



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Pharmakologische Aktivität von zwei möglichen
H₂S-Donatoren (SWS 37 HCl und SWS 47 HCl)
an isolierten Organen von Meerschweinchen

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasser: Amir Hamzic

Matrikelnummer: 0408177

Studienrichtung: Pharmazie

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

Wien, August 2010

Danksagung

Ich möchte mich zuerst bei meinen Eltern Sevala und Hadzan Hamzic bedanken, die mich in all den Jahren meines Studiums sowohl finanziell als auch geistig unterstützt haben. Vor allem in schwierigen Phasen war ihr Rückhalt ein wichtiger Grundstein für meinen Erfolg, genauso wie meine Schwester Irma, die mir immer zur Seite stand.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinem Diplomarbeitsbetreuer Ao. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik herzlichst bedanken, der mir mit seinem Engagement, seiner freundlichen Art, seinem Enthusiasmus stets zur Seite stand und mit seinem Sinn für Humor den manchmal monotonen Arbeitstag der Studenten bereicherte.

Mein Dank geht auch an die Arbeitsgruppe um Ao. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker aus dem Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie. An dieser Stelle möchte ich mich auch bei Mag. Gerda Brunhofer und Dr. Walter Granig bedanken, die für die Bereitstellung der Substanzen verantwortlich waren.

Last but not least möchte ich mich bei den Kollegen und Kolleginnen, die immer ein offenes Ohr für mich hatten und mit denen ich viel Spaß während der Diplomarbeit hatte, bedanken.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
2. Ziel der Arbeit.....	4
3. Material und Methodik.....	5
3.1. Versuchsvorbereitung.....	5
3.2. Fixierung der Präparate.....	6
3.2.1. Aorta descendens.....	6
3.2.2. Terminales Ileum.....	7
3.2.3. Arteria pulmonalis.....	7
3.2.4. Musculus papillaris.....	7
3.2.5. Atrium dexter.....	7
3.3. Messung der Wirkung auf die Organe.....	8
3.3.1. Terminales Ileum.....	8
3.3.2. Atrium dexter.....	8
3.3.3. Musculus papillaris.....	9
3.3.4. Aorta descendens.....	9
3.3.5. Arteria pulmonalis.....	10
3.4. Verwendete Materialien.....	10
3.4.1. Tyrodelösung.....	10
3.4.2. Lösungsmittel.....	11
3.4.3. Versuchstiere.....	13
3.4.4. Versuchssubstanzen.....	13

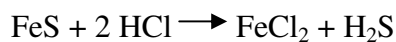
3.4.4.1. SWS 37 HCl.....	13
3.4.4.2. SWS 47 HCl.....	14
3.4.5. Verwendete Apparaturen.....	14
3.4.5.1. Apparatur 1.....	15
3.4.5.2. Apparatur 2.....	16
3.4.5.3. Kraftwandler.....	17
3.4.6. Begasung.....	17
3.4.7. Verwendete Organe.....	18
3.4.7.1. Arteria pulmonalis.....	18
3.4.7.2. Musculus papillaris.....	18
3.4.7.3. Aorta descendens.....	18
3.4.7.4. Terminales Ileum.....	21
3.4.7.5. Atrium dexter.....	21
3.5. Wirkmechanismus von SWS 47 HCl an der	
Aorta.....	22
3.5.1. Nitro-L-Arginin.....	22
3.5.2. Glibenclamid.....	23
3.6. Auswertung der Daten und Statistik.....	24
3.6.1. Atrium dexter.....	24
3.6.2. Aorta descendens, Arteria pulmonalis, terminales Ileum.....	24
3.6.3. Musculus papillaris.....	24
3.6.4. Auswertung (Statistik).....	25
4. Ergebnisse.....	26

4.1. SWS 37 HCl.....	26
4.1.1. Aorta descendens.....	26
4.1.2. Terminales Ileum.....	29
4.1.3. Arteria pulmonalis.....	32
4.1.4. Atrium dexter.....	35
4.1.5. Musculus papillaris.....	38
4.2. SWS 47 HCl.....	41
4.2.1. Aorta descendens.....	41
4.2.2. Terminales Ileum.....	44
4.2.3. Arteria pulmonalis.....	47
4.2.4. Atrium dexter.....	50
4.2.5. Musculus papillaris.....	53
4.3. Wirkmechanismus von SWS 47 HCl.....	56
4.3.1. Wirkung von Nitro-L-Arginin auf die Aorta descendens.....	56
4.3.2. Wirkung von SWS 47 im Zusammenhang mit Glibenclamid auf die Aorta.....	59
5. Diskussion.....	64
6. Zusammenfassung.....	68
7. Literaturverzeichnis.....	69
8. Lebenslauf.....	71

1. Einleitung

Schwefelwasserstoff ist ein übel riechendes, stark giftiges Gas. Es stellt eine Verbindung aus Schwefel und Wasserstoff dar, mit der chemischen Formel H_2S . Schwefelwasserstoff verursacht schon in extrem geringen Konzentrationen den typischen Geruch von faulen Eiern, der bei der Zersetzung von Proteinen aus schwefelhaltigen Aminosäuren durch Fäulnis- und Schwefelbakterien entsteht. H_2S ist brennbar, farblos und in Wasser wenig, in Alkohol etwas besser löslich, gleichzeitig ist er eine schwache Säure, deren Salze die Sulfide und Hydrogensulfide sind.

Schwefelwasserstoff lässt sich im Labor herstellen, indem man Salzsäure auf Eisen(II)-sulfid tropfen lässt:



Während H_2S in niedrigen Konzentrationen an seinem typischen Geruch leicht bemerkt werden kann, riecht er in höheren Konzentrationen süßlich. Da es dabei außerdem rasch zu einer Lähmung des Geruchssinns kommt, wird er unter Umständen nicht wahrgenommen.

Am häufigsten kommen Schwefelwasserstoffvergiftungen bei Arbeiten in Abwasserkanälen sowie bei Jauchgrubenunfällen vor. Im Organismus wird H_2S zu Sulfat oxidiert und als solches ausgeschieden (Mutschler et al. 2008).

Der genaue Wirkmechanismus einer H_2S -Vergiftung ist noch nicht geklärt. In höheren Konzentrationen blockiert Schwefelwasserstoff bzw. das aus diesem im Organismus gebildete Hydrogensulfid-Ion wie Blausäure die eisenhaltigen Atemenzyme (Mutschler et al. 2008).

Darüber hinaus ist anzunehmen, dass H_2S eine Störung des Zellstoffwechsels mit konsekutiver Hypoxie bewirkt. Die Bildung von Sulfhämoglobin aus Methämoglobin tritt erst postmortal nach Schwefelwasserstoffvergiftungen auf.

Die Entstehung von H_2S erfolgt auch endogen im Körper, hier spielen die Cystathion-beta-Synthase und die Cystathion-gamma-Lyase eine wichtige Rolle (Stipanuk und Beck 1982, Hosoki et al. 1997)

Bei der akuten Vergiftung durch das Gas kommt es rasch zu einer zentralen Atemlähmung, bei langsamer verlaufender Vergiftung zur Reizung der Augen und Atemwege, Übelkeit, Erbrechen Atemnot und Krämpfen. Überlebt der Vergiftete, können Schäden des Myokards und des ZNS zurückbleiben.

Die Therapie erfolgt durch künstliche Beatmung, im Übrigen symptomatisch. Auch wird die Applikation von 4-DMAP zur Bildung von Methämoglobin empfohlen, das eine höhere Affinität zu Hydrogensulfid-Ionen als die Cytochromoxidase besitzt (Mutschler et al. 2008).

Mehrere an diversen Instituten durchgeführte Studien zeigten interessante neue Einblicke in die Wirkweise von Schwefelwasserstoff. Diese belegen, dass H_2S neben seiner toxischen auch physiologische Wirkungen besitzt.

Es ist daher eine Analogie zu anderen endogenen Transmittern wie z.B. NO oder CO zu erkennen (Wang et al. 1997). Diese sind vor allem im kardiovaskulären Bereich von großer Bedeutung und gewinnen immer mehr an Signifikanz.

Auch auf Entzündungsprozesse scheint H_2S einen Einfluss zu nehmen. Es induziert nämlich die Apoptose von neutrophilen Leukozyten und blockt die Expression von inflammatorischen Leukozyten sowie Adhäsionsmolekülen (Zanardo et al. 2006). Dies wurde an Labormäusen getestet.

Auf die Mortalitätsrate durch Myokardinfarkt konnte durch Versuche mit Ratten ein positiver Einfluss genommen werden. Die Rate sank von 35 % auf 27,5 % nach Anwendung von NaHS. Dies ist auf eine endogene Produktion im Herz sowie in den Gefäßen zurückzuführen (Zhu et al. 2006).

Eine weitere wichtige Facette ist die Rolle des Schwefelwasserstoffs als Neuromodulator. Als Signalmolekül wirkt es zusammen mit NO an wichtigen Prozessen im ZNS. Hier wird

speziell sein Zusammenhang mit neurodegenerativen Erkrankungen wie z.B. Morbus Alzheimer diskutiert (Qu et al. 2007).

Die vasodilatierende Wirkung von H_2S beruht auf der Öffnung von ATP-abhängigen Kaliumkanälen und somit einer Hyperpolarisation der Membran, was eine Erschlaffung der glatten Muskulatur zur Folge hat (Zhao et al. 2001).

Ein negativer Effekt von H_2S ist die Verschlimmerung der Symptome bei einem septischen Schock. Hier konnte bewiesen werden, dass nach Gabe von PAG, einem Inhibitor der Schwefelwasserstoffsynthese, die Symptome sich bessern (Collin et al. 2005).

Es konnte in einer Studie bewiesen werden, dass nach Konsum von Knoblauch die in ihm enthaltenen organischen Polysulfide im Körper in H_2S umgewandelt werden und so einen vasodilatatorischen und kardioprotektiven Effekt haben (Benavides et al. 2007).

Eine künstlich generierte PAH (pulmonale arterielle Hypertonie) konnte durch Einsatz von NaHS gelindert werden (Huang et al. 2008). Dies ist von großer Bedeutung, da diese Krankheit eine Orphan Disease, also ein seltenes Leiden, darstellt.

Auf Grund dieser und mehrerer Studien kann man also sehen, dass Schwefelwasserstoff einen vielseitigen Messenger im Körper darstellt, dessen Wirkungen sich über mehrere Bereiche erstrecken. Er ist vasodilatierend, kardioprotektiv, neuroprotektiv und unter Umständen bei pulmonalen Erkrankungen einsetzbar.

H_2S -Donatoren als Medikamente der Zukunft sind auch sicherlich eine attraktive Alternative zur Standardbehandlung der essentiellen Hypertonie, vor allem bei Unverträglichkeiten der herkömmlichen Präparate.

2. Ziel der Arbeit

Das primäre Ziel bestand darin, die von der Arbeitsgruppe um Ao. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker aus dem Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie synthetisierten Substanzen SWS 37 HCl und SWS 47 HCl hinsichtlich ihrer Wirkungen zu testen. Das Hauptaugenmerk lag dabei auf den den Meerschweinchen entnommenen Organen Aorta, Lungenarterie, Darm, Papillarmuskel und rechtem Vorhof. Bei den ersten drei wurde ein vasodilatatorischer bzw. spasmolytischer Effekt erwartet, bei den letzten zwei hingegen ein negativ inotroper bzw. chronotroper Effekt.

Durch verschiedene Versuchsreihen wurde angestrebt, diese Annahmen zu bestätigen, wobei man mit standardisierten Methoden arbeitete.

Um die Experimente noch um eine Facette zu erweitern, wollte man herausfinden durch welchen Wirkmechanismus die Substanz genau wirkt. Diese Versuche wurden mit SWS 47 HCl durchgeführt, weil bei diesem der niedrigste EC_{50} ermittelt wurde.

3. Material und Methodik

3.1 Versuchsvorbereitung

Die Versuche begannen jeden Tag damit, dass die zur Verfügung stehenden Wasserbäder eingeschaltet wurden, um bei Beginn eine physiologische Temperatur von 37 Grad Celsius zu gewährleisten. Der nächste Schritt war es eine Tyrode-Lösung herzustellen, welche dann in entsprechende Gefäße gefüllt wurde, die für die Präparierung notwendig waren. Meist waren dies fünf Bechergläser verschiedener Größe. Des Weiteren musste sichergestellt werden, dass die Lösung mindestens 15 min. mit Carbogen begast wurde, bevor sie verwendet werden konnte. Nachdem Befüllen der kleinen Behälter mit Tyrodelösung konnte mit der Präparation der Organe begonnen werden.

Hierzu wurde immer ein Meerschweinchen aus dem Käfig geholt und danach per Genickschlag getötet. Beim Aufschneiden konnte man beim Versuchstier noch anoxische Krämpfe beobachten, welche mit der Zeit verschwanden. Zunächst wurde das Meerschweinchen entlang des Bauches aufgeschnitten, um eine optimale Organentnahme zu gewährleisten. Zuerst wurde das Herz herausgeschnitten und sofort in Tyrodelösung getaucht, danach wurde ein Teil des terminalen Ileums an einem Ende mit einem Faden fixiert und wiederum in die Lösung gegeben.

Als letztes kam die Aorta an die Reihe, hier musste man besonders vorsichtig sein und entlang der Wirbelsäule schneiden, da es sonst Einschnitte gegeben hätte, welche für die Experimente unvorteilhaft gewesen wären. Nach dem Herausschneiden der Organe wurde in einen anderen Präparierraum gewechselt, in dem Mikroskope vorhanden waren. Hier ging es nun darum die Organe so darauf auszurichten, dass sie in eine Messapparatur eingehängt werden konnten. Gleichzeitig wurde immer sichergestellt, dass die Teile die gerade nicht in Verwendung waren stets begast wurden. Aus dem Herzen wurden noch drei Teile herausgeschnitten, nämlich der Atrium dexter, die Arteria pulmonalis und der Musculus papillaris.

Abbildung 1: Präparation mit Hilfe von Stereomikroskop und Werkzeugen



3.2. Fixierung der Präparate

3.2.1. Aorta descendens

Zur Fixierung der Aorta wurden keine Silberhäkchen verwendet bzw. benötigt, da die einzelnen Stückchen ringförmig vorlagen und man sie einfach zwischen den zwei Drähten an der Apparatur befestigen konnte.

Abbildung 2: Aorta descendens



3.2.2. Terminales Ileum

Beim Darm mussten an beiden Enden des jeweiligen Stückes Silberhäkchen angebracht werden, welche mithilfe von Fäden angebunden wurden. Um zu unterscheiden wo Ober- und Unterseite ist wählte man die Farben rot und schwarz. Darauf folgte die Befestigung an der Apparatur.

3.2.3 Arteria pulmonalis

Hier wurde genau so vorgegangen wie bei der Aorta decedens, nämlich ohne Silberhäkchen als Hilfe zur Befestigung.

3.2.4 Musculus papillaris

Die Papillarmuskeln wurden am Ansatz herausgeschnitten, dies war erst nachdem das Herz entlang des Septums aufgeklappt wurde. Wiederum verwendete man hier Silberhäkchen auf einer Seite für eine günstige Fixierung.

3.2.5. Atrium dexter

Der rechte Vorhof stellte eine Besonderheit dar, denn sobald er in Tyrode war, entwickelte er eine spontane Aktivität. Hier musste man besonders darauf achten, dass stets begast wurde, sonst würde er schnell absterben. Hier wurde an zwei Enden fixiert, und zwar an der Spitze und am Fettgewebe, das gut durch seine weiße Farbe erkennbar ist. Nach dem Anbringen der Häkchen wurde das Präparat so schnell wie möglich an der Apparatur fixiert und mit dem Versuch begonnen.

3.3 Messung der Wirkung auf die Organe

3.3.1 Terminales Ileum

Der Darm wurde so befestigt, dass das obere Ende zum Leerdarm zeigte, jedoch wurde zunächst keine Spannung angelegt. In das vorgewärmte Bad wurde das Präparat mit höchster Vorsicht eingetaucht. Dann wurde der Flachbettschreiber aktiviert, und es wurde mit der Zero-Funktion solange gedreht, bis der Schreiber bei Null war. Als nächstes wurde der Amplifier eingeschaltet, was zu einer Verschiebung des Nullpunktes führte. Dies konnte man beheben, indem man am Verstärker wieder auf Null stellte. Anschließend wurde der Darm mit Hilfe des Feintriebs auf eine Vorspannung von 4.92 mN gebracht, danach bediente man sich wieder des Amplifiers, um die Nullposition zu erreichen, es folgte eine Pause von 15 Minuten.

Nach dieser Unterbrechung konnte man etwaige Verschiebungen vom Nullpunkt mittels Feintrieb wieder korrigieren. Danach wurde mit der Aufzeichnung begonnen, indem die Tyrodelösung abgelassen wurde und unmittelbar danach 25 ml einer 60 mM KCl-Lösung (450 mg KCl in 100 ml Tyrode) dazugegeben wurden. Die KCl-Lösung diente der Kontraktion, welche wellenförmig verlief. Es konnte beobachtet werden wie sie anfangs schnell anstieg, wieder fiel, wieder leicht anstieg um sich dann zu stabilisieren. 45 Minuten betrug die Wartezeit, ehe man die erste Konzentration der Versuchssubstanz injizieren konnte. Jedoch erwies sich dies besonders beim Darm manchmal als besonders schwierig, da es passieren konnte, dass die Kontraktion ohne Zugabe von SWS abnahm. Diese Intervalle wiederholten sich immer wieder, bis man die letzte Menge (100 μ M) dazugegeben hatte. Bei vorzeitigem Erreichen des Nullpunktes wurde der Versuch beendet.

3.3.2 Atrium dexter

Der Vorhof war mit besonderer Vorsicht zu behandeln, da viele Faktoren Einfluss auf den Versuch nehmen konnten. Er wurde nach Präparierung in der Apparatur fixiert, und zwar so, dass er locker zwischen den zwei Drähten hing. Nach Eintauchen ins Organbad wurden die

Geräte aktiviert, auf 5 mV und 5 mm/sec gestellt. Mit Zero wurde auf Null gestellt, dem folgte wie oben beim Darm eine Vorspannung, diesmal jedoch betrug sie 10,4 mN. Zuerst wurde immer ein Kontrolldurchgang von 45 Minuten durchgeführt, bis sich die Anzahl der Zacken nicht mehr oder minimal änderte.

Dann herrschten konstante Bedingungen, und es konnte gemessen werden. Es wurde alle 5 Minuten ein Durchgang gemacht, indem man die Zacken zählte, die sich über sechs Kästchen erstreckten. Diese Kästchen bedeuteten eine Dauer von 12 Sekunden. Nach der Zugabe der Substanz machte man nach dem gleichen Schema weiter. Anmerken kann man noch, dass hier die Begasung besonders essentiell für den Versuchserfolg war.

3.3.3 Musculus papillaris

Der Papillarmuskel wurde ins Organbad eingesenkt und die Geräte wurden aktiviert. Man stellte auf eine Vorspannung von 3,92 mN ein und korrigierte, wenn nötig mit dem Feintrieb auf den Nullpunkt. Das Präparat musste mit einem Reizgerät stimuliert werden, und zwar mit 10 Rechteckimpulsen/ms und 1 Hz. Die Stromstärke wurde immer so reguliert, dass sie ca. 10-15 % über dem Wert lag wo noch gerade eine Stimulation erfolgreich war. Wäre die Reizung zu stark gewesen, wäre durch übermäßige Catecholaminausschüttung der Versuch erfolglos gewesen.

Bei der Messung wurde gewartet, bis sich eine Amplitude von min. 1,5 cm bildete, dann konnte der Versuch gestartet werden. Es wurde wie beim Atrium wieder alle 5 min. gemessen, jedoch wurden nur 6 Amplituden aufgezeichnet. Am Ende jeder Konzentration stellte man den Schreiber auf eine Geschwindigkeit von 20 mm/sec ein, um einen übersichtlicheren Graphen zu erhalten.

3.3.4 Aorta descendens

Die Aorta wurde, wie oben beschrieben, in der Halterung locker fixiert und ins Organbad getaucht. Wie beim Darm musste man mit der Zero-Funktion am Flachbettschreiber auf den Nullpunkt einstellen. Danach wurde der Amplifier eingeschaltet, und bei einer

Nullpunktverschiebung musste abermals am Verstärker adjustiert werden. Eine Vorspannung von 19.6 mN wurde angebracht, das heißt, dass bei 10 mV mittels Feintrieb auf 10 cm gestellt wurde. Mit dem Amplifier regulierte man wieder auf den Nullpunkt und wartete 15 Minuten. Nach der Pause stellte man auf 5 mV um, ließ die Tyrode abfließen, startete die Aufzeichnung und gab 25 ml einer 90 mM KCl-Lösung(entspricht 0,67 g KCl in 100 ml Tyrode) hinzu. Die darauf folgende Reaktion war eine Kontraktion, die idealerweise 45 min. dauerte, ehe sie sich stabilisierte. Nun konnte mit der Einspritzung der ersten Konzentration begonnen werden. Wiederum wurden Abstände von einer Dreiviertelstunde zwischen den jeweiligen Injektionen eingehalten.

3.3.5 Arteria pulmonalis

Bei der Arteria pulmonalis wurde wie bei der Aorta descendens vorgegangen, mit dem einzigen Unterschied, dass man die ganze Zeit bei 5 mV arbeitete und die Messungen durchführte.

3.4 Verwendete Materialien

3.4.1. Tyrodelösung

Diese Lösung war essentiell für den Versuchserfolg, da nur durch ihr Beisein die Organe länger überleben konnten, um repräsentative Messungen durchzuführen. Ihren Namen verdankt diese Mischung verschiedener Substanzen Maurice Vejuy Tyrode, einem berühmten Pharmakologen. Es ist eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung und musste jeden Morgen vor den hergestellt werden, bevor die Versuche begannen. Die wichtigen Bestandteile waren NaCl, KCl, KH_2PO_4 , MgSO_4 und NaHCO_3 , welche teils in flüssiger, teils in fester Form vorlagen. Diese Bestandteile wurden nach dem in der Tabelle angeführten Schema hinzugegeben und mit Aqua destillata in einem 2 L-Messkolben aufgefüllt.

Anschließend wurde darin die Glucose gelöst, bevor es dann zum Begasen ging, das 15 Minuten dauerte. Dabei wurde über einen kleinen Schlauch Carbogengas, ein Gemisch aus 95% CO₂ und 5% O₂, hinzugeführt, um später für die Organe bessere Bedingungen zu schaffen. Nach einer Viertelstunde tropfte man noch CaCl₂-Lösung hinzu, jedoch langsam da sich sonst Ca-Salze gebildet hätten, das man an einer weißen Trübung erkannt hätte. Man füllte noch bis zur Markierung den Messkolben mit Wasser auf und konnte schon die Präparation beginnen.

Tabelle 1: Komponenten der Tyrodelösung

Substanz	Molekulargewicht	Stocklösung	ml/Stocklösung/l Tyrode	mmol/l
NaCl	58,442 g/mol	1000,25 g/5l	33,60	115,01
KCl	74,550 g/mol	50,33 g/5l	35,00	4,73
NaHCO ₃	84,010 g/mol	125,00 g/5l	83,70	24,91
MgSO ₄	120,370 g/mol	147,02 g/5l	1,18	0,29
KH ₂ PO ₄	136,090 g/mol	62,00 g/250 ml	1,18	2,15
CaCl ₂	110,980 g/mol	34,00 g/250 ml	3,20	3,92
Glucose	180,160 g/mol	Reinsubstanz	1,98	-

3.4.2 Lösungsmittel

Für die Lösung der Substanzen SWS37-HCl und SWS47-HCl wurde Aqua destillata verwendet. Es wurde über das Molekulargewicht die benötigte Menge ausgerechnet und eingewogen. Anschließend wurde in 100 µl Aqua destillata gelöst und im Kühlschrank aufbewahrt, bis es für den Versuch benötigt wurde. Es standen Organbäder von einem Fassungsvermögen von 8 oder 25 ml zur Verfügung, je nachdem, welches verwendet wurde musste eine entsprechende Menge an Substanz eingewogen werden.

Tabelle 2: Einwaage der Substanzen

Substanz	Molekulargewicht	Volumen des Organbads	Einwaage Substanz (100 µmol/l)
SWS 37	208,75 g/mol	8 ml	0,17
		25 ml	0,52
SWS 47	246,80 g/mol	8 ml	0,20 mg
		25 ml	0,62 mg

Tabelle 3: Pipettierschema

Menge der Stammlösung		Endkonzentration
SWS 37	SWS 47	
1 µl	1 µl	1 µmol/l
2 µl	2 µl	3 µmol/l
7 µl	7 µl	10 µmol/l
20 µl	20 µl	30 µmol/l
70 µl	70 µl	100 µmol/l



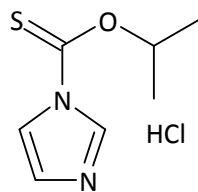
3.4.3 Versuchstiere

Es wurden Meerschweinchen, so genannte TRIK-Stämme verwendet. Es handelte sich dabei ausschließlich um weibliche Tiere, welche zwischen 300 und 600 g wogen. Der Grund warum man Meerschweinchen für die Versuche heranzog ist, weil deren Ionenkanäle den der Menschen am meisten ähneln. Die Größe der Organe war ein weiterer ausschlaggebender Punkt, da diese auf Grund ihrer Größe in die speziellen Apparaturen hineinpassten.

3.4.4 Versuchssubstanzen

3.4.4.1. SWS 37 HCl

Abbildung 3: Strukturformel von SWS 37 HCl

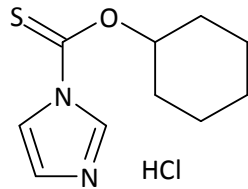


MG: 208,75 g/mol

Nomenklatur: 2-[[1-(1-Imidazolyl)thiocarbonyl]oxy]propan-hydrochlorid

3.4.4.2. SWS 47 HCl

Abbildung 4: Strukturformel von SWS 47 HCl



MG: 246,80 g/mol

Nomenklatur: 1-[[[(1-Imidazolyl)thiocarbonyl]oxy]cyclohexan-hydrochlorid

Die Testsubstanzen wurden im Department für Pharmazeutische/Medizinische Chemie hergestellt, nämlich von Ao. Univ. Prof Dr. Thomas Erker und seinem Team, und standen dann für die Versuche zur Verfügung.

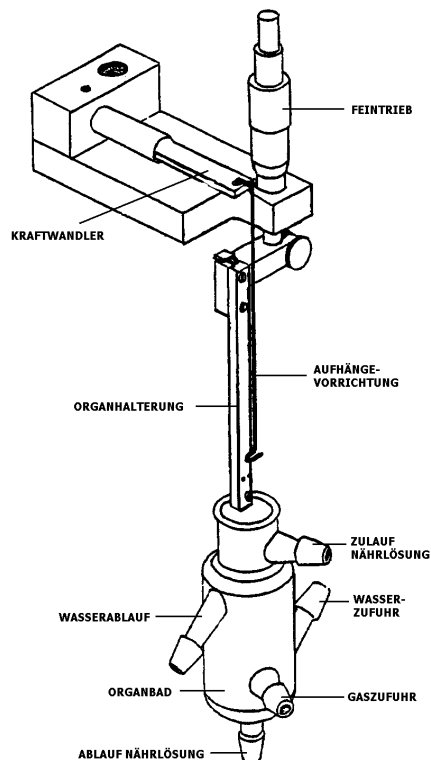
3.4.5 Verwendete Apparaturen

Für die Versuche standen zwei Arten von Apparaturen zur Verfügung. Apparatur 1 wurde verwendet für Aorta, Arteria pulmonalis, terminales Ileum und Atrium dexter. Apparatur 2 dagegen wurde nur für die Papillarmuskeln verwendet. Beide Vorrichtungen hatten jedoch gemeinsam, dass die Organe an Silberhäkchen fixiert waren, um eine elektrische Signalübertragung an den Schreiber zu ermöglichen. Der Kraftwandler hatte die Aufgabe jede Bewegung oder Kontraktion in ein elektrisches Signal umzuwandeln und weiterzuleiten. Der Schreiber hielt dann jede Veränderung fest, wobei noch zusätzlich ein Amplifier (Verstärker) dazwischengeschaltet war.

3.4.5.1 Apparatur 1

Diese Apparatur wurde wie oben beschrieben für Aorta, Lungenarterie, Darm und Vorhof verwendet. Dabei wurde das Präparat an zwei Silberdrähten fixiert und anschließend in das mit 37 Grad Celsius vorgewärmte Organbad getaucht. Seitlich befand sich der Schlauch für die Gaszufuhr, die essentiell war und über kleine Regler am Ansatz eingestellt werden konnte. Mit dem Feintrieb regelte man die Vorspannung. Wie bereits oben erwähnt befand sich auch hier ein Kraftwandler mit dazwischen geschaltetem Amplifier, welche jede Bewegung des Organs in ein elektrisches Signal übersetzten und an den Schreiber weiterleiteten.

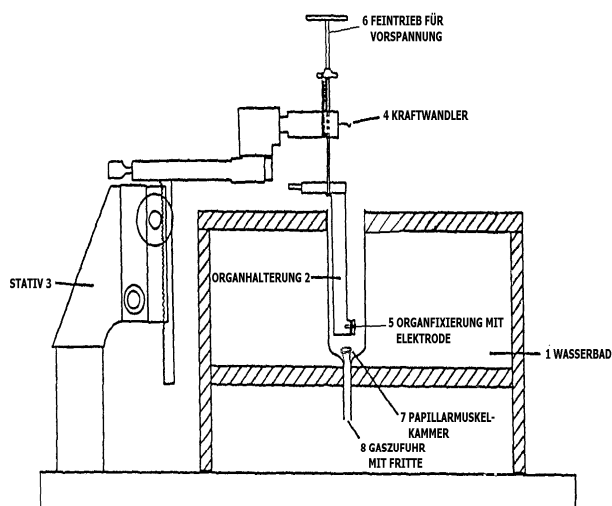
Abbildung 4: Apparatur 1



3.4.5.2 Apparatur 2

Diese Apparatur wurde ausschließlich für den Papillarmuskel verwendet. Sie unterschied sich ein wenig im Aufbau von der Apparatur 1. Es wurde hier nämlich nicht an zwei Silberdrähtchen fixiert, sondern das Organ wurde zwischen einer Elektrode und einer Plexiglasscheibe mittels Schraubenzieher befestigt. Es sollten danach noch etwa zwei Drittel des Organs herausragen. Dann wurde das Präparat ins Organbad getaucht, das ein Fassungsvermögen von 25 ml hatte und mit Tyrode gefüllt war. Anschließend wartete man 10 Minuten bis sich die Temperatur des Papillarmuskels mit dem der Nährstofflösung anglich. Das Carbogengas wurde von unten zugeführt und konnte über eine kleine Schraube verstärkt oder geschwächt werden. Da der Papillarmuskel nicht die Fähigkeit zur Spontanaktivität besitzt, musste er stimuliert werden, und zwar mit einem Accupulser Stimulator (Model Isostim 301T, WPI, Hamden, CT, USA). Wie bei Apparatur 1 beschrieben findet man hier auch einen Kraftwandler und Amplifier, welche eine Kontraktion in elektrische Signale umwandeln und an den Schreiber senden.

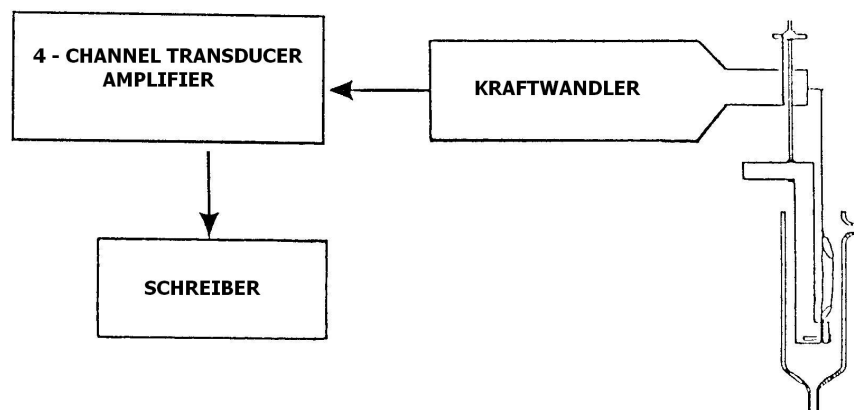
Abbildung 5: Apparatur 2



3.4.5.3 Kraftwandler

Der bereits oben erwähnte Kraftwandler funktioniert nach dem Prinzip der „Wheatstoneschen Brücke“. Er wandelt mechanische Änderungen des Präparates in elektrische Signale um, welche über den Verstärker den Schreiber erreichen und aufgezeichnet werden. Dabei wird über einen Dehnungstreifen eine Kontraktion detektiert, und ein konstanter Strom wird über einen Widerstandswandler verändert. Diese Änderung wird über den Amplifier(4-Channel Transducer Amplifier, WPI) zum Flachbettschreiber(Flatbed Recorder, Modell BD 112, Kipp&Zonen) transferiert und auf Millimeterpapier festgehalten.

Abbildung 6: Prinzip der Signalübertragung



3.4.6 Begasung

Für die Versuche war die Begasung unentbehrlich, da sie einen konstanten pH-Wert und ausreichende O₂-Versorgung gewährleistete. An jeder Apparatur war ein Schlauch vorhanden, der das Carbogengas zu den Organbädern leitete.

Abbildung 7: Gaszufuhr



3.4.7. Verwendete Organe

Es ist anzumerken, dass beim Präparieren der Organe höchste Vorsicht gegeben war, und auf Grund deren Größe war es schwer mit freiem Auge zu arbeiten. Daher bediente man sich eines Stereomikroskops (Nikon, SMZ-10A) um einen präziseren Blick zu haben. Weiters standen Petrischalen, die mit einer Korkscheibe belegt und mit Tyrode gefüllt waren, für das Anbringen der Silberhäkchen zur Verfügung. Als Hilfswerkzeuge bei der Fixierung gab es Nadeln, Federgriffscheren und Pipetten, deren Zweck es war die Organe von innen zu reinigen.

3.4.7.1. Arteria pulmonalis

Die Lungenarterie stammt aus dem Truncus pulmonalis und leitet sauerstoffarmes Blut zur Lunge. Meist konnte man nur 2-3 Stückchen entwenden, da der freie Teil ca. 1 cm lang herausragt. Fettgewebe und Blutgerinnsel musste man zusätzlich entfernen, danach wurde begast, und man konnte schon die Versuche beginnen.

3.4.7.2. Musculus papillaris

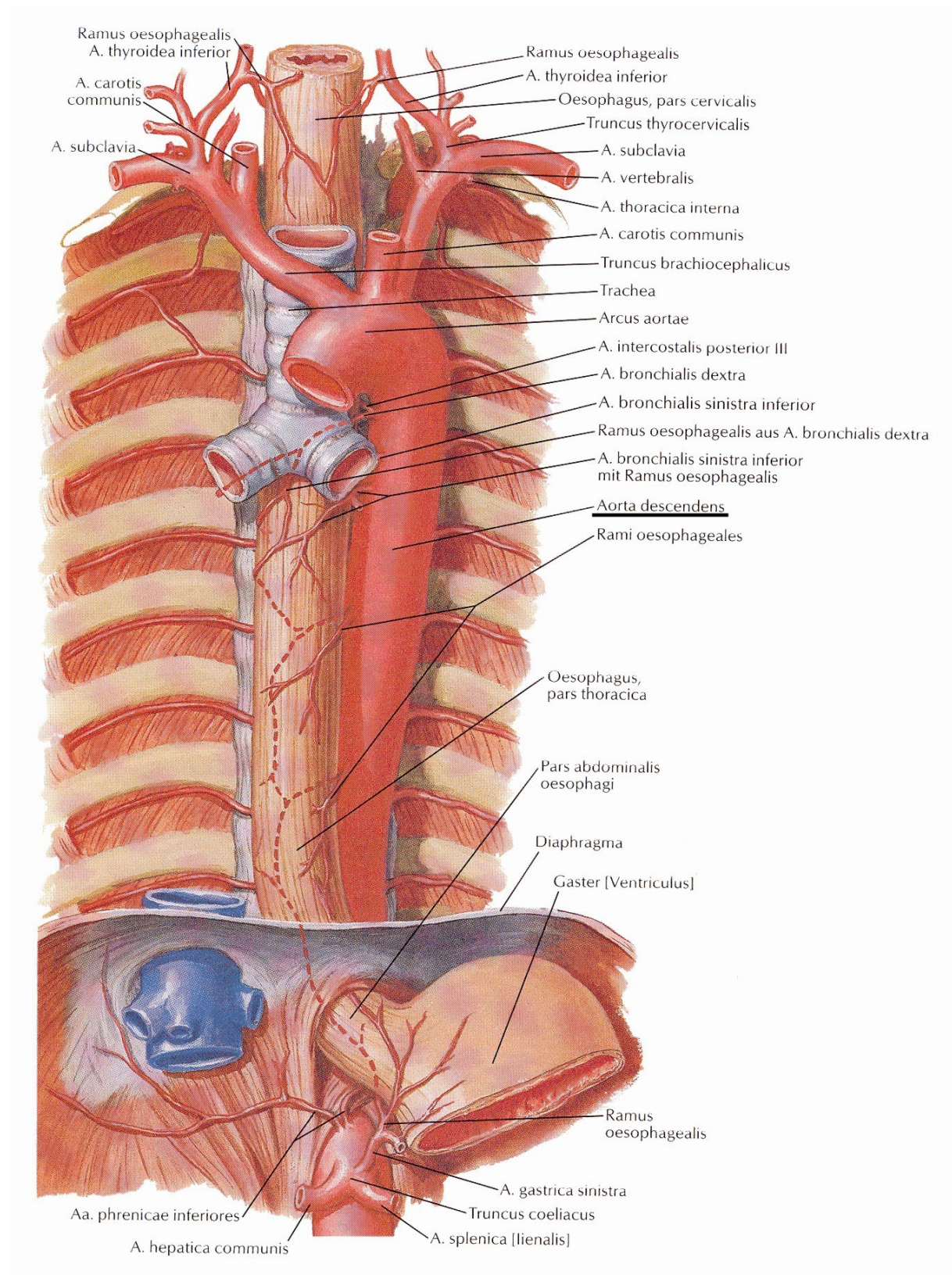
Die Papillarmuskeln befanden sich in den Herzkammern und wurden durch Öffnen entlang des Septums heraus geschnitten. Dabei wurde an einem Ende mit einem Faden eine Schlaufe unterhalb des Muskels durchgezogen und mit einem Silberhäkchen ein Knoten gemacht. Dann machte man zusätzlich einen und trennte den Papillarmuskel an den Ansätzen ab. Danach gab man das Präparat wie bei allen anderen sofort in begaste Tyrode.

3.4.7.3. Aorta descendens

Hier musste man beim Entfernen mit besonderer Vorsicht zu Werke gehen, denn man konnte leicht dieses empfindliche Organ an mehreren Stellen ungewollt durchtrennen. Optimal war es den Brustkorb durchzubiegen und die Aorta freizulegen. Dann schnitt man entlang der Wirbelsäule ein ca. 4 cm langes Stück ab, wobei man sich mit einer Pinzette half, die das

freihängende Ende festhielt. Anschließend gab man die Aorta in begaste Tyrodelösung und fing mit dem Zerstückeln an. Dabei wurde sie mit Nadeln in einer Petrischale fixiert, von Blutgerinnseln und Fettgewebe befreit und mit einer Schere in ca. 10-15 gleich lange Stückchen geschnitten. Danach konnte mit den Versuchen begonnen werden.

Abbildung 8: Aorta descendens



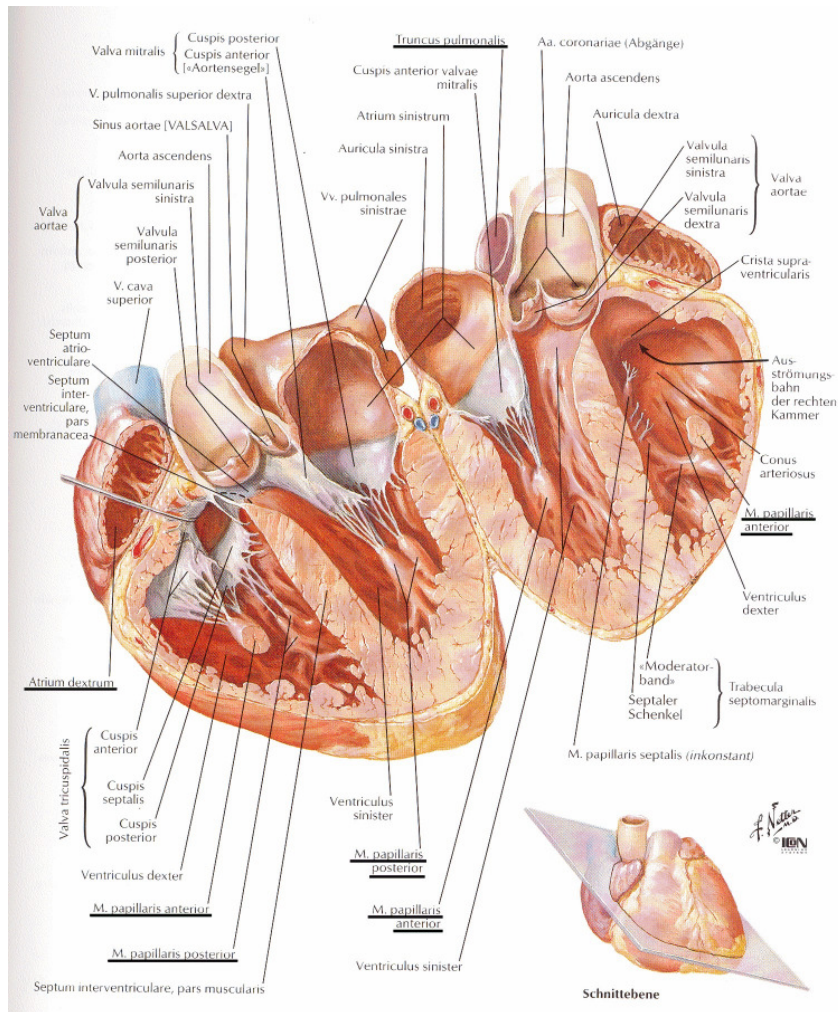
3.4.7.4. Terminales Ileum

Es wurde ein ca. 20 cm langes Stück vom Dünndarm herausgeschnitten, dabei musste man den Übergang zum Darm finden. Am Ende des Leerdarms wurde ein roter Faden angebracht, um bei der Präparierung und den Versuchen keine Irrtümer zu begehen. Danach wurde wie bei der Aorta die Petrischale zur Hilfe genommen um das Organ zu präparieren. Man schnitt ein ca. 1 cm langes Stück ab und fixierte beide Enden mit je einer Nadel. Dann machte man optimalerweise einen diagonalen Schnitt an beiden Enden um später eine bessere Durchlässigkeit zu haben. An beiden Enden wurden wieder Silberhäkchen angebracht, um es an der Apparatur befestigen zu können. Zum Schluss wurde immer mit einer Pipette getestet, ob sich eventuell noch Schmutz im Darm befindet. Wenn sich am anderen Ende Bläschen bildeten war der Darm gereinigt und präpariert für die Versuche.

3.4.7.5. Atrium dexter

Der rechte Vorhof wurde aus dem Herzen herausgeschnitten und von Fett und umliegendem Gewebe befreit. Dann fixierte man das obere und untere Ende mit je einer Nadel um die Silberhäkchen anzubringen. Dabei bediente man sich wieder Fäden verschiedener Farbe, um unterscheiden zu können. Es wurden zwei Knoten gemacht, und danach kam das Organ gleich in die begaste Tyrode bevor es in die Apparatur bzw. ins Organbad eingelegt wurde.

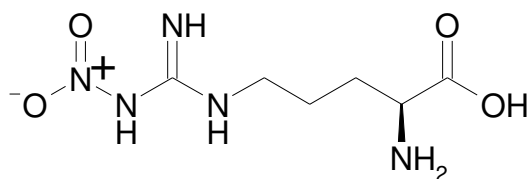
Abbildung 9: Herz(Querschnitt)



3.5 Wirkmechanismus von SWS 47 HCl an der Aorta descendens

3.5.1 Nitro-L-Arginin

Abbildung 10: Strukturformel Nitro-L-Arginin

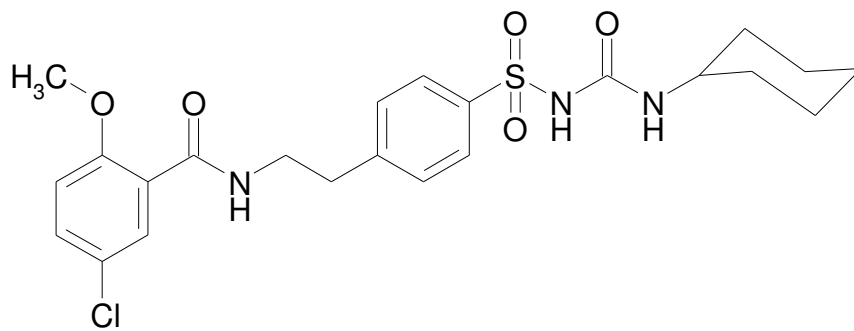


MG: 219, 20 g/mol

Nitro-L-Arginin stammt von der Aminosäure Arginin ab. Es wirkt als Vaso- und Koronardilatator, indem es die NO-Oxidase inhibiert (Banisinath et. al. 1993) Stickstoffmonoxid, das aus dem Endothel generiert wird, aktiviert die Guanylylcyclase (GC-S), welche cGMP aus GTP bildet. In der Folge kommt es zur Freisetzung von Ca^{2+} aus dem endoplasmatischen Reticulum, das als second messenger zur Relaxation der glatten Muskulatur führt (Forth et al. 2009)

3.5.2. Glibenclamid

Abbildung 11: Strukturformel von Glibenclamid



MG: 494,0 g/mol

Glibenclamid ist ein Sulfonylharnstoff-Derivat und wird bei Diabetes Typ 2 verwendet. Es wirkt über Öffnen des spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanäle Calcium in die Zelle und löst die Sekretion von Insulin aus (Forth et. al. 2009). Zu den UAW der Sulfonylharnstoffe zählen hauptsächlich gastrointestinale Beschwerden und allergische Reaktionen, sie können jedoch auch schwere Hypoglykämien bei sowohl Gesunden als auch bei Typ-2-Diabetikern auslösen (Forth et al. 2009).

3.6. Auswertung der Daten und Statistik

3.6.1. Atrium dexter

Beim Vorhof war es wichtig die Anzahl der Zacken, die sich über 6 Kästchen erstreckten zu zählen. Diese Zeitspanne von 12 Sekunden multiplizierte man mit fünf und erhielt die Frequenz. Bei beiden Testsubstanzen, sowohl bei SWS 37 als auch bei SWS 47, konnte man eine Verringerung der Frequenz, also eine negative Chronotropie feststellen.

3.6.2. Aorta descendens, Arteria pulmonalis und terminales Ileum

Bei der Aorta und der Lungenarterie wurden die Verbindungen auf ihre dilatierenden, beim Darm auf ihre spasmolytischen Wirkungen untersucht. Dabei machte man auf dem Millimeterpapier bei jeder Konzentration eine Markierung, um verfolgen zu können wie sehr sich die Injektion auf das Organ auswirkt. Kontrahiert wurde bekannterweise mit KCl. Nach Beendigung des Versuchs wurde jeweils der Abstand von Nulllinie zum Punkt der Substanzgabe gemessen. Der Kontrollwert diente als Referenz und war der Wert vom Nullpunkt bis zur Plateauphase. Weiters musste man einen Eichfaktor berücksichtigen, welcher vom benützten Spannungswert abhängig war. 1 cm war bei 5 mV 0,98 mN, bei 2 mV 0,196 mN und bei 10 mV 1,96 mN.

3.6.3. Musculus papillaris

Beim Papillarmuskel wurde die Abnahme der Kontraktionskraft in mN gemessen. Es wurde jeweils über 6 Amplituden gemessen, und am Ende jeder Konzentration wurde die Geschwindigkeit auf 20 mm/sec. umgestellt, um die Amplituden besser anschaulich zu machen. Je nachdem ob bei 2 oder 5 mV gemessen wurde, musste der Faktor 0,196 bzw. 0,98 miteinbezogen werden, um auf den Wert zu kommen. Als Referenzwert diente jener vor der Substanzzugabe und wurde gleich 100 % gesetzt. Bei den Versuchen konnte eine Abnahme der Kontraktionskraft bemerkt werden.

3.6.4 Auswertung (Statistik)

Für die Berechnung der Werte wurde „Sigma Plot 9.0“ verwendet. Es wurde jeweils der Mittelwert und Standardfehler ermittelt sowie der EC_{50} . Dieser EC_{50} ist jener Wert, bei der 50 % des Kontrollwertes erzielt wurden. Mit dem Student-t-Test eruierte man die Irrtumswahrscheinlichkeit, welche unter 5 % bzw. 1 % signifikant und unter 0,1 % hochsignifikant war.

4. Ergebnisse

4.1. SWS 37 HCl

4.1.1. Aorta descendens

Bei den Versuchen wurde die dilatierende Wirkung von SWS 37 auf die Aorta bestätigt. Es wurden fünf Werte plus der Kontrollwert als Referenz ermittelt.

Tabelle 3: Ergebnisse von SWS 37 HCl an der Aorta descendens

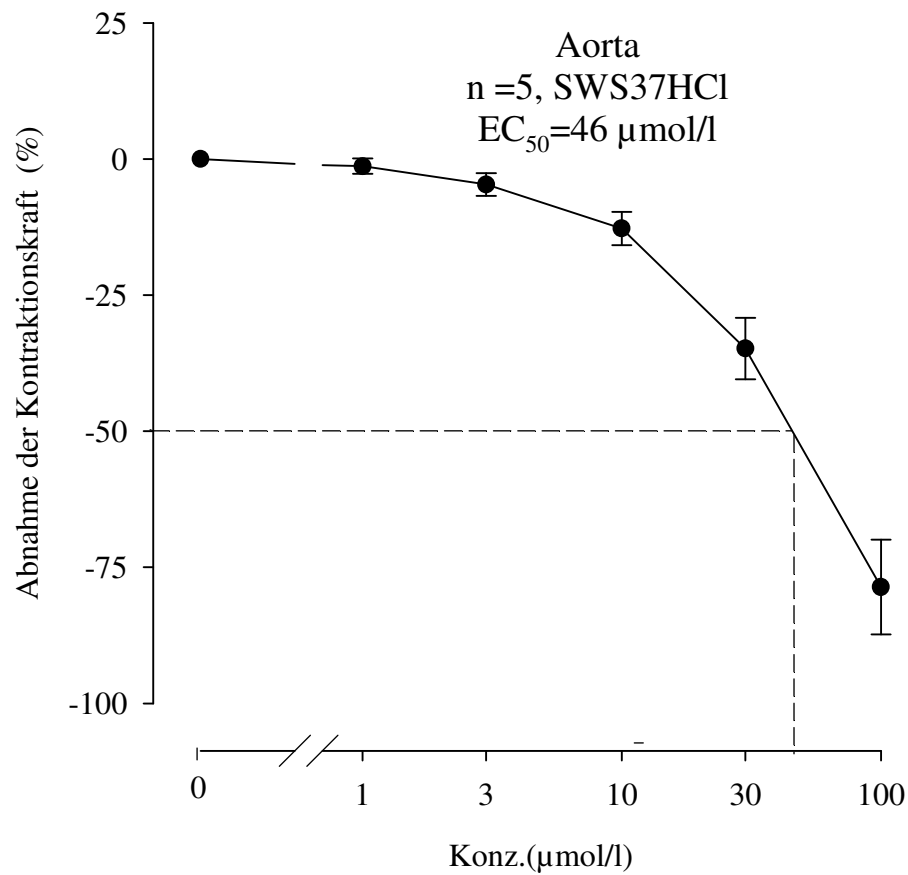
SWS 37 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	9,65 $\pm$ 1,51	0,00 $\pm$ 0,00	5	-
1	9,67 $\pm$ 1,39	-1,32 $\pm$ 1,44	5	n.s.
3	9,25 $\pm$ 1,34	-4,69 $\pm$ 2,07	5	n.s.
10	8,47 $\pm$ 1,2	-12,78 $\pm$ 3,05	5	0,05
30	6,37 $\pm$ 1,02	-34,83 $\pm$ 5,67	5	0,01
100	2,16 $\pm$ 0,67	-78,65 $\pm$ 8,68	5	0,01

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

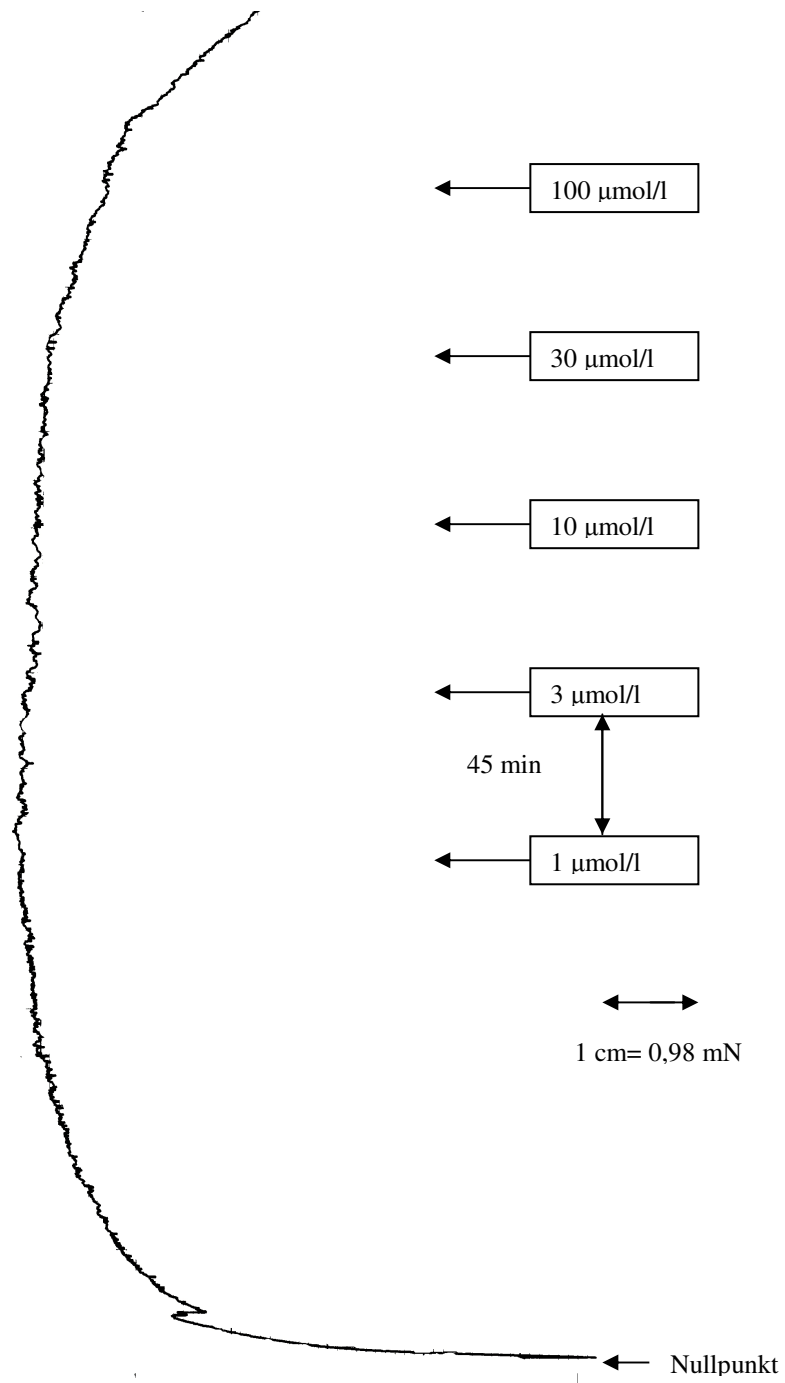
Diagramm 1: Dosis-Wirkungskurve von SWS 37 HCl an der Aorta



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 37 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt. Den EC₅₀ konnte man durch die durchtrennten Linien besser darstellen und ermitteln.

Abbildung 12: Originalabbildung der Wirkung von SWS 37 auf die Aorta



Legende zur Abbildung:

Die jeweiligen Pfeile kennzeichnen die Zeitpunkte, zu denen eine Injektion der Testsubstanz erfolgte. Der Zeitabstand betrug 45 Minuten.

4.1.2 Terminales Ileum

Hier wurde durch die einzelnen Werte dargestellt, ob eine spasmolytische Wirkung eintritt oder nicht. Es wurde wie bei der Aorta alle 45 Minuten gemessen und der Kontrollwert als Referenz genommen.

Tabelle 4: Ergebnisse von SWS 37 HCl am terminalen Ileum

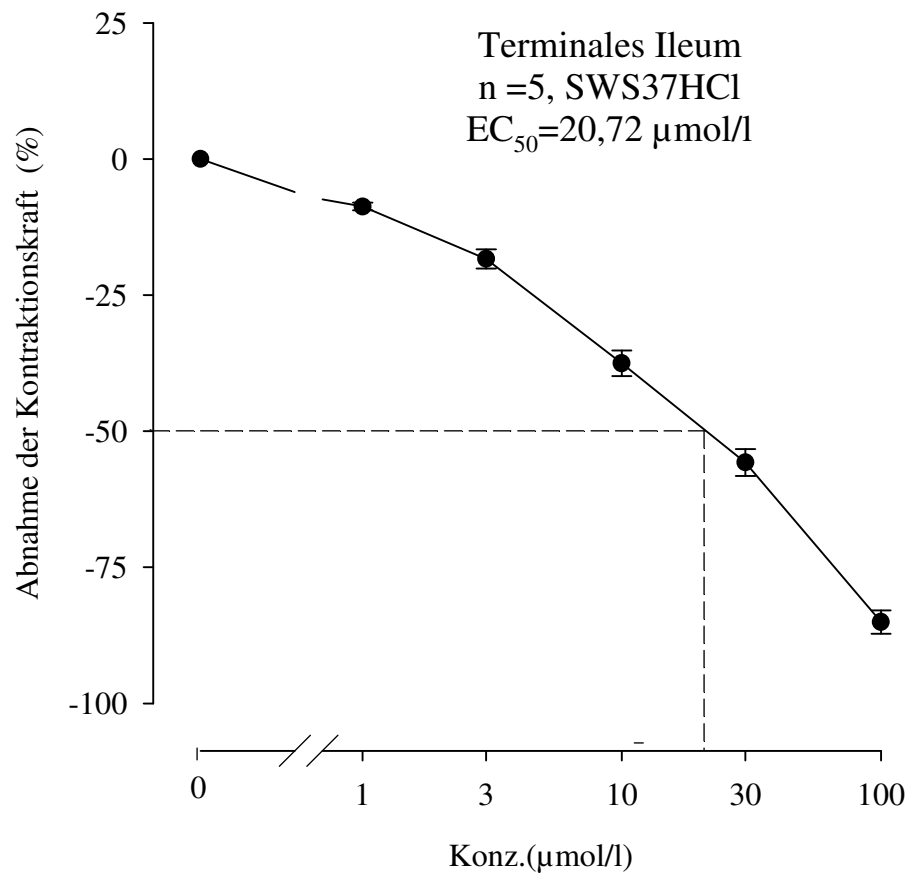
SWS 37 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchszahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	8,34 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	5	-
1	7,6 $\pm$ 0,11	-8,75 $\pm$ 0,71	5	n.s.
3	6,8 $\pm$ 0,13	-18,36 $\pm$ 1,74	5	0,05
10	5,21 $\pm$ 0,25	-37,53 $\pm$ 2,32	5	0,05
30	3,69 $\pm$ 0,23	-55,74 $\pm$ 2,48	5	0,01
100	1,23 $\pm$ 0,21	-85,07 $\pm$ 2,18	5	0,001

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

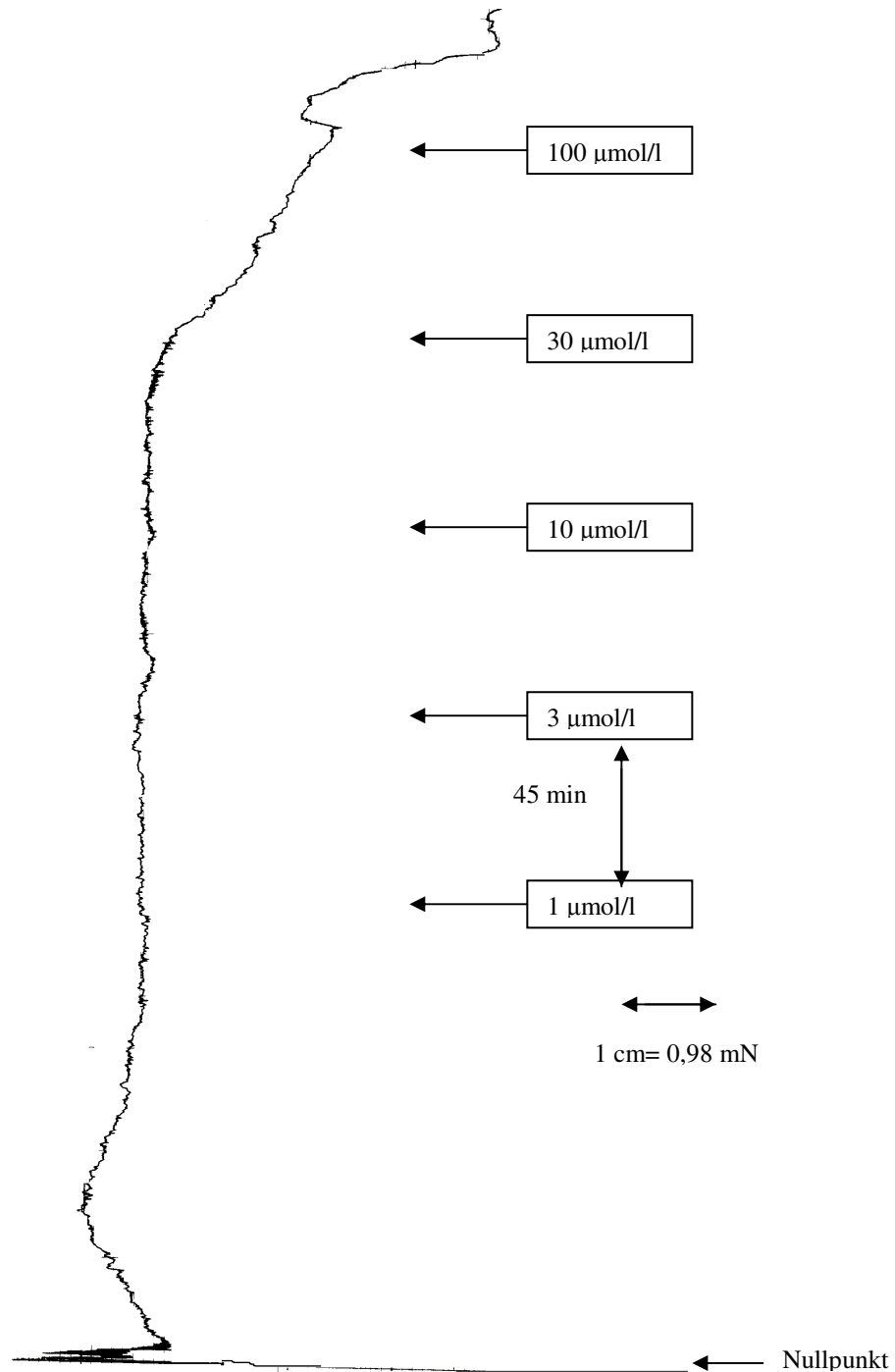
Diagramm 2: Dosis-Wirkungskurve von SWS 37 HCl am terminalen Ileum



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 37 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt. Den EC_{50} konnte man durch die durchtrennten Linien besser darstellen und ermitteln.

Abbildung 13: Originalabbildung der Wirkung von SWS 37 auf das terminale Ileum



Legende zur Abbildung:

Die jeweiligen Pfeile kennzeichnen die Zeitpunkte, zu denen eine Injektion der Testsubstanz erfolgte. Der Zeitabstand betrug 45 Minuten.

4.1.3 Arteria pulmonalis

Es wurden wiederum 5 Werte ermittelt und in Bezug auf den Referenzwert(Kontrollwert) die Verhältnisse berechnet. Man erwartete sich eine dilatierende Wirkung, und dies trat auch ein.

Tabelle 5: Ergebnisse von SWS 37 HCl an der Arteria pulmonalis

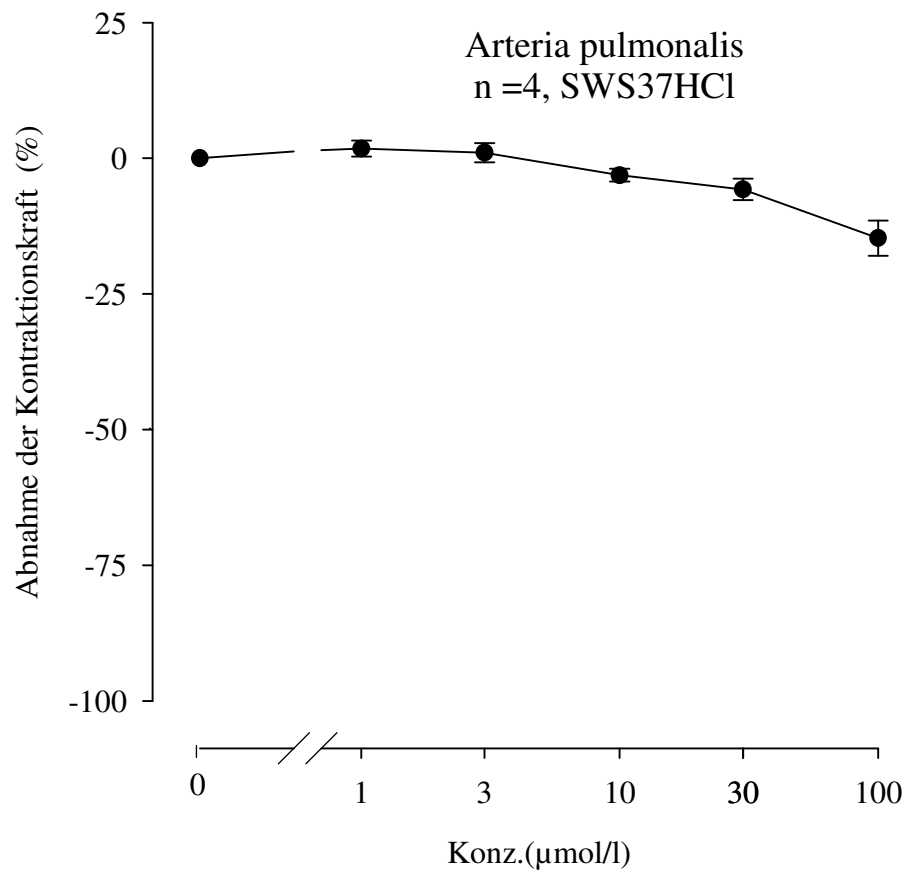
SWS 37 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	13,86 $\pm$ 2,40	0,00 $\pm$ 0,00	4	-
1	14,11 $\pm$ 2,44	1,76 $\pm$ 1,48	4	n.s.
3	13,99 $\pm$ 2,4	1,01 $\pm$ 1,73	4	n.s.
10	13,37 $\pm$ 2,29	-3,13 $\pm$ 1,18	4	n.s.
30	12,93 $\pm$ 2,1	-5,74 $\pm$ 1,98	4	n.s.
100	11,65 $\pm$ 1,83	-14,71 $\pm$ 3,24	4	0,05

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

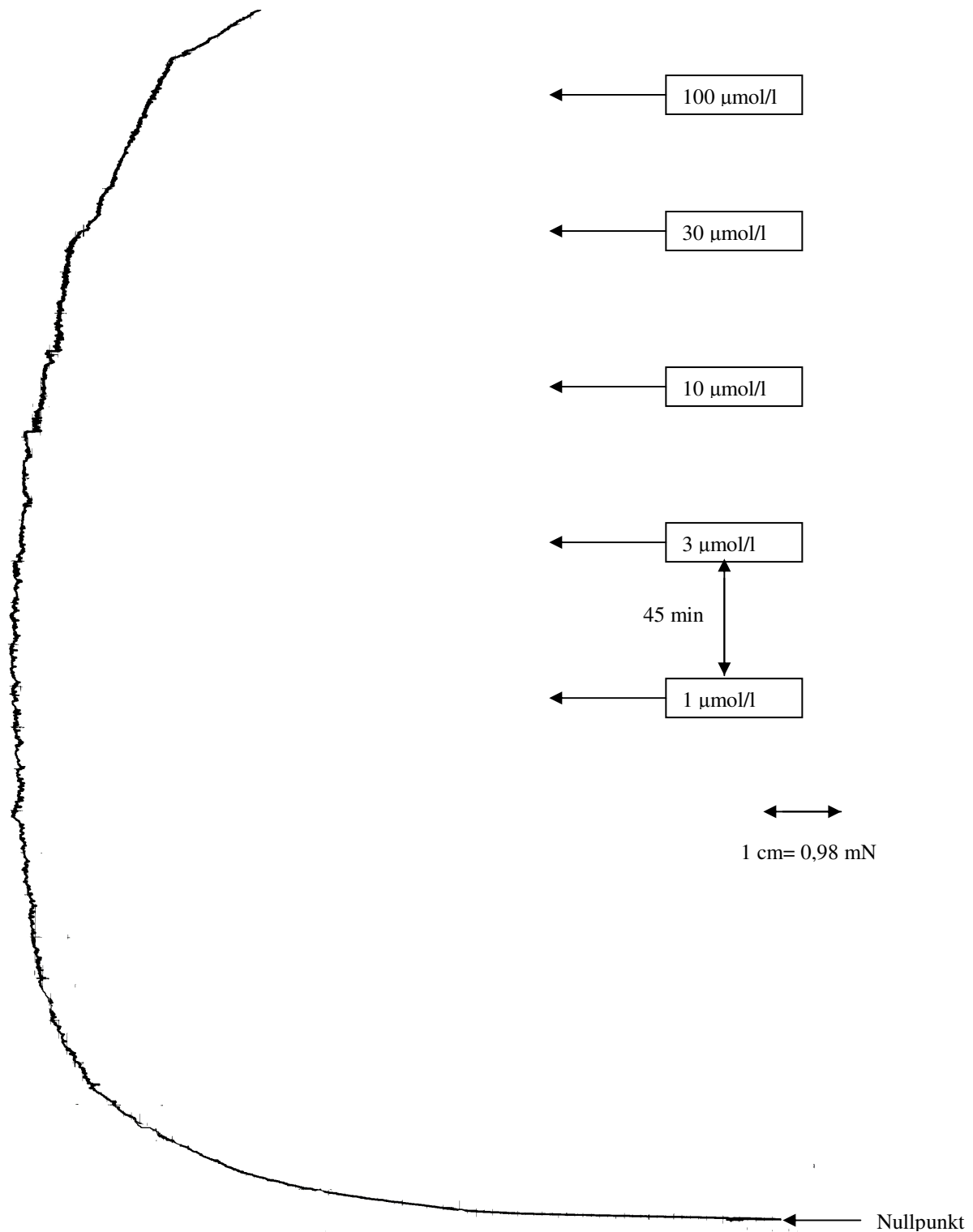
Diagramm 3: Dosis-Wirkungskurve von SWS 37 HCl an der Arteria pulmonalis



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 37 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt.

Abbildung 14: Originalabbildung der Wirkung von SWS 37 auf die Arteria pulmonalis



Legende zur Abbildung:

Die jeweiligen Pfeile kennzeichnen die Zeitpunkte, zu denen eine Injektion der Testsubstanz erfolgte. Der Zeitabstand betrug 45 Minuten.

4.1.4 Atrium dexter

Beim rechten Vorhof erwartete man sich eine mit zunehmender Konzentration negativ chronotrope Wirkung. Dieses Ergebnis stellte sich jedoch nicht ein, und es konnte auch kein EC_{50} ermittelt werden.

Tabelle 5: Ergebnisse von SWS 37 HCl am Atrium dexter

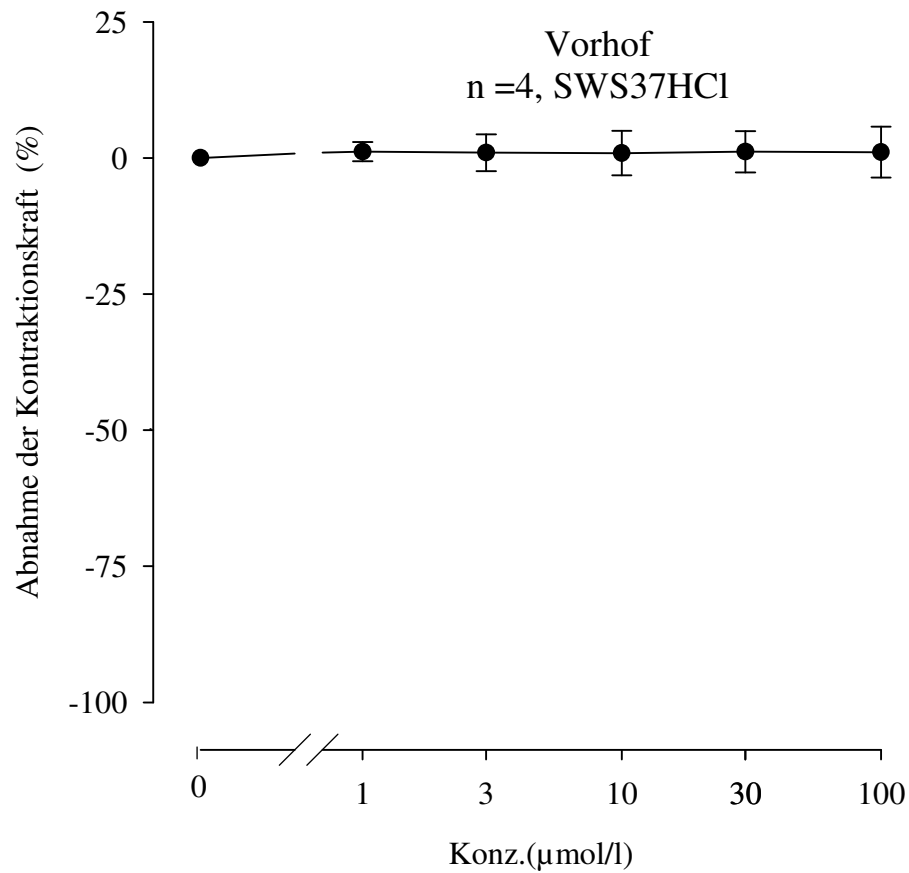
SWS 37 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (x/min)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	192,5 $\pm$ 13,62	0,00 $\pm$ 0,00	4	-
1	195 $\pm$ 15,14	1,15 $\pm$ 1,75	4	n.s.
3	196,25 $\pm$ 17,25	0,94 $\pm$ 3,36	4	n.s.
10	195 $\pm$ 18,37	0,89 $\pm$ 4,08	4	n.s.
30	195 $\pm$ 16,71	1,12 $\pm$ 3,8	4	n.s.
100	195 $\pm$ 17,91	1,06 $\pm$ 4,7	4	n.s.

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

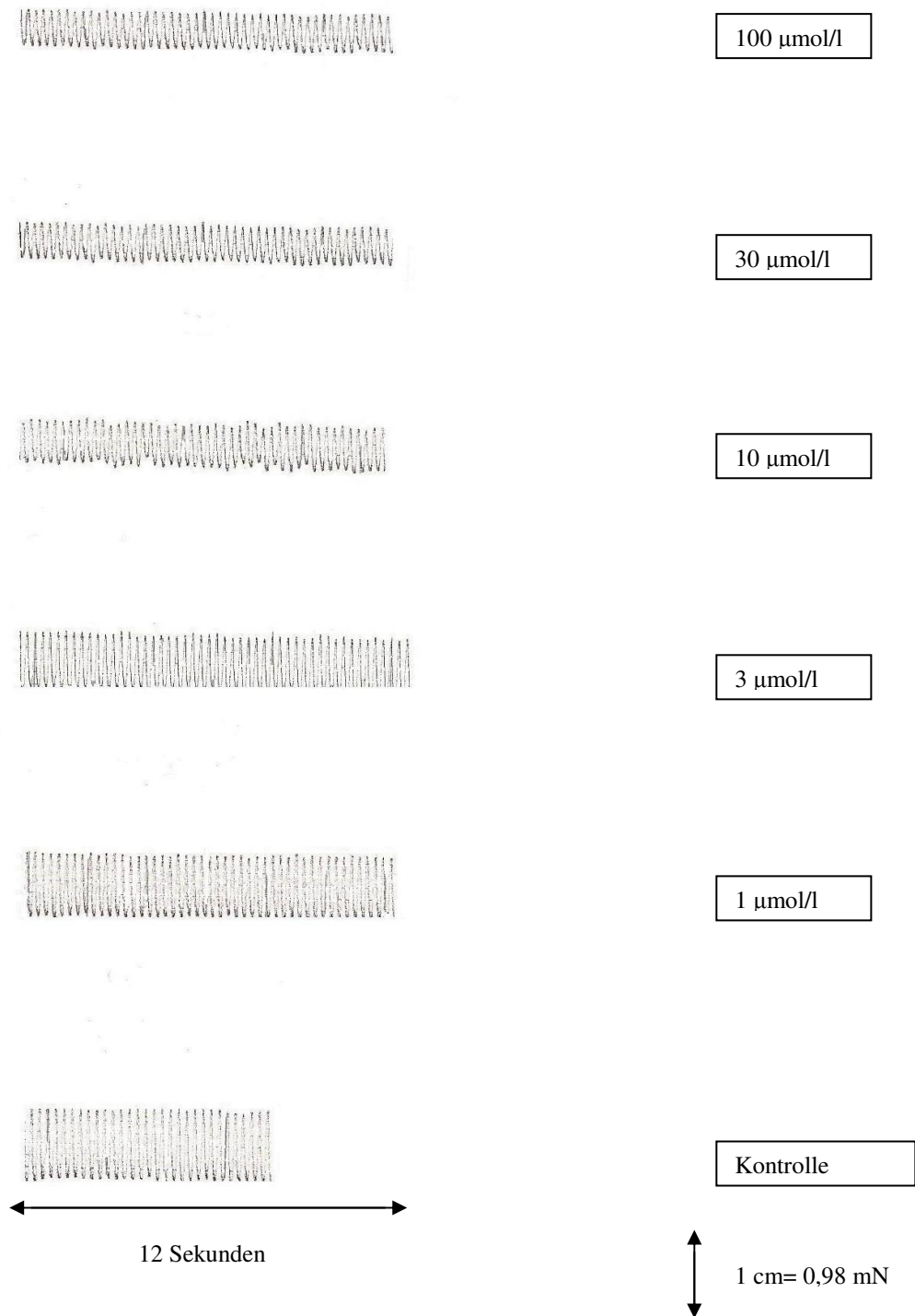
Diagramm 4: Dosis-Wirkungskurve von SWS 37 HCl am Atrium dexter



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 37 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt.

Abbildung 15: Originalabbildung der Wirkung von SWS 37 auf den Atrium dexter



Legende zur Abbildung:

Es wurden jeweils die Amplituden gezählt, die sich über 6 Kästchen auf dem Millimeterpapier erstreckten (12 sec). Dann wurde mit 5 multipliziert, um die Frequenz pro Minute zu erhalten.

4.1.5. Musculus papillaris

Beim Papillarmuskel ging man im Vorhinein mit einer stetigen Abnahme der Kontraktionskraft aus. Diese Annahme bestätigte sich, und der EC₅₀ lag bei 30 µmol/l.

Tabelle 6: Ergebnisse von SWS 37 HCl am Musculus papillaris

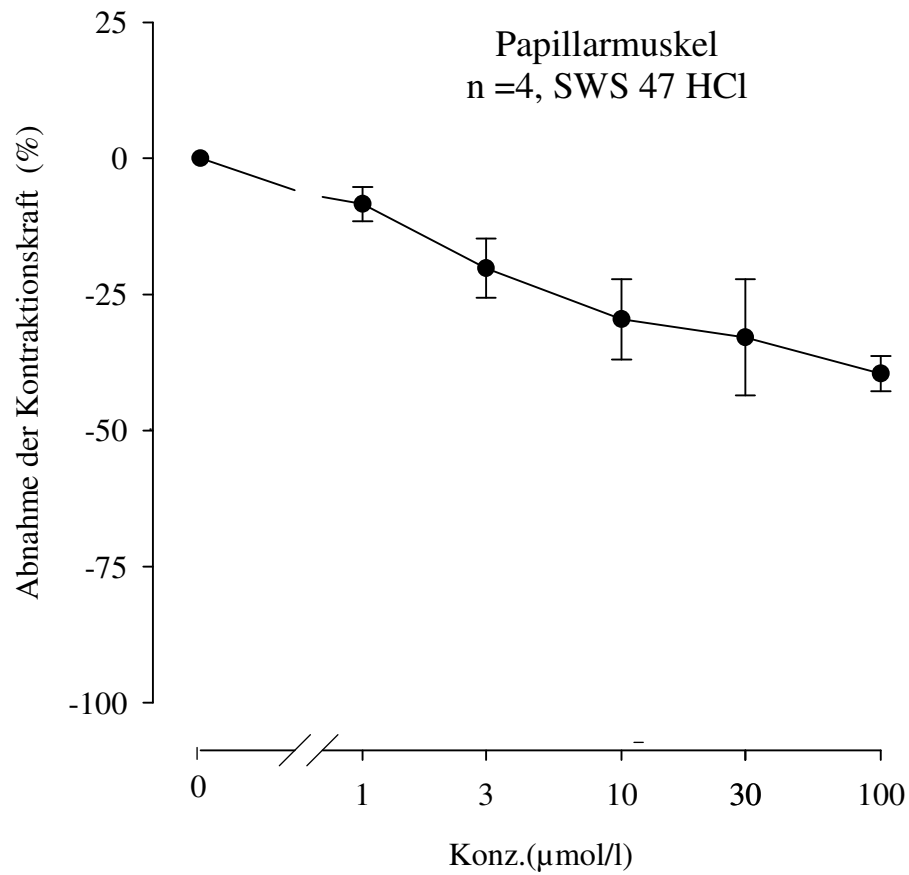
SWS 37 HCl (µmol/l)	fc ± SEM (mN)	fc ± SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	1,04 ± 0,15	0,00 ± 0,00	5	-
1	0,78 ± 0,13	-24,73 ± 4,72	5	0,05
3	0,65 ± 0,12	-38,66 ± 3,11	5	0,05
10	0,59 ± 0,14	-45,77 ± 4,98	5	0,01
30	0,54 ± 0,13	-50,11 ± 6,21	5	0,01
100	0,60 ± 0,14	-43,76 ± 6,55	5	0,01

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

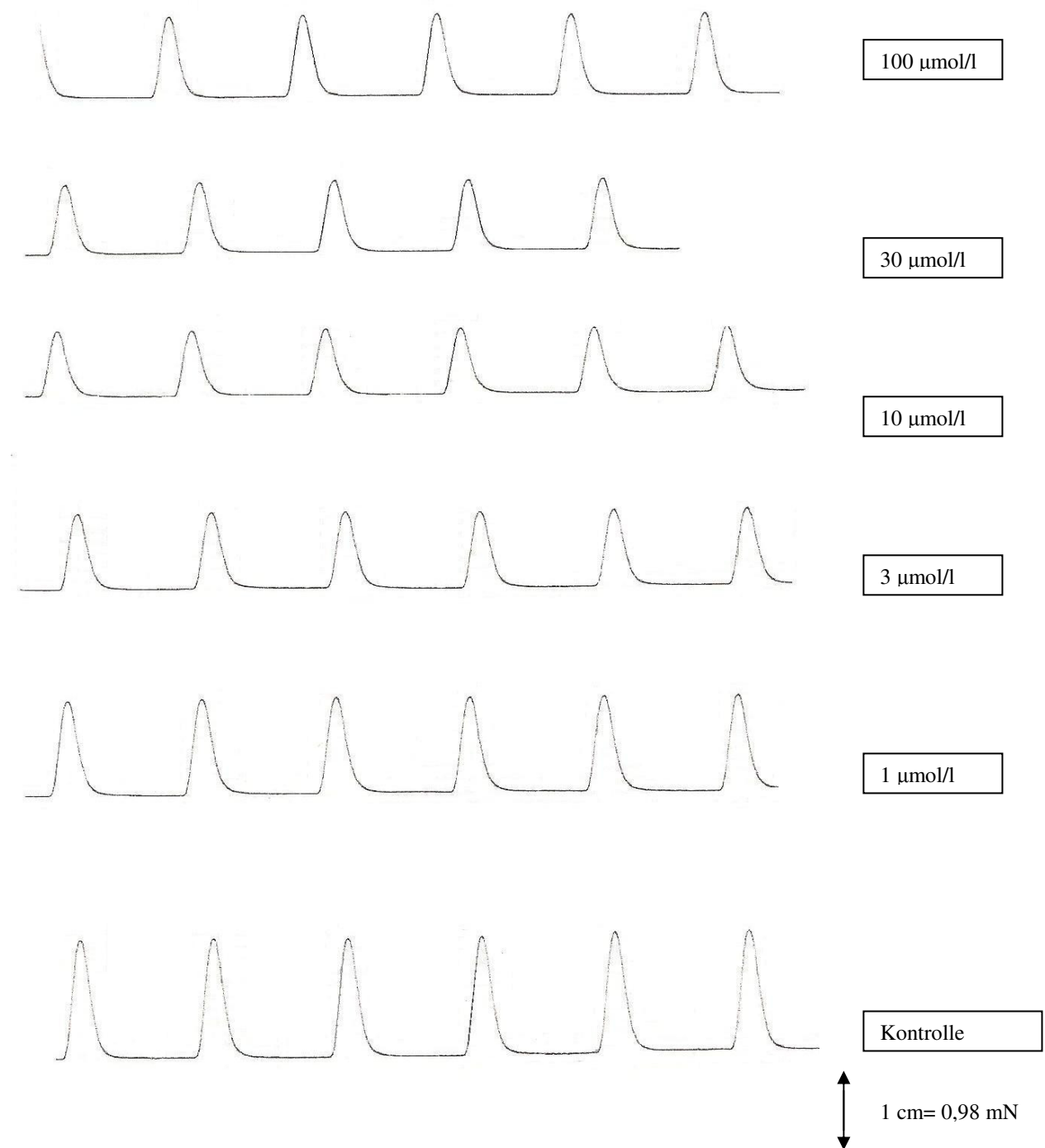
Diagramm 5: Dosis-Wirkungskurve von SWS 37 HCl am Musculus papillaris



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 37 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt. Den EC_{50} konnte man durch die durchtrennten Linien besser darstellen und ermitteln.

Abbildung 16: Originalabbildung der Wirkung von SWS 37 auf den Musculus papillaris



Legende zur Abbildung:

Die Messungen wurden alle 5 Minuten über 45 Minuten durchgeführt. Die Amplituden gaben Auskunft über eine Abnahme der Kontraktionskraft.

4.2 SWS 47 HCl

4.2.1 Aorta descendens

Bei den Versuchen wurde die dilatierende Wirkung von SWS 47 auf die Aorta bestätigt. Es wurden fünf Werte plus der Kontrollwert als Referenz ermittelt.

Tabelle 7: Ergebnisse von SWS 47 HCl an der Aorta descendens

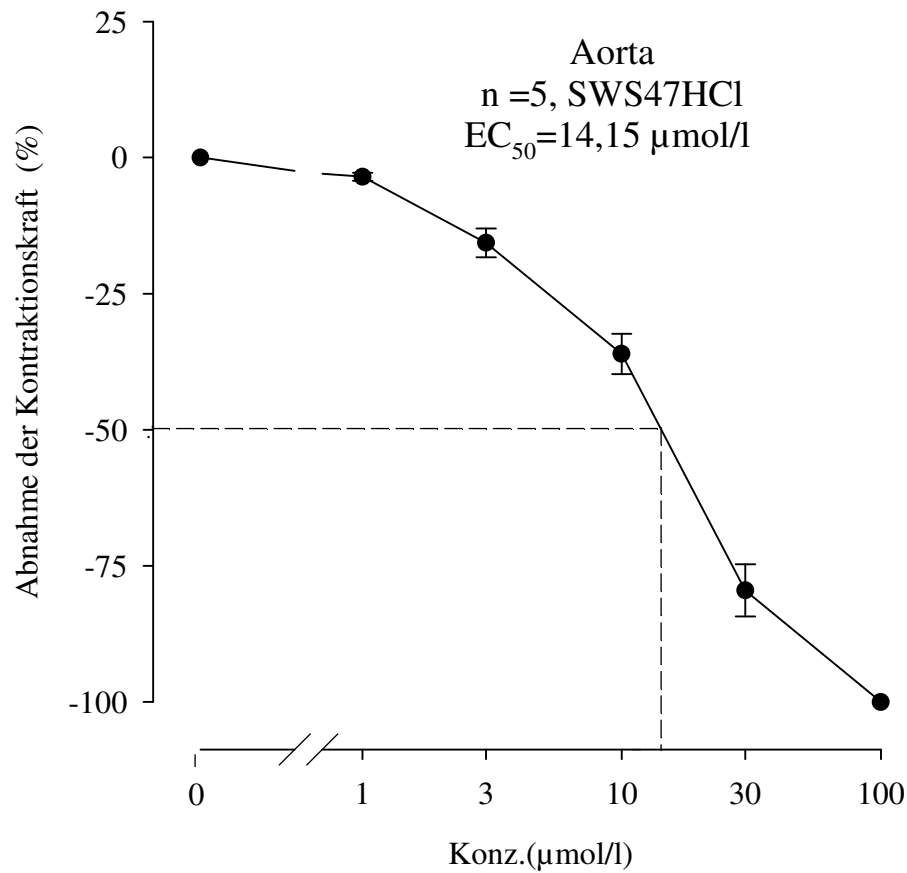
SWS 47 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	9,92 $\pm$ 1,21	0,00 $\pm$ 0,00	5	-
1	9,58 $\pm$ 1,19	-3,53 $\pm$ 0,72	5	n.s.
3	8,47 $\pm$ 1,24	-15,66 $\pm$ 2,65	5	0,05
10	6,51 $\pm$ 1,19	-36,07 $\pm$ 3,68	5	0,01
30	2,18 $\pm$ 0,69	-79,53 $\pm$ 4,80	5	0,001
100	0,00 $\pm$ 0,00	-100,00 $\pm$ 0,00	5	0,001

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

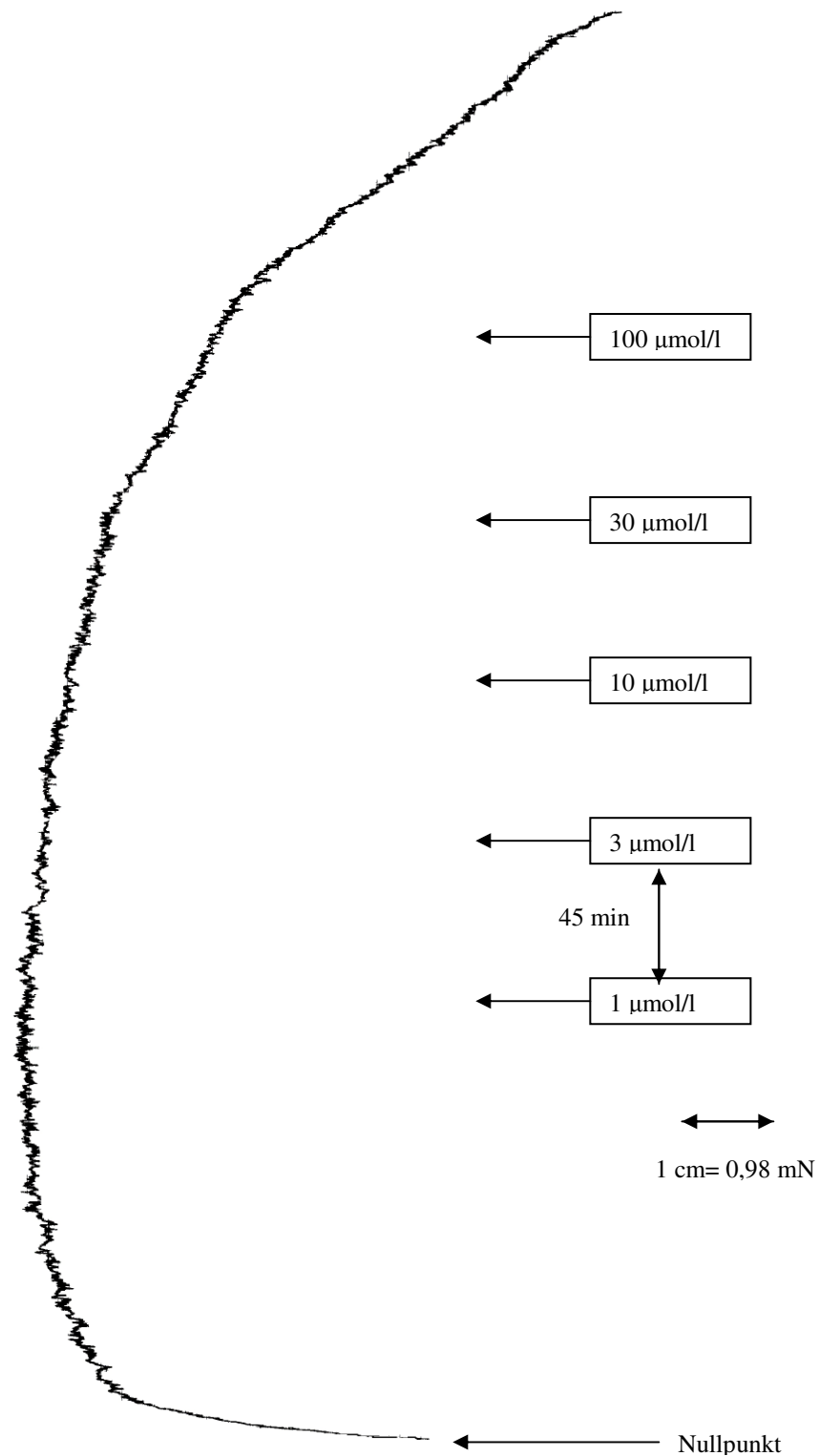
Diagramm 6: Dosis-Wirkungskurve von SWS 47 HCl an der Aorta descendens



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 47 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt. Den EC₅₀ konnte man durch die durchtrennten Linien besser darstellen und ermitteln.

Abbildung 17: Originalabbildung der Wirkung von SWS 47 auf die Aorta



Legende zur Abbildung:

Die jeweiligen Pfeile kennzeichnen die Zeitpunkte, zu denen eine Injektion der Testsubstanz erfolgte. Der Zeitabstand betrug 45 Minuten.

4.2.2 Terminales Ileum

Hier wurde durch die einzelnen Werte dargestellt, ob eine spasmolytische Wirkung eintritt oder nicht. Es wurde wie bei der Aorta alle 45 Minuten gemessen und der Kontrollwert als Referenz genommen.

Tabelle 8: Ergebnisse von SWS 47 HCl am terminalen Ileum

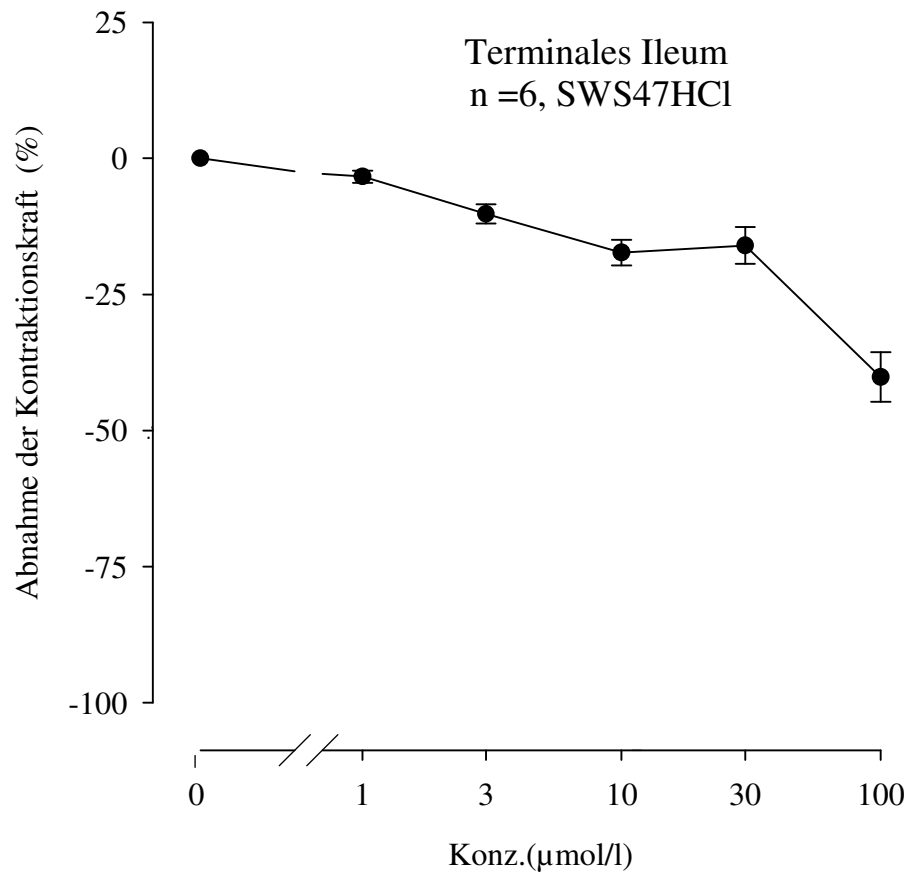
SWS 47 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchszahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	14,77 $\pm$ 3,30	0,00 $\pm$ 0,00	6	-
1	14,34 $\pm$ 3,24	-3,36 $\pm$ 1,10	6	n.s.
3	13,49 $\pm$ 3,24	-10,23 $\pm$ 1,77	6	0,05
10	12,50 $\pm$ 3,10	-17,32 $\pm$ 2,36	6	0,05
30	11,25 $\pm$ 2,91	-16,01 $\pm$ 3,37	6	0,05
100	9,53 $\pm$ 2,92	-40,17 $\pm$ 4,53	6	0,01

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

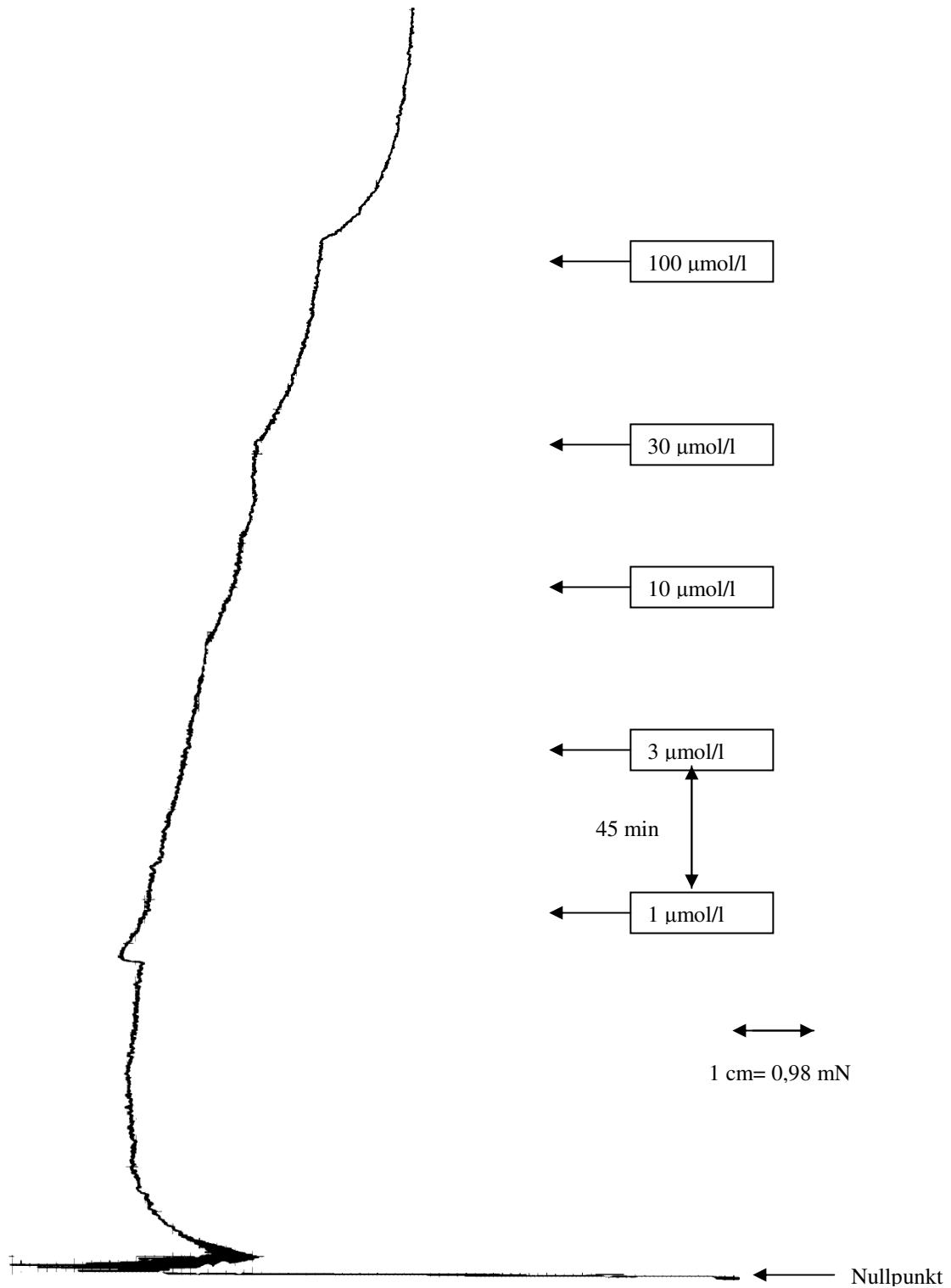
Diagramm 7: Dosis-Wirkungskurve von SWS 47 HCl am terminalen Ileum



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 47 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt

Abbildung 18: Originalabbildung der Wirkung von SWS 47 auf das terminale Ileum



Legende zur Abbildung:

Die jeweiligen Pfeile kennzeichnen die Zeitpunkte, zu denen eine Injektion der Testsubstanz erfolgte. Der Zeitabstand betrug 45 Minuten.

4.2.3 Arteria pulmonalis

Es wurden wiederum 5 Werte ermittelt und in Bezug auf den Referenzwert(Kontrollwert) die Verhältnisse berechnet. Man erwartete sich eine dilatierende Wirkung, und dies trat auch ein.

Tabelle 9: Ergebnisse von SWS 47 HCl an der Arteria pulmonalis

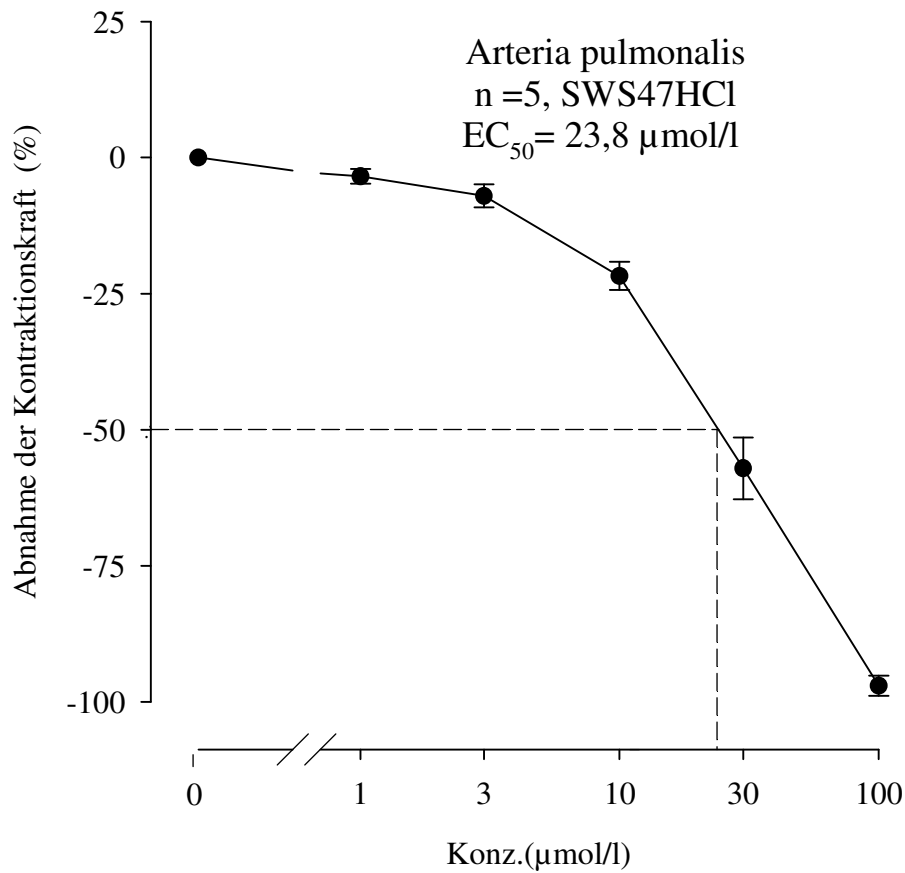
SWS 47 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	13,66 $\pm$ 1,41	0,00 $\pm$ 0,00	5	-
1	13,19 $\pm$ 1,38	-3,44 $\pm$ 1,36	5	n.s.
3	12,70 $\pm$ 1,36	-7,06 $\pm$ 2,12	5	n.s.
10	10,78 $\pm$ 1,33	-21,75 $\pm$ 2,6	5	0,05
30	6,13 $\pm$ 1,18	-57,09 $\pm$ 5,7	5	0,01
100	0,45 $\pm$ 0,30	-97,03 $\pm$ 1,86	5	0,001

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

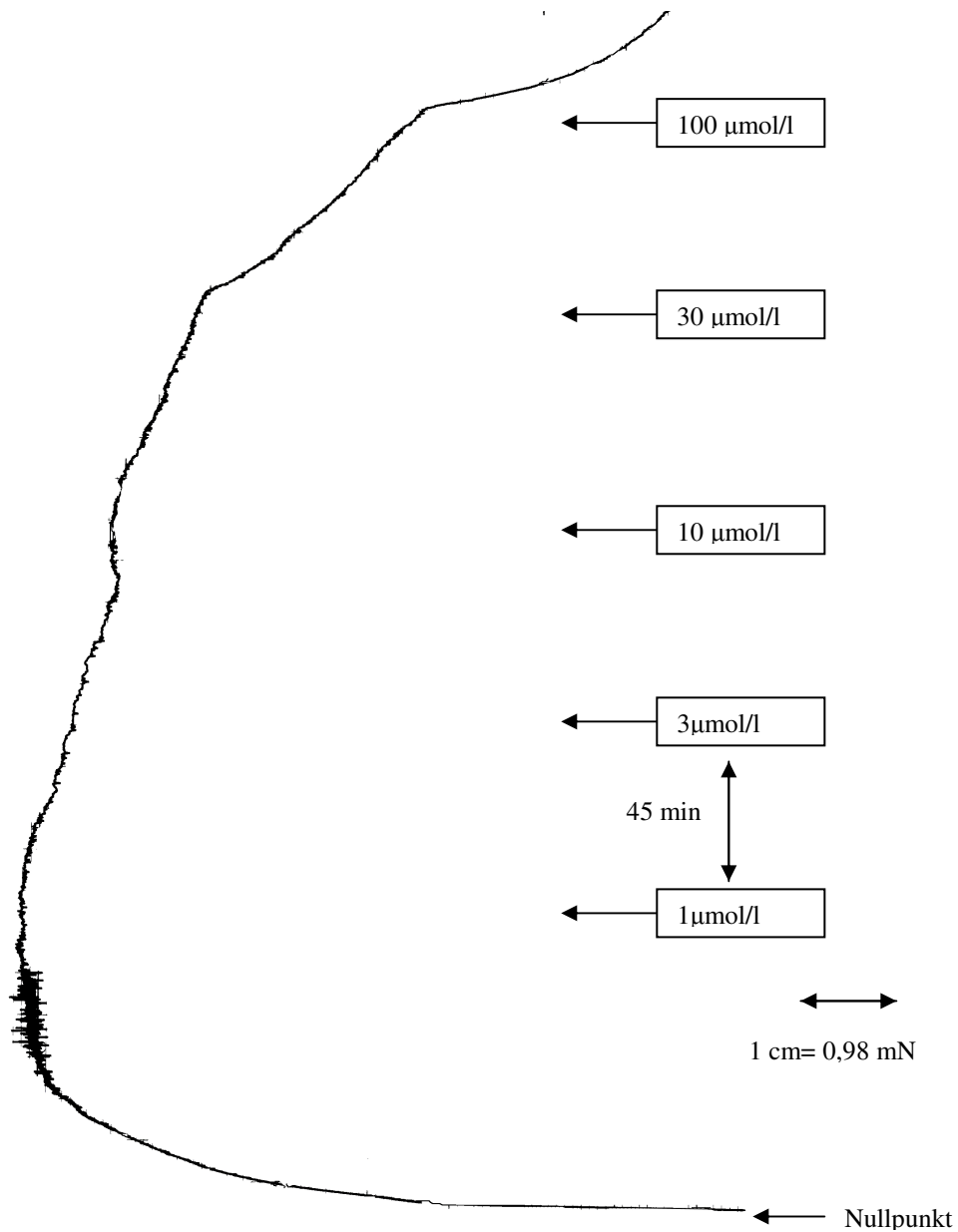
Diagramm 8: Dosis-Wirkungskurve von SWS 47 HCl an der Arteria pulmonalis



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 47 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt. Den EC_{50} konnte man durch die durchtrennten Linien besser darstellen und ermitteln.

Abbildung 19: Originalabbildung der Wirkung von SWS 47 auf die Arteria pulmonalis



Legende zur Abbildung:

Die jeweiligen Pfeile kennzeichnen die Zeitpunkte, zu denen eine Injektion der Testsubstanz erfolgte. Der Zeitabstand betrug 45 Minuten.

4.2.4 Atrium dexter

Beim rechten Vorhof erwartete man sich eine mit zunehmender Konzentration negativ chronotrope Wirkung. Dieses Ergebnis stellte sich jedoch ein, aber es konnte kein EC₅₀ ermittelt werden.

Tabelle 10: Ergebnisse von SWS 47 HCl am Atrium dexter

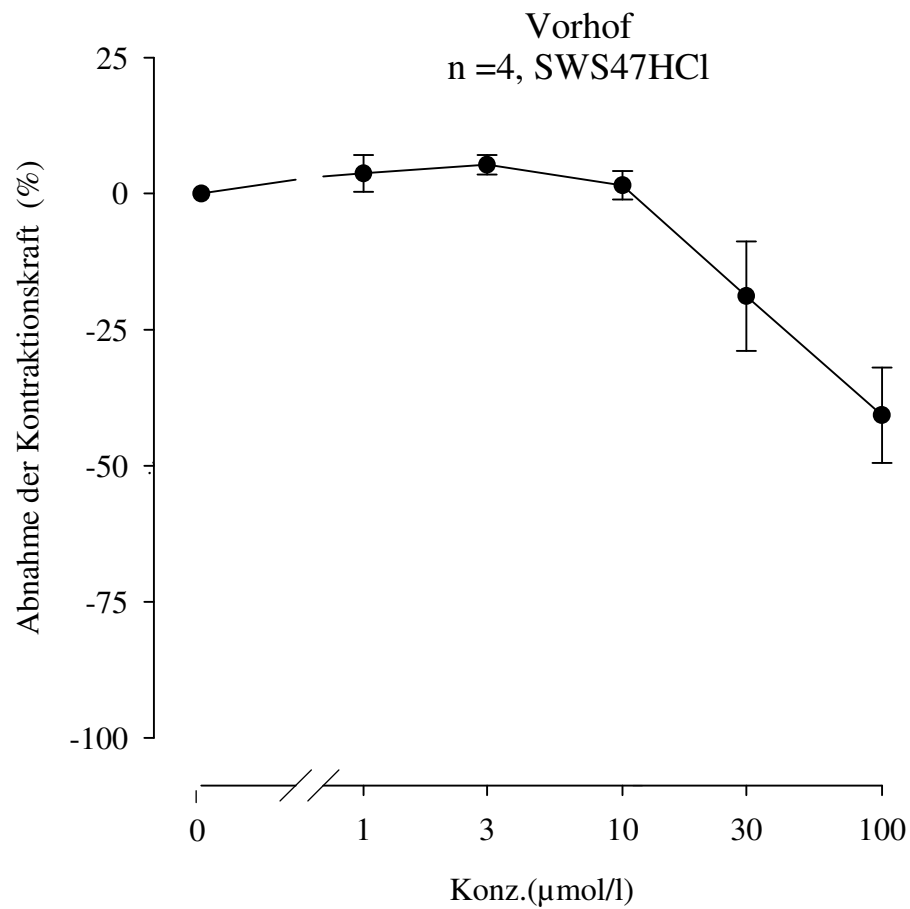
SWS 47 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (x/min)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	206,25 $\pm$ 13,44	0,00 $\pm$ 0,00	4	-
1	213,75 $\pm$ 14,49	3,7 $\pm$ 3,37	4	n.s.
3	217,5 $\pm$ 16,14	5,28 $\pm$ 1,8	4	n.s.
10	210 $\pm$ 16,96	1,52 $\pm$ 2,61	4	n.s.
30	170 $\pm$ 27,23	-18,84 $\pm$ 10,04	4	0,05
100	125 $\pm$ 24,58	-40,71 $\pm$ 8,76	4	0,05

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

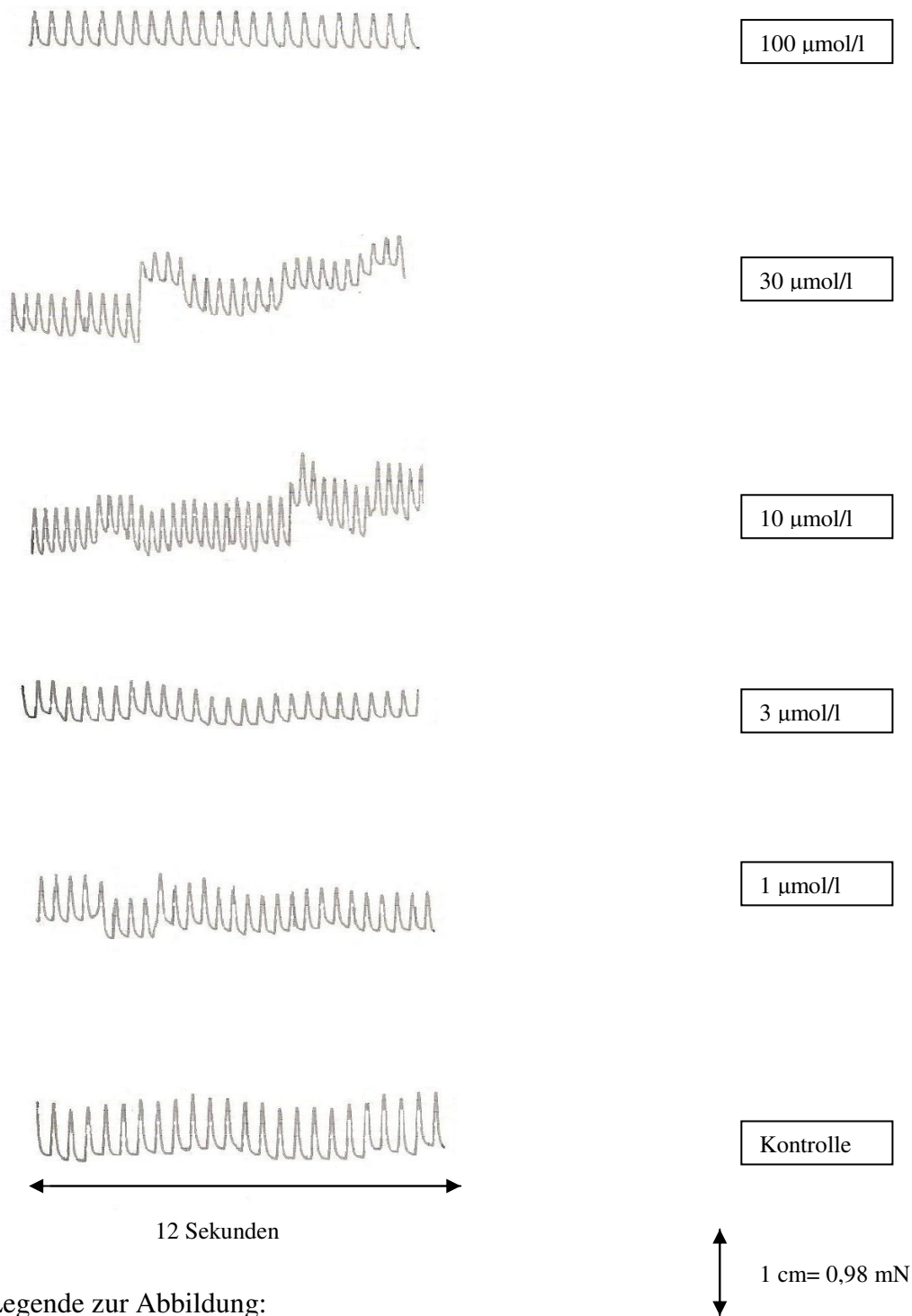
Diagramm 9: Dosis-Wirkungskurve von SWS 47 HCl am Atrium dexter



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 47 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt.

Abbildung 20: Originalabbildung der Wirkung von SWS 47 auf den Atrium dexter



Legende zur Abbildung:

Es wurden jeweils die Amplituden gezählt, die sich über 6 Kästchen auf dem Millimeterpapier erstreckten (12 sec). Dann wurde mit 5 multipliziert, um die Frequenz pro Minute zu erhalten.

4.2.5 Musculus papillaris

Beim Papillarmuskel ging man im Vorhinein mit einer stetigen Abnahme der Kontraktionskraft aus. Es wurden fünf Werte plus Kontrollwert ermittelt, sowie der EC₅₀.

Tabelle 11: Ergebnisse von SWS 47 HCl am Musculus papillaris

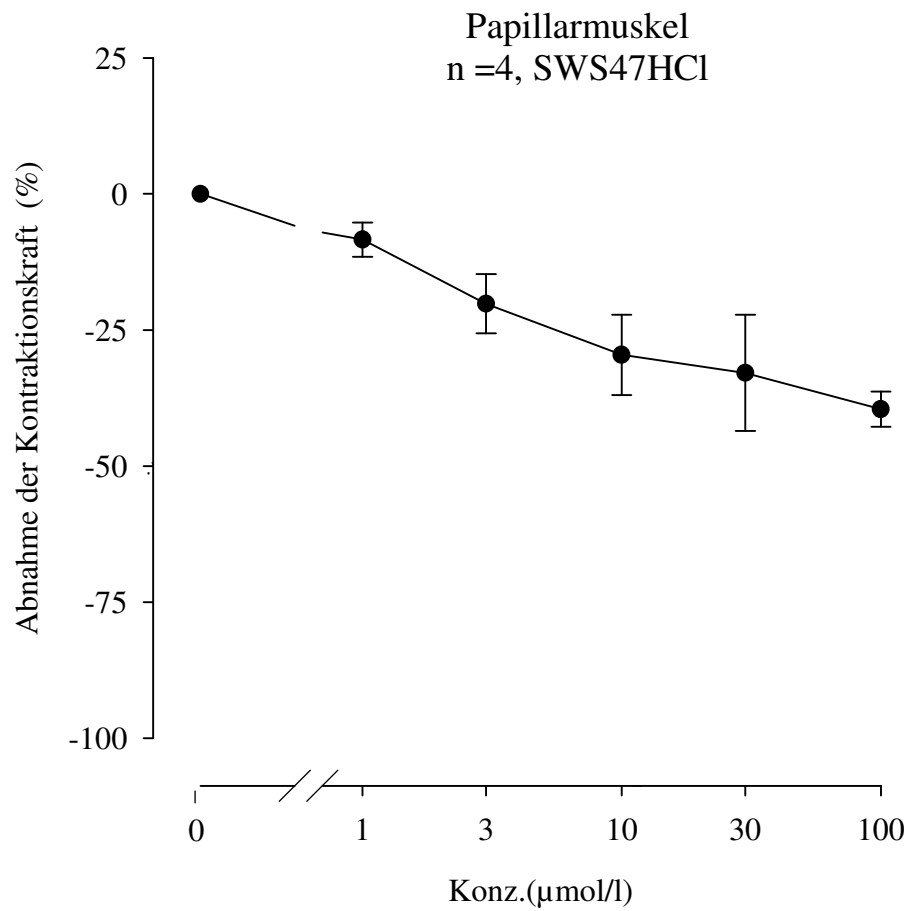
SWS 47 HCl ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums= wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	1,07 $\pm$ 0,39	0,00 $\pm$ 0,00	4	-
1	0,98 $\pm$ 0,34	-8,39 $\pm$ 3,13	4	n.s.
3	0,85 $\pm$ 0,29	-20,17 $\pm$ 5,44	4	0,05
10	0,7 $\pm$ 0,29	-29,57 $\pm$ 7,35	4	0,05
30	0,65 $\pm$ 0,20	-32,88 $\pm$ 10,70	4	0,05
100	0,66 $\pm$ 0,28	-39,55 $\pm$ 3,23	4	0,05

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

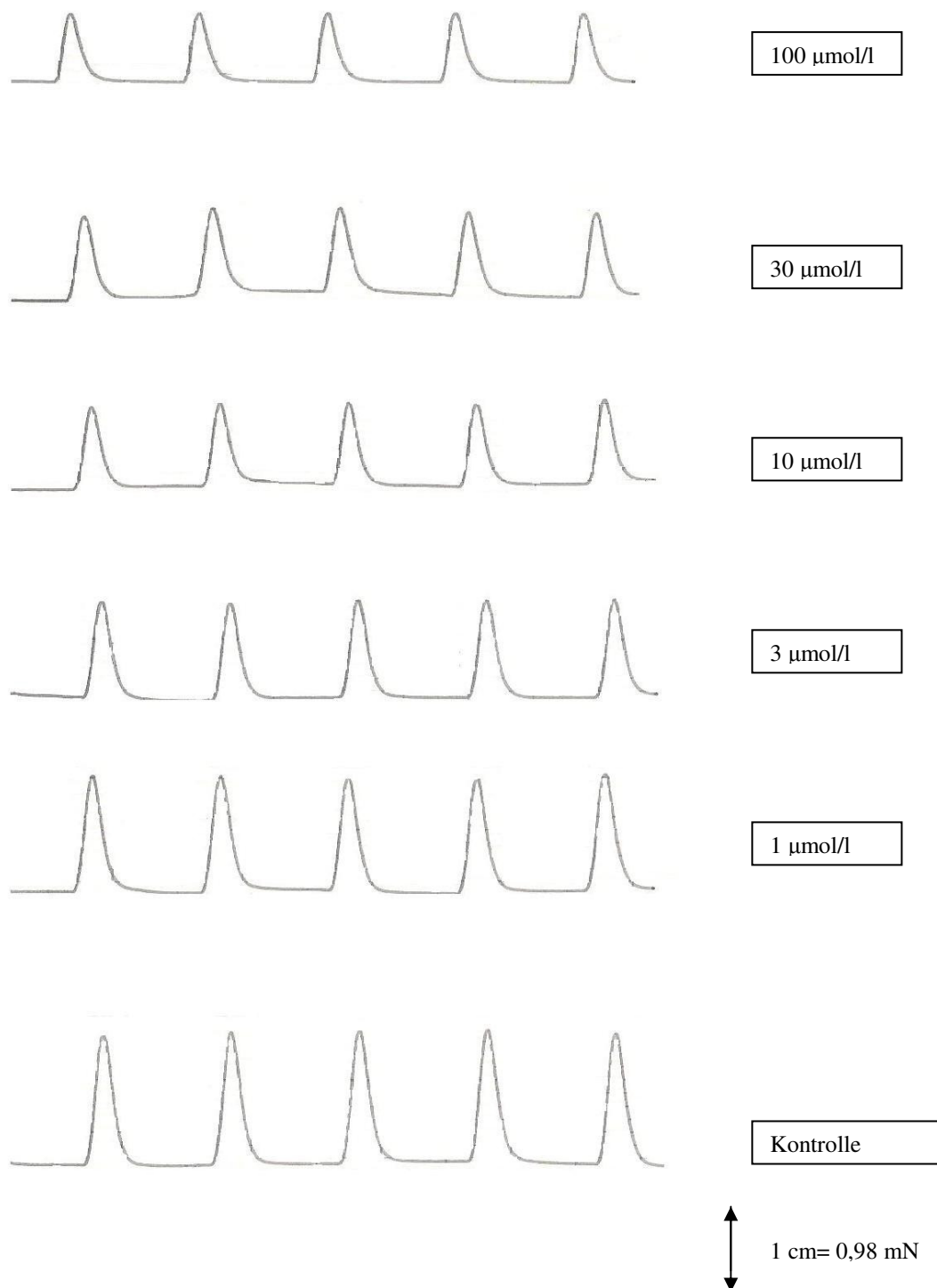
Diagramm 10: Dosis-Wirkungskurve von SWS 47 HCl am Musculus papillaris



Legende zum Diagramm:

Die Wirkung von SWS 47 HCl auf das Organ lässt sich an den beiden Achsen ablesen. Die x-Achse beschreibt dabei die jeweilige Konzentration, während die y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft darstellt.

Abbildung 21: Originalabbildung der Wirkung von SWS 47 auf den Musculus papillaris



Legende zur Abbildung:

Die Messungen wurden alle 5 Minuten über 45 Minuten durchgeführt. Die Amplituden gaben Auskunft über eine Abnahme der Kontraktionskraft.

4.3 Wirkmechanismus von SWS 47 HCl

Bei dieser Versuchsreihe wurde die Aorta descendens herangezogen, da bei ihr in den Experimenten der niedrigste EC_{50} ermittelt werden konnte. Es wurden der Kaliumkanalblocker Glibenclamid und Nitro-L-Arginin verwendet, um zu sehen, über welchen Mechanismus SWS 47 tatsächlich wirkt.

4.3.1. Wirkung von Nitro-L-Arginin auf die Aorta descendens

Dieser Versuch solle zeigen, ob die Substanz SWS 47 über das NO-System funktioniert. NO ist ein Vasodilatator, und Nitro-L-Arginin hemmt die NO-Synthase. Es wurden nach Zugabe von KCl 100 $\mu\text{mol/l}$ und anschließend nach 45 Minuten 20 $\mu\text{mol/l}$ injiziert

Tabelle 12: Wirkmechanismus von Nitro-L-Arginin

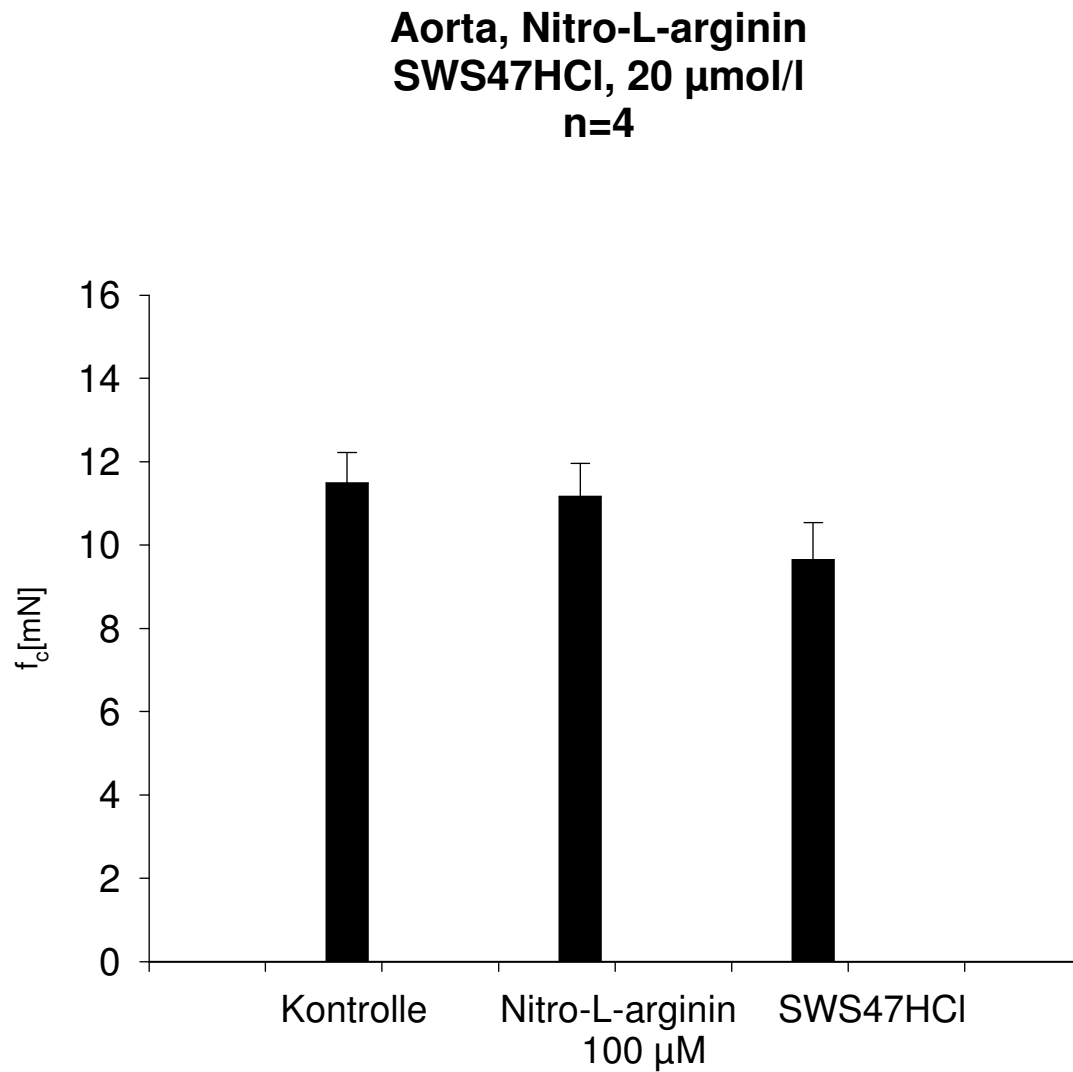
Konzentrationen ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums- Wahrscheinlichkeit(P)
Kontrolle	11,49 $\pm$ 0,73	0,00 $\pm$ 0,00	3	-
100 μM N-L-Arginin	11,17 $\pm$ 0,79	-2,82 $\pm$ 2,15	3	-
15 μM SWS 47	9,65 $\pm$ 0,89	-13,92 $\pm$ 1,94	3	0,05

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM....Standardabweichung

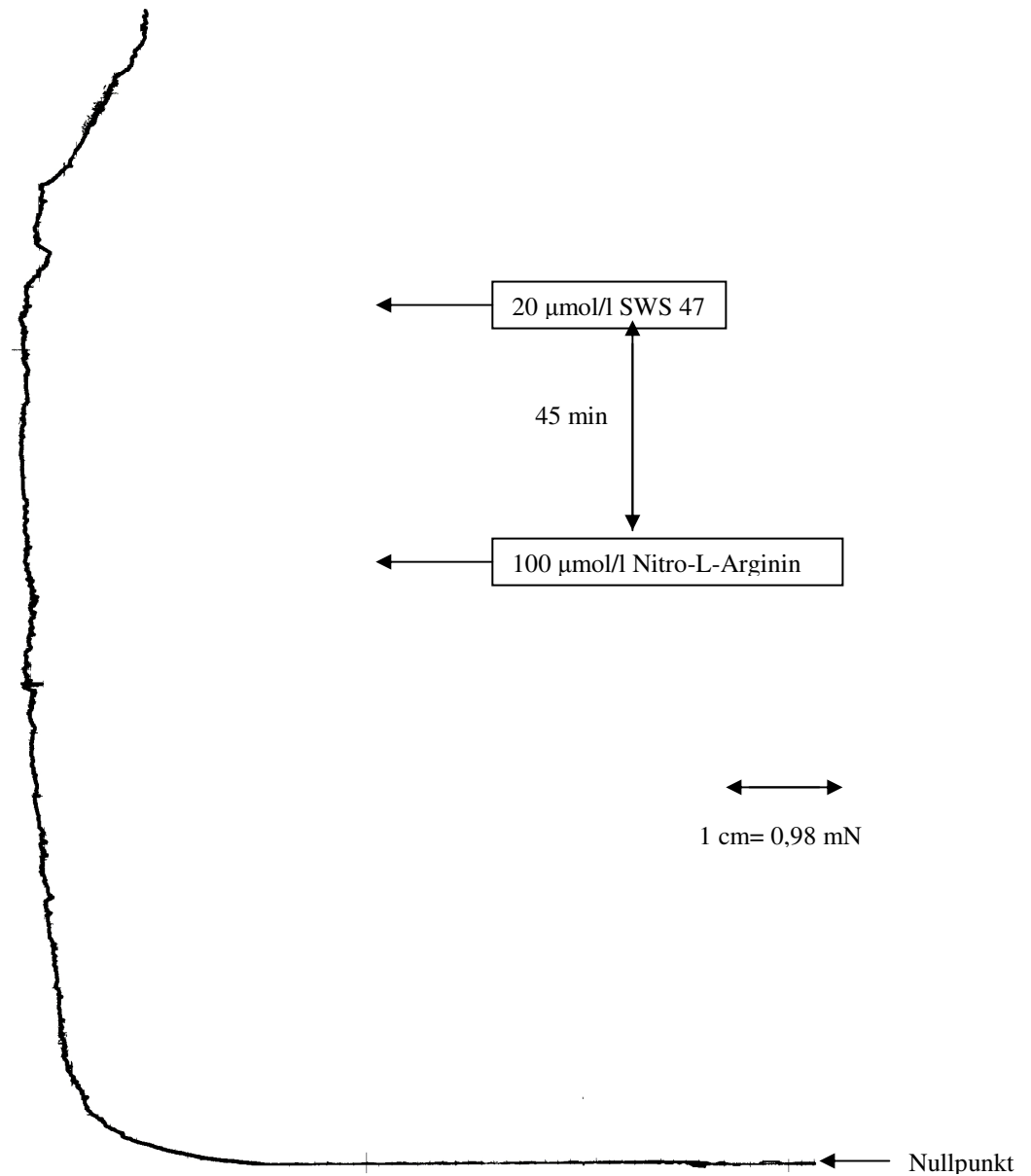
Diagramm 11: Wirkmechanismus mit Nitro-L-Arginin



Legende zum Diagramm:

Auf dem Diagramm sieht man die Auswirkung vom EC_{50} des SWS 47 auf die Kontraktionskraft, nachdem 100 μmol Nitro-L-Arginin dazugegeben wurden.

Abbildung 22: Originalabbildung des Wirkmechanismus von Nitro-L-Arginin auf die Aorta descendens



Legende zur Abbildung:

Zu den mit Pfeil markierten Zeitpunkten wurden die jeweiligen Substanzen appliziert. Der zeitliche Abstand betrug 45 Minuten.

4.3.2. Wirkung von SWS 47 im Zusammenhang mit Glibenclamid auf die Aorta

Bei dieser Versuchsreihe wurden zwei Konzentrationen des Kaliumkanalblockers Glibenclamid angewendet, nämlich 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$. Es sollte gezeigt werden, ob SWS 47 über ATP-abhängige Kaliumkanäle wirken könnte, denn dann würde es zu einer Antagonisierung durch Glibenclamid kommen. Glibenclamid wurde in dem Lösungsmittel DMSO gelöst.

Tabelle 13: Wirkmechanismus mit 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid

Konzentrationen ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums- wahrscheinlichkeit
Kontrolle	8,07 $\pm$ 1,77	0,00 $\pm$ 0,00	3	-
30 μM Glibencl.	7,48 $\pm$ 1,83	-8,34 $\pm$ 2,39	3	-
15 μM SWS 47	5,58 $\pm$ 1,58	-32,66 $\pm$ 4,22	3	0,05

Tabelle 14: Wirkmechanismus mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid

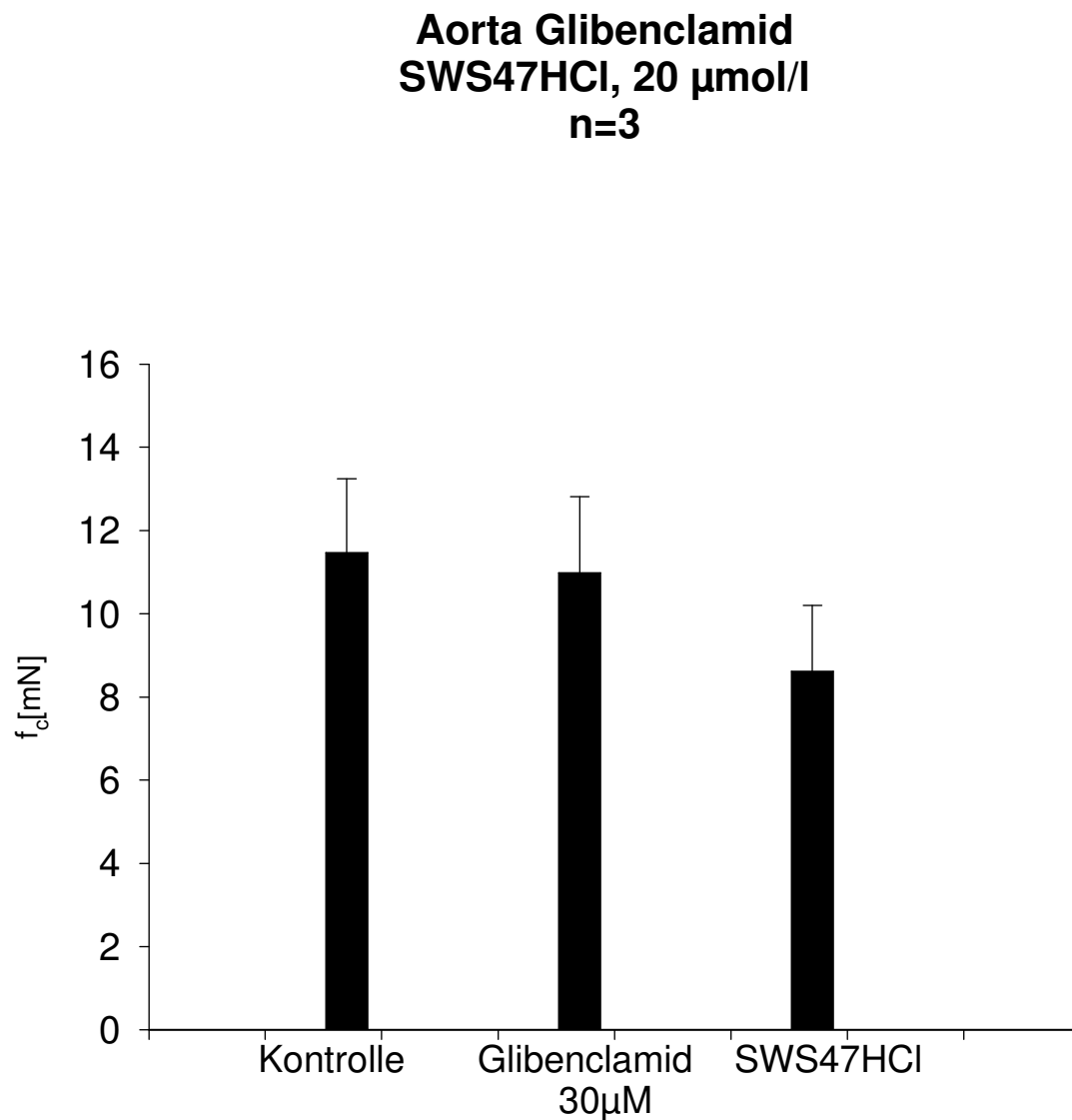
Konzentrationen ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl	Irrtums- wahrscheinlichkeit
Kontrolle	11,79 $\pm$ 0,51	0,00 $\pm$ 0,00	3	-
100 μM Glibencl.	11,17 $\pm$ 0,54	-5,17 $\pm$ 3,46	3	-
15 μM SWS 47	9,60 $\pm$ 0,5	-18,15 $\pm$ 4,52	3	0,05

Legende zur Tabelle:

fc.....Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

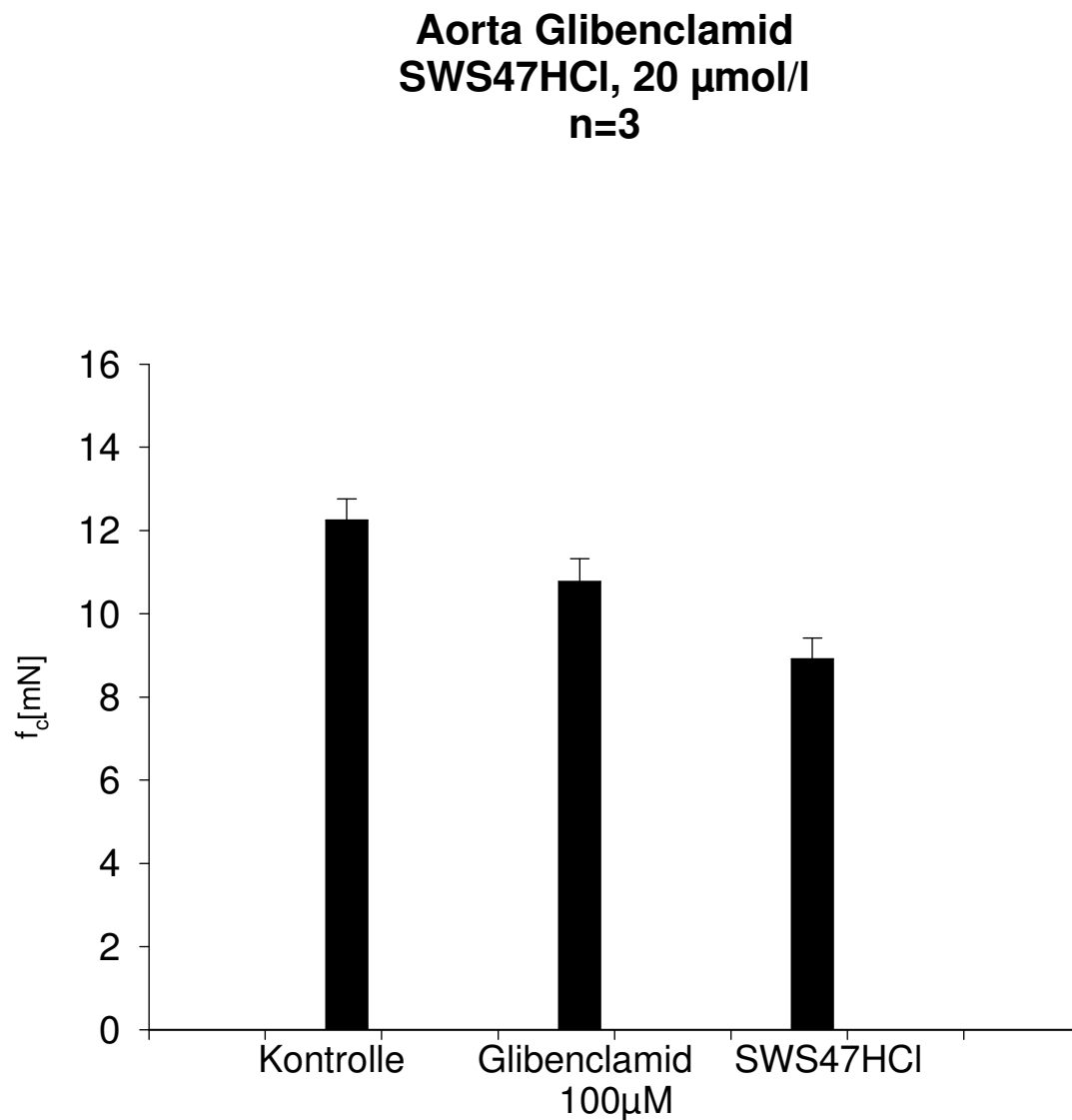
Diagramm 12: Wirkmechanismus mit 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid



Legende zum Diagramm:

Auf dem Diagramm sieht man die Auswirkung vom EC_{50} des SWS 47 auf die Kontraktionskraft, nachdem 30 μmol Glibenclamid dazugegeben wurden

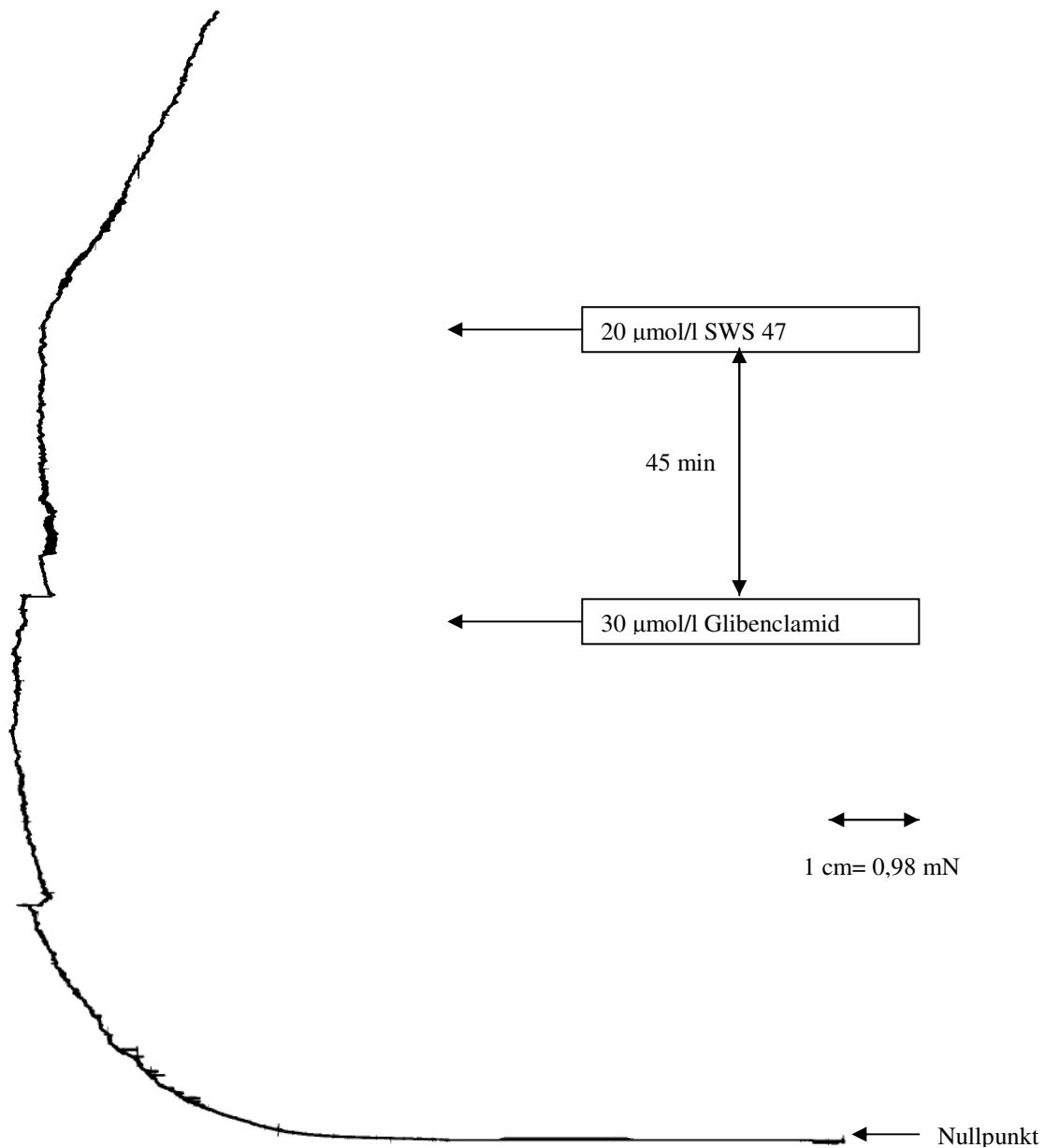
Diagramm 13: Wirkmechanismus mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid



Legende zum Diagramm:

Auf dem Diagramm sieht man die Auswirkung vom EC_{50} des SWS 47 auf die Kontraktionskraft, nachdem 100 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid dazugegeben wurden

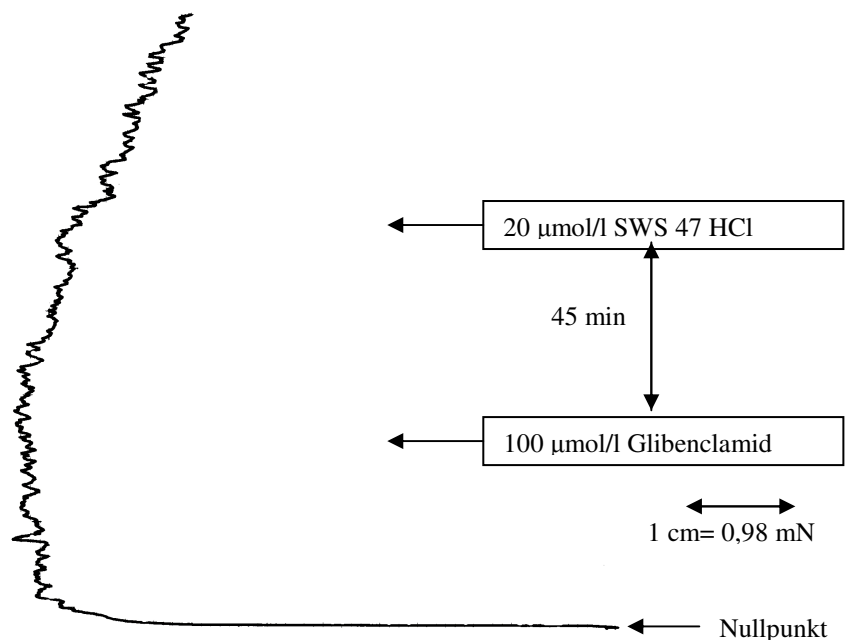
Abbildung 23: Originalabbildung des Wirkmechanismus nach Applikation von 30 $\mu\text{mol/l}$ Glibenclamid



Legende zur Abbildung:

Zu den mit Pfeil markierten Zeitpunkten wurden die jeweiligen Substanzen appliziert. Der zeitliche Abstand betrug 45 Minuten.

Abbildung 24: Originalabbildung des Wirkmechanismus nach Applikation von 100µmol/l Glibenclamid



Legende zur Abbildung:

Zu den mit Pfeil markierten Zeitpunkten wurden die jeweiligen Substanzen appliziert. Der zeitliche Abstand betrug 45 Minuten.

5. Diskussion

Bei den diversen Versuchsreihen ging es darum, die theoretische Annahme, dass die Testsubstanzen, H₂S-Donatoren, zu einer Erschlaffung der glatten Muskulatur bzw. zu einer Verringerung der Herzfrequenz und Kontraktionskraft führen könnten, zu bestätigen. Dazu standen SWS 37 HCl und SWS 47 HCl zur Verfügung, und die Experimente wurden an isolierten Organen von Meerschweinchen durchgeführt.

In der Diskussion wird nun versucht anhand der Ergebnisse aus Kapitel 4 die richtigen Schlussfolgerungen hinsichtlich der Wirkung zu ziehen. Dabei kann man hinsichtlich der Resultate ein paar kleine Unterschiede zwischen den zwei Substanzen erkennen.

Grundsätzlich kann man aber sagen, dass SWS 37 und SWS 47 schon bei kleinen Konzentrationen die Aorta descendens und Lungenarterie dilatierten, was anhand des EC₅₀ ersichtlich ist. Für die Herzpräparate war eine höhere Konzentration nötig, sofern der EC₅₀ überhaupt erreicht wurde.

Tabelle: Werte an der glatten Muskulatur

Organ	EC ₅₀ SWS 37 (µmol/l)	EC ₅₀ SWS 47 (µmol/l)
Aorta descendens	46	14,15
Arteria pulmonalis	-	23,8
Terminales Ileum	20,72	-

In dieser Tabelle kann man sehen, wie die Substanzen Unterschiede in der Wirkung aufwiesen. SWS 37 hatte z.B. an der Aorta einen hohen EC₅₀-Wert, hier konnte man erst bei einer Konzentration von 100 µl eine drastische Senkung von durchschnittlich 40 % beobachten. Hier hätte sich ein Test auf den Wirkmechanismus nicht rentiert, da die Wirkung nicht bei geringern Mengen auftritt.

SWS 47 HCl hingegen entwickelte seine Wirkung an der Aorta descendens schon bei kleineren Konzentrationen. Bei 10 µl gab es eine Abnahme von 36,07 ± 3,68 %. Nach der

Injektion von 100 µl war das Organ vollständig dilatiert, was man am entsprechenden Diagramm ablesen kann.

Die Ergebnisse bei der Lungenarterie brachten interessante Ergebnisse, denn hier ergab sich bei der Substanz SWS 37 HCl kein EC₅₀. Hingegen wurde bei SWS 47 ein EC₅₀ von 23,8 µmol/l, was einen passablen Wert darstellt.

Beim terminalen Ileum war es wiederum umgekehrt, hier wurde bei SWS 37 ein EC₅₀ von 20,72 µmol/l ermittelt, gleichzeitig blieb er aber bei SWS 47 HCl aus. Hier kann man vermuten, dass bei den einzelnen Präparaten kleine Unterschiede in der Struktur den Ausschlag gaben.

Da man bei der Testsubstanz SWS 47 HCl an der Aorta descendens den niedrigsten EC₅₀ erreichte, wurde diese ausgewählt, um den tatsächlichen Wirkmechanismus der H₂S-Donatoren an der glatten Muskulatur zu testen. Dazu wurden Nitro-L-Arginin und Glibenclamid verwendet, zwei potentielle Antagonisten.

Nitro-L-Arginin, das die NO-Oxidase blockiert, wurde in einer Konzentration von 100 µM dazugegeben, danach injizierte man 20 µM von SWS 47. Interessant war es zu sehen, dass die Abnahme der Kontraktion weit geringer war, als der Versuch ohne Nitro-L-Arginin durchgeführt wurde. Die Reduktion betrug $13,92 \pm 1,94$ mN, was auf einen Zusammenhang von NO-System mit der Testsubstanz schließen lässt.

Eine weitere Möglichkeit des Wirkmechanismus wäre über die Öffnung von ATP-abhängigen Kaliumkanälen. Dieses Öffnen führt zu einer Hyperpolarisation der Membran und in weiterer Folge zur Erschlaffung der glatten Muskulatur.

Wiederum verwendete man SWS 47 HCl, diesmal jedoch in Verbindung mit Glibenclamid, einem Kaliumkanalblocker, der den Mechanismus inhibiert. Sollte es wieder zu einer geringen Kontraktionsabnahme kommen, wüsste man, dass die Substanz potentiell auch hier angreift.

Man gab Glibenclamid, ein Sulfonylharnstoffderivat, in zwei Konzentrationen dazu, nämlich 30 µM und 100 µM, danach injizierte man wieder 100 µM der Testsubstanz SWS 47.

Es konnte bei beiden Konzentrationen von Glibenclamid wieder eine geringe Abnahme der Kontraktion festgestellt werden, was die vorherige Annahme bestätigte.

Man konnte also anhand der recht eindeutigen Resultate vermuten, dass SWS 47 sowohl über das Stickstoffmonoxidsystem als auch über ATP-abhängige Kaliumkanäle seine Wirkung entfaltet.

Die Herzpräparate wurden hinsichtlich ihrer Kontraktionskraft und Frequenz nach Injektion der Testsubstanzen untersucht. Hier ergaben sich wiederum unterschiedliche Ergebnisse, was anhand der Tabelle ersichtlich ist:

Organ	fc(%) ± SEM bei 100 µmol/l SWS 37 HCl	fc(%) ± SEM bei 100 µmol/l SWS 47 HCl
Papillarmuskel	-43,76 ± 6,55	-39,55 ± 3,23
Rechter Vorhof	1,06 ± 4,70	-40,71 ± 8,76

SWS 37 zeigte bei den Versuchen an den Papillarmuskeln bereits ab einer Konzentration von 3 µM eine Abnahme der Inotropie von $38,66 \pm 3,11$ % gegenüber dem Referenzwert. Bei einer Konzentration von 100 µM nahm sie minimal stärker ab auf einen Wert von $-43,76 \pm 6,55$ %.

Bei SWS 47 HCl konnte man beim Papillarmuskeln ab einer Konzentration von 10 µM eine stärkere Kontraktionsabnahme bemerken. Bei 100 µM betrug sie $39,55 \pm 3,23$ %.

Am Atrium dexter zeichnete sich ein unterschiedliches Bild hinsichtlich der Wirkung ab. SWS 37 HCl hatte auf die Chronotropie so gut wie keine Wirkung, und so konnte man auch bei einer Konzentration von 100 µM nur eine Steigerung von $1,06 \pm 4,70$ % beobachten.

Bei SWS 47 HCl jedoch fiel jedoch bei der letzten Konzentration eine deutliche Verringerung der Frequenz, nämlich um $-40,71 \pm 8,76$ %, auf.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass beide Substanzen die Herzmuskelpräparate beeinträchtigen, jedoch nur ab hohen Konzentrationen.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass die Wirkmechanismen der H₂S-Donatoren ein großes Unterfangen der heutigen Wissenschaft darstellen. Diese wurden in Kapitel 3 und in der Einleitung in diversen Studien diskutiert. Es ist jedoch nicht belegt, dass diese Substanzen ausschließlich über das NO-System und K_{ATP}-Kanäle wirken.

Es wird zudem angenommen, dass H₂S nicht nur an der glatten Muskulatur, sondern zudem auch am Endothel der Gefäße angreift (Zhao et al. 2001).

In einer 2008 unternommenen Studie konnte gezeigt werden, dass ATP-abhängige Kaliumkanäle doch nicht so eine große Rolle spielen. Als Alternative wurde der Weg über cAMP und Adenylatcyclase in Angriff genommen. Es zeigte sich in Versuchen an Ratten, dass NaHS deren Aorten kontrahierte, welche davor mit Phenylephrin kontrahiert und mit Betasympathomimetika wieder erschlafft wurden. Dies wäre ein Indiz auf eine Wirkung über β -Rezeptoren. Um diese These zu belegen, bedarf es noch weiterer Experimente (Lim et al. 2008).

Es wird zudem angenommen, dass H₂S nicht nur an der glatten Muskulatur, sondern zudem auch am Endothel der Gefäße angreift (Zhao et al. 2001).

Es konnte in einer Studie bewiesen werden, dass nach Konsum von Knoblauch die in ihm enthaltenen organischen Polysulfide im Körper in H₂S umgewandelt werden und so einen vasodilatatorischen und kardioprotektiven Effekt haben. (Benavides et al. 2007).

Auch auf Entzündungsprozesse scheint H₂S einen Einfluss zu nehmen. Es induziert nämlich die Apoptose von neutrophilen Leukozyten und blockt die Expression von inflammatorischen Leukozyten sowie Adhäsionsmolekülen (Zanardo et al. 2006). Dies wurde an Labormäusen getestet. Man sieht also, dass sich bezüglich dieser Substanzen immer wieder neue Türen öffnen, wobei mit der Zeit bestimmt auch bisherige Thesen widerlegt werden müssen. Hinsichtlich der Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen muss man den H₂S-Donatoren jedoch in Zukunft große Aufmerksamkeit schenken.

6. Zusammenfassung

Die durchgeführten Versuchsreihen hatten das Ziel, die Testsubstanzen, H₂S-Donatoren, hinsichtlich ihrer Wirkung auf glatte Muskulatur der Aorta, Lungenarterie und Darm bzw. quergestreifte Muskulatur der Papillarmuskeln und des rechten Vorhofs zu untersuchen.

Besondere Bedeutung hatte das Erreichen des EC₅₀, denn dieser war ein Indikator für eine signifikante Wirkung. Je niedriger dieser war, desto besser, d.h. es war weniger Konzentration nötig, um die Hälfte des Referenzwertes zu erreichen. Die Organe die verwendet wurden, stammten von bestimmten Zuchtstämmen von Meerschweinchen, den sog. TRIK-Stämmen. Täglich wurden sie nach Töten des Versuchstieres frisch entnommen und danach präpariert, gleichzeitig war unbedingt das Aufbewahren in Tyrodelösung und konstante Begasung mit Carbogen notwendig.

SWS 37 und SWS 47, die Testsubstanzen, wurden nach der Einwaage in 100 µl Aqua destillata gelöst und im Kühlschrank gelagert. Bei den Versuchen wurden Konzentrationen von 1 µl, 3 µl, 10 µl, 30 µl und 100 µl gemessen und auf ihre Wirkung getestet. Sichtbare Veränderungen konnte man vor allem bei höheren Mengen der Testsubstanzen beobachten, was anhand der Diagramme ersichtlich ist.

Die stärkste Wirkung zeigte SWS 47 HCl an der Aorta descendens, wo ein EC₅₀ von 14,15 µmol/l ermittelt werden konnte. Beim terminalen Ileum konnte mit SWS 47 kein EC₅₀ ermittelt werden, und bei der Lungenarterie betrug er 23,8 µmol/l. SWS 37 HCl hatte einen etwas schwächeren Effekt, man kann aber davon ausgehen, dass durch die Strukturähnlichkeit der Wirkmechanismus ähnlich ist. Bei der Aorta gab es einen deutlich höheren EC₅₀, nämlich 46 µmol/l, beim Darm einen EC₅₀ von 20,72 µmol/l.

Man konnte also feststellen, dass es kleine Unterschiede bezüglich der EC₅₀ gab, was mit den minimalen Differenzen in den jeweiligen Strukturen zu erklären ist. Es wurden im Anschluss an die Versuche Experimente bezogen auf den Wirkmechanismus durchgeführt, wo gezeigt werden konnte, in diesem Fall mit SWS 47 an der Aorta, dass diese Substanzen sowohl über ATP-abhängige K⁺-Kanäle als auch über das NO-System wirken.

7. Literaturverzeichnis

Bansinath M, Arbabha B; Turndorf H; Garg UC (1993) Chronic administration of a nitric oxide synthase inhibitor, N omega-nitro-L-arginine, and drug-induced increase in cerebellar cyclic GMP in vivo. *Neurochem Res* 18:1063-1066.

Benavides GA, Squadrito GL, Mills RW, Patel HD, T. Isbell S, Patel RP, Darley-Usmar VM, Doeller JE, Kraus DW (2007) Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic, *PNAS* Early Edition: 1-6.

Collin M, Farhana BM, Murch AO, Bhatia M, Moore PK, Thiernemann C (2005) Inhibition of endogenous hydrogen sulfide formation reduces the organ injury caused by endotoxemia, *British J Pharmacol* 146:498-505.

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

Hosoki R, Matsuki N, Kimura H (1997) the possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 237:527-531.

Huang XL, Zhou XH, Wei P, Zhang XJ, Meng XY, Xian XH (2008) Role of endogenous hydrogen sulphide in pulmonary hypertension induced by lipopolysaccharide. *Sheng Li Xue Bao* 60:211-215.

Lim JJ, Liu YH, Khin ESW, Bian JS (2008) Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of cAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 295:C1261-C1270.

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P, Schäfer-Kortnig M (2008) *Mutschler Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

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

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

Wang R (2002) Two's company, three's a crowd: can H₂S be third endogenous gaseous transmitter? Faseb J 16:1792-1798

Wang YF, Mainali P, Tang CS, Shi L, Zhang CY, Yan H, Liu Xq, Du JB (2008) Effects of nitric oxide and hydrogen sulphide on the relaxation of pulmonary arteries in rats. Chin Med J 121:420-423.

Zanardo RCO, Brancalione V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, and Wallace JL (2006) Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. The Faseb Journal, E1411-E1418.

Zhao WM, Zhang J, Lu YJ, Wang R (2001) The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. EMBO J 20:6008-6016.

Zhu ZY, Huang H, Tan CS, Whiteman M, Lu J and Moore PK, Wang ZJ, Ho P, Loke YY, Zhu YC, Shan (2006) Hydrogen sulphide and its possible roles in myocardial ischemia in experimental rats, J Appl Physiol 102:261-268.

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Amir Hamzic

Geboren am 07.01.1986 in Gorazde (Bosnien)

Wohnort: 7210 Mattersburg

Nationalität: Bosnien und Herzegowina

Vater: Hadzan Hamzic,
Qualitätsmanager(HTI)

Mutter: Sevala Hamzic, Betriebswirtin

Geschwister: Schwester Irma, Mag.phil

Schulbildung

1993-1995 Volksschule Oberwart

1996-2001 Gymnasium Oberschützen

2001-2004 Gymnasium Mattersburg

2004-2010 Studium der Pharmazie (Universität Wien)

Berufliche Erfahrung (Praktika, Feriapraktika)

Aug. 2003: HTI Plastics (Ferialarbeit)

Aug. 2004: HTI Plastics (AV)

Aug. 2005: HTI Plastics (Ferialarbeit)

Aug. 2006: Erwin Mach Gummitechnik (Ferialarbeit)

Aug. 2007: Erwin Mach Gummitechnik (Ferialarbeit)

Nov. 2007: Tutorium Angewandte Mikrobiologie (Universität Wien)

Nov. 2008: Tutorium Angewandte Mikrobiologie (Universität Wien)

Nov. 2009: Tutorium Angewandte Mikrobiologie (Universität Wien)