinate eingezeichnet. Die einzelnen Punkte in der Konzentrations-Wirkungs-Kurve stellen die errechneten arithmetischen Mittelwerte und die dazugehörigen Balken die Standardfehler dar. Der EC_{50} -Wert beträgt $2,98 \mu\text{mol/l}$ und ist durch die strichlierte Linie ersichtlic.

Abbildung 31: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 33 auf die Aorta descendens

Legende zu Abbildung 31:

Aus dieser Aufzeichnung ist die signifikante Relaxation der Aorta descendens ablesbar. Die jeweiligen Pfeile symbolisieren die Wirkstoffsubstanz-Zugaben, die in einem 45-Minutenintervall erfolgen.

4.1.2 Wirkung von SWS 33 auf die Arteria pulmonalis

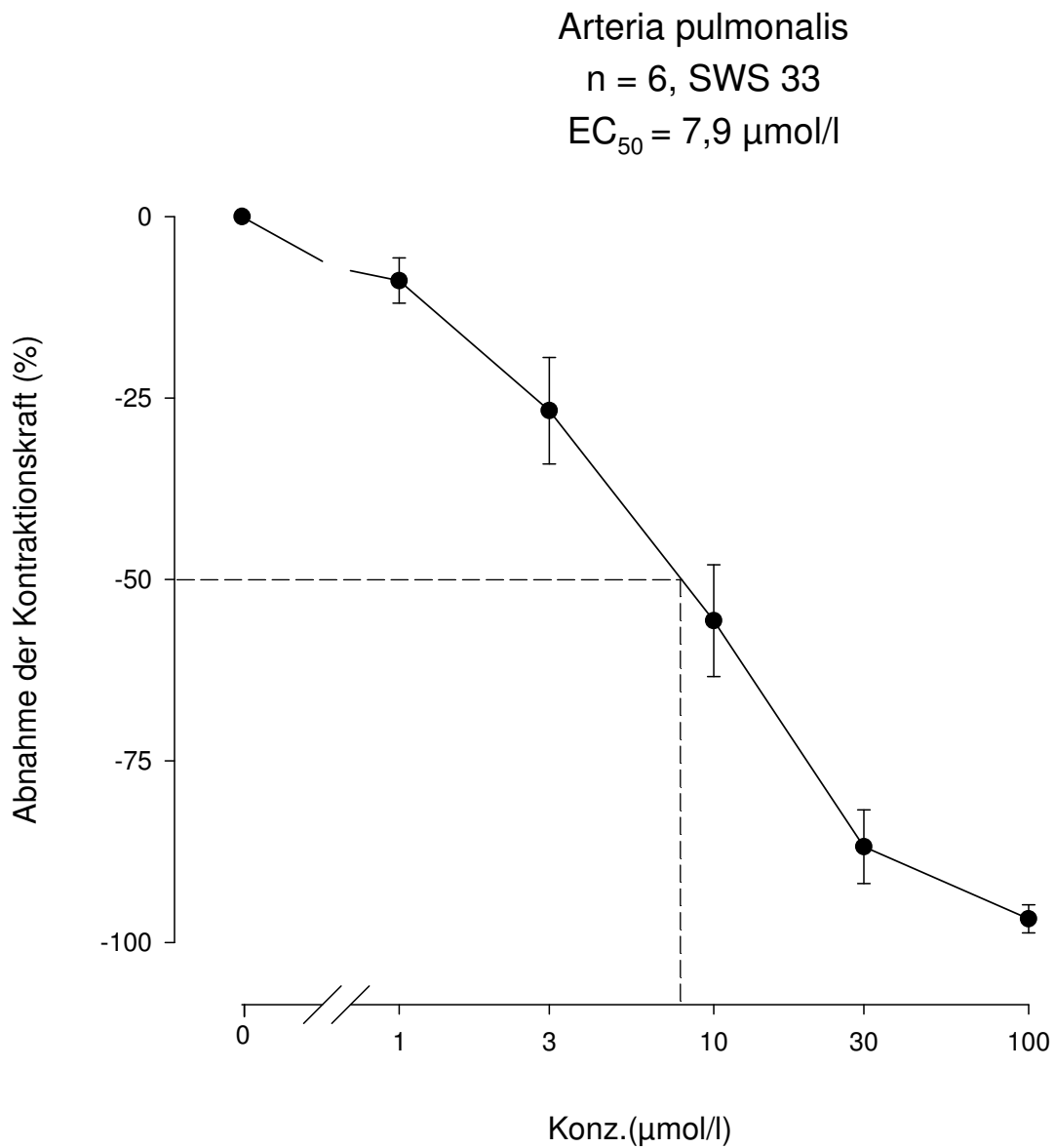
Die dilatierende Wirkung auf die Arteria pulmonalis wurde im Rahmen von sechs Versuchen getestet und der Mittelwert der einzelnen Kontrollwerte betrug dabei $15,34 \pm 1,48$ mN. In einem 45-Minutenintervall wurden die jeweiligen Mengen von 1; 2; 7; 20 und 70 μ l der Testsubstanz in das Organbad eingespritzt, bis das Bad am Ende eine Konzentration von 100 μ mol/l aufwies. Die Wirkung auf die Pulmonalarterie war ähnlich dem Wirkungsverlauf an der Aorta descendens, wobei das Organ aber nie vollständig dilatiert wurde und die Kontraktion auf einen Wert von $0,55 \pm 0,32$ mN abnahm. Der EC_{50} -Wert wurde bei einer Konzentration von 7,9 μ mol/l erreicht und lag somit ein wenig höher als bei der Aorta.

Abbildung 32: Wirkung von SWS 33 auf die Arteria pulmonalis

SWS 33 (μmol/l)	$f_c \pm SEM$ (mN)	$f_c \pm SEM$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$15,34 \pm 1,48$	$0,00 \pm 0,00$	6	-
1	$13,97 \pm 1,42$	$-8,83 \pm 3,11$	6	n. s.
3	$11,32 \pm 1,72$	$-26,76 \pm 7,33$	6	0,01
10	$7,09 \pm 1,59$	$-55,69 \pm 7,70$	6	0,001
30	$2,27 \pm 0,85$	$-86,82 \pm 5,09$	6	0,001
100	$0,55 \pm 0,32$	$-96,76 \pm 1,94$	6	0,001

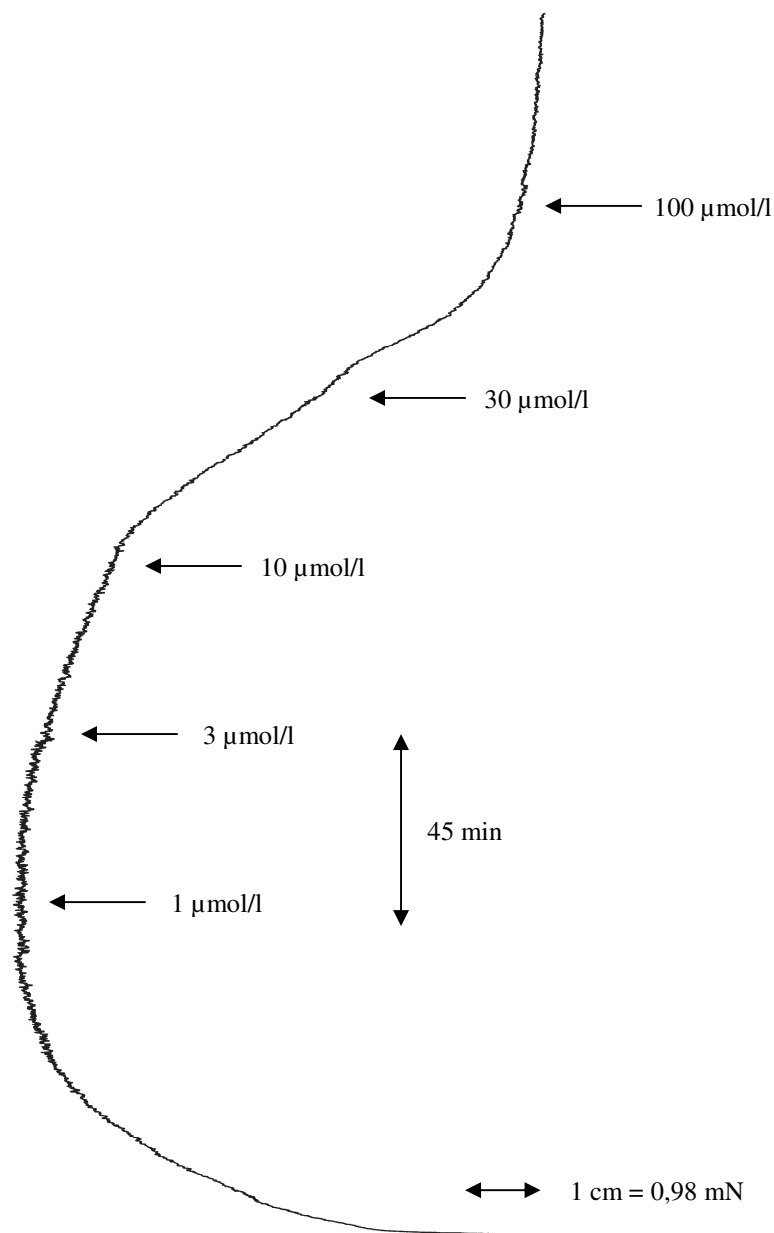
Legende zu Abbildung 32:

In sechs Versuchsreihen werden die arithmetischen Mittelwerte (f_c) mit deren Standardfehlern (SEM) berechnet. Diese werden in mN und in % ermittelt.

Abbildung 33: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von SWS 33 an der Arteria pulmonalis

Legende zu Abbildung 33:

In dieser Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist die deutliche Abnahme der Kontraktionskraft erkennbar. Auf der x-Achse werden die Wirkstoff-Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ und auf der y-Achse die Dilatation der Arteria pulmonalis in Prozent angegeben. Die EC_{50} wird bei $7,9 \mu\text{mol/l}$ erreicht.

Abbildung 34: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 33 auf die Arteria pulmonalis

Legende zu Abbildung 34:

Der dilatierende Effekt der Testsubstanz SWS 33 auf die Arteria pulmonalis wird an diesem Graphen ersichtlich, wobei die einzelnen Pfeile die Wirkstoff-Zugaben darstellen. Diese Substanz-Zugabe erfolgt in diesem Fall nach jeweils 45 Minuten.

4.1.3 Wirkung von SWS 33 auf den Atrium cordis dextrum

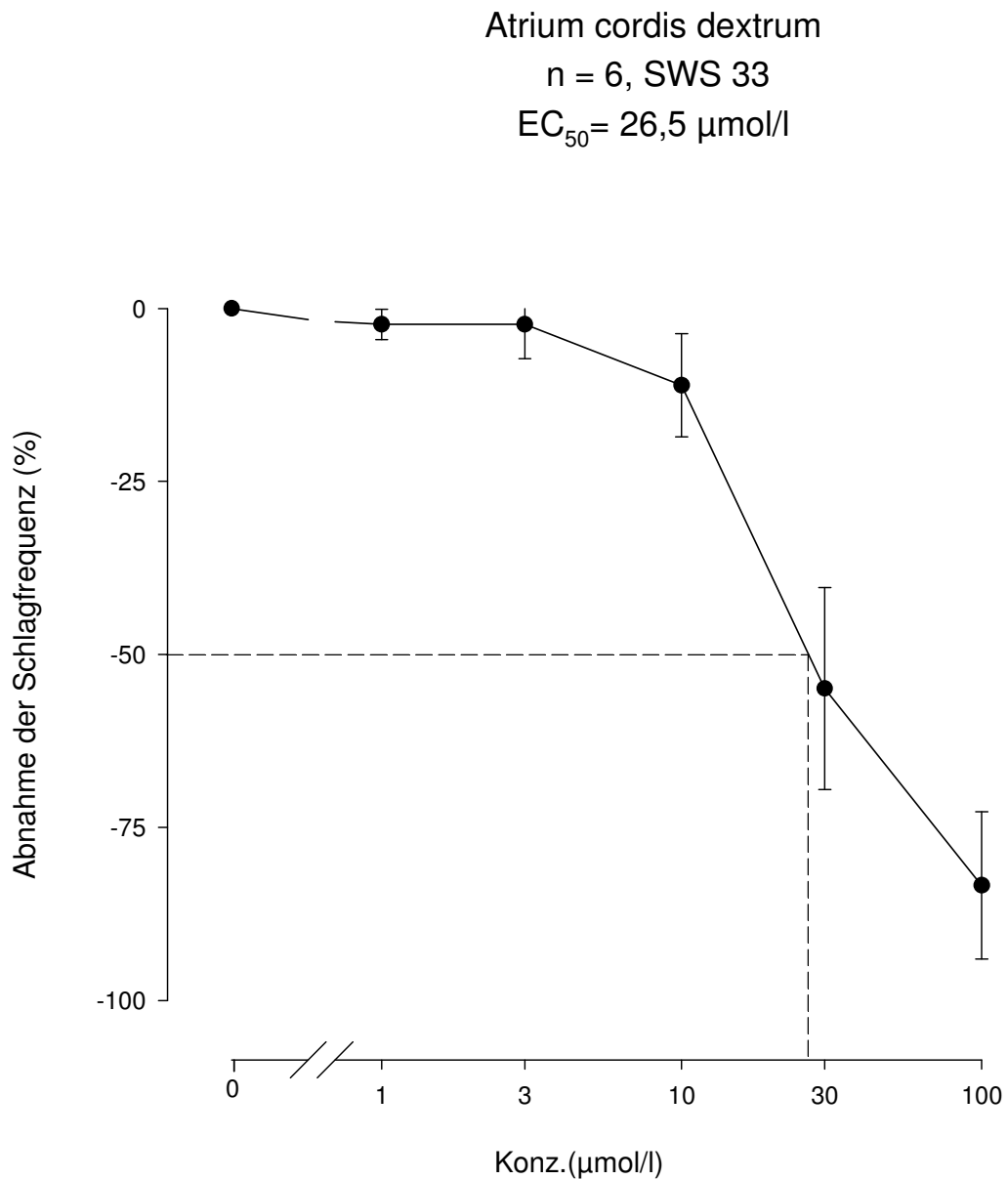
Die Wirkung der Testsubstanz SWS 33 auf die Chronotropie des Atrium cordis dextrum wurde in sechs Versuchen analysiert. Der Mittelwert inklusive Standardfehler der einzelnen Kontrollwerte lag bei $235 \pm 20,16$ Schlägen pro Minute. Ab einer Konzentration von $10 \mu\text{mol/l}$ konnte eine negativ chronotrope Wirkung erkannt werden, die bei weiterer Zugabe immer deutlicher wurde. Nachdem die letzte Konzentration der Testsubstanz hinzugefügt worden war, schlugen vier der sechs Vorhöfe nicht mehr weiter und die Chronotropie fiel auf Null ab. Der EC_{50} -Wert bei diesen Versuchsreihen lag bei $26,5 \mu\text{mol/l}$.

Abbildung 35: Wirkung von SWS 33 auf den Atrium cordis dextrum

SWS 33 ($\mu\text{mol/l}$)	f $\pm$ SEM (x/min)	f $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$235 \pm 20,16$	$0,00 \pm 0,00$	6	-
1	$230 \pm 20,76$	$-2,32 \pm 2,18$	6	n. s.
3	$230 \pm 21,87$	$-2,32 \pm 4,95$	6	n. s.
10	$210,83 \pm 25,28$	$-11,11 \pm 7,47$	6	n. s.
30	$111,67 \pm 37,43$	$-54,93 \pm 14,58$	6	0,01
100	$44,17 \pm 28,12$	$-83,37 \pm 10,63$	6	0,001

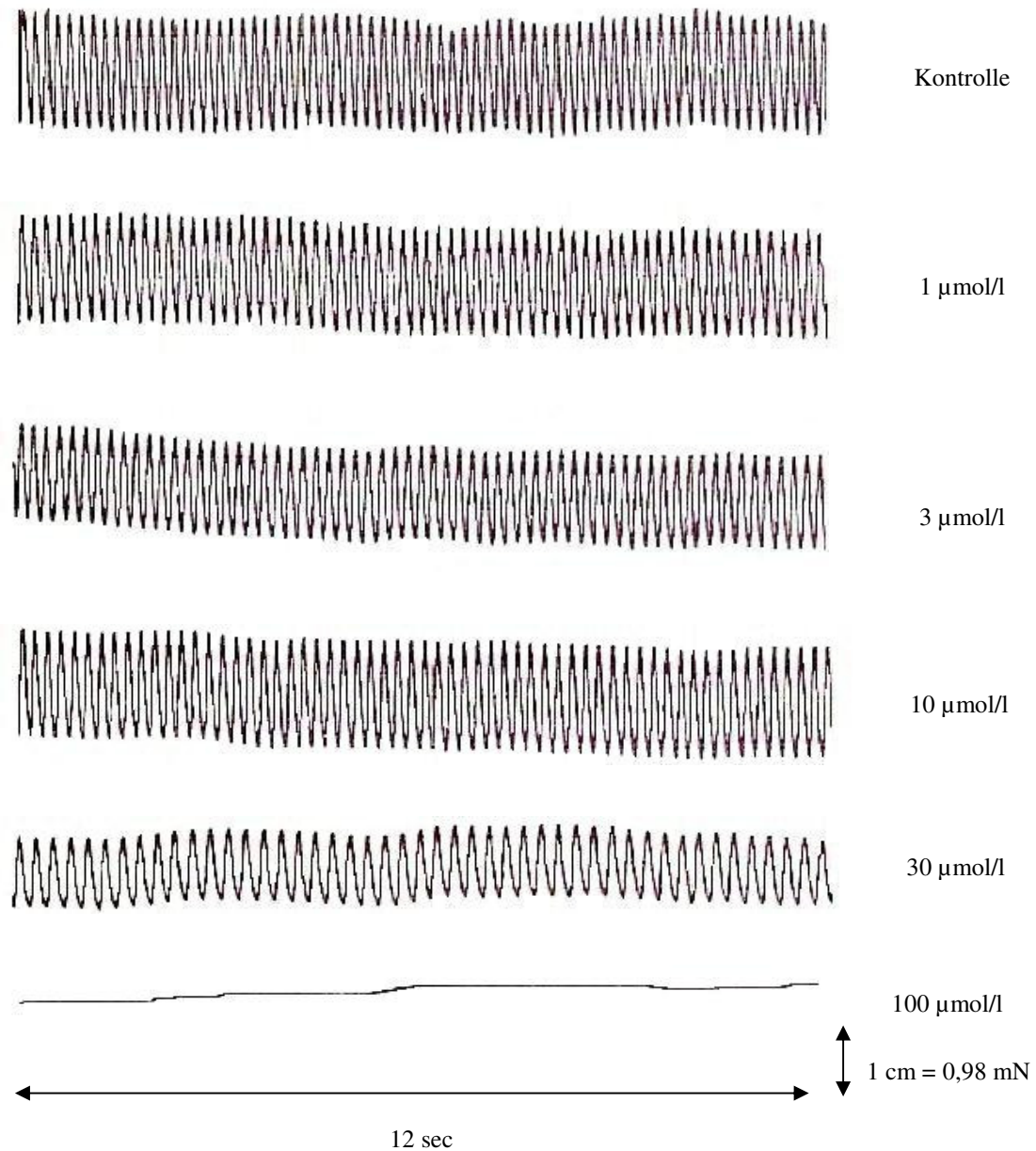
Legende zu Abbildung 35:

In dieser Tabelle sind die aus sechs Versuchen errechneten arithmetischen Mittelwerte (f) samt Standardfehler (SEM) aufgelistet, wobei f für die Chronotropie (Schlagfrequenz) steht und in Schläge/Minute sowie in Prozent angeführt wird.

Abbildung 36: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von SWS 33 am Atrium cordis dextrum

Legende zu Abbildung 36:

Diese Kurve stellt den negativen chronotropen Effekt der Testsubstanz SWS 33 auf den rechten Vorhof dar. Die Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ werden auf der Abszisse dargestellt und die Abnahme der Schläge pro Minute auf den Ordinaten aufgetragen. Der EC_{50} -Wert liegt dabei bei $26,5 \mu\text{mol/l}$.

Abbildung 37: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 33 auf den Atrium cordis dextrum

Legende zu Abbildung 37:

Diese Aufzeichnungen spiegeln die negativ chronotrope Wirkung der Wirkstoffsubstanz SWS 33 auf den rechten Vorhof wider. Der Abstand zwischen den dem Organbad hinzugefügten jeweils nächst höheren Konzentrationen beträgt dabei 45 Minuten.

4.1.4 Wirkung von SWS 33 auf den Musculus papillaris

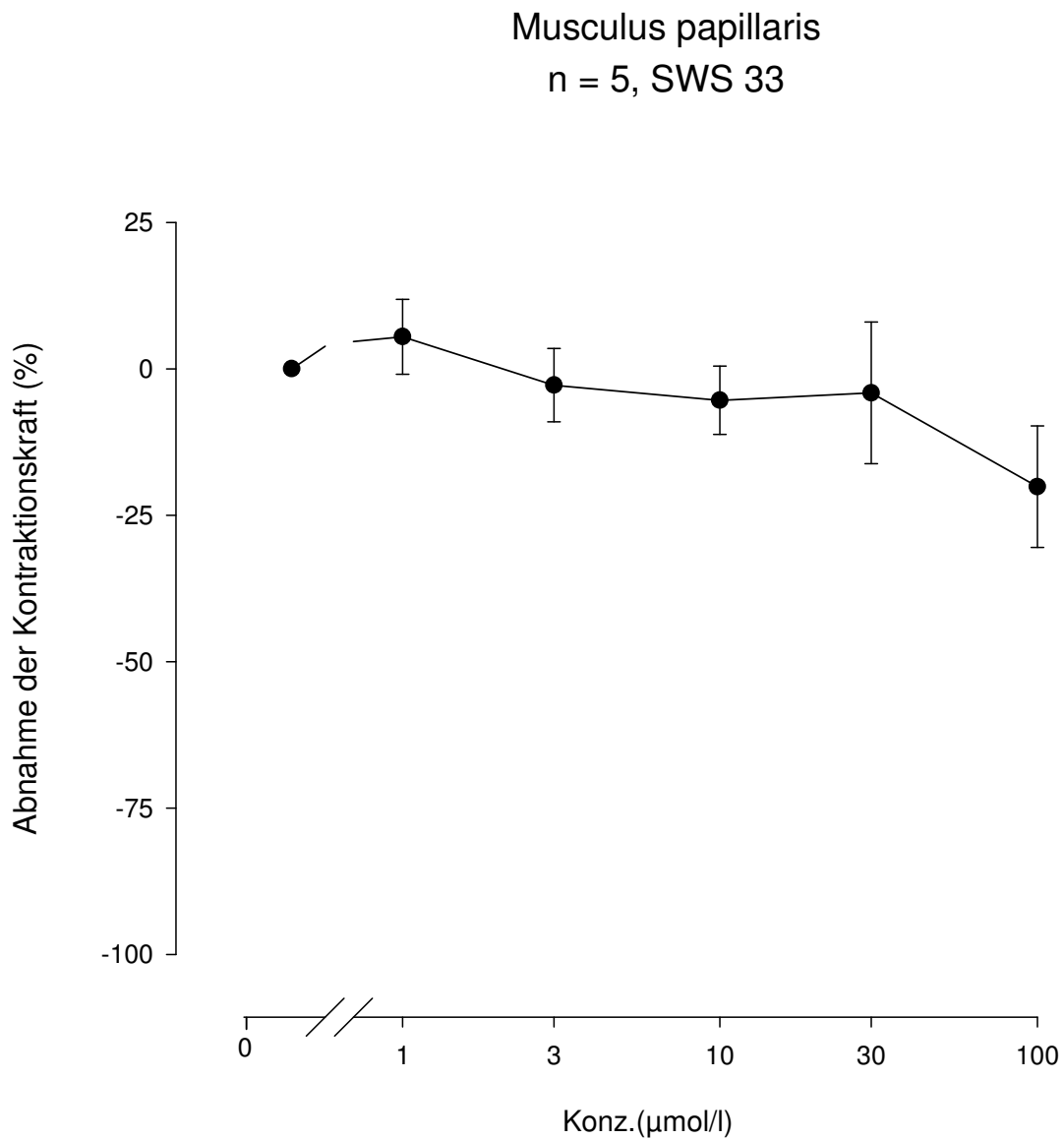
Um die Wirkung der Testsubstanz SWS 33 in Bezug auf die Inotropie darzulegen, wurden fünf Versuchsreihen am Musculus papillaris durchgeführt. In einem Intervall von 45 Minuten wurden die einzelnen Konzentrationen von 1; 3; 10; 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ am präparierten Papillarmuskel eruiert. Der Mittelwert der fünf Kontrollwerte betrug $2,05 \pm 1,06 \text{ mN}$. Nach der Zugabe der ersten Konzentration von 1 μmol kam es zu einer leicht positiven inotropen Wirkung, die jedoch ab einer Konzentration von 3 $\mu\text{mol/l}$ wieder abnahm. Insgesamt kam es zu keiner signifikanten Abnahme der Schlagstärke des Papillarmuskels und am Ende des Versuches pendelte sich ein Wert von $-20,14 \pm 10,36 \%$ des Kontrollwertes ein. Der EC_{50} -Wert wurde bei diesen Versuchsreihen nicht erreicht.

Abbildung 38: Wirkung von SWS 33 auf den Musculus papillaris

SWS 33 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$2,05 \pm 1,06$	$0,00 \pm 0,00$	5	-
1	$1,92 \pm 0,83$	$5,46 \pm 6,40$	5	n. s.
3	$1,76 \pm 0,75$	$-2,81 \pm 6,24$	5	n. s.
10	$1,75 \pm 0,77$	$-5,41 \pm 5,83$	5	n. s.
30	$1,80 \pm 0,81$	$-4,14 \pm 12,08$	5	n. s.
100	$1,52 \pm 0,69$	$-20,14 \pm 10,36$	5	n. s.

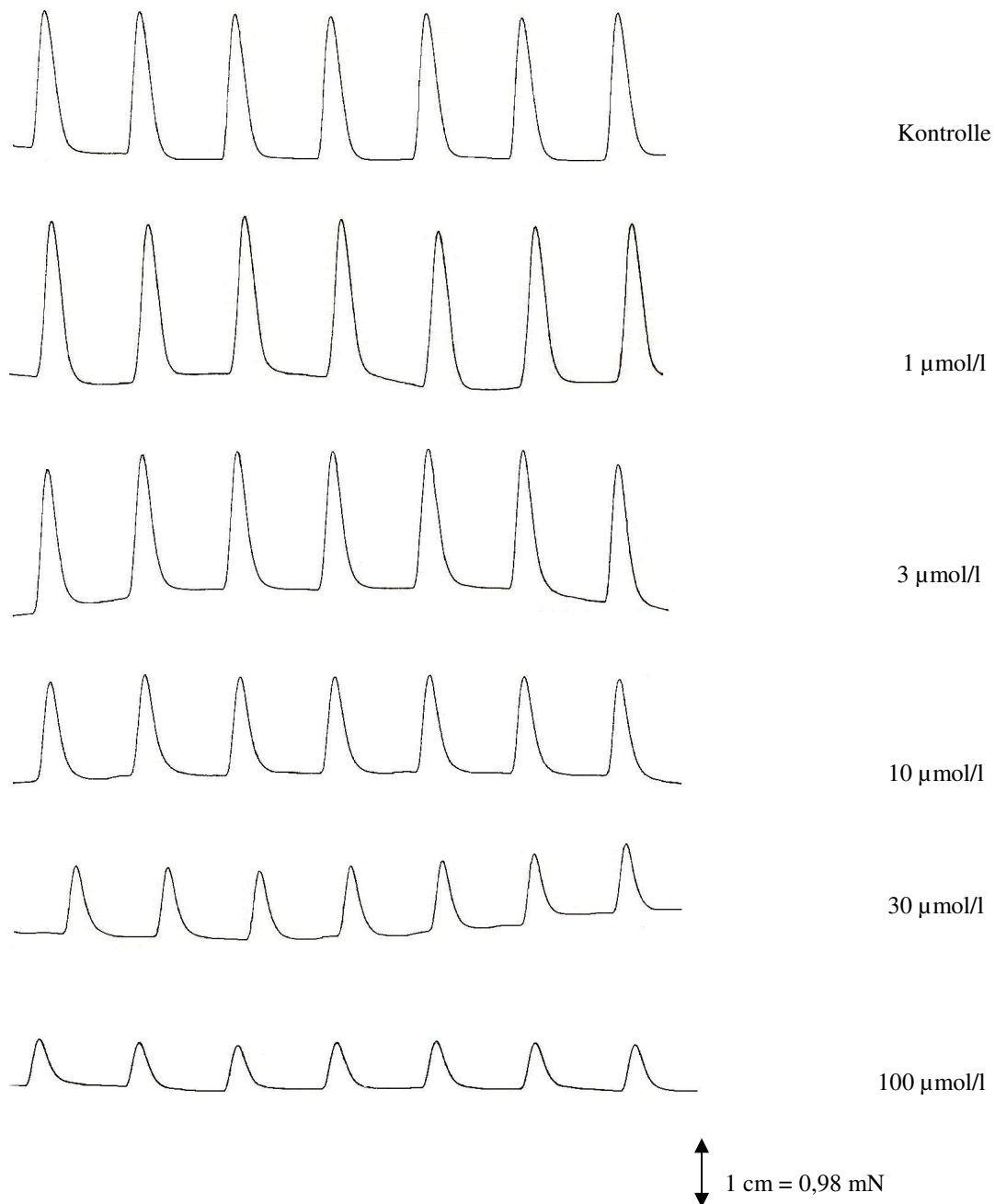
Legende zu Abbildung 38:

Die Tabelle gibt die aus fünf Versuchen resultierenden arithmetischen Mittelwerte (f_c) plus deren Standardfehler (SEM) wieder, wobei f_c hier für die Inotropie, also die Kontraktionskraft, steht.

Abbildung 39: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von SWS 33 am Musculus papillaris

Legende zu Abbildung 39:

Diese Abbildung veranschaulicht die leicht negative inotrope Wirkung der Testsubstanz SWS 33 auf den Papillarmuskel.

Abbildung 40: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 33 auf den Musculus papillaris

Legende zu Abbildung 40:

In einem Intervall von 45 Minuten werden die Konzentrationen von 1; 3; 10; 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ gemessen und aufgezeichnet, wobei ein leicht negativer inotroper Effekt der Wirkstoffsubstanz SWS 33 auf den Papillarmuskel festgehalten werden kann.

4.1.5 Wirkung von SWS 33 auf das terminale Ileum

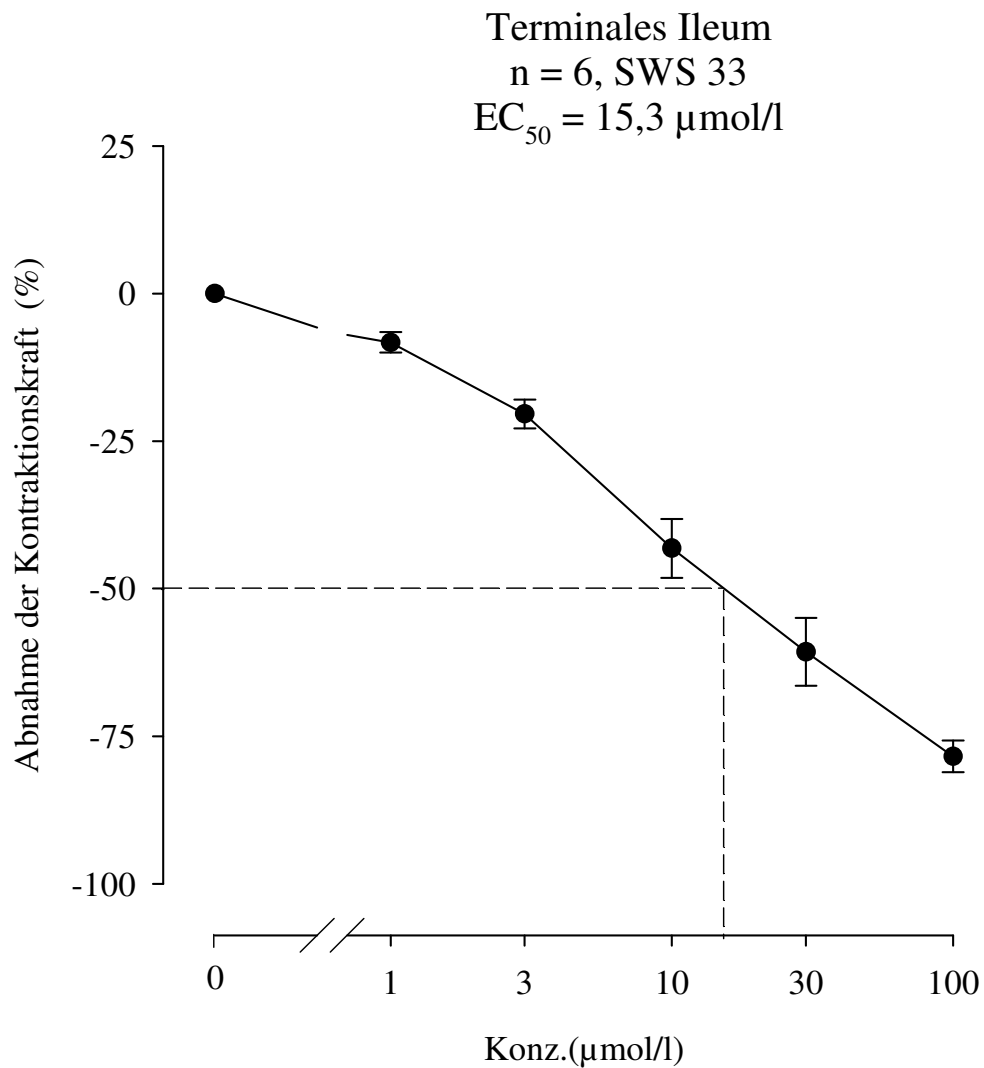
Der spasmolytischen und dilatierenden Wirkung von SWS 33 auf das terminale Ileum wurde in sechs Versuchen nachgegangen. In Kapitel 3.6.5 wurde der Versuchsablauf am Darm genauer erläutert. Der Mittelwert aller sechs Kontrollwerte entsprach dabei $12,97 \pm 1,8$ mN. Ab einer Konzentration von $3 \mu\text{mol/l}$ nahm die Relaxation des Darms zu, was auf eine deutliche Abnahme der Kontraktionskraft zurückzuführen war. Bei einer Konzentration von $15,3 \mu\text{mol/l}$ wurde der EC_{50} -Wert ermittelt.

Abbildung 41: Wirkung von SWS 33 auf das terminale Ileum

SWS 33 ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$12,97 \pm 1,80$	$0,00 \pm 0,00$	6	-
1	$10,43 \pm 1,55$	$-8,27 \pm 1,75$	6	n. s.
3	$9,13 \pm 1,48$	$-20,40 \pm 2,46$	6	0,05
10	$6,67 \pm 1,40$	$-43,16 \pm 5,00$	6	0,01
30	$4,10 \pm 1,18$	$-60,70 \pm 5,78$	6	0,001
100	$2,48 \pm 0,51$	$-78,42 \pm 2,67$	6	0,001

Legende zu Abbildung 41:

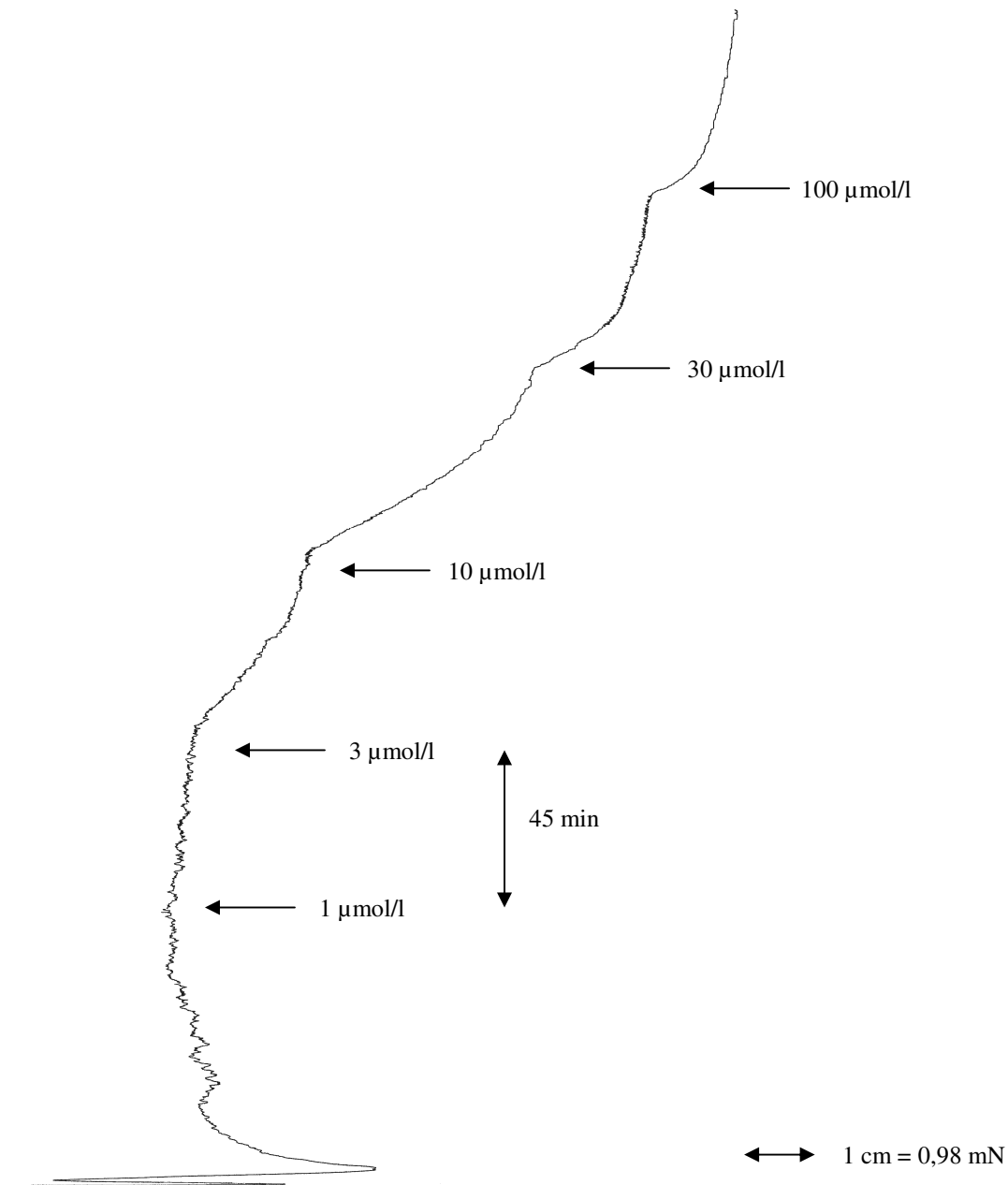
In sechs Versuchsabläufen werden sowohl die arithmetischen Mittelwerte (f_c), als auch deren Standardfehler (SEM) eruiert und in der Einheit mN und Prozent (%) in der Tabelle angeführt.

Abbildung 42: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von SWS 33 am terminalen Ileum

Legende zu Abbildung 42:

Die einzelnen Konzentrationen ($\mu\text{mol/l}$) sind auf der x-Achse und die jeweilige Abnahme der Kontraktionskraft (%) auf der y-Achse eingezeichnet. Diese Abbildung zeigt den zunehmenden spasmolytischen Effekt der Testsubstanz SWS 33 auf den Darm. Der EC_{50} -Wert wird durch die strichlierte Linie ersichtlich.

Abbildung 43: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 33 auf das terminale Ileum



Legende zu Abbildung 43:

Dieser Graph spiegelt die signifikante Relaxation des Darms hervorgerufen durch SWS 33 wider. Das Intervall zwischen den in das Organbad eingespritzten jeweils nächst höheren Konzentrationen beträgt dabei 45 Minuten.

4.2 Ergebnisse der Testsubstanz JB 35s

4.2.1 Wirkung von JB 35s auf die Aorta descendens

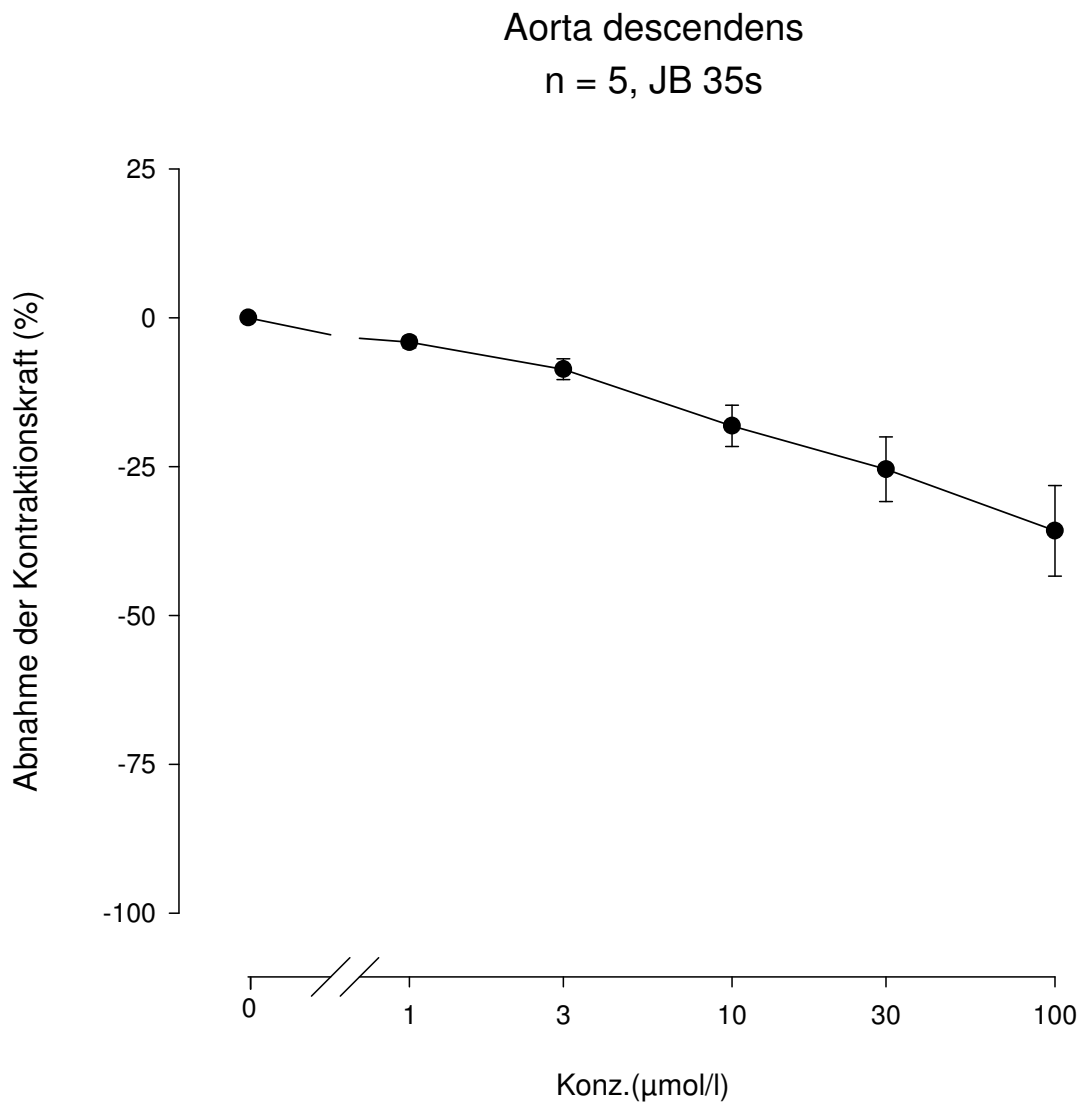
In fünf Versuchen wurde auf die dilatierende Wirkung der Testsubstanz JB 35s auf die Aorta descendens genauer eingegangen. Der Mittelwert der Kontrolle wurde aus den einzelnen Experimenten errechnet und betrug $8,53 \pm 0,76$ mN. Nachdem die jeweiligen Konzentrationen der Wirkstoffsubstanz dem Organbad zugesetzt worden waren, konnte eine zunehmende Dilatation der Aorta beobachtet werden, die jedoch den EC_{50} -Wert nie erreichte. Die Kontraktionskraft nahm zwar stetig bzw. kontinuierlich ab, war allerdings erst ab einer Konzentration von $30 \mu\text{mol/l}$ statistisch signifikant.

Abbildung 44: Wirkung von JB 35s auf die Aorta descendens

JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$8,53 \pm 0,76$	$0,00 \pm 0,00$	5	-
1	$8,17 \pm 0,71$	$-4,11 \pm 0,98$	5	n. s.
3	$7,77 \pm 0,66$	$-8,65 \pm 1,76$	5	n. s.
10	$6,95 \pm 0,60$	$-18,18 \pm 3,44$	5	n. s.
30	$6,37 \pm 0,79$	$-25,47 \pm 5,41$	5	0,05
100	$5,48 \pm 0,82$	$-35,80 \pm 7,61$	5	0,05

Legende zu Abbildung 44:

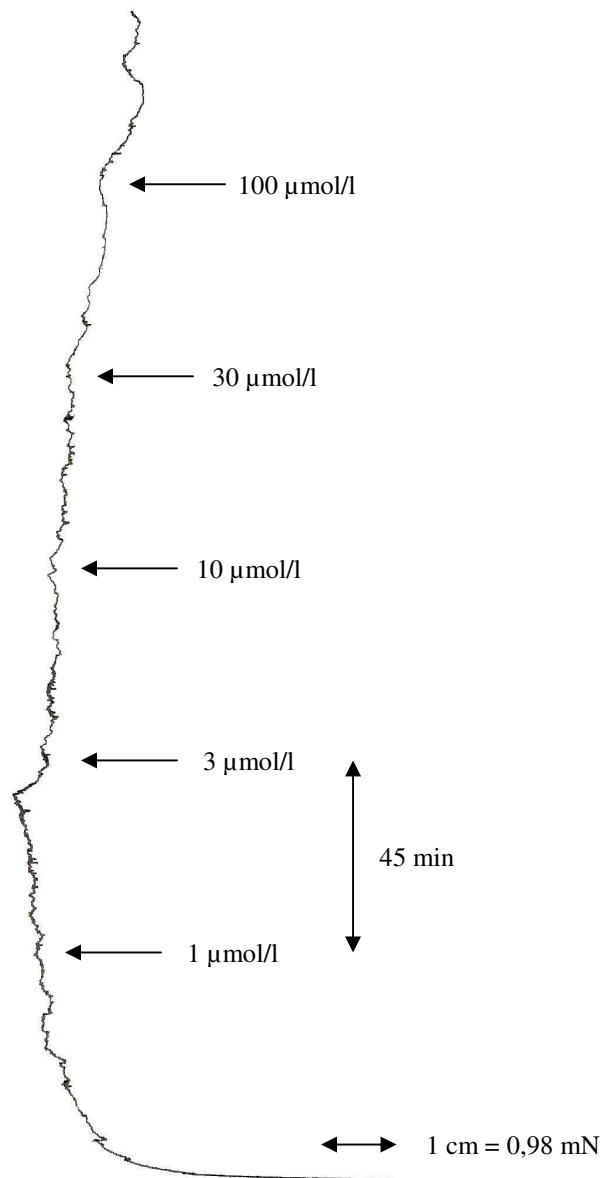
Diese Tabelle gibt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) mit deren Standardfehlern (SEM), in mN und % ausgewertet, wieder.

Abbildung 45: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von JB 35s an der Aorta descendens

Legende zu Abbildung 45:

In dieser Abbildung kann der EC_{50} -Wert nicht graphisch ermittelt werden. Auf der Abszisse werden die jeweiligen Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ und auf der Ordinate die relaxierende Wirkung in Prozent wiedergegeben.

Abbildung 46: Originalaufzeichnung der Wirkung von JB 35s auf die Aorta descendens



Legende zu Abbildung 46:

Dieser Graph spiegelt den nicht allzu starken vorherrschenden dilatierenden Effekt der Testsubstanz JB 35s auf die Aorta descendens wider. Die in einem 45-Minutenintervall eingespritzten Konzentrationen werden durch Pfeile dargestellt.

4.2.2 Wirkung von JB 35s auf die Arteria pulmonalis

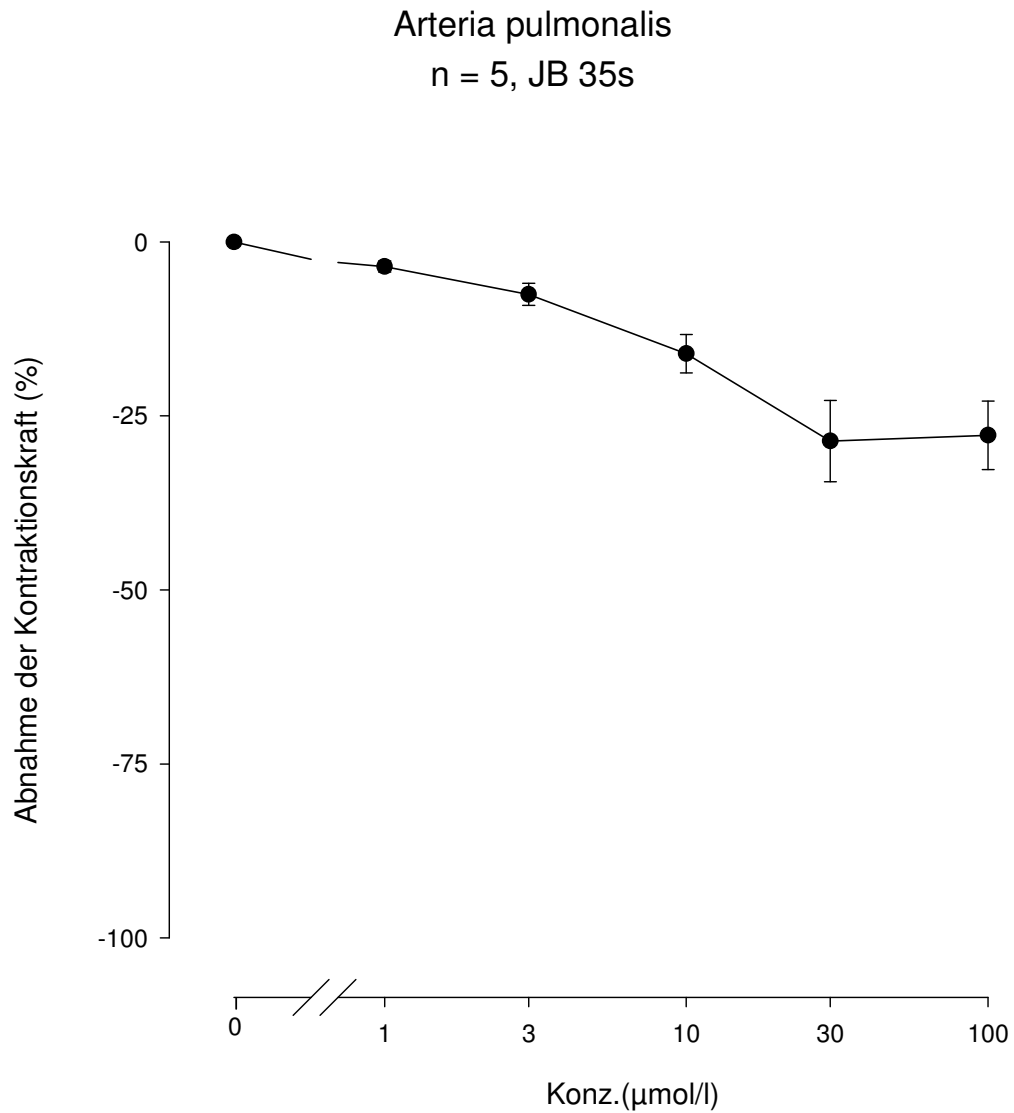
Der Wirkungsverlauf von JB 35s auf die Arteria pulmonalis war dem der Aorta descendens sehr ähnlich. In einem 45-Minutenintervall wurden die einzelnen Mengen von 1; 2; 7; 20 und 70 μl der Testsubstanz zugefügt und mit den jeweiligen Endkonzentrationen des Organbads die Messwerte berechnet. Es kam bei diesem Versuch zu einer kontinuierlichen Vasodilatation der Pulmonalarterie, wobei der EC_{50} -Wert abermals nicht eruiert werden konnte.

Abbildung 47: Wirkung von JB 35s auf die Arteria pulmonalis

JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$15,93 \pm 1,27$	$0,00 \pm 0,00$	5	-
1	$15,39 \pm 1,27$	$-3,51 \pm 0,80$	5	n. s.
3	$14,77 \pm 1,32$	$-7,51 \pm 1,59$	5	n. s.
10	$13,43 \pm 1,37$	$-16,04 \pm 2,75$	5	0,05
30	$11,36 \pm 1,32$	$-28,61 \pm 5,86$	5	0,05
100	$11,49 \pm 1,22$	$-27,77 \pm 4,91$	5	0,05

Legende zu Abbildung 47:

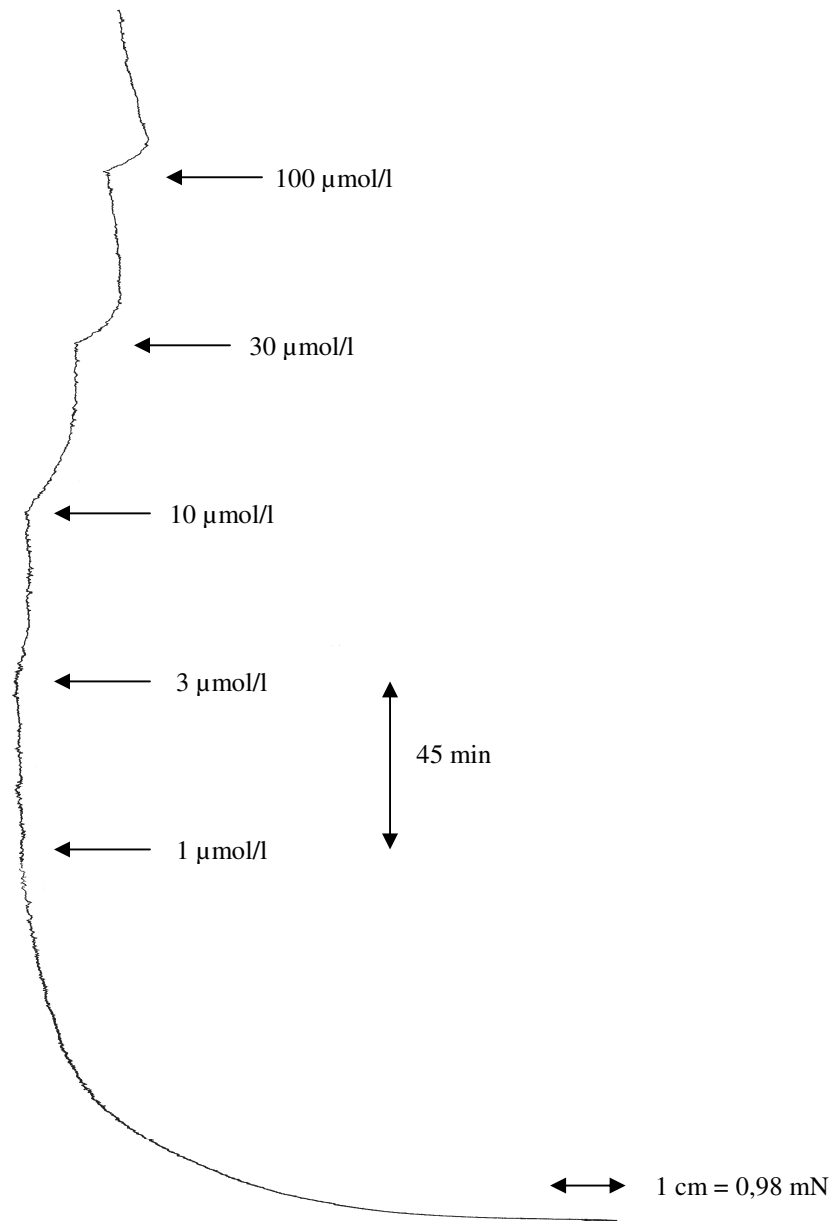
Der Effekt der Wirkstoffsubstanz JB 35s auf die Arteria pulmonalis wird durch arithmetische Mittelwerte (f_c) inklusive Standardfehler (SEM) aus fünf Versuchen definiert. Die einzelnen Werte werden in mN und Prozent angeführt.

Abbildung 48: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von JB 35s an der Arteria pulmonalis

Legende zu Abbildung 48:

Die schwarzen Punkte in dieser Kurve charakterisieren die einzelnen Mittelwerte der Versuche mit dem Wirkstoff JB 35s sowie die jeweiligen Balken, welche die Standardabweichungen aufzeigen. Auf der x-Achse werden die Konzentrationen ($\mu\text{mol/l}$) und auf der y-Achse die Kontraktions-Abnahme (%) dargestellt.

Abbildung 49: Originalaufzeichnung der Wirkung von JB 35s auf die Arteria pulmonalis



Legende zu Abbildung 49:

Dieser mittels Schreiber aufgezeichnete Graph veranschaulicht die Wirkung der Substanz JB 35s auf die Arteria pulmonalis. Es kommt dabei zu einem dilatierenden Effekt, der ab einer Konzentration von 10 µmol/l eine statistische Signifikanz aufweist.

4.2.3 Wirkung von JB 35s auf den Atrium cordis dextrum

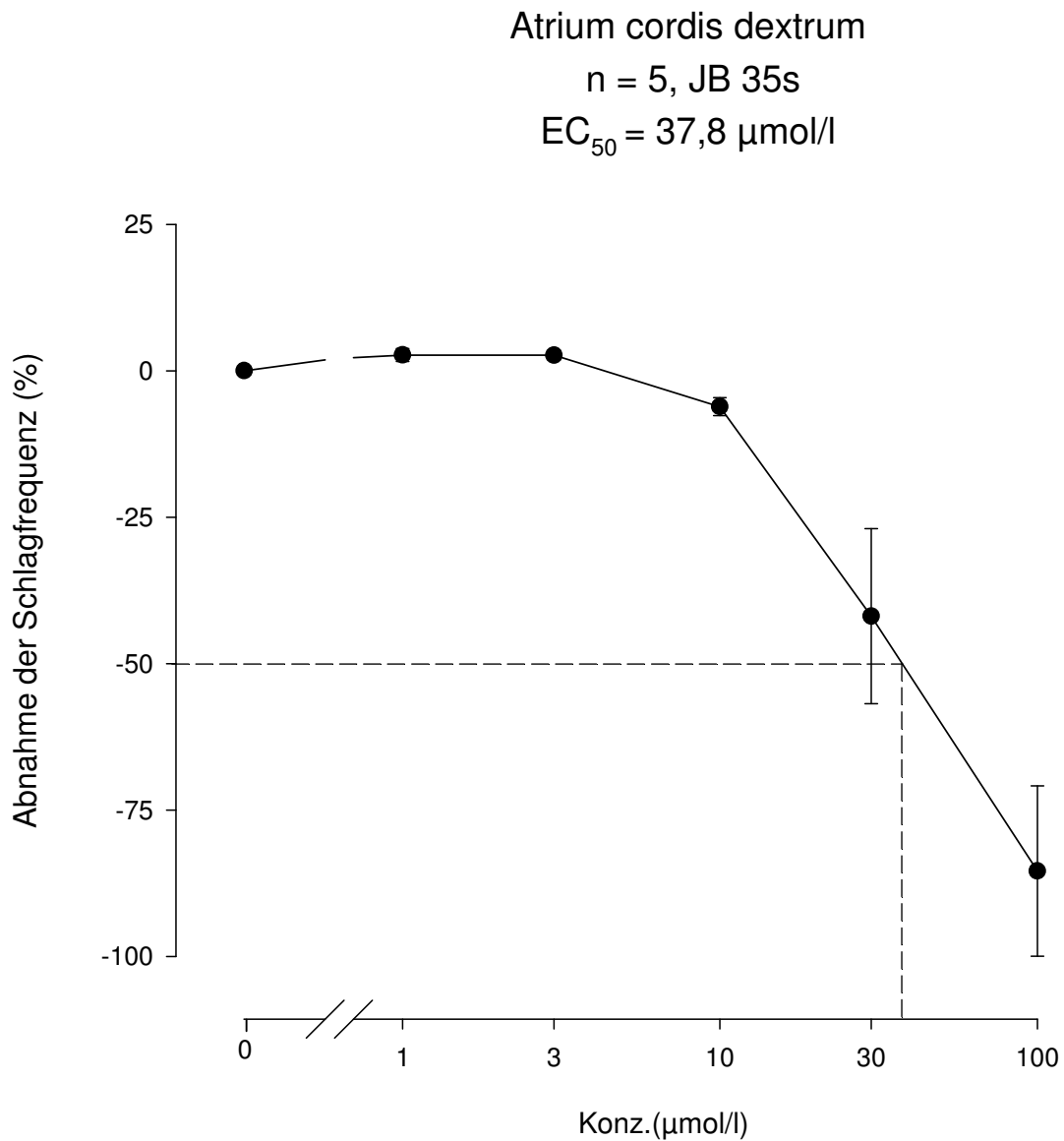
Der präparierte rechte Vorhof wurde, wie in Kapitel 3.6.3 beschrieben, in die Apparatur I eingespannt und anschließend in das Organbad, welches mit einer temperierten Tyrode versetzt und mit Carbogen begast wurde, abgesenkt. Sobald sich ein konstantes Plateau eingestellt hatte, wurden im Abstand von 45 Minuten die einzelnen Konzentrationen der Testsubstanz JB 35s hinzugefügt. Dabei konnte eine negative chronotrope Wirkung festgestellt werden, die ab einer Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ deutlich und signifikant zunahm. Der EC_{50} -Wert kam bei einer Konzentration von 37,8 $\mu\text{mol/l}$ zustande. Bei vier von fünf Versuchen schlugen die rechten Vorhöfe nach Zugabe der letzten Konzentration nicht mehr weiter.

Abbildung 50: Wirkung von JB 35s auf den Atrium cordis dextrum

JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	f $\pm$ SEM (x/min)	f $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	231 $\pm$ 4,30	0,00 $\pm$ 0,00	5	-
1	237 $\pm$ 2,55	2,67 $\pm$ 1,09	5	n. s.
3	237 $\pm$ 4,06	2,62 $\pm$ 0,80	5	n. s.
10	217 $\pm$ 6,82	-6,13 $\pm$ 1,54	5	n. s.
30	134 $\pm$ 35,12	-41,91 $\pm$ 14,95	5	0,01
100	32 $\pm$ 32,00	-85,45 $\pm$ 14,54	5	0,01

Legende zu Abbildung 50:

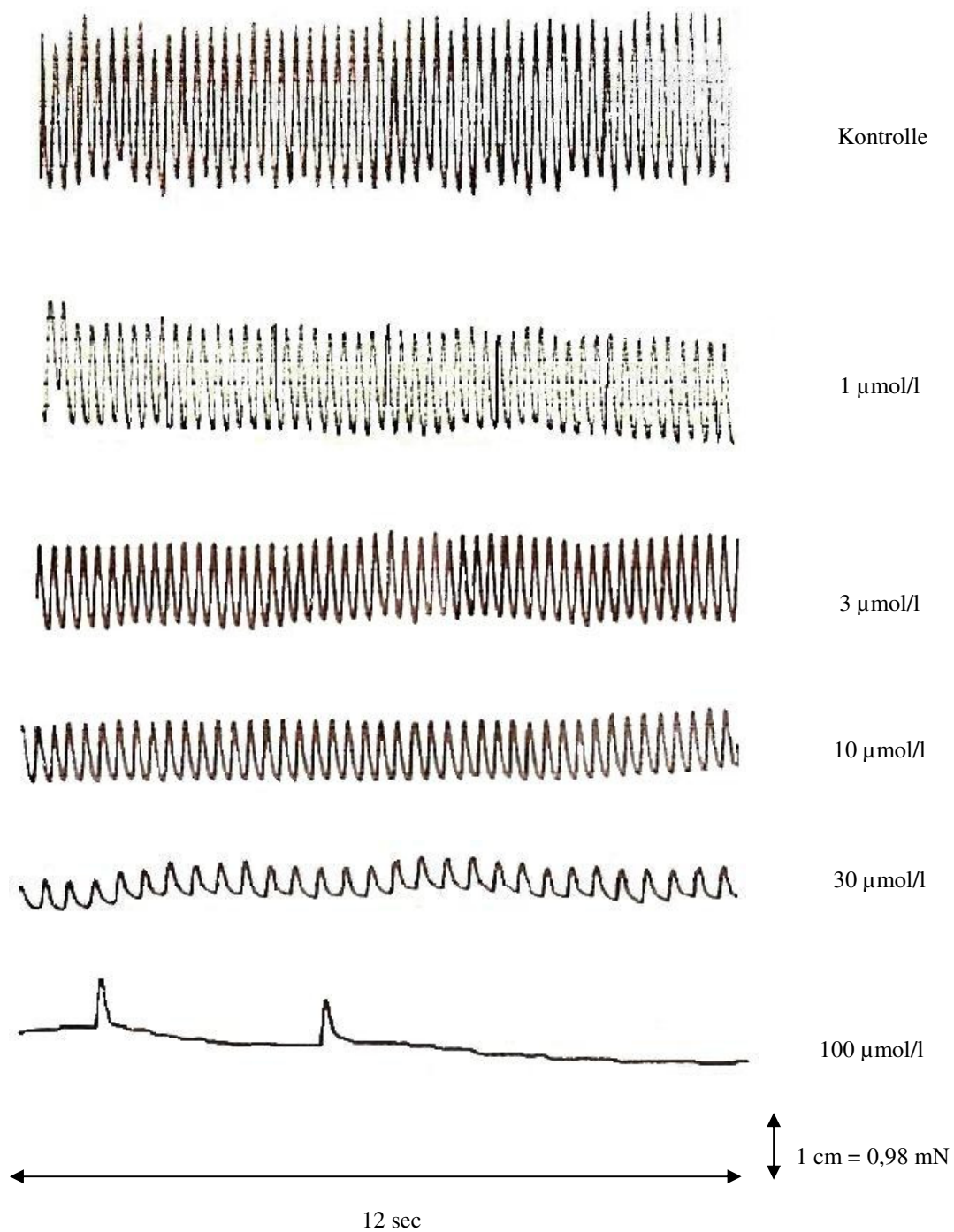
Diese Auflistung von im Rahmen von fünf Versuchsreihen eruierten arithmetischen Mittelwerten (f) und deren Standardabweichungen (SEM) zeigt die chronotrope Wirkung der Testsubstanz JB 35s auf den Atrium cordis dextrum. Die Schlagfrequenz des rechten Vorhofes pro Minute steht für den Buchstaben f, welcher in Schlägen/Minute sowie in Prozent angegeben wird.

Abbildung 51: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von JB 35s am Atrium cordis dextrum

Legende zu Abbildung 51:

An diesem Diagramm wird die signifikante Wirkung von JB 35s auf den Atrium cordis dextrum ersichtlich, wobei die EC₅₀ bei einer Konzentration von 37,8 µmol/l erkennbar ist. Auf der Abszisse werden die jeweiligen Konzentrationen der Wirkstoffsubstanz in µmol/l dargestellt sowie auf der Ordinate die negative chronotrope Wirkung in Prozent.

Abbildung 52: Originalaufzeichnung der Wirkung von JB 35s auf den Atrium cordis dextrum



Legende zu Abbildung 52:

Der stark negativ chronotrope Einfluss der Wirkstoffsubstanz JB 35s auf den rechten Vorhof wird in diesen Aufzeichnungen deutlich widerspiegelt.

4.2.4 Wirkung von JB 35s auf den Musculus papillaris

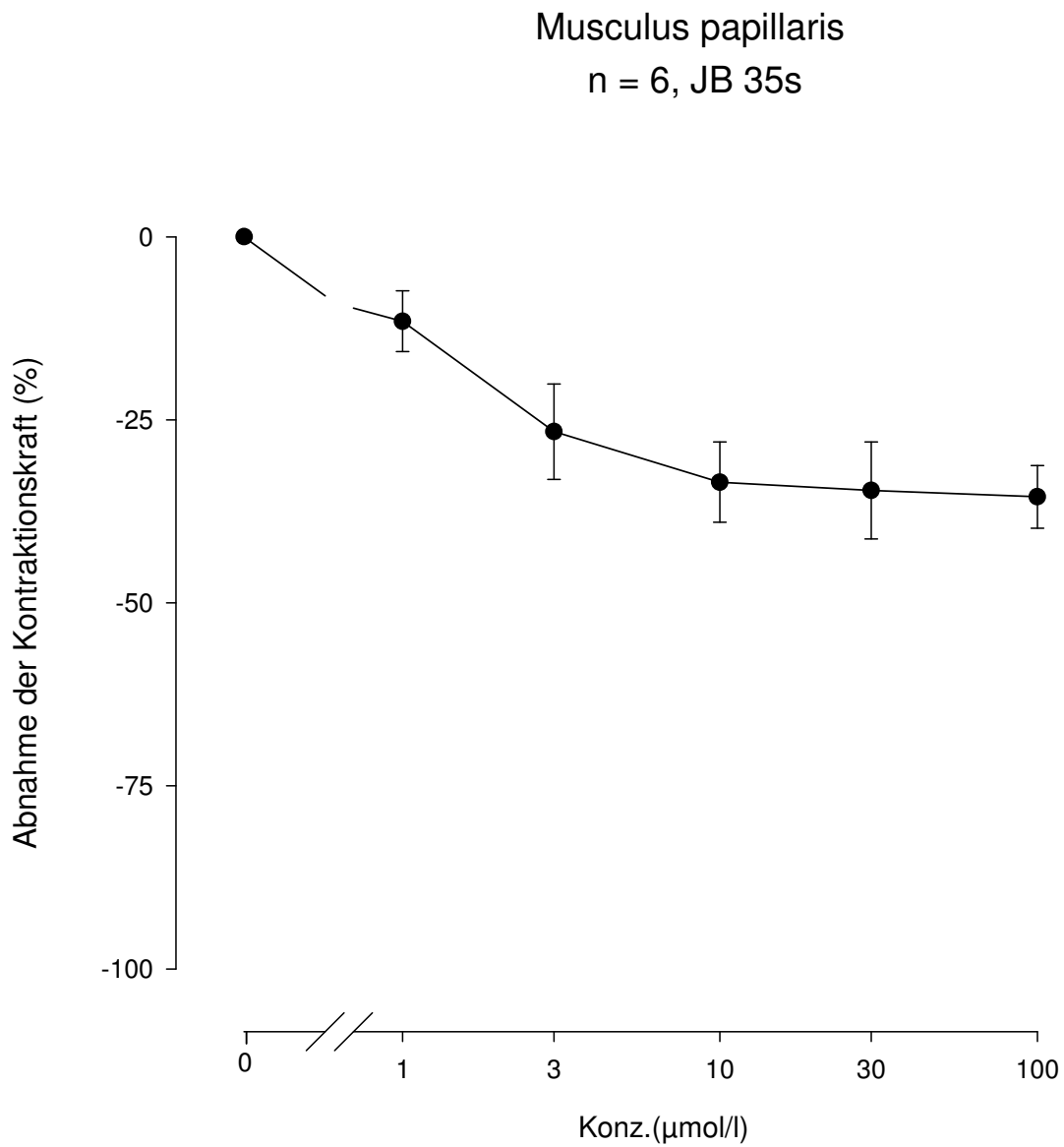
Die inotrope Wirkung der Testsubstanz JB 35s auf den Musculus papillaris wurde in sechs Versuchen untersucht, wobei von einem Kontroll-Mittelwert von $2,32 \pm 0,58$ mN ausgegangen wurde. Bei den Konzentrationen von 1; 3 und 10 $\mu\text{mol/l}$ konnte eine Verkleinerung der Amplituden, also eine negative inotrope Wirkung beobachtet werden. Ab 10 $\mu\text{mol/l}$ jedoch nahm die Kontraktionskraft des Papillarmuskels nicht mehr weiter ab und ein Plateau stellte sich ein. Ein EC_{50} -Wert konnte nicht eruiert werden.

Abbildung 53: Wirkung von JB 35s auf den Musculus papillaris

JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$2,32 \pm 0,58$	$0,00 \pm 0,00$	6	-
1	$2,13 \pm 0,57$	$-11,54 \pm 4,15$	6	n. s.
3	$1,83 \pm 0,54$	$-26,63 \pm 6,53$	6	0,05
10	$1,63 \pm 0,47$	$-33,53 \pm 5,48$	6	0,05
30	$1,60 \pm 0,46$	$-34,64 \pm 6,60$	6	0,05
100	$1,55 \pm 0,42$	$-35,53 \pm 4,28$	6	0,05

Legende zu Abbildung 53:

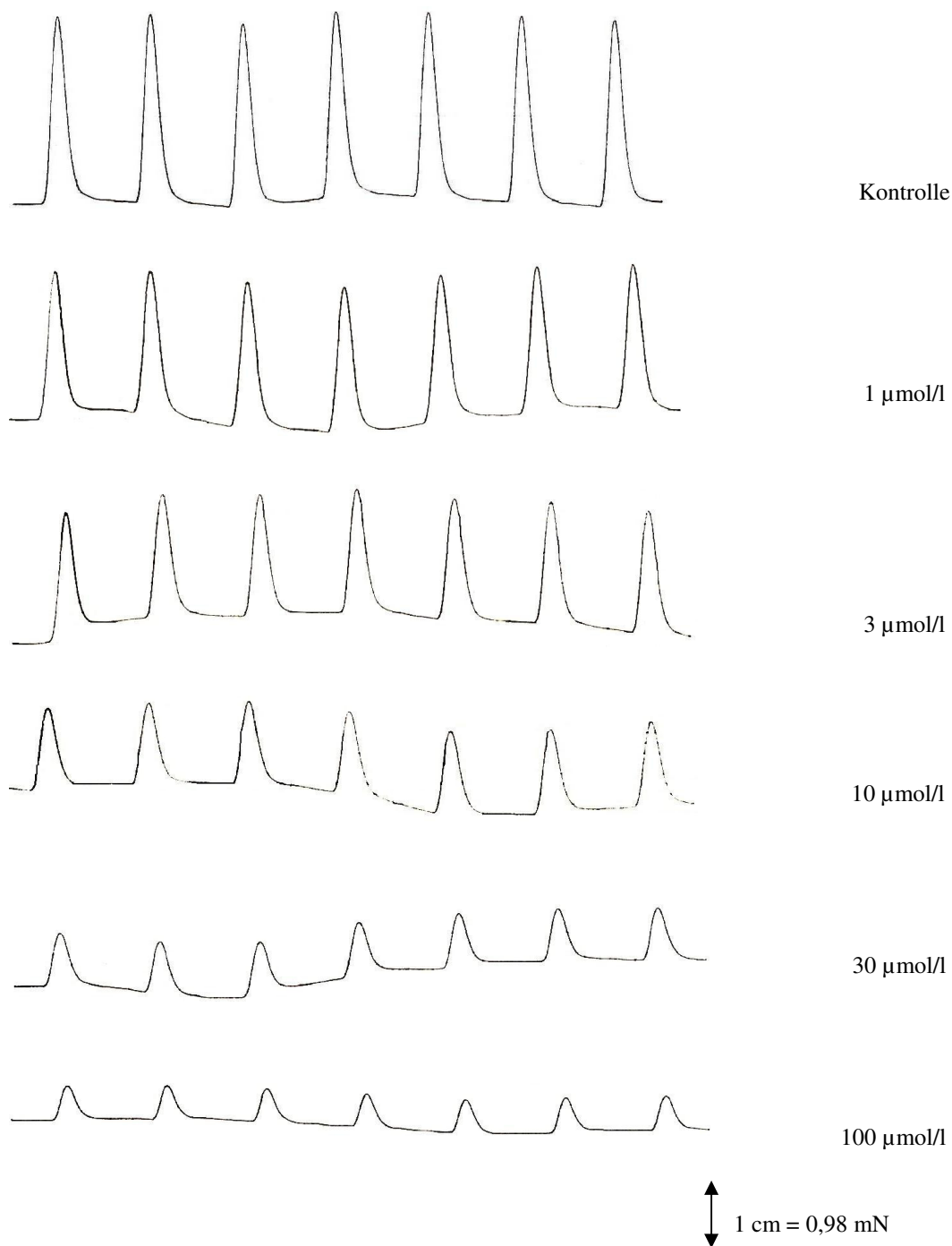
Die arithmetischen Mittelwerte (f_c) mit Standardfehlern (SEM) aus sechs Versuchen werden hier sowohl in mN und als auch in % tabellarisch dargestellt.

Abbildung 54: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von JB 35s am Musculus papillaris

Legende zu Abbildung 54:

Wie in Kapitel 3.6.4 erwähnt, wird hier die inotrope Wirkung der Testsubstanz JB 35s auf den Papillarmuskel in den Konzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l gemessen. Die x-Achse steht für die jeweiligen Konzentrationen und die y-Achse für die auftretende Abnahme der Kontraktionskraft.

Abbildung 55: Originalaufzeichnung der Wirkung von JB 35s auf den Musculus papillaris



Legende zu Abbildung 55:

Diese Originalaufzeichnungen veranschaulichen den negativen inotropen Effekt von JB 35s auf den Papillarmuskel.

4.2.5 Wirkung von JB 35s auf das terminale Ileum

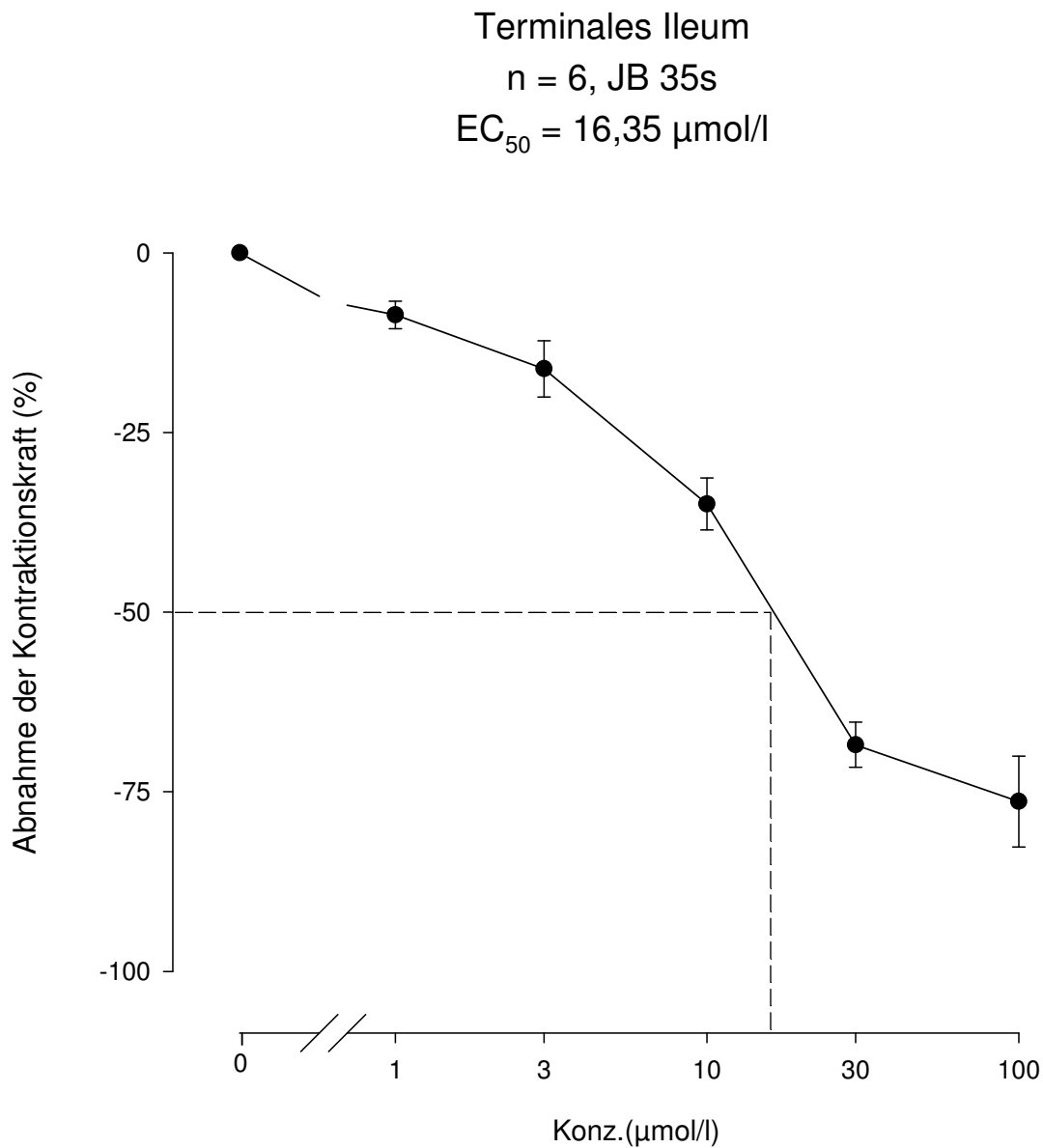
Die spasmolytische Wirkung von JB 35s wurde am terminalen Ileum im Rahmen von sechs Versuchen eruiert. Nachdem sich das isolierte und präparierte Organ im Bad an die dort vorherrschenden physiologischen Bedingungen gewöhnt hatte, wurden im 45-Minutenintervall die einzelnen Konzentrationen der Testsubstanz zugespritzt. In diesen sechs Versuchen konnte eine deutliche Abnahme der Kontraktionskraft des Darms festgestellt werden. Ab einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ nahm die dilatierende bzw. spasmolytische Wirkung deutlich zu, wobei ein EC_{50} -Wert von 16,35 $\mu\text{mol/l}$ ermittelt wurde. Der durchschnittliche Kontrollwert betrug $10,03 \pm 1,63 \text{ mN}$ und fiel dann auf einen Endwert von $2,10 \pm 0,57 \text{ mN}$ ab.

Abbildung 56: Wirkung von JB 35s auf das terminale Ileum

JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$10,03 \pm 1,63$	$0,00 \pm 0,00$	6	-
1	$9,10 \pm 1,41$	$-8,64 \pm 1,90$	6	n. s.
3	$8,27 \pm 1,22$	$-16,14 \pm 3,92$	6	0,05
10	$6,36 \pm 0,85$	$-34,95 \pm 3,62$	6	0,01
30	$3,11 \pm 0,51$	$-68,47 \pm 3,13$	6	0,001
100	$2,10 \pm 0,57$	$-76,36 \pm 6,33$	6	0,001

Legende zu Abbildung 56:

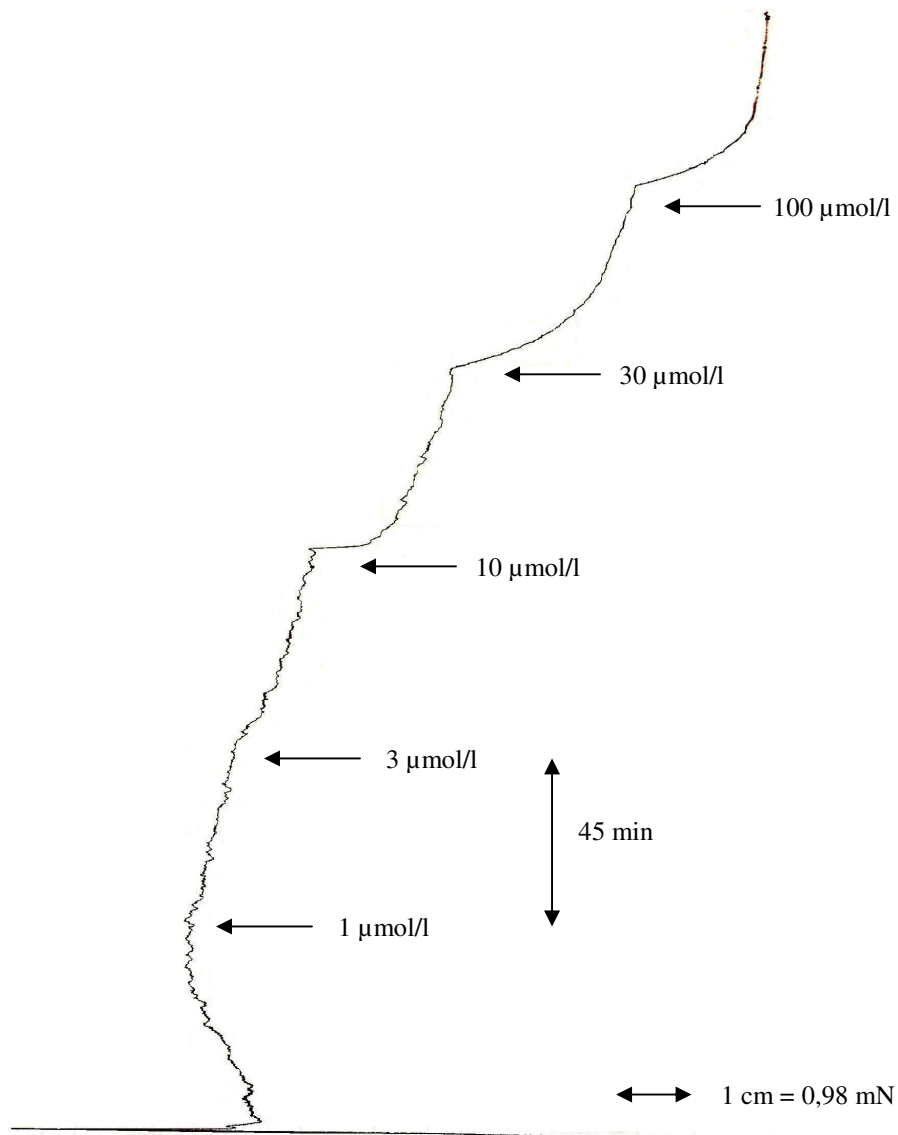
Diese Tabelle führt die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardabweichungen (SEM) aus sechs Versuchen hinsichtlich der Wirkung des Wirkstoffs JB 35s auf das terminale Ileum an.

Abbildung 57: Konzentrations-Wirkungs-Kurve von JB 35s am terminalen Ileum

Legende zu Abbildung 57:

Diese Konzentrations-Wirkungs-Kurve spiegelt die spasmolytische Wirkung der Testsubstanz JB 35s auf den Darm wider. Die EC_{50} kann dabei bei einer Konzentration von $16,35 \mu\text{mol/l}$ abgelesen werden. Die Punkte stehen für die jeweiligen Mittelwerte und die dazugehörigen Balken für die Standardabweichungen.

Abbildung 58: Originalaufzeichnung der Wirkung von JB 35s auf das terminale Ileum



Legende zu Abbildung 58:

Diese Abbildung zeigt den relaxierenden Effekt von JB 35s auf das terminale Ileum an, wobei das Zeitintervall zwischen den dem Organbad injizierten Konzentrationen 45 Minuten beträgt.

4.3 Untersuchung des Wirkungsmechanismus von SWS 33 an der Aorta

Mit den zwei Antagonisten – Glibenclamid und Nitro-L-Arginin – und dem einen Agonisten – Phenylephrin – konnte auf den Wirkungsmechanismus der Testsubstanz SWS 33 an der Aorta descendens detaillierter eingegangen werden.

4.3.1 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Glibenclamid 30 μmol

Es wurden vier Versuche mit der Wirkstoffsubstanz in Kombination mit Glibenclamid 30 $\mu\text{mol/l}$ durchgeführt. Dadurch sollte herausgefunden werden, ob die Testsubstanz SWS 33 auf die ATP-abhängigen Kaliumkanäle der Aorta wirkt. Nachdem sich das Organ maximal kontrahiert hatte, wurde Glibenclamid, ein K_{ATP} -Blocker, in der Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ zugesetzt. Sobald 45 Minuten verstrichen waren, wurde die Wirkstoffsubstanz SWS 33 in der EC_{50} -Konzentration von 3 $\mu\text{mol/l}$ in das Organbad eingespritzt. Die Kontraktionsveränderungen der Aorta wurden mit Hilfe des Schreibers am Millimeterpapier verfolgt und aufgenommen.

Abbildung 59: Wirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid auf die Aorta descendens in Kombination mit 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33

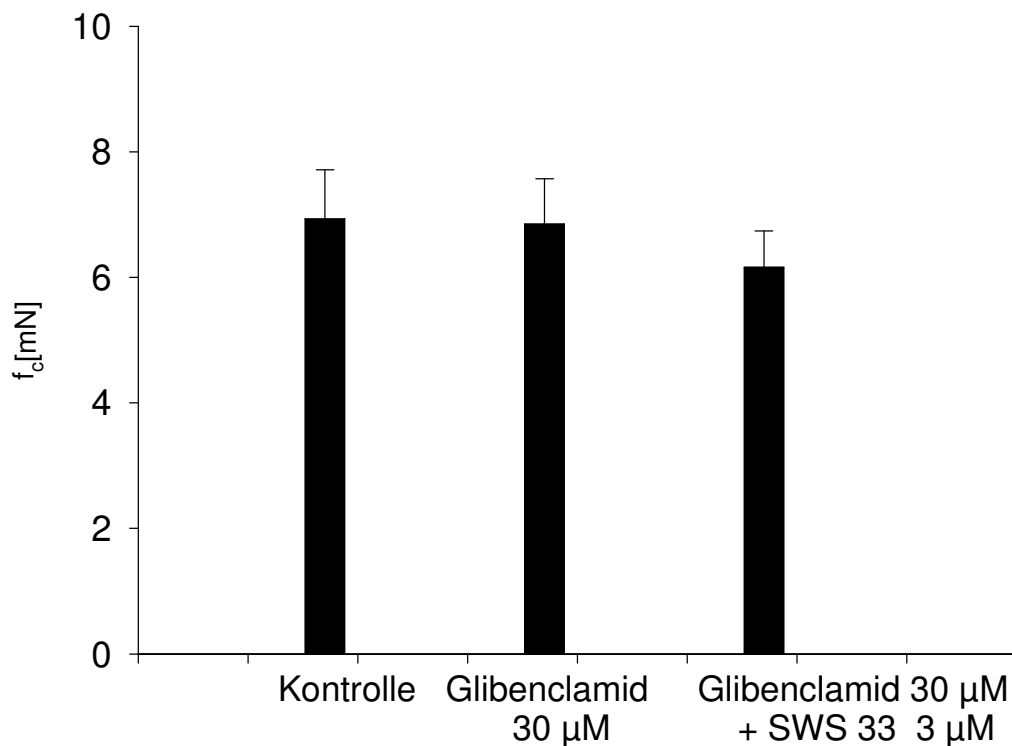
Konzentration ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$6,934 \pm 0,78$	4	-
Glibenclamid 30 $\mu\text{mol/l}$	$6,848 \pm 0,72$	4	-
SWS 33 3 $\mu\text{mol/l}$	$6,162 \pm 0,58$	4	n. s.

Legende zu Abbildung 59:

In dieser Tabelle wird der aus vier Versuchsreihen entstandene arithmetische Mittelwert (f_c) inklusive Standardfehler (SEM) von der Kontroll-, der Glibenclamid- und der Glibenclamid/Testsubstanz-Phase in der Einheit mN und in Prozent (%) angeführt.

Abbildung 60: Graphische Darstellung der Wirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid in Kombination von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens

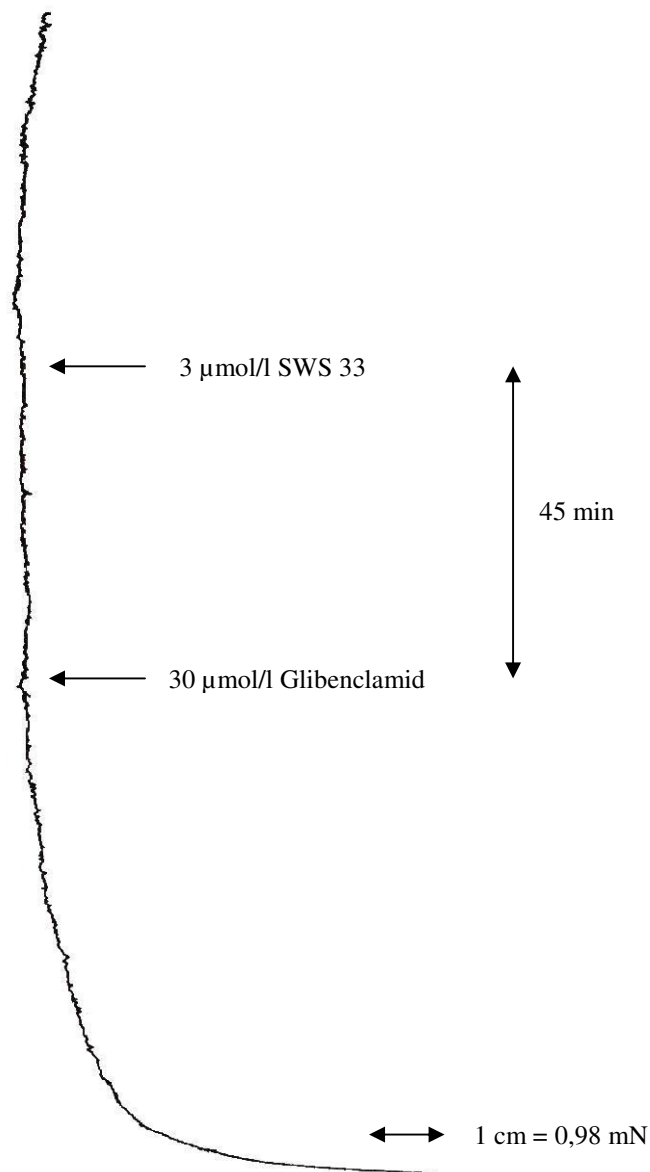
Aorta GLIBENCLAMID 30 μM



Legende zu Abbildung 60:

In dieser Abbildung wird die Kontraktilitätsänderung an der Aorta descendens, die entsprechende Kontrolle, sowie das Einspritzen von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid und anschließend von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 in das Organbad dargestellt (drei schwarze Balken). Auf der Abszisse werden die Konzentrationen der einzelnen Substanzen ($\mu\text{mol/l}$) und auf der Ordinate die Kontraktionskraft (mN) eingezeichnet.

Abbildung 61: Originalaufzeichnung der Wirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid und anschließend unter dem Einfluss von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens



Legende zu Abbildung 61:

Dieser Graph gibt die Wirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid und nach Zufuhr von weiteren 3 $\mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz SWS 33 auf die Aorta wieder. Der jeweilige Zeitpunkt der Konzentrationszugaben der beiden Substanzen wird mit Pfeilen hervorgehoben. Eine signifikant dilatierende Wirkung auf die Aorta descendens kann demnach bei 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid durch SWS 33 nicht erzielt werden.

4.3.2 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Glibenclamid 100 μmol

Der Ablauf der Versuche zur Untersuchung des Wirkungsmechanismus von SWS 33 in Kombination mit Glibenclamid 100 $\mu\text{mol/l}$ an der Aorta descendens erfolgte wie bereits im vorigen Kapitel (4.3.1) erläutert.

Abbildung 62: Wirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid auf die Aorta descendens und in Kombination mit 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33

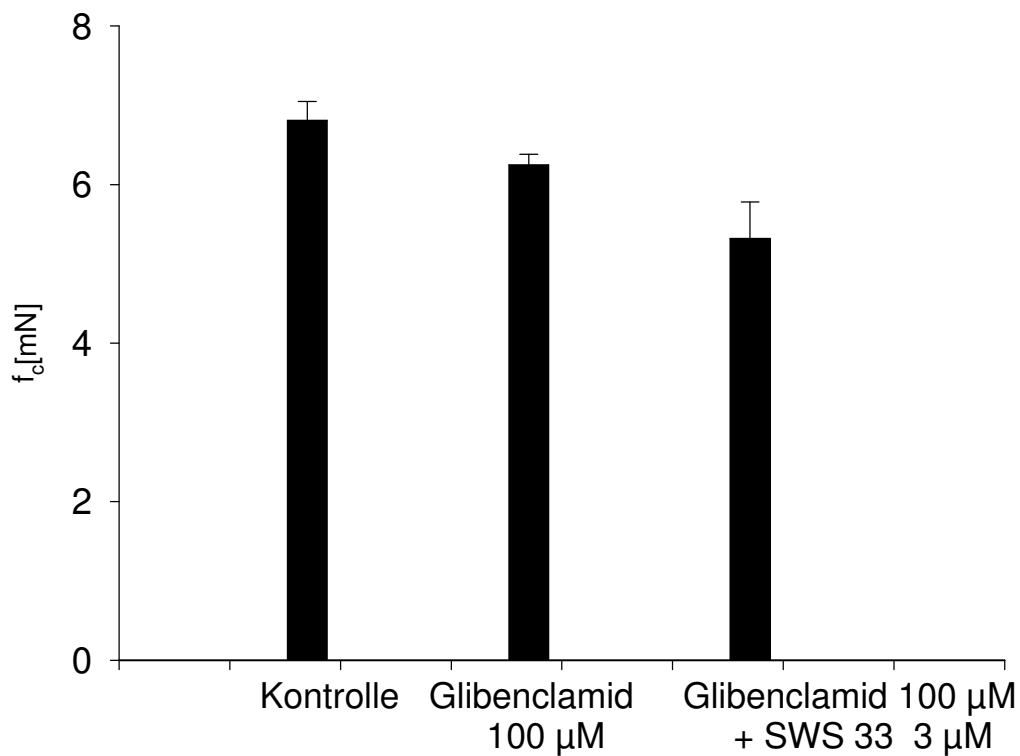
Konzentration ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$6,811 \pm 0,24$	4	-
Glibenclamid 100 $\mu\text{mol/l}$	$6,248 \pm 0,13$	4	-
SWS 33 3 $\mu\text{mol/l}$	$5,317 \pm 0,46$	4	0,05

Legende zu Abbildung 62:

Diese Darstellung listet die arithmetischen Mittelwerte (f_c) und deren Standardabweichungen (SEM) aus vier Versuchsreihen auf. Diese ermittelten Werte werden sowohl in mN als auch in % angegeben.

Abbildung 63: Graphische Darstellung der Wirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid und in Kombination von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens

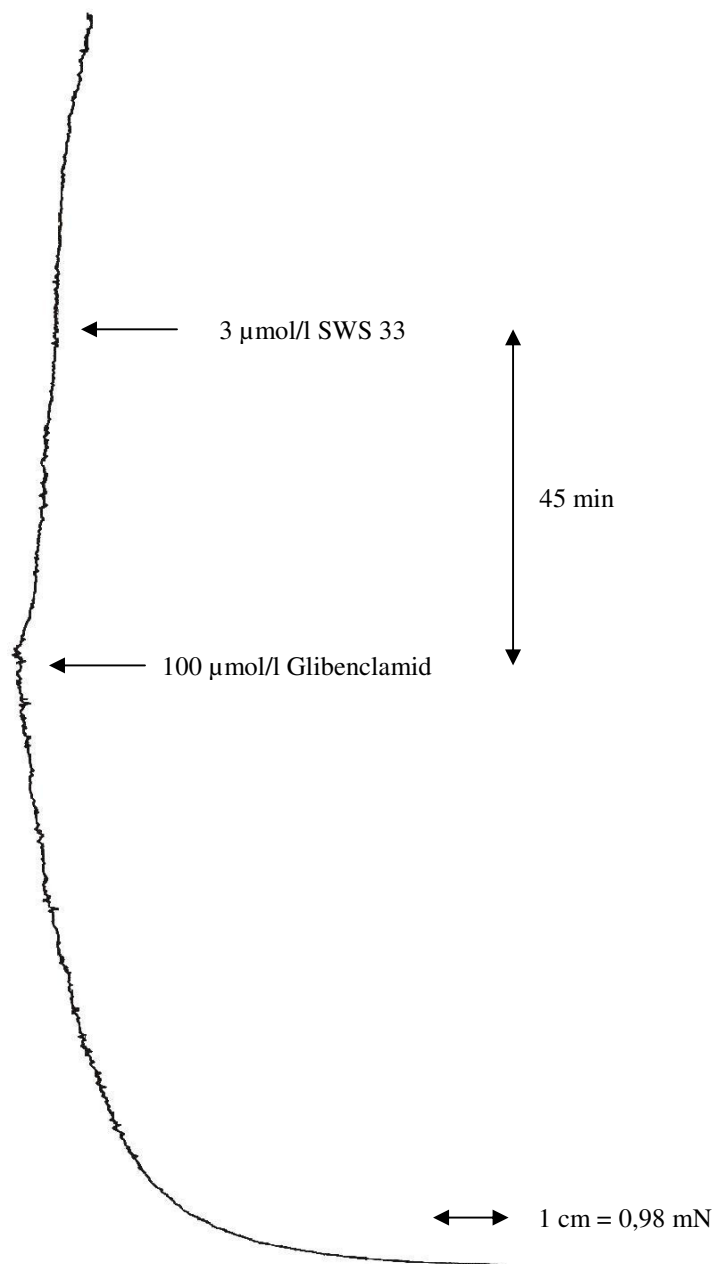
Aorta GLIBENCLAMID 100 μM



Legende zu Abbildung 63:

Die schwarzen Balken stellen die Kontrolle, den Effekt von 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid auf die Aorta sowie die Wirkung von anschließend hinzugefügten 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 dar. Die jeweiligen Ergebnisse setzen sich aus den Mittelwerten der vier Versuche zusammen, wobei die strichartige Verlängerung die Standardabweichung angibt.

Abbildung 64: Originalaufzeichnung der Wirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid und anschließend unter dem Einfluss von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens



Legende zu Abbildung 64:

Der in dieser Abbildung gezeigte Graph ähnelt jenem aus Abbildung 61, wobei es in diesem Fall jedoch zu einer etwas deutlicheren dilatierenden Wirkung der Testsubstanz SWS 33 kommt, welche statistische Signifikanz aufweist.

4.3.3 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Nitro-L-Arginin

In den vier Versuchsreihen mit der Testsubstanz SWS 33 in Kombination mit Nitro-L-Arginin sollte erforscht werden, ob die Wirkstoffsubstanz auf das NO-System Einfluss nimmt und die Dilatation der Aorta darauf zurückzuführen ist. Nachdem sich eine konstante Kontraktionskurve in der Kontrollphase ausgebildet hatte, wurde der Antagonist Nitro-L-Arginin in der Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ dem Organbad hinzugefügt. Im Abstand von 45 Minuten konnte dann 3 $\mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz SWS 33 eingespritzt werden. Der Mittelwert der einzelnen Kontrollwerte entsprach $5,574 \pm 0,4$ mN, nahm durch Substanzzugabe nur sehr leicht ab und konnte somit nicht als signifikant bezeichnet werden.

Abbildung 65: Wirkung von Nitro-L-Arginin auf die Aorta descendens in Kombination mit 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33

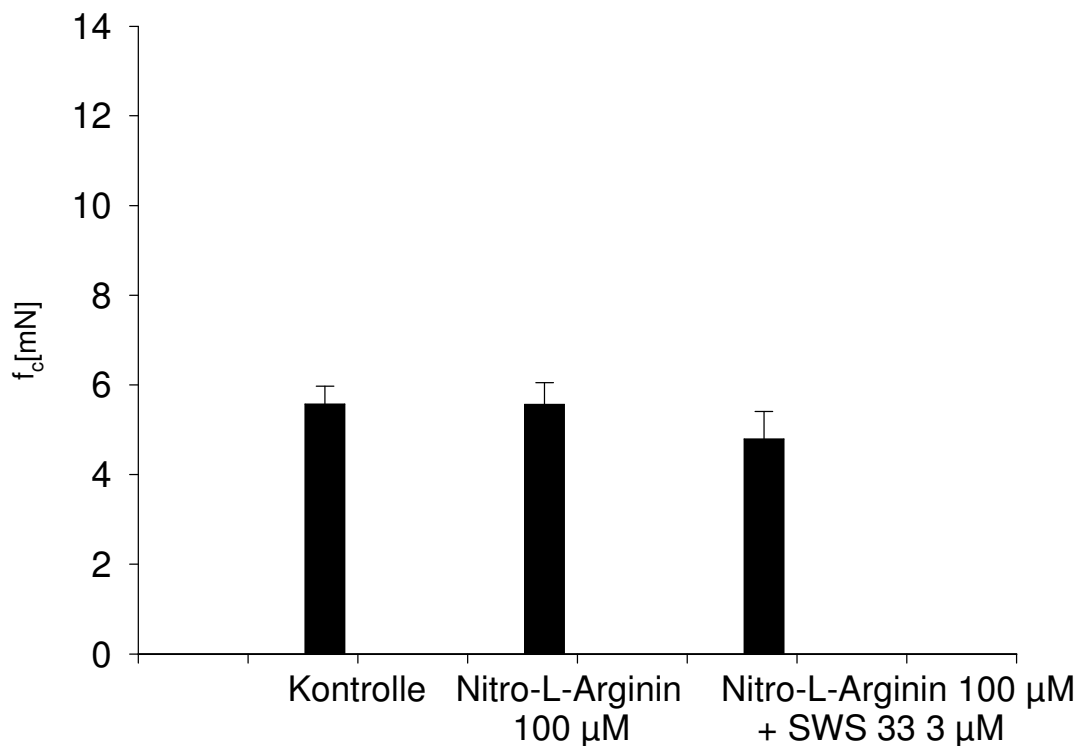
Konzentration ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtums- Wahrscheinlichkeit P
Kontrolle	$5,574 \pm 0,40$	4	-
Nitro-L-Arginin 100 $\mu\text{mol/l}$	$5,562 \pm 0,49$	4	-
SWS 33 3 $\mu\text{mol/l}$	$4,79 \pm 0,62$	4	n. s.

Legende zu Abbildung 65:

Die Veranschaulichung der arithmetischen Mittelwerte (f_c) mit deren Standardfehlern (SEM) aus vier Versuchsreihen wird in dieser Tabelle dargelegt.

Abbildung 66: Graphische Darstellung der Wirkung von Nitro-L-Arginin in Kombination von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens

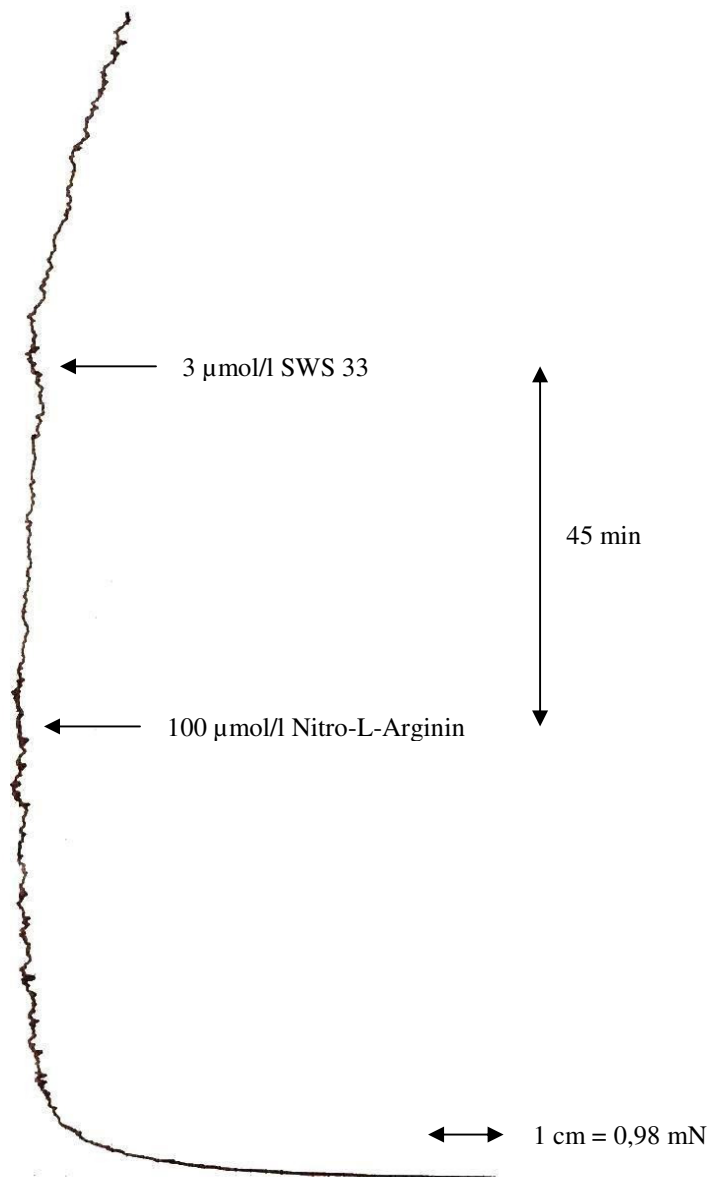
Aorta Nitro-L-Arginin 100 μM



Legende zu Abbildung 66:

Die schwarzen Balken spiegeln den Kontrollwert, bei dem die maximale Kontraktion der Aorta erfolgt, den Einfluss von Nitro-L-Arginin sowie die Wirkung der hinzugefügten Testsubstanz SWS 33 wider. Die arithmetischen Mittelwerte der vier Versuche werden durch diese Balken charakterisiert sowie die Standardabweichungen durch deren Verlängerung. Auf der x-Achse werden die jeweiligen Konzentrationen der Wirkstoffsubstanzen ($\mu\text{mol/l}$) und auf der y-Achse die Kontraktionskraft (mN) aufgetragen.

Abbildung 67: Originalaufzeichnung der Wirkung von Nitro-L-Arginin und anschließend unter dem Einfluss von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens



Legende zu Abbildung 67:

Die beiden Konzentrationszugaben von Nitro-L-Arginin und SWS 33 werden als Pfeile gekennzeichnet. Darüber hinaus geht eine leichte Änderung der Kontraktionskraft der Aorta descendens in Richtung Dilatation nach einer Injektion von 3 $\mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz SWS 33 in das Bad hervor.

4.3.4 Wirkung von SWS 33 unter dem Einfluss von Phenylephrin-HCl

Es wurden drei Versuchsreihen mit der Testsubstanz in Kombination mit dem Agonisten Phenylephrinhydrochlorid durchgeführt. Dadurch sollte festgestellt werden, ob die Wirkstoffsubstanz SWS 33 sympathomimetische Vorgänge der Aorta hemmt und die dilatierende Wirkung darauf zurückzuführen ist. Wie bereits in Kapitel 3.7.3 erwähnt, musste vor dem Start der Versuche eine Verdünnungsreihe des Agonisten in den Konzentrationen von 0,1; 0,3; 1; 3 und 10 $\mu\text{mol/l}$ angefertigt werden, die bei den anschließenden Experimenten als Kontrollwerte fungierten. Nun konnte der EC_{50} -Wert der Testsubstanz SWS 33 ($3\mu\text{mol/l}$) in das Organbad eingespritzt und die jeweiligen Konzentrationen des Agonisten in einem 10-Minutenintervall zugegeben werden. In Kombination mit SWS 33 nahm die Kontraktionskraft der Aorta descendens bei den Konzentrationen von 3 und 10 $\mu\text{mol/l}$ deutlich ab, wobei die sympatholytische Wirkung bei 0,3 und 1 $\mu\text{mol/l}$ am stärksten ausgeprägt war.

Abbildung 68: Wirkung von Phenylephrinhydrochlorid auf die Aorta descendens

Phenylephrin-HCl Kontrolle ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	Anzahl der Versuche n
0,1	$0,098 \pm 0,00$	3
0,3	$0,686 \pm 0,21$	3
1	$2,777 \pm 0,67$	3
3	$4,933 \pm 0,96$	3
10	$5,749 \pm 0,68$	3

Legende zu Abbildung 68:

Diese in der Tabelle aufgelisteten Mittelwerte (f_c) und Standardfehler (SEM) von Phenylephrinhydrochlorid fungieren als Referenz- bzw. Kontrollwerte für die Versuchsreihen in Kombination mit 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33.

Abbildung 69: Wirkung von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens in Kombination mit Phenylephrinhydrochlorid

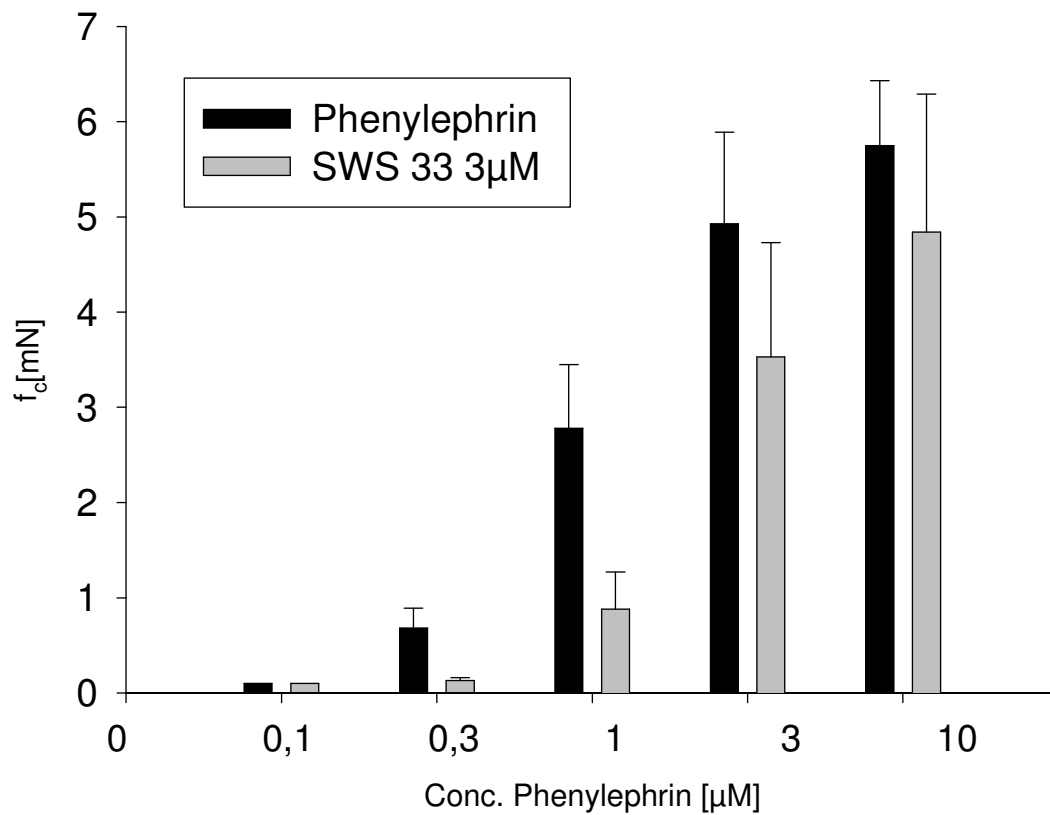
SWS 33 (3$\mu\text{mol/l}$) & Phenylephrin-HCl	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	Anzahl der Versuche n	Irrtums – Wahrscheinlichkeit P
0,1	$0,098 \pm 0,00$	3	n. s.
0,3	$0,131 \pm 0,03$	3	0,05
1	$0,882 \pm 0,39$	3	0,05
3	$3,528 \pm 1,20$	3	n. s.
10	$4,835 \pm 1,45$	3	n. s.

Legende zu Abbildung 69:

Aus den drei Versuchsreihen des Agonisten in Kombination mit der Wirkstoffsubstanz SWS 33 ergeben sich die arithmetischen Mittelwerte (f_c) plus Standardabweichungen (SEM), wobei diese in mN und in Prozent angeführt sind.

Abbildung 70: Graphische Darstellung der Wirkung von Phenylephrinhydrochlorid in Kombination von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens

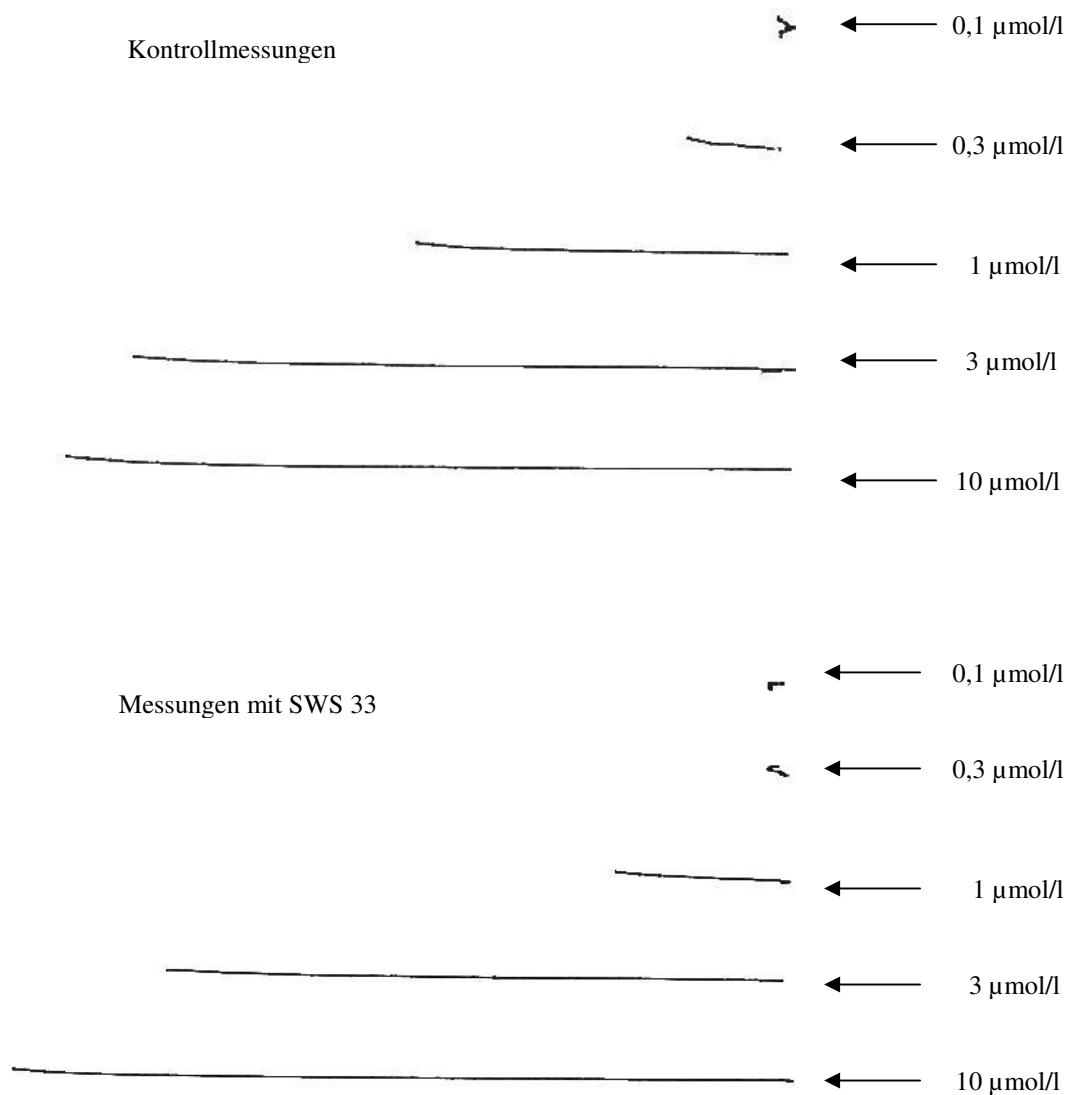
**Aorta Phenylephrin
SWS 33 3 μM
n=3**



Legende zu Abbildung 70:

Die schwarzen Balken deuten den Mittelwert der drei Kontrollversuche mit Phenylephrinhydrochlorid und die grauen den Durchschnittswert aus der Kombination des Agonisten mit 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33. Die Konzentrationen von Phenylephrinhydrochlorid in $\mu\text{mol/l}$ werden auf der x-Achse eingetragen und die Kontraktionskraft in mN auf der y-Achse, wobei die strichförmige Verlängerung die jeweilige Standardabweichung der Mittelwerte angibt.

Abbildung 71: Originalaufzeichnung der Wirkung von Phenylephrinhydrochlorid und anschließend unter dem Einfluss von 3 $\mu\text{mol/l}$ SWS 33 auf die Aorta descendens



Legende zu Abbildung 71:

Diese Aufzeichnungen geben die Veränderung der Kontraktionskraft der Aorta descendens wieder. Die Pfeile symbolisieren die unterschiedlichen Konzentrationszugaben des Agonisten Phenylephrinhydrochlorid, zunächst in der Kontrollmessung und danach in Kombination mit der Testsubstanz SWS 33.

5. Diskussion

5.1 Allgemein

Die unterschiedlichen Wirkungen der beiden Wirkstoffsubstanzen SWS 33 und JB 35s auf die einzelnen, isolierten Meerschweinchen-Organen wurden in den ersten vier Kapiteln dieser Diplomarbeit ausführlich dargelegt und aufgelistet.

Um eine Bewertung der resultierenden Ergebnisse durchführen zu können, wurden die beiden Testsubstanzen mit deren Natur- bzw. Ausgangsstoffen verglichen.

5.2 SWS 33 verglichen mit Schwefelwasserstoff

5.2.1 Wirkung von SWS 33 im Überblick

Abbildung 72: Überblick der EC₅₀-Werte von SWS 33 an den jeweiligen Organen

Isoliertes Organ	EC ₅₀ -Wert von SWS 33 (µmol/l)
Aorta descendens	2,98
Arteria pulmonalis	7,90
Atrium cordis dextrum	26,50
Musculus papillaris	-
Terminales Ileum	15,30

Durch das Anführen der einzelnen EC₅₀-Konzentrationen an den isolierten Tierorganen konnte ein guter Überblick hinsichtlich der Wirkung der Testsubstanz SWS 33 geschaffen werden. Diese Substanz zeigte eine sehr starke und signifikante Wirkung auf die einzelnen Organe, ausgenommen dem Papillarmuskel. In den folgenden Kapiteln wird nun detaillierter darauf eingegangen.

5.2.2 Versuchsreihen an der Aorta descendens

Abbildung 73: EC₅₀-Wert von SWS 33 an der Aorta descendens

Isoliertes Organ	EC ₅₀ -Wert von SWS 33 (µmol/l)
Aorta	2,98

An der Aorta wurde die niedrigste EC₅₀ und somit stärkste dilatierende Wirkung der Wirkstoffsubstanz SWS 33 graphisch ermittelt. Ab einer Konzentration von 1 µmol/l konnte ein statistisch signifikanter und ab 3 µmol/l sogar höchstsignifikanter Effekt mittels “student-t-test” an der Aorta descendens beobachtet werden. Die vollständige Dilatation des Organs erfolgte bereits ab einer Konzentration von 30 µmol/l, jenem Zeitpunkt, an dem die Konzentrations-Wirkungs-Kurve an ihrem Ausgangspunkt angekommen war. Die EC₅₀, bei der die Hälfte des Maximaleffektes eingetreten war, betrug dabei lediglich 2,98 µmol/l. Aufgrund dessen wird in den nachfolgenden Kapiteln 5.2.7, 5.2.8 und 5.2.9 genauer auf den Wirkungsmechanismus der Testsubstanz SWS 33, bezogen auf die Aorta, eingegangen.

5.2.3 Versuchsreihen an der Arteria pulmonalis

Abbildung 74: EC₅₀-Wert von SWS 33 an der Arteria pulmonalis

Isoliertes Organ	EC ₅₀ -Wert von SWS 33 (µmol/l)
Arteria pulmonalis	7,90

Der EC₅₀-Wert von 7,9 µmol/l lag im Gegensatz zu jenem in Kapitel 5.2.2 angeführten Wert nur unwesentlich höher. Nachdem eine Konzentration von 3 µmol/l dem Organbad hinzugefügt worden war, lag die relaxierende Wirkung bei einem Wert von $26,76 \pm 7,33$ %, bezogen auf den Kontrollwert, wodurch der Effekt als signifikant bezeichnet werden konnte. Ab einer Konzentration von 10 µmol/l konnte ein Wert von $55,69 \pm 7,70$ % verzeichnet werden, der bereits als höchstsignifikant galt.

5.2.4 Versuchsreihen am Atrium cordis dextrum

Abbildung 75: EC₅₀-Wert von SWS 33 am Atrium cordis dextrum

Isoliertes Organ	EC ₅₀ -Wert von SWS 33 (µmol/l)
Atrium cordis dextrum	26,50

Verglichen mit der starken Wirkung von SWS 33 auf die glatte Muskulatur der Aorta, der Pulmonalarterie und des Darms konnte beim rechten Vorhof erst ab einer Konzentration von 30 µmol/l von einem signifikant negativ chronotropen Effekt gesprochen werden. Bei 100 µmol/l stellten vier der sechs Vorhöfe, hervorgerufen durch eine höchstsignifikante negative Chronotropie, ihr autonomes Schlagen ein und ein Mittelwert von $-83,37 \pm 10,63 \%$, bezogen auf den Null-Prozent-Wert der Kontrolle, konnte eruiert werden. Folgedessen wurde ein EC₅₀-Wert bei einer Konzentration von 26,50 µmol/l erkennbar.

5.2.5 Versuchsreihen am Musculus papillaris

Die Testsubstanz SWS 33 übte mit der Konzentration von 1 µmol/l einen leicht positiven inotropen Effekt aus, der eine Zunahme der Schlagstärke des Papillarmuskels um fünf Prozent bewirkte. Ab 3 µmol/l nahm die Inotropie allerdings wieder ab und pendelte sich dann bei $-20,14 \pm 10,36 \%$ des Kontrollwertes ein. Aufgrund des geringen Einflusses der Wirkstoffsubstanz SWS 33 auf den Musculus papillaris konnte eine EC₅₀ nicht aus dem Graphen abgelesen werden.

5.2.6 Versuchsreihen am terminalen Ileum

Abbildung 76: EC₅₀-Wert von SWS 33 am terminalen Ileum

Isoliertes Organ	EC ₅₀ -Wert von SWS 33 (µmol/l)
Terminales Ileum	15,30

An der Konzentrations-Wirkungs-Kurve konnte die kontinuierlich zunehmende Relaxation des Darms erkannt werden, die zwischen einer Konzentration von 3 und 10 µmol/l eine statistisch signifikante Wirkung aufwies. Die stetig steilere Abnahme der Kontraktionskraft ab 30 µmol/l wurde als höchstsignifikante Auswirkung der Substanz

SWS 33 auf den Darm klassifiziert, wobei die EC_{50} bei einer Konzentration von 15,30 $\mu\text{mol/l}$ graphisch ermittelt wurde.

5.2.7 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33 gemeinsam mit Glibenclamid

In den jeweils vier Versuchen mit zwei unterschiedlichen Konzentrationen von Glibenclamid (30 und 100 $\mu\text{mol/l}$) wurde dem Wirkungsmechanismus der Testsubstanz SWS 33 auf den Grund gegangen. Dabei galt es herauszufinden, ob die statistisch höchstsignifikante dilatierende Wirkung von SWS 33 auf die Aorta durch eine Öffnung der ATP-abhängigen K^+ -Kanäle erfolgte. In diesem Experiment wurde Glibenclamid, ein K_{ATP} -Kanal-Blocker, in einer Konzentration von zunächst 30 $\mu\text{mol/l}$ und ein weiteres Mal mit 100 $\mu\text{mol/l}$ dem Organbad beigemengt, um die maximale Kontraktion der Aorta descendens herbeizuführen. Anschließend wurde der EC_{50} -Wert der Testsubstanz SWS 33, welcher 3 $\mu\text{mol/l}$ betrug, eingespritzt und auf die relaxierende Wirkung besonderes Augenmerk gelegt. Dabei konnte SWS 33 nur bei Glibenclamid 100 $\mu\text{mol/l}$ einen signifikanten Effekt hervorrufen. Daraus konnte gefolgert werden, dass der starke Einfluss der Wirkstoffsubstanz SWS 33 auf die Aorta nicht ausschließlich über eine Öffnung der K^+ -Kanäle zustande kommt.

In einer Studie wurde dem kardiovaskulären Effekt von H_2S in vivo auf den Grund gegangen. Eine intravenöse Bolusinjektion von H_2S in der Höhe von 2,8 und 14 $\mu\text{mol/l/kg}$ Körpergewicht hatte eine vorübergehende Senkung ($29,5 \pm 3,6$ sek) des arteriellen Blutdrucks bei anästhierten Ratten zur Folge, wobei die Herzfrequenz durch diese Injektion nicht verändert wurde. Der K_{ATP} -Kanal-Öffner Pinacidil ahmte den hypotensiven Effekt des Dihydrogensulfids nach und senkte ebenfalls den Blutdruck. Obwohl eine intravenöse Bolusinjektion des K_{ATP} -Kanal-Blockers Glibenclamid in der Konzentration von 2,8 $\mu\text{mol/l/kg}$ auf den Blutdruck keinen Einfluss hatte, konnte dessen Zufuhr 20 Minuten vor einer Bolusgabe von H_2S die hypotensive Wirkung um 83 % reduzieren (Zhao et al. 2001).

5.2.8 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33 gemeinsam mit Nitro-L-Arginin

Der Antagonist Nitro-L-Arginin ist ein Blocker des Stickstoffmonoxid-Systems und wurde in einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ dem Organbad zugegeben, um die Maximal-Kontraktion der Aorta herbeizuführen. Das Einspritzen der Wirkstoffsubstanz SWS 33 nach einer Zeit von 45 Minuten konnte keine signifikante Dilatation am Testorgan auslösen. Aufgrund dieser vier Versuchsreihen konnte darauf geschlossen werden, dass die relaxierende Wirkung von SWS 33 nicht über das NO-System eintritt.

In einer Studie wurde der von einer H_2S -ausgelösten Vasorelaxation auf den Grund gegangen. Wurde ein intaktes Endothelgewebe einer Aorta mit Nitro-L-Arginin-Methylester in einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ vorbehandelt, um so die NO-Produktion zu blockieren, dann verlagerte sich die konzentrationsabhängige H_2S -Relaxations-Kurve weiter nach rechts und erreichte schließlich einen EC_{50} von 220 ± 12 $\mu\text{mol/l}$ (Zhao et al. 2001).

5.2.9 Versuchsreihen der Testsubstanz SWS 33 gemeinsam mit Phenylephrin

Im Rahmen der drei Versuchsreihen mit dem Agonisten Phenylephrinhydrochlorid und der Testsubstanz SWS 33 wurde auf den sympathomimetischen Wirkungsmechanismus detaillierter eingegangen. Dieses direkt auf die α -adrenergen Rezeptoren wirkende Sympathomimetikum wurde dem Organbad in den Konzentrationen von 0,1; 0,3; 1; 3 und 10 $\mu\text{mol/l}$ hinzugefügt. Durch eine anschließende Zugabe der Substanz SWS 33 konnte eine statistisch signifikant dilatierende Wirkung auf die Aorta descendens bei 0,3 und 1 $\mu\text{mol/l}$ erzielt werden.

Nach der Durchführung dieser drei unterschiedlichen Wirkungsmechanismen konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass der höchstsignifikant dilatierende Einfluss der Testsubstanz SWS 33 auf die Aorta descendens einerseits durch eine Öffnung ATP-abhängiger K^+ -Kanäle, und andererseits durch eine Hemmung sympathomimetischer Vorgänge zustande kommt.

Um die Charakterisierung der H₂S-induzierten Vasorelaxation zu erforschen, wurden Versuchsreihen, bestehend aus acht Aortenringen, durchgeführt. H₂S verursachte eine konzentrationsabhängige Relaxation bei den schon zuvor mittels Phenylephrin kontrahierten Ratten-Aortenringe. Der EC₅₀-Wert lag bei 125 ± 14 µmol/l (Ruiz et al. 1999).

In einer weiteren Studie wurde auf die Beteiligung von K⁺-Kanälen in der H₂S-induzierten Vasorelaxation genauer eingegangen. Dabei wurde mit einer Vorkontraktion der Aorta descendens mittels unterschiedlicher KCl-Konzentrationen geprüft, ob die Dilatation auf eine gesteigerte K⁺-Leitfähigkeit zurückzuführen war. Es wurde erwiesen, dass H₂S im Allgemeinen eine höhere Relaxation auf die Aorta ausüben konnte, wenn diese davor mit einer 20 mM KCl-Lösung versetzt worden war. Die Maximal-Dilatation, die durch Dihydrogensulfid induziert wird, lag bei einer 20 mM KCl-Lösung bei 90 ± 8,2 %, bei einer 100 mM KCl-Lösung lediglich bei 19 ± 3,9 % (Zhao et al. 2001).

Der kardiovaskuläre Effekt von H₂S wurde in den Studien sowohl in vivo als auch in vitro demonstriert und erforscht. Die jeweiligen Resultate der in vivo Versuche legten dar, dass der hypotensive Effekt des Dihydrogensulfids, ausgelöst durch eine Relaxation der Blutgefäße, durch das Öffnen der K_{ATP}-Kanäle erreicht wird. Die kurze Wirkungsdauer dieses Effekts könnte auf eine Beseitigung des H₂S durch gewisse Metallo-Proteine, Disulfid-beinhaltende Proteine, eine Thio-S-methyl-transferase und Blutbestandteile zurückzuführen sein (Zhao et al. 2001).

Eine weitere Studie ergab, dass der H₂S-Spiegel im Blut in Wistar Ratten ungefähr 10 µM aufwies (Mason et al. 1997).

In der Studie von Zhao et al (2001) wurde jedoch in den Ratten ein Blutplasmaspiegel von H₂S in der Höhe von 50 µM gemessen. Der Spiegel von Dihydrogensulfid im Gewebe war somit wesentlich höher als im zirkulierenden Blutkreislauf.

Die physiologische Konzentration von H₂S im Gehirn lag bei 50-160 µM (Hosoki et al. 1997).

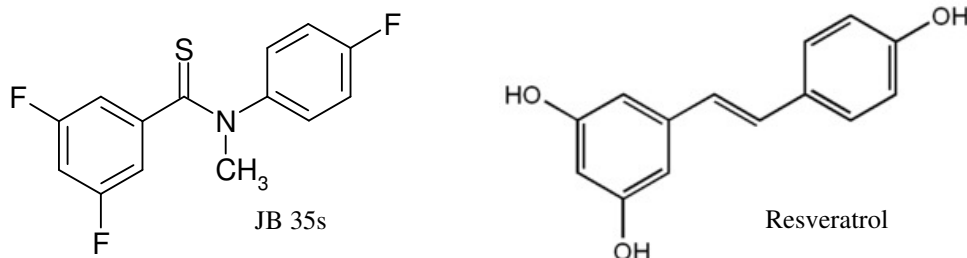
H₂S ist ein weiterer intrinsischer, vasoaktiver und gasförmiger Faktor, ähnlich NO und CO. Anders als Stickstoffmonoxid, welches von den Endothelzellen und den glatten Muskelzellen produziert werden kann, wird H₂S nur von den glatten Muskelzellen erzeugt, da im Endothel keine Dihydrogensulfid-bildenden Enzyme exprimiert werden (Zhao et al.2001).

Die Vasorelaxation, die von H₂S induziert wird, umfasst einen kleinen Endothel-abhängigen Effekt mit einer großen direkten Wirkung auf die glatten Muskelzellen.

Während die Aktivierung des cGMP (cyclisches Guanosinmonophosphat)-Weges einen wichtigen Mechanismus für die NO- und CO- verursachte Vasorelaxation darstellt, wird die H₂S-herbeigeführte Relaxation hauptsächlich über die Öffnung der K_{ATP}-Kanäle vermittelt. Das Dihydrogensulfid wirkt als Gas unabhängig von Membran-Rezeptoren direkt auf den Kanal (Zhao et al. 2001).

5.3 JB 35s verglichen mit Resveratrol

Abbildung 77: Struktur von JB 35s & Resveratrol



Die drei OH (Hydroxyl)-Gruppen wurden in der neu synthetisierten Testsubstanz durch drei F (Fluor)-Gruppen und die E-konfigurierte Ethylen-Doppelbindung durch eine methylierte Thio-Formamid-Gruppe ersetzt.

5.3.1 Wirkung von JB 35s im Überblick

Abbildung 78: Überblick der EC₅₀-Werte von JB 35s verglichen mit denen von Resveratrol an den jeweiligen Organen

Isoliertes Organ	EC ₅₀ -Wert von JB 35s (µmol/l)	EC ₅₀ -Wert von Resveratrol (µmol/l)
Aorta	-	145
Pulmonalarterie	-	126
Rechter Vorhof	37,8	-
Papillarmuskel	-	-
Darm	16,35	46,40

Durch diese Veranschaulichung konnten die EC₅₀-Konzentrationen der Wirkstoffe JB 35s und Resveratrol, erzielt an den jeweiligen Tierorganen, gut miteinander verglichen werden.

5.3.2 Versuchsreihen an der Aorta descendens

Abbildung 79: Vergleich des EC₅₀-Wertes von JB 35s mit dem des Resveratrols an der Aorta descendens

Isoliertes Organ	EC ₅₀ -Wert von JB 35s (µmol/l)	EC ₅₀ -Wert von Resveratrol (µmol/l)
Aorta	-	145

Im Rahmen der fünf Versuchsreihen an der isolierten Aorta konnte erst ab einer Konzentration von 30 µmol/l eine statistisch signifikante Dilatation beobachtet werden, wobei der EC₅₀-Wert am Organ nicht erreicht wurde. Bei 100 µmol/l war die Aorta descendens auf einen Wert von $-35,80 \pm 7,61$ %, bezogen auf den Null-prozentigen Kontrollwert, abgefallen.

In früheren Experimenten wurde der Naturstoff Resveratrol an der Aorta in den Konzentrationen 1; 3; 10; 30; 100 und 300 µmol/l untersucht. Dieser konnte auch eine konzentrationsabhängige Relaxation der glatten Muskulatur aufweisen, wobei die

Dilatierung jedoch erst ab einer Konzentration von 300 $\mu\text{mol/l}$ signifikant war und der EC_{50} -Wert bei 145 $\mu\text{mol/l}$ erreicht wurde (Lötsch 2004).

In einer Studie wurde die Wirkung von Resveratrol an männlichen Ratten geprüft, die an einer hypertensiven Krise litten. Diese wurden mit Resveratrol (2,5 mg/kg/Tag) für eine Dauer von zehn Wochen behandelt. Die Ergebnisse zeigten, dass eine Behandlung mit Trihydroxystilben einen vorteilhaften Schutz vor einer Herz-Hypertrophie und einer Herz-Dysfunktion bei SHR (Spontaneously hypertensive rats) bietet, ohne dass dabei der Blutdruck gesenkt wird. Dieser Effekt wird teilweise durch eine Reduktion des oxidativen Stresses herbeigeführt. Aus diesen Resultaten konnte der Schluss gezogen werden, dass Resveratrol bei Patienten mit Bluthochdruck einer Beeinträchtigung des Herzens entgegenwirken kann (Thandapilly et al. 2010).

5.3.3 Versuchsreihen an der Arteria pulmonalis

Abbildung 80: Vergleich des EC_{50} -Wertes von JB 35s mit dem des Resveratrols an der Arteria pulmonalis

Isoliertes Organ	EC_{50} -Wert von JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	EC_{50} -Wert von Resveratrol ($\mu\text{mol/l}$)
Pulmonalarterie	-	126

Der Effekt der Testsubstanz JB 35s wurde in fünf Versuchen an der Pulmonalarterie erläutert. Ab einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ konnte hier ebenfalls eine deutliche Dilatation des isolierten Organs festgestellt werden, die laut Irrtumswahrscheinlichkeitsberechnungen eine statistische Signifikanz aufweisen konnte.

In einer eigenen Versuchsreihe mit Resveratrol konnte gezeigt werden, dass es zunächst zu einer leichten Zunahme der Kontraktionskraft kam, die jedoch ab einer Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ wieder zu sinken begann und schließlich bei 126 $\mu\text{mol/l}$ ihren EC_{50} -Wert erreichte (Lötsch 2004).

5.3.4 Versuchsreihen am Atrium cordis dextrum

Abbildung 81: Vergleich des EC_{50} -Wertes von JB 35s mit dem des Resveratrols am Atrium cordis dextrum

Isoliertes Organ	EC_{50} -Wert von JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	EC_{50} -Wert von Resveratrol ($\mu\text{mol/l}$)
Rechter Vorhof	37,8	-

An fünf präparierten Vorhöfen wurde der Einfluss der Wirkstoffsubstanz JB 35s auf die Chronotropie untersucht, wobei der EC_{50} bei einem Wert von 37,8 $\mu\text{mol/l}$ erreicht wurde. Vier der fünf Vorhöfe schlugen nach der Zugabe der letzten Konzentration zum Organbad nicht mehr und der negative chronotrope Effekt fiel auf den Nullwert ab. Eine signifikante Wirkung von JB 35s auf den rechten Vorhof konnte ab einer Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ erzielt werden.

In den Experimenten mit Resveratrol in den Konzentrationen 1; 3; 10; 30; 100 und 300 $\mu\text{mol/l}$ konnte eine anfänglich schwach positive Wirkung auf den rechten Vorhof beobachtet werden. Allerdings wurde ab einer Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ ein Absinken der Schlagkraft festgestellt. Der EC_{50} -Wert und eine statistische Signifikanz konnten in diesen Versuchen nicht erreicht werden (Lötsch 2004).

5.3.5 Versuchsreihen am Musculus papillaris

Nach der ersten Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ konnte in den sechs durchgeführten Versuchen am Papillarmuskel ein leicht negativer Effekt auf die Inotropie aufgezeigt werden, wobei eine statistisch signifikante Wirkung ab einer Konzentration von 3 $\mu\text{mol/l}$ beobachtet wurde. Der EC_{50} -Wert konnte jedoch nicht ermittelt werden.

Dieser Versuchsablauf ähnelte dem des Resveratrols, wobei der Naturstoff anfangs zwar eine positive Wirkung auf den Papillarmuskel aufwies, welche jedoch ab einer höheren Konzentrationszugabe wieder sank. Die EC_{50} wurde auch in diesen Versuchen nicht erreicht (Lötsch 2004).

5.3.6 Versuchsreihen am terminalen Ileum

Abbildung 82: Vergleich des EC_{50} -Wertes von JB 35s mit dem des Resveratrols am terminalen Ileum

Isoliertes Organ	EC_{50}-Wert von JB 35s ($\mu\text{mol/l}$)	EC_{50}-Wert von Resveratrol ($\mu\text{mol/l}$)
Darm	16,35	46,4

Im Rahmen von sechs Versuchsabläufen am Darm wurde auf eine spasmolytische Wirkung der Testsubstanz JB 35s genauer eingegangen. Der relaxierende Effekt nahm ab einer Konzentration von 3 $\mu\text{mol/l}$ deutlich und signifikant zu, ab 30 $\mu\text{mol/l}$ galt er laut Irrtumswahrscheinlichkeit P als statistisch höchstsignifikant. Der EC_{50} -Wert wurde bei 16,35 $\mu\text{mol/l}$ eruiert.

Resveratrol wurde ebenfalls am terminalen Ileum getestet, wobei in den Konzentrationen von 1; 3; 10; 30; 100 und 300 $\mu\text{mol/l}$ der Naturstoff gemessen wurde. Eine starke Relaxation des Darms konnte aufgezeigt werden, welche jedoch erst ab einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ signifikant war. Der EC_{50} -Wert betrug 46,4 $\mu\text{mol/l}$ (Lötsch 2004).

Nachdem bereits viele Studien über Resveratrol und seine antiinflammatorischen und anti-Tumor Eigenschaften durchgeführt worden waren, wurden die Resultate neuerlicher Studien, die sich mit der Pharmakokinetik, Bioverfügbarkeit und Toxizität des Resveratrols am bzw. im Menschen auseinandersetzten, aufgezeigt. Der Naturstoff wird dabei gut absorbiert, schnell metabolisiert und in sulfo- oder glukuronidierter Form mit dem Urin ausgeschieden. Resveratrol wird durch den Körper gut vertragen und weist keine Toxizität auf (Cottart et al. 2010).

6. Zusammenfassung

In dieser Diplomarbeit wurde die Wirkung der Testsubstanzen SWS 33 und JB 35s auf einzelne isolierte Tierorgane von Meerschweinchen im Rahmen mehrerer Versuchsreihen dargestellt und erläutert.

Als Organe fungierten die Aorta descendens, Arteria pulmonalis, der Atrium cordis dextrum, Musculus papillaris und das terminale Ileum, an denen die Auswirkungen der beiden Wirkstoffsubstanzen in den Konzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ detaillierter betrachtet und aufgezeigt wurden.

Der dilatierende Effekt der Testsubstanz SWS 33 auf die drei zu testenden Tierorgane der glatten Muskulatur war besonders stark ausgeprägt und wies eine statistische Signifikanz auf. Darüber hinaus konnte ein deutlich negativer Einfluss auf die Chronotropie des rechten Vorhofes aufgezeichnet werden, welcher die EC_{50} bei einer Konzentration von 26,5 $\mu\text{mol/l}$ erreichte. Eine signifikante Wirkung auf den Papillarmuskel, welcher ein weiteres Präparat des Herzmuskels darstellt, konnte allerdings nicht wahrgenommen werden.

Ab einer Konzentration von 3 $\mu\text{mol/l}$ der Substanz SWS 33 konnte auf die Aorta, berechnet durch die Irrtumswahrscheinlichkeit P, eine statistisch höchstsignifikante dilatierende Wirkung festgestellt werden. Der 2,98 $\mu\text{mol/l}$ betragende EC_{50} -Wert der Aorta wurde graphisch ermittelt, wobei hinsichtlich der starken Relaxation der Wirkungsmechanismus von SWS 33 am Organ mit Hilfe der zwei Antagonisten – Glibenclamid und Nitro-L-Arginin – sowie des Agonisten – Phenylephrin – getestet wurde. Als Schlussfolgerung können sowohl eine Öffnung der ATP-abhängigen Kalium-Kanäle, als auch eine sympatholytische Wirkung genannt werden.

Das Resveratrol-Derivat JB 35s konnte ab einer Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ lediglich auf dem terminalen Ileum einen höchstsignifikanten Effekt verzeichnen, wobei die EC_{50} 16,35 $\mu\text{mol/l}$ betrug. Die signifikante und negative chronotrope Wirkung der Testsubstanz auf den rechten Vorhof erreichte den EC_{50} -Wert bei 37,8 $\mu\text{mol/l}$.

Die EC_{50} konnte an der Aorta, Pulmonalarterie und am Papillarmuskel nicht eruiert werden. Dennoch war bei allen drei angeführten Organen ab einer gewissen Konzentration eine statistisch signifikante Abnahme der Kontraktionskraft bemerkbar.

7. Literaturverzeichnis

- Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K (2006) Repetitorium Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 1. Auflage, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag München
- Cottart CH, Nivet-Antoine V, Laguillier-Morizot C, Beaudoux JL (2010) Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res* 54: 7-16
- Furchgott RF, De Gubareff T, Grossmann A (1959) Release of autonomic mediators in cardiac tissue by suprathreshold stimulation. *Science* 129: 328-329
- Grossi L (2009) Hydrogen sulfide induces nitric oxide release from nitrite. *Bioorg Med Chem Lett* 19 (21): 6092-6094
- Holzwarth MG (2004) E23K-Polymorphismus im Gen der KIR6.2-Untereinheit des ATP-sensitiven Kaliumkanals - Auswirkungen auf Glukosetoleranz, Insulin- und Glukagonsekretion. Dissertation Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen
- 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
- Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS (2009) Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell* (in Druck)
- Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ (2000) Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res* 47: 549-555
- Ignatowicz E, Baer-Dubowska W (2001) Resveratrol, a natural chemopreventive agent against degenerative diseases. *Pol J Pharmacol* 53: 557-569
- Kleine-Gunk B (2007) Resveratrol – Schlüssel für ein langes Leben?. *Pharm Zeit* 29: 3381-3385
- Lötsch V (2004) Wirkung von Resveratrol und eines neu synthetisierten Derivats STPAR29A auf verschiedene isolierte Präparate von Meerschweinchen. Diplomarbeit 47; 51; 55; 58; 62
- Mason J, Cardin CJ, Dennehy A (1978) The role of sulphide and sulphide oxidation in the copper molybdenum antagonism in rats and guinea pigs. *Res Vet Sci* 24: 104-108
- Mertens-Talcott SU, Percival SS (2005) Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. *Cancer Lett* 218: 141-151

- Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P, Schäfer-Korting M (2008) Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
- Netter FH (2003) Atlas der Anatomie des Menschen. 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- Paul B, Masih I, Deopujari J, Charpentier C (1999) Occurrence of resveratrol and pterostilbene in age-old darakchasava, an ayurvedic medicine from India. J Ethnopharmacol 68: 71-76
- Reiter M (1967) Die Wertbestimmung inotrop wirkender Arzneimittel am isolierten Papillarmuskel. Arzneim Forsch 17: 1249-1253
- Renaud S, de Lorgeril M (1992) Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. Lancet 339: 1523-1526
- Roche Lexikon Medizin (1999) Thekazelltumor, Thekom. 4. Auflage, Urban & Fischer Verlag München
- Rosemann S (2002) Verbesserung der Kontraktilität von Dünndarmstreifen bei nekrotisierender Pankreatitis durch NO-Antagonismus und Einfluss von Endotoxin. Dissertation Freie Universität Berlin
- Ruiz M, Brown RL, He Y, Haley TL, Karpen JW (1999) The single-channel dose-response relation is consistently steep for rod cyclic nucleotide-gated channels: implications for the interpretation of macroscopic dose-response relations. Biochemistry 38: 10642-10648
- Schröder J (2009) Resveratrol - The enzyme reactions: Biosynthesis of resveratrol, chalcone, and quercetin. Biologie Uni-Freiburg
- Seilnacht T (2010) Bauplan Schwefelwasserstoff. Deutsches Praxis-Lexikon
- Shukla N, Rossoni G, Hotston M, Sparatore A, Del Soldato P, Tazzari V, Persad R, Angelini GD, Jeremy JY (2009) Effect of hydrogen sulphide-donating sildenafil (ACS6) on erectile function and oxidative stress in rabbit isolated corpus cavernosum and in hypertensive rats. BJU Int 1522-9
- Sidhapuriwala JN, Ng SW, Bhatia M (2009) Effects of hydrogen sulfide on inflammation in caerulein-induced acute pancreatitis. J Inflamm 6:35
- Smith RP and Gosselin RE (1979) Hydrogen sulfide poisoning. J Occup Med 21: 93-97
- Stipanuk MH and Beck PW (1982) Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. Biochem J 206: 267-277

Thandapilly SJ, Wojciechowski P, Behbahani J, Louis XL, Yu L, Juric D, Kopilas MA, Anderson HD, Netticadan T (2010) Resveratrol prevents the development of pathological cardiac hypertrophy and contractile dysfunction in the SHR without lowering blood pressure. *Am J Hypertens* 192-196

Tsai SH, Lin-Shiau SY, Lin JK (1999) Suppression of nitric oxide synthase and the down-regulation of the activation of NFkappaB in macrophages by resveratrol. *Br J Pharmacol* 126: 673-680

Valenzano DR, Terzibasi E, Genade T, Cattaneo A, Domenici L, Cellerino A (2006) Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Curr Biol* 16: 296-300

Walle T, Hsieh F, DeLegge MH, Oatis JE Jr, Walle UK (2004) High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos* 32: 1377-1382

Wang R, Wang Z, Wu L (1997a) Carbon monoxide-induced vasorelaxation and the underlying mechanisms. *Br J Pharmacol* 121: 927-934

Wang R, Wu L, Wang Z (1997b) The direct effect of carbon monoxide on K_{Ca} channels in vascular smooth muscle cells. *Pflugers Arch* 434: 285-291

Wang TT, Schoene NW, Kim YS, Mizuno CS, Rimando AM (2010) Differential effects of resveratrol and its naturally occurring methylether analogs on cell cycle and apoptosis in human androgen-responsive LNCaP cancer cells. *Mol Nutr Food Res* (in Druck)

Winder CV and Winder HO (1933) The seat of action of sulfide on pulmonary ventilation. *Am J Physiol* 105: 337-352

Wong DH, Villanueva JA, Cress AB, Duleba AJ (2010) Effects of resveratrol on proliferation and apoptosis in rat ovarian theca-interstitial cells. *Mol Hum Reprod* (in Druck)

Yang G, Wu L, Bryan S, Khaper N, Mani S, Wang R (2010) Cystathionine gamma-lyase deficiency and overproliferation of smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* (in Druck)

Yokoshiki H, Sunagawa M, Seki T and Sperelakis N (1998) ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 274: C25-C37

Zhao W, Zhang J, Lu Y and Wang R (2001) The vasorelaxant effect of H_2S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener. *The EMBO Journal* 20: 6008-6016

8. Lebenslauf

Angaben zur Person:

Name: Reischl, Stephanie Brigitta
 Adresse: St. Paulgasse 2/4/20, 3500 Krems
 Staatsangehörigkeit: Österreich
 Geburtsdatum: 24.02.1984
 Geburtsort: Krems
 Eltern: Christiana und Josef Reischl



Ausbildung:

März 2009: Beginn der Diplomarbeit am Department für
 Pharmakologie und Toxikologie der Universität Wien
 Okt. 2004: Beginn des Diplomstudiums Pharmazie, Universität Wien
 Okt. 2002 – 2004: Studium der Medizin und Pharmazie, Universität Wien
 Juni 2002: Matura
 Sept. 1994 – 2002: Bundesrealgymnasium, Krems
 Sept. 1990 – 1994: Pädagogische Volksschule, Krems

Berufserfahrung:

2003 – 2009: Feriapraxis und geringfügige Beschäftigung in der
 Mohren Apotheke unter Mag. pharm. Robert Baldrian,
 3500 Krems
 Feb. 2005 – Dez. 2005: geringfügige Beschäftigung als Ordinationsgehilfin bei
 Facharzt für Orthopädie, Dr. Omar El-Shohoumi,
 2000 Stockerau