



DIPLOMARBEIT

„Pharmakologisches Profil von zwei diarylierten
Imidazolderivaten (PGU 81 HCl und PGU 127) an
isolierten Präparaten des Meerschweinchens“

Sonja Hager

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt.
Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt.
Studienblatt:

Pharmazie

Betreuerin / Betreuer:

Ao. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik

Danksagung

Vor allem möchte ich mich bei Herrn Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Christian Studenik für die Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung der Diplomarbeit sowie für das sehr nette Arbeitsklima und die freundliche und kompetente Betreuung bedanken.

Ebenso bedanke ich mich beim Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie für die Synthese und Bereitstellung der Testsubstanzen PGU 81 und PGU 127.

Weiters danke ich auch meinen Kolleginnen, mit denen ich eine schöne Diplomarbeitszeit im Labor verbracht habe und meinen Freunden, die mich während des Studiums begleitet haben und mit denen ich eine sehr schöne Zeit verbringen durfte.

Das größte Dankeschön gilt meiner lieben Familie für ihre sowohl liebevolle als auch finanzielle Unterstützung während meines gesamten Studiums.

Ein besonderer Dank gilt auch meinem Freund für seine Geduld, sein Verständnis und für das Ertragen meiner schlechten Laune vor den großen Prüfungen.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
1.1 Zielsetzung der Arbeit	1
1.2 Resveratrol	2
1.2.1 Vorkommen	2
1.2.2 Biosynthese	3
1.2.3 Wirkungen	3
1.2.4 Pharmakokinetik	6
1.3 Das Herz	8
1.3.1 Erregungsbildung und Erregungsleitung	9
1.3.2 Aktionspotentiale	9
1.3.3 Ionenkanäle und Ionenströme	10
2. MATERIAL UND METHODEN	11
2.1 Versuchstiere	11
2.2 Präparate	11
2.2.1 Allgemeine Isolierung und Präparation	11
2.2.2 Isolierung und Präparation des rechten Vorhofs	12
2.2.3 Isolierung und Präparation der Papillarmuskeln	13
2.2.4 Isolierung und Präparation der Pulmonalarterie	13
2.2.5 Isolierung und Präparation der Aorta	13
2.2.6 Isolierung und Präparation des terminalen Ileum	14
2.3 physiologische Nährlösung	15
2.4 Versuchsanordnung	16
2.4.1 Aufbau der Versuchsaapparaturen	16
2.4.1.1 <i>Versuchsapparatur 1</i>	17
2.4.1.2 <i>Versuchsapparatur 2</i>	18
2.4.2 Gaszufuhr	19
2.4.3 Kraftwandler, Verstärker und Schreiber	20

2.5	Testsubstanzen	20
2.5.1	PGU 81	21
2.5.2	PGU 127	21
2.6	Versuchsablauf	22
2.6.1	Versuchsablauf beim rechten Vorhof	23
2.6.2	Versuchsablauf am Papillarmuskel	23
2.6.3	Versuchsablauf an der Pulmonalarterie	24
2.6.4	Versuchsablauf an der Aorta	24
2.6.5	Versuchsablauf am terminalen Ileum	25
2.7	Auswertung der Ergebnisse	25
2.7.1	Auswertung des rechten Vorhofs	25
2.7.2	Auswertung des Papillarmuskels	26
2.7.3	Auswertung Aorta, Pulmonalarterie und terminales Ileum	26
2.8	Darstellung der Messergebnisse	27
3.	ERGEBNISSE	28
3.1	Ergebnisse der Testsubstanz PGU 81	28
3.1.1	Wirkung von PGU 81 auf den rechten Vorhof	28
3.1.2	Wirkung von PGU 81 auf den Papillarmuskel	31
3.1.3	Wirkung von PGU 81 auf die Aorta	34
3.1.4	Wirkung von PGU 81 auf die Pulmonalarterie	37
3.1.5	Wirkung von PGU 81 auf das terminale Ileum	40
3.2	Ergebnisse der Testsubstanz PGU 127	43
3.2.1	Wirkung von PGU 127 auf den rechten Vorhof	43
3.2.2	Wirkung von PGU 127 auf den Papillarmuskel	46
3.2.3	Wirkung von PGU 127 auf die Aorta	49
3.2.4	Wirkung von PGU 127 auf die Pulmonalarterie	52
3.2.5	Wirkung von PGU 127 auf das terminale Ileum	55

4. DISKUSSION	58
4.1 PGU 81	59
4.2 PGU 127	59
4.3 Vergleich beider Testsubstanzen	60
5. ZUSAMMENFASSUNG	63
6. LITERATURVEZEICHNIS	64
7. CURRICULUM VITAE	69

1. EINLEITUNG

1.1. Zielsetzung der Arbeit

Diese Diplomarbeit handelt über die Wirkungen zweier an der Universität Wien am Institut für pharmazeutische Chemie neu synthetisierter Substanzen (PGU 81 und PGU 127), die stark modifizierte Varianten des Naturstoffs Resveratrol darstellen.

Im Gegensatz zum Resveratrol, das chemisch gesehen ein Trihydroxystilben ist, handelt es sich bei den Testsubstanzen um Verbindungen die als Grundgerüst einen Imidazolring besitzen. An diesen sind Methoxyphenylringe bzw im Fall des PGU 127 ein Pyridinring gebunden.

Die Wirkung dieser Substanzen wurde an isolierten Organen des Meerschweinchens untersucht. Man untersuchte den Einfluss der Substanzen auf die glatte Muskulatur von terminalem Ileum, Aorta und Arteria pulmonalis, sowie eine eventuell vorhandene positiv bzw. negativ inotrope Wirkung auf die quergestreifte Muskulatur des Muskulus papillaris und eine eventuelle positiv bzw. negativ chronotrope Wirkung auf die ebenfalls quergestreifte Muskulatur des Atrium cordis dextrum.

Das 1. Kapitel handelt über die Zielsetzungen der Arbeit und gibt Hintergrundinformationen über das Resveratrol und auch über die Vorgänge der Erregungsprozesse im Herzen um ein besseres Verständnis für den Sinn der später erklärten Versuche zu vermitteln.

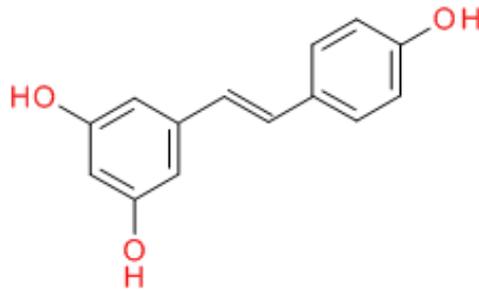
Im 2. Kapitel wird auf den theoretischen Hintergrund und die Vorbereitung und Durchführung der Versuche sowie die dafür verwendeten Apparaturen eingegangen. Die in Folge erhaltenen Ergebnisse werden in 3. Kapitel erklärt, das auch Abbildungen der Originalaufzeichnungen der Versuche sowie die sich aus den abschließenden Berechnungen ergebenden Dosis-Wirkungskurven und EC_{50} -Werte enthält.

In Kapitel 4 werden die im vorangegangenen Kapitel erhaltenen Ergebnisse eingehend diskutiert und analysiert um eine eventuelle Bedeutung der Testsubstanzen zu ermitteln.

Schlussendlich werden im 5. Kapitel die relevantesten Fakten und Schlussfolgerungen zusammengetragen.

1.2 Resveratrol

Abbildung 1: Resveratrol



Um eine Grundlage für das Verständnis der vorliegenden Arbeit zu schaffen, wird die Ausgangsverbindung der untersuchten Substanzen, das Resveratrol, kurz beschrieben.

Resveratrol ist chemisch gesehen ein trans-3,5,4'-Trihydroxystilben. Es gehört zu den Phytoalexinen.

1.2.1 Vorkommen

Resveratrol wurde erstmals von Nonomura et al. 1963 aus einem Knöterichgewächs (*Polygonum cuspidatum*) isoliert und identifiziert. Der Nachweis in der Weintraube erfolgte erst 1976 von Langcake und Pryce.

1994 wurde von Waterhouse et al. die Existenz der entsprechenden Glycoside nachgewiesen. Erst 1997 wurde durch Soleas et al. erkannt, dass Resveratrol zur Polyphenolfraktion des Rotweins gehört. Neben dem größten Vorkommen in der Weinrebe (*Vitis vinifera*) und hier vor allem in der Schale, wo der Resveratrolgehalt am höchsten ist, aber auch in Traubenkernen, -stielen, und -wurzeln, wurde Resveratrol auch in zahlreichen anderen Pflanzen entdeckt, wie zb. in Fichte, Eukalyptus, Maulbeere und Lilie.

Beim Wein ist die Konzentration des Resveratrols abhängig von der Dauer der Extraktion bei der Herstellung. Daher ist auch der Gehalt in Weißwein und Traubensaft geringer, da hier ein kürzerer Fermentationsprozess stattfindet. Auch bei Erdnüssen ist der Gehalt in der Schale am höchsten, er vermindert sich jedoch bei der Röstung (Schmandke 2002).

Hohe Dosen von Resveratrol können die Lebenserwartung erhöhen, jedoch wurden für die Studien die das anhand von Versuchen an Einzellern aber auch an Mausmodellen beweisen, Dosen verwendet, die weit über dem durch normale Ernährung zuführbaren Bereich liegen.

So müsste man etwa 60 Liter Rotwein täglich trinken um die nötige Dosis zu erreichen (Howitz et al. 2003; Wood et al. 2004; Valenzano et al. 2006)

1.2.2 Biosynthese

Die Biosynthese verläuft ausgehend vom Phenylalanin, das zu trans-Zimtsäure desaminiert wird, und in Folge zur p-Hydroxyzimtsäure (= 4-Cumarsäure) hydroxyliert wird. Durch Cyclisierung mit einem Coumaryl-CoA und drei Malonyl-CoA entsteht daraus das Resveratrol. Das Schlüsselenzym der Biosynthese ist die Resveratrol-Synthase, die eine Stilbensynthase darstellt. (Schröder et al. 1988, Austin et al. 2004)

1.2.3 Wirkungen

Es gibt zahlreiche Studien, die sich mit dem therapeutischen Potential und dem Mechanismus der Wirkung von Resveratrol beschäftigen. Man fand heraus, dass Resveratrol einen positiven Einfluss bei zahlreichen Erkrankungen hat. Beispiele dafür sind: neurodegenerative Erkrankungen, Diabetes, Tumorerkrankungen, entzündliche und kardiovaskuläre Erkrankungen.

Ein Widerspruch findet sich in der Tatsache, dass eine geringe Dosierung das Überleben von Zellen induziert wie es z.B. bei der kardio- und neuroprotektiven Wirkung der Fall ist, wohingegen hohe Dosen zu Zelltod führen, weshalb sich Resveratrol auch für den Einsatz bei der Krebstherapie eignet (Baur und Sinclair 2006).

Am bedeutendsten scheint die Wirkung bei der Behandlung und Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen zu sein, wo sich ein Potential bei Myokardinfarkt, Arrhythmien, Hypertonie, Arteriosklerose und Thrombosen zeigt.

Resveratrol ist primär auch als Antioxidans bekannt und wirkt indem es die NO Bioverfügbarkeit erhöht. Ebenso wirkt es in Anwesenheit von Metallionen als Antioxidans, was den Hauptmechanismus für die Antitumorwirkung darstellt. (Alarcón de la Lastra und Villegas 2007)

Chemoprevention

Resveratrol hemmt oder verzögert das Wachstum von einer Vielzahl von Tumorzellen. Der Mechanismus wurde an Tiermodellen untersucht, wobei man herausfand, dass Resveratrol viele Komponenten intrazellulärer Signalkaskaden wie

pro-inflammatorische Mediatoren, Tumorangiogenese und Zellwachstum bzw Apoptose beeinflusst indem es zb. auf Kinasen und Transkriptionsfaktoren Einfluss nimmt (Kundu und Surh 2008, Pirola und Fröjdö 2008).

Ergebnisse über die Wirkung an humanen Tumorzellen sind jedoch bisher eher Schlussfolgerungen epidemiologischer Studien als Resultate klinischer Studien an Krebspatienten.

Die kardioprotektiven und krebspräventiven Wirkungen von Resveratrol sind antiinflammatorischen Effekten zuordenbar, wie der Hemmung der Synthese und Freisetzung pro-inflammatorischer Mediatoren oder der Hemmung der Eicosanoidsynthese oder der Enzyme COX1 oder COX2.

Aber auch hemmende Effekte auf Transkriptionsfaktoren wie NF-kappaB oder Activator Protein-1 (AP-1) spielen eine Rolle. (Das & Das 2007a; Udenigwe et al. 2008)

Studien haben gezeigt, dass Resveratrol die TNF α -Aktivierung unterdrückt (Das et. al. 2006b), andere zeigten eine signifikante Hemmung von IL-1, IL-6 und IL-8 Aggarwal et. al. 2004, Marier et. al. 2005, Donnelly et al. 2004).

Diabetes

Untersuchungen an Rattenmodellen zeigten, dass Resveratrol in der Lage ist den Blutzucker und Triglyceride zu senken (Su et al 2006) und dadurch präventiv auf Bluthochdruck und Hypertrophie wirkt.

Bei Ratten mit Diabetes Typ2 konnte Resveratrol die GLUT4 Expression steigern (Lekli et al/2008).

Resveratrol erhöht auch die Insulin-Sensibilität indem es den Blutglucoselevel bei Tieren mit erhöhtem IGF1 und erhöhter AMP-aktivierter Proteinkinase reduziert. (Baur et al 2006).

Ebenso lindert es auch neuropathische Schmerzen bei Diabetes durch Beeinflussung von NO und TNF α . (Sharma et. al. 2007).

GI-Erkrankungen

Helicobacter pylori führt zu peptischen Ulcera und kann auch zu gastrointestinalen Tumoren führen. Resveratrol hemmt H. pylori Besiedelung und GI Entzündung

indem es die Cytokin- und Chemokin-Freisetzung reduziert und auch NF-kappaB Bindung unterdrückt und Mutagenese hemmt (Lee et al. 2008).

Neuroprotektive Wirkung

Zahlreiche Studien beschäftigen sich auch mit der Neuroprotektiven Wirkung des Resveratrol. Eine Theorie für diese Wirkung ist auch der verringerte oxidative Stress durch Resveratrol sowie die erhöhte NO Freisetzung (Kiziltepe et al. 2004). Aus diesem Grund scheint der Einsatz bei M. Alzheimer sinnvoll, da Neurotoxizität bei dieser Erkrankung eine Rolle spielt.

Rolle bei Myokardinfarkt

Da Resveratrol ein Polyphenol ist schützt es das Herz vor allem durch seine antioxidativen Eigenschaften über verschiedene Redox-Signalmechanismen. (Das und Maulik 2006, Vidavalur et al. 2006) aber auch durch Sirtuin Aktivierung. (Thirunavukkarasu et al 2008).

Sirtuin-1 ist ein Enzym, das mehrere Regulations-Proteine durch Deacetylierung oder Komplexbildung modifiziert und somit Teil der Signaltransduktion ist.

Sirtuin-1 bremst die Einleitung der Apoptose, die Muskelzellendifferenzierung und schaltet den Stoffwechsel um auf Fettverbrennung.

Resveratrol führt wie oben schon erwähnt auch zu NO-Produktion und Aktivierung des Antioxidans Bcl-2 (Das et al. 2005a, 2005b).

Bcl-2 ist ein Protein das bei der Regulation der Apoptose eine beteiligt ist.

Angiogenese

Resveratrol spielt auch bei der Angiogenese eine Rolle, indem es VEGF-Freisetzung induziert und somit über die Bildung von Kollateralen ischämische Herzscheiden reduziert.

Resveratrol ist auch wirksam bei endothelialer Dysfunktion, die oft bei koronaren Herzerkrankungen zu finden ist. Es schützt Endothelzellen, reduziert den Blutdruck und oxidativen Stress und wirkt somit Endorganschäden entgegen (Perez-Vizcaino et al. 2006).

Polyphenole wie Resveratrol wirken auch positiv bei koronaren Herzerkrankungen, indem sie Blutlipidwerte verbessern (Zern & Fernandez, 2005) und auch über Hemmung der Fibroblastenproliferation (Olson et al. 2005).

Koagulation

Resveratrol ist auch in der Lage Einfluss auf die Blutkoagulation zu nehmen, indem es die Expression von Tissue factor mRNA reduziert. Tissue factor (=Thromboplastin bzw. Faktor3) spielt eine Rolle in der Blutgerinnungskaskade indem es Faktor 7 zu Faktor 7a macht und somit für die Umwandlung von Faktor 10 in 10a mitverantwortlich ist (Di Santo et al. 2003).

Resveratrol hemmt auch die Plättchenaggregation indem es COX1 hemmt. Dadurch wird auch das Risiko für Schlaganfälle und Myokardinfarkt reduziert (Baur und Sinclair 2006)

1.2.4 Pharmakokinetik

Resveratrol wird, wenn es oral aufgenommen wird mit einer Bioverfügbarkeit von 70 Prozent resorbiert. Seine Plasmahalbwertszeit liegt bei etwa 9 Stunden. Der größte Teil wird über die Niere ausgeschieden.

Im Plasma kann nur ein geringer Anteil unverändertes Resveratrol nachgewiesen werden, da es größtenteils schnell durch Konjugation mit Schwefelsäure und Glucuronsäure und durch Hydrierung der Doppelbindung metabolisiert wird.

Daher sind die Hauptmetabolite in Serum und Urin Phase-2-Konjugate wie trans-Resveratrol-3-O-glucuronid und trans-Resveratrol-3-O-sulfat. Resveratrol das nicht metabolisiert wird interagiert zu einem großen Teil mit Albumin, wobei diese Interaktion abhängig von anwesenden Fettsäuren ist. Resveratrol wird aktiv und passiv in Leberzellen aufgenommen. Der aktive Transport erfolgt über Carrier.

Die Wirkungen trotz dieses starken Metabolismus kommen durch Akkumulation in Epithelzellen zustande sowie durch mögliche aktive Metabolite. (Yu et al. 2002, Jannin et al. 2004, Walle et al. 2004)

Methylierte Polyphenolanaloga wie Pterostilbene [3,5-dimethoxy-4'-hydroxy-trans-stilbene], könnten diesen Metabolismunachteil beseitigen.

Eine Studie ergab, dass Pterostilbene eine Bioverfügbarkeit von 80% im Vergleich zu Resveratrol mit nur 20% Bioverfügbarkeit aufwies.

Plasmaspiegel von Pterostilbenen und Pterostilbensulfaten waren bedeutend höher als von Resveratrol und Resveratrolsulfaten. Nur die Spiegel von Resveratrolglucuroniden und Pterostilbenglucuroniden waren gleich. (Kapetanovic et al. 2010)

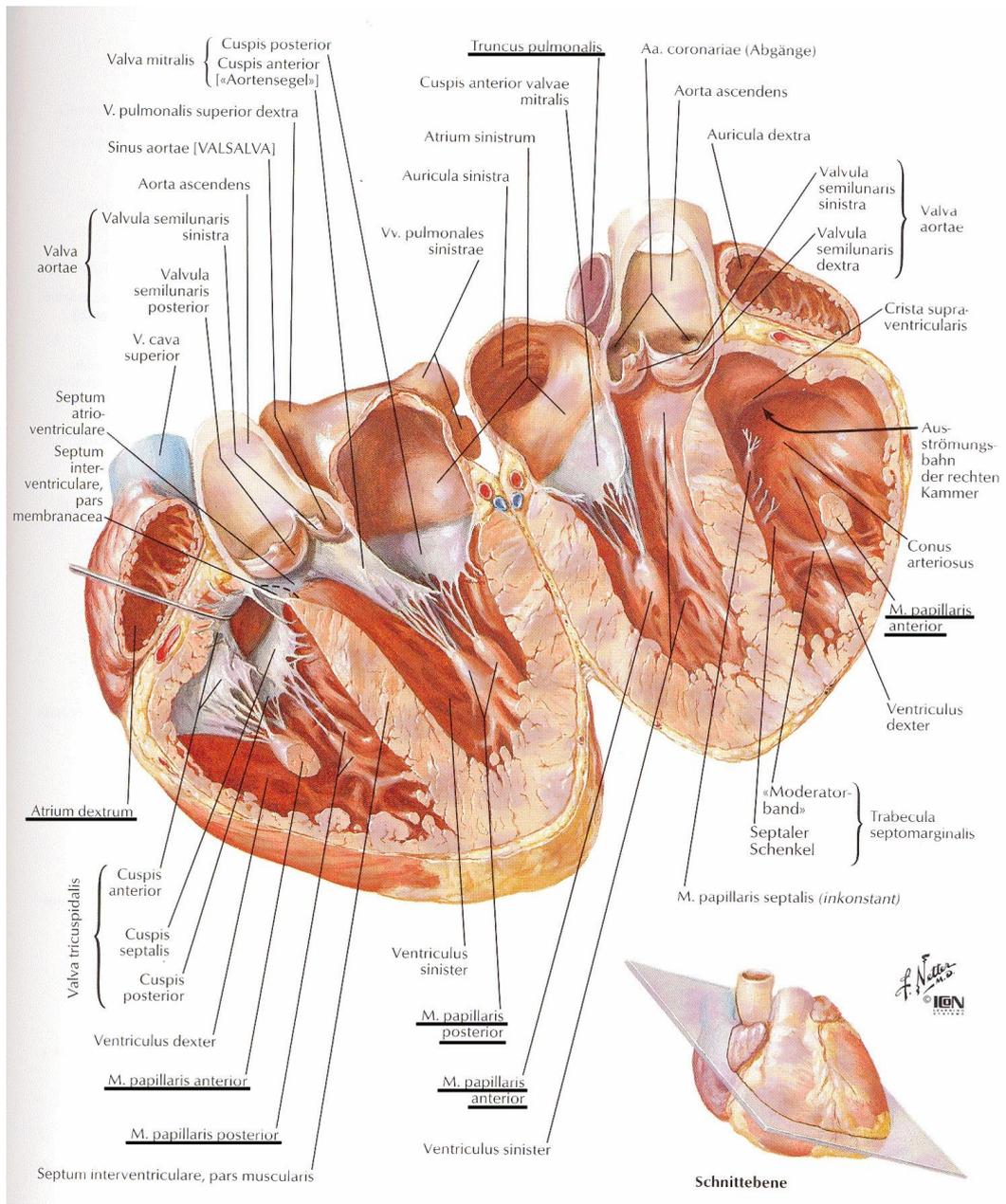
Resveratrol inaktiviert Cytochrom P450 Isoenzym 3A4, wodurch es zu Interaktionen mit zahlreichen Arzneistoffen kommen kann die Substrat von CYP 3A4 sind. (Chan et al. 2000)

Beispiele für solche Arzneistoffe sind: Immunsuppressiva, Chemotherapeutika, Antimykotika, Makrolide, trizyklische Antidepressiva, Selektive Serotonin Reuptake Hemmer

1.3 Das Herz

Die Aufgabe des Herzens ist es das aus den Körpervenen und Lungenvenen zufließende Blut in das arterielle System auszutreiben, wobei Strömungswiderstände des Kreislaufs durch rhythmische Erschlaffung (Diastole) und Kontraktion (Systole) des Herzens überwunden werden müssen (Thews).

Abbildung 2: Anatomie des Herzens



1.3.1 Erregungsbildung und Erregungsleitung

Das Herz ist zur Autoarrhythmie befähigt. Das heißt es ist in der Lage Erregungen in Form von Aktionspotentialen fortzuleiten.

Die normale Erregung des Herzens geht normalerweise vom Sinusknoten aus, der zur spontanen Erregungsbildung befähigt ist und einen 1-2cm langen Zug spezialisierter Muskelfasern darstellt. Der Sinusknoten ist also der „Schrittmacher“ des Herzens. Er ist im rechten Vorhof lokalisiert. Von dort breitet sich die Erregung über das Vorhofmyokard zum AV-Knoten (atrioventrikulären Knoten) aus und wird dann weiter über das His-Bündel, das sich in rechten und linken Kammerschenkel teilt über die Purkinje-Fasern zum Arbeitsmyokard geleitet.

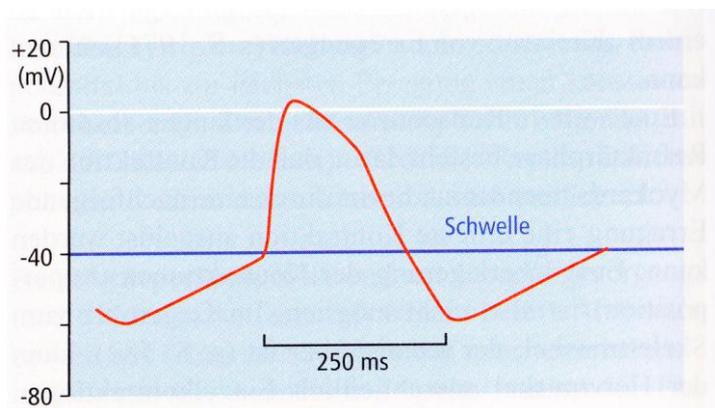
Der Sinusrhythmus beträgt in Ruhe $60-80 \text{ min}^{-1}$. Wenn der Sinusknoten ausfällt übernimmt der AV-Knoten die Schrittmacherfunktion (Thews).

1.3.2 Aktionspotentiale

Die Myokardfaser weist ein Ruhepotential von etwa -90mV zwischen negativen Intrazellulär- und positivem Extrazellulärraum auf. Bei einem Erregungsprozess kommt es zu einer kurzfristigen Positivierung des Faserinneren.

Das Aktionspotential wird durch eine lokale Depolarisation ausgelöst die mindestens 15mV betragen muss. Wenn diese Schwelle (bei Myokardfasern -70 bis -75mV) überschritten wird kommt es zu einem sehr schnellen Potentialanstieg bis zu einem Wert von ca. $+30\text{mV}$. Nach dieser Aufstrichphase (Depolarisationsphase) kommt es zur Repolarisationsphase, die sich aus einer länger andauernden Plateauphase und einer rascheren Rückkehr zum Ruhepotential zusammensetzt.

Abbildung 3: Aktionspotential am Herzen



Ein Aktionspotential dauert in Abhängigkeit von der Herzfrequenz zwischen 180 und 400 ms. Weiters gibt es noch die Refraktärphase die an die Repolarisationsphase anschließt und die in absolute und relative Refraktärphase unterteilt wird. In der absoluten Refraktärphase kann auch durch extreme Reize keine weitere Erregung ausgelöst werden. In der relativen Refraktärphase kann ein neues Aktionspotential nur durch eine stärkere Depolarisation als unter normalen Umständen ausgelöst werden. Der Sinn der Refraktärphase ist es, dass eine Kontraktion des Myokards beendet ist bevor eine neue Kontraktion ausgelöst wird. „Re-entry“ und „kreisen“ von Erregungen wird somit verhindert (Thews).

1.3.3 Ionenkanäle und Ionenströme

Phase 0: Zu Beginn des Aktionspotentials kommt es zu einer raschen, kurz andauernden Öffnung spannungsabhängiger Na-Kanäle. Wenn Na-Kanäle gehemmt werden verlängert sich die Depolarisationsphase.

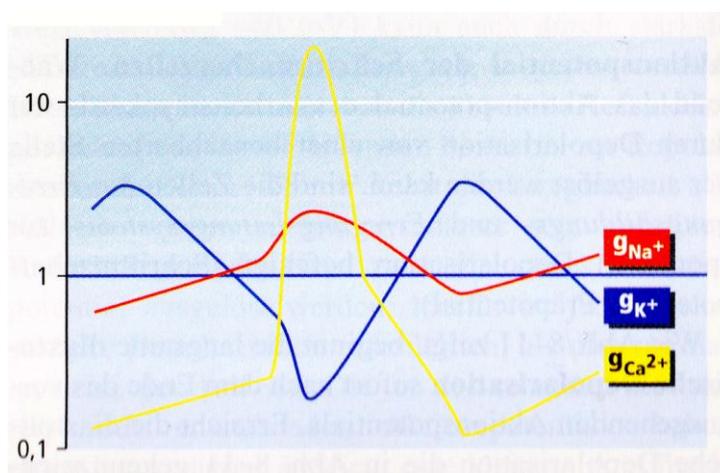
Phase 1: Na-Kanäle inaktivieren

Phase 2: Es kommt zu einer depolarisationsvermittelten Öffnung von L-Typ Ca-Kanälen, die die Plateauphase der Repolarisation verursachen. Während des Plateaus halten sich repolarisierende K-Auswärtsströme und depolarisierende Ca-Einwärtsströme die Waage.

Phase 3: Ca-Kanäle inaktivieren. Es überwiegen K-Auswärtsströme. Die Phase endet mit Erreichen des Ruhepotentials.

Phase 4: Bis zur nächsten Depolarisation kommt es zu keiner Potentialänderung mehr. Verantwortlich dafür sind K-Einwärtsströme (Aktories).

Abbildung 4: Ionenströme während des Aktionspotentials



2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden fünf isolierte Organe männlicher und weiblicher Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von 250 bis 600 Gramm verwendet. Das bedeutet dass es sich um sehr junge Tiere handelte was für einen problemlosen Versuchsablauf von Bedeutung ist.

Bei den Versuchstieren handelt es sich um Meerschweinchen des Stammes „TRIK“.

Bei den Organen handelt es sich um den rechten Vorhof (Atrium cordis dextrum) und den Papillarmuskel (Musculus papillaris) des Herzens sowie die Aorta, die Arteria pulmonalis und das terminale Ileum.

Meerschweinchen sind deshalb besonders für diese Versuche geeignet, da ihre Ionenkanäle denen des Menschen am ähnlichsten sind.

2.2 Präparate

2.2.1 Allgemeine Isolierung und Präparation

Nachdem das Meerschweinchen durch einen schnellen Genickschlag getötet wurde, wurde der Thorax mit einer Schere geöffnet, das noch schlagende Herz, die thorakale Aorta und das terminale Ileum möglichst rasch entnommen und sofort in eine zuvor hergestellte physiologische Nährlösung gelegt.

Es wurde darauf geachtet die Organe in der Nährlösung so schnell wie möglich mit einer Gasmischung aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid zu begasen um ein Absterben zu verhindern.

Die Präparation der Organe erfolgte aufgrund ihrer geringen Größe unter einem Lichtmikroskop in einer mit Kork ausgelegten und mit Elektrolytlösung befüllten Petrischale. Auf dem Korkuntergrund war es möglich die Organe zur Bearbeitung mit Präpariernadeln zu fixieren. Um das Aufschwimmen der Korkplatte zu verhindern wurde die Petrischale weiters mit einem Gummiring ausgelegt.

Als Präparierwerkzeuge dienten Pinzetten, Präpariernadeln, Spitzscheren, Federschere und Pasteurpipetten.

Auch nach abgeschlossener Präparation wurden die Organe bis zum Einspannen in die Versuchsapparatur in begaster Elektrolytlösung aufbewahrt.

Abbildung 5: Lichtmikroskop und Präparierbesteck



2.2.2 Isolierung und Präparation des rechten Vorhofs

Nach Entnahme des Herzens aus dem Thorax wurde es von überschüssigem Blut befreit und danach in eine Petrischale gelegt wo es an der Spitze und an der Basis mit je einer Nadel fixiert wurde. Dann wurde das Perikard und anhaftendes Fettgewebe und Lungengewebe entfernt.

Um die Kammer vom Vorhof zu trennen wurde entlang des Sulcus coronarius geschnitten um den rechten Vorhof vom rechten Ventrikel zu trennen. Dabei war eine vorsichtige Vorgehensweise unerlässlich um den während des gesamten Vorganges weiterschlagenden Sinusknoten nicht zu verletzen, da dieser ja als primärer Schrittmacher des Herzens für die Chronotropie und somit für eine erfolgreiche Versuchsdurchführung von Bedeutung ist.

Dann wurde mir Hilfe eines Bindfadens ein kleines Silberhäkchen am rechten Herzohr befestigt und eines an der Spitze des Sinusknotens. Durch diese Häkchen konnte das Präparat anschliessend in der Versuchsapparatur befestigt werden.

2.2.3 Isolierung und Präparation der Papillarmuskeln

Nach Entfernung des rechten Vorhofs wurde der rechte Ventrikel entlang des Septums bis zur Herzspitze aufgeschnitten, aufgeklappt um die Papillarmuskeln sichtbar zu machen, und mit Nadeln fixiert.

Nun war es wichtig die Purkinjefasern sorgfältig zu entfernen um den Versuchsablauf durch die Spontanaktivität der Fasern nicht zu beeinträchtigen.

Dann wurde mit einem Bindfaden ein Silberhäkchen am Ansatz der Papillarmuskelsehne befestigt, anschließend die Sehne durchtrennt und der Muskel sehr vorsichtig herausgeschnitten um ihn nicht zu überdehnen.

2.2.4 Isolierung und Präparation der Arteria Pulmonalis

Nachdem unter dem Mikroskop anhaftende Lungenteile, Fettreste und Perikard mit der Federschere entfernt wurden konnte man die Arteria Pulmonalis abschneiden. Dies geschah so nah wie möglich am Herzen da nur der relativ kleine Teil bis zur Aufgabelung in rechte und linke Arterie verwendet werden konnte.

Nach Isolierung der Arteria Pulmonalis wurde sie in der Petrischale mit zwei Nadeln fixiert und noch anhaftendes Fett- und Muskelgewebe entfernt. Die nun saubere Pulmonalarterie wurde in 3-4 mm dicke Ringe geschnitten. Diese konnten später direkt ohne Hilfe der Häkchen in der Versuchsanordnung eingespannt werden.

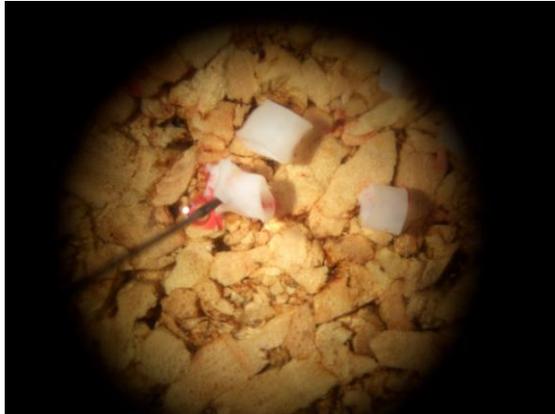
2.2.5 Isolierung und Präparation der Aorta

Hier wurde nicht der Aortenbogen sondern die am Rückgrat liegende thorakale Aorta verwendet. Nach Thoraktomie wurde die Aorta vorsichtig mit Hilfe von Pinzette und Spitzschere entlang des Rückgrats herausgeschnitten wobei die Wirbelsäule stark nach vorn gedrückt werden musste um die Aorta gut zu erreichen. Ein ca. 3 cm langes Stück wurde entnommen und in die Nährlösung gelegt.

Die weitere Präparation erfolgte unter dem Mikroskop. Die Aorta wurde wieder in eine mit Nährlösung befüllte Petrischale mit Korkboden gelegt und an beiden Enden mit einer Nadel fixiert. Mit Hilfe von Pinzette und Federschere wurde überschüssiges Fettgewebe entfernt wobei darauf zu achten war die Aorta nicht mit der Schere zu beschädigen. Danach wurde die Aorta in ca. 2 mm dicke Ringe geschnitten die

später direkt und ohne Verwendung von Häckchen in die Versuchsanordnung eingespannt werden konnten.

Abbildung 6: Präparierte Aorta



2.2.6 Isolierung und Präparation des terminalen Ileums

Zur Entnahme des kurz vor dem Caecum liegenden terminalen Ileums wurde die Bauchdecke mit der Präparierschere aufgeschnitten und ein ca. 20 cm langes Stück des Dünndarms herausgezogen. Dabei musste man mit der Schere das Mesenterium immer wieder einschneiden um das Ileum herausziehen zu können. Das Darmstück wurde am jejunalen Ende mit einem Bindfaden abgebunden und am caecalen Ende abgeschnitten und in die begaste Nährlösung gelegt.

Später wurde ein ca. 1 cm langes Stück vom caecalen Ende schräg abgeschnitten und in eine Petrischale gelegt. Das Ileumstück wurde an beiden Enden mit einer Präpariernadel fixiert und mit einer Pasteurpipette vorsichtig durchspült ohne es zu überdehnen. Das durchspülen hatte den Zweck eventuell noch vorhandene Chymusreste zu entfernen.

An den schrägen Enden konnten nun mit Hilfe eines Bindfadens zwei Drahthäkchen angebracht werden wobei darauf zu achten war nicht unabsichtlich eine der beiden Öffnungen beim Zubinden mit dem Faden zu verschließen.

Eine ausreichend große Darmöffnung war nötig, dass die Testsubstanz das Präparat gleichmäßig von allen Seiten und auch von der Innenseite her durchströmen konnte.

Bis zum Aufhängen in der Versuchsanordnung wurden die fertigen Darmpräparate wieder in begaster Nährlösung aufbewahrt.

2.3 physiologische Nährlösung (Tyrode)

Tabelle 1: Zusammensetzung der Nährlösung

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

Die physiologische Nährlösung wurde jeden Morgen frisch zubereitet. Es handelt sich um eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung, die nach Vorschrift von Reiter (1967) hergestellt wurde.

Dazu wurde nach der oben angegebenen Tabelle vorgegangen, wobei zuerst alle Bestandteile bis auf das CaCl₂ in der vorgeschriebenen Menge in einem 2l Meskolben gemischt wurden und danach mit Aqua bidestillata auf ca. drei Viertel des Volumens aufgefüllt wurde. Um die Bestandteile gut zu vermischen wurde der Kolben gründlich geschüttelt.

Dann wurde 20 Minuten lang mit Oxymix begast und erst danach das CaCl₂ langsam und tropfenweise mit einer Pipette zugegeben um ein Ausfallen des schwerlöslichen Calciumsalzes zu vermeiden. Diese würden zur Trübung der Nährlösung führen wodurch diese unbrauchbar wird.

Oxymix/Carbogen ist ein Gasgemisch und besteht aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid. Der Sinn ist es die Lösung mit Sauerstoff zu sättigen und einen konstanten physiologischen pH-Wert von 7,2 bis 7,4 zu erreichen.

Nach der 20-minütigen Begasung wurde der Messkolben mit Aqua bidestillata aufgefüllt und die fertige Lösung konnte nun zur Aufbewahrung und zur Durchführung der Versuche aller fünf Organe verwendet werden.

2.4 Versuchsanordnung

2.4.1 Aufbau der Versuchsaapparaturen

Für die Versuche war es essentiell möglichst physiologische Umstände für die Präparate in Bezug auf Temperatur, pH-Wert und Sauerstoff zu schaffen.

Es standen zur Durchführung der Versuche zwei verschiedene Apparaturen zur Verfügung die im Prinzip gleich funktionieren und sich nur in ihrem Aufbau und Fixierungsschema unterscheiden.

Apparatur 1 wurde für Arteria pulmonalis, Aorta, Atrium cordis dextrum und das terminale Ileum verwendet, Apparatur 2 für den Musculus papillaris.

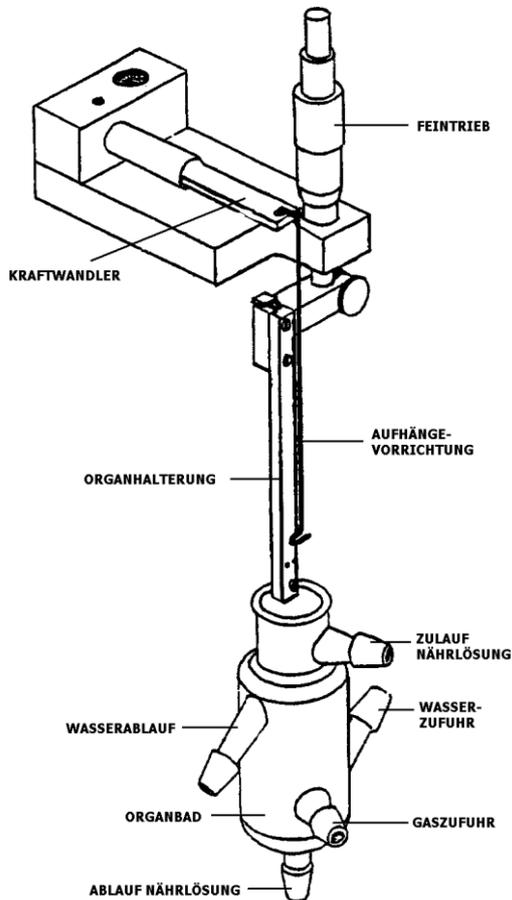
Beide Geräte hatten ein Wasserbad mit dem die Temperatur im Organbad auf einem physiologischen Wert von $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ gehalten wurde. Das Wasserbad für den Papillarmuskel und den Vorhof wurde im Unterschied zu den anderen Organen auf einer Temperatur von nur $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ konstant gehalten.

Weiters wurde durch Gaszufuhr die Sauerstoffversorgung während der Versuche gesichert.

Bei beiden Geräten wird mit Hilfe eines Kraftwandlers die mechanische Kontraktion des Organs in ein elektrisches Signal umgewandelt. Das Signal wird dann mit einem Amplifier verstärkt und in Folge durch einen Schreiber aufgezeichnet.

2.4.1.1 Versuchsapparatur 1

Abbildung 7: Aufbau der Versuchsapparatur 1



Vor Beginn des Versuches wird das mit HCl und Aqua bidestillata gründlich gereinigte Organbad mit 25 ml Tyrode aufgefüllt. Das Organbad ist ein doppelwandiges Glasgefäß wodurch das im Zwischenraum fließende erwärmte Wasser die Tyrode auf Körpertemperatur aufheizen kann. Dafür hat das Organbad eine Vorrichtung für die Wasserzufuhr und einen Wasserablauf wodurch eine ständige Zirkulation möglich ist. Weiters befindet sich eine Öffnung für eine ständige Gaszufuhr am Organbad.

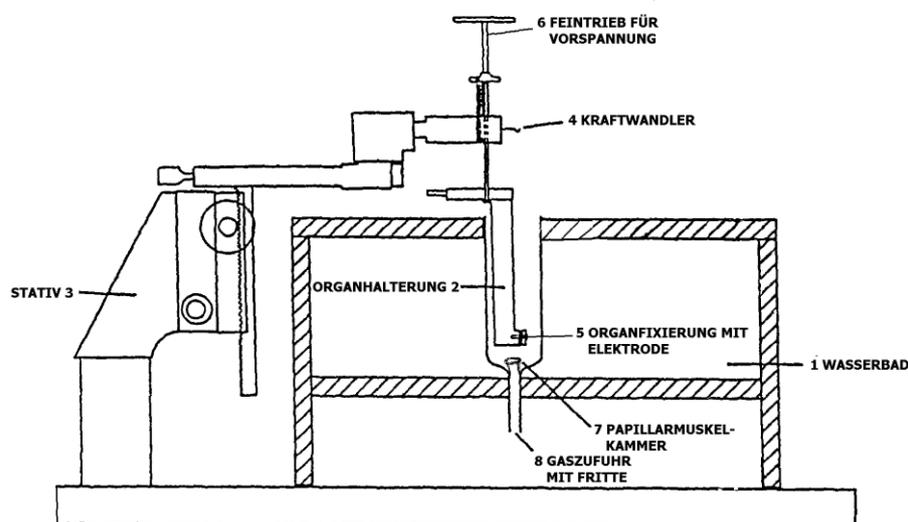
Die zuvor präparierten Organe konnten nun mit den angebrachten Häckchen bzw. bei Aorta und Pulmonalarterie durch die abgeschnittenen Ringe selbst an der einen Seite an die Aufhängevorrichtung aus Draht gehängt werden und an der unteren Seite der Organhalterung an ein fix montiertes Drahtstückchen.

Der Feintrieb an der Apparatur hatte den Zweck das Präparat maximal vor zu spannen um eine einheitliche Ausgangsspannung für alle Präparate zu gewährleisten.

Das Präparat wurde nun 20 Minuten in der Tyrode belassen und nach der Wartezeit wurde die Nährlösung über den mit einer Klemme verschlossenen Ablauf abgelassen. Dann wurden um eine chemische Reizung der Organe hervorzurufen 25 ml einer vorher aus Tyrode zubereiteten Kaliumchloridlösung ins Organbad gefüllt. Wenn nun das Organ eine mechanische Kontraktion aufweist so wird diese mit dem Amplifier in ein elektrisches Signal umgewandelt und man sieht das Signal über den Schreiber der diese mit Tinte auf Millimeterpapier sichtbar macht.

2.4.1.2 Versuchsapparatur 2

Abbildung 8: Aufbau der Versuchsapparatur 2



Diese Apparatur ist im Prinzip ähnlich aufgebaut wie Apparatur 1, jedoch gibt es einige Unterschiede.

Vor Start des Versuches wurde das Organbad mit HCl und Aqua bidestillata gereinigt und mit 25ml Tyrode aufgefüllt.

Hier ist das Organbad in den Deckel des Wasserbads eingebaut wodurch es direkt in das beheizte Wasser hinein hängt. Das Organbad ist auch bei dieser Apparatur mit einer Gaszufuhr ausgestattet. Das Gas kommt über eine Glasfritte von unten.

Um die Tyrode abzulassen musste hier eine Plastikspritze mit Gummischlauch verwendet werden da es keinen Ablauf gibt wie bei Apparatur 1.

Die Halterung für das Organ, die aus Kunststoff besteht ist mit einem Stativschlitten auf einem Stativ befestigt. Auch hier gibt es eine Aufhängevorrichtung aus Draht an die der Papillarmuskel mit seinem Häckchen befestigt wird. Da sich bei diesem Präparat wie vorher erwähnt nur an einer Seite ein Drahhäckchen befindet wird das frei hängende Ende des Organs zwischen ein Plastikplättchen und eine Platinkathode geklemmt und über einen Schraubmechanismus vorsichtig fixiert um das Organ nicht zu überdehnen.

Man musste wie auch bei allen anderen Präparaten darauf achten möglichst schnell zu arbeiten um zu verhindern dass sich das Organ zu lange außerhalb der Nährlösung befindet.

Der Musculus papillaris wurde deshalb an der Apparatur verwendet da sich an dieser eine Elektrode befand und der Muskel einer Reizung durch eine Elektrode bedarf da er von selbst nicht schlagen kann.

Um eine maximale Kontraktionskraft zu entwickeln wurde mittels Feintrieb eine Vorspannung angelegt. Die über einen Kraftwandler umgewandelten elektrischen Impulse wurden durch einen Schreiber aufgezeichnet.

2.4.2 Gaszufuhr

Das Gas für die Apparaturen wurde über eine zentrale Gasflasche zugeführt. Von den einzelnen Ventilen führten Schläuche zu den Versuchsgeräten. Die Schläuche hatten an ihrem Ende eine Fritte um eine feine Gasverteilung im Organbad zu erreichen. Schraubklemmen, die an den Schläuchen befestigt waren ermöglichten es die Intensität der Gaszufuhr zu regulieren.

Das Gasgemisch wurde als Oxymix bezeichnet und bestand aus 95% O₂ und 5% CO₂. Es war essentiell die Gasversorgung während des gesamten Versuchablaufes sicher zu stellen, um:

- die Organe ausreichend mit Sauerstoff zu versorgen
- einen physiologischen pH-Wert von 7,2 bis 7,4 aufrecht zu halten
- die Testsubstanz homogen im Organbad zu verteilen

2.4.3 Kraftwandler, Verstärker und Schreiber

Die Aufgabe des Kraftwandlers oder Transducers (Transbridge™ der Firma Precision Instruments, USA) ist es die mechanischen Kontraktionen des Organs in elektrische Impulse umzuwandeln, was notwendig war um die Inotropie visualisieren zu können da sie als mechanische Größe anders nicht darstellbar ist. Der elektrische Impuls wurde dann über einen Verstärker oder Amplifier (Transbridge™ 4-Channel Transducer Amplifier der Firma World Precision Instruments, USA) vergrößert. Das verstärkte Signal wurde zuletzt mit einem Schreiber (Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel der Firma Kipp und Zone, NL) auf Millimeterpapier aufgezeichnet.

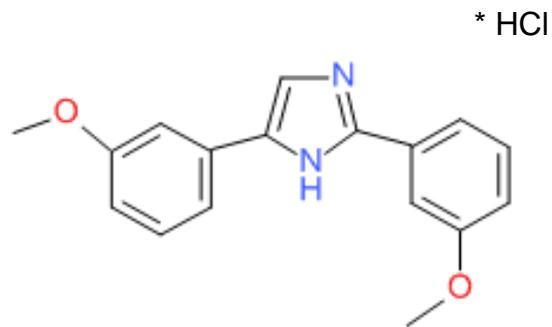
2.5 Testsubstanzen

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung zweier neu synthetisierter Derivate des in der Natur vorkommenden Stoffes Resveratrol. Es wurden diverse Modifikationen vorgenommen mit dem Ziel eine stärker wirksame Substanz herzustellen. Beide Substanzen wurden am Institut für pharmazeutische Chemie der Universität Wien synthetisiert und von Herrn Univ.-Prof. Mag. Dr. Thomas Erker für die Versuche der Diplomarbeit zur Verfügung gestellt.

Chemisch gesehen handelt es sich um Verbindungen mit zentralem Imidazolring an die im Fall von PGU 81 zwei Methoxyphenylringe und im Fall von PGU 127 ein Dimethoxyphenylring und ein Pyridinring substituiert sind.

2.5.1 Testsubstanz PGU81

Abbildung 9: Testsubstanz PGU 81



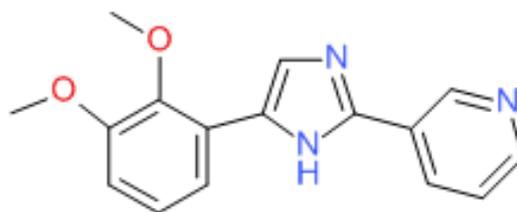
Nomenklatur: 2,5-Bis-(3-methoxyphenyl)-1H-imidazol Hydrochlorid

MG: 316,78

Summenformel: $C_{17}H_{17}ClN_2O_2$

2.5.2 Testsubstanz PGU127

Abbildung 10: Testsubstanz PGU 127



Nomenklatur: 5-(2,3-Dimethoxyphenyl)-2-(3-pyridyl)-1H-imidazol

MG: 281,31

Summenformel: $C_{16}H_{15}N_3O_2$

2.6 Versuchsaufbau

Am Ende jeden Tages und auch nach jedem Versuch war es nötig die Organbäder gründlich mit 2%iger Salzsäure und anschließend mit reichlich Aqua bidestillata zu reinigen um verfälschte Ergebnisse durch Rückstände anderer Testsubstanzen zu vermeiden. Anschließend wurde das Organbad mit 25ml Nährlösung angefüllt und eine ausreichende Gaszufuhr sichergestellt. Erst dann wurden die Präparate in die Apparatur eingespannt.

Nach 20 Minuten Wartezeit des Organs in der Nährlösung setzte man eine jeden Tag neu zubereitete Kaliumchloridlösung zu. Für das terminale Ileum wurde eine 60 mmolare KCl-Lösung (entspricht einer Einwaage von 0,45g pro 100ml) hergestellt und für die Aorta und die Arteria pulmonalis eine 90 mmolare (entspricht 0,67g pro 100ml). Dafür wurde die KCl in einem Messkolben mit Tyrode aufgefüllt.

Ziel dabei war es die Organe vor Zugabe der Testsubstanz vor zu kontrahieren um in Folge eine dilatierende oder spasmolytische Wirkung erkennen zu können.

Beim rechten Vorhof wurde keine KCl-Lösung zugesetzt da dieser auch ohne chemische Reizung aufgrund seines Sinusknotens zum Schlagen befähigt ist.

Ebenso wurde beim Papillarmuskel keine KCl-Lösung beigefügt da er mittels Elektrode gereizt wird.

Die Testsubstanzen wurden auf Analysenwaagen sehr genau eingewogen und je nach Löslichkeit in Aqua bidestillata oder in DMSO (Dimethylsulfoxid) gelöst und kumulativ mit Hilfe einer Kolbenhubpipette dem Organbad zugegeben und zwar immer nach 45 Minuten (nach Erreichen des steady states).

Die Konzentrationsstufen betragen 1; 3; 10; 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$. Das heißt es wurden nacheinander 1; 2; 7; 20 und 70 μl der gelösten Testsubstanz eingespritzt.

Die benötigte Einwaage wurde über die molare Masse so bestimmt, dass am Ende der Versuchsreihe eine Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ im Organbad vorlag.

Bei Verwendung von DMSO als Lösungsmittel musste man dessen leicht kontrahierende Wirkung bei der Auswertung vom Ergebnis abziehen um keine verfälschten Werte zu erhalten.

Für jedes Organ mussten mindestens vier Versuche pro Testsubstanz zu erzielen.

2.6.1 Versuchsaufbau beim rechten Vorhof

Der wie in Kapitel 2.2.1 beschriebene präparierte Vorhof wurde mit Hilfe der angebrachten Häkchen in die Apparatur 1 eingespannt und in das befüllte und begaste Organbad abgesenkt. Nun schaltete man den Schreiber ein und stellte ihn auf Null. Dann wurde der Amplifier eingeschaltet und man musste den Schreiber erneut auf Null korrigieren. In Folge konnte man um eine maximale Kontraktion zu erreichen mit dem Feintrieb eine Vorspannung von 10,4 mN anlegen. Dann stellte man wieder auf die Nulllinie ein und wartete ca. 45 Minuten bis der Vorhof eine konstante Schlagfrequenz erreicht hatte. Der Versuch wurde bei 5mV und bei einer Geschwindigkeit von 5mm/s durchgeführt.

Da das Organ eine hohe Elastizität aufweist musste die Vorspannung während des Versuches kontinuierlich nachgestellt werden.

Um zu Beginn zu kontrollieren ob der Vorhof schon eine konstante Schlagfrequenz erreicht hatte zeichnete man alle fünf Minuten eine 6cm lange Strecke mit dem Schreiber auf. Hatte man nun in drei aufeinander folgenden Aufzeichnungen eine gleich bleibende Anzahl an Schlägen konnte man mit der Zugabe der Testsubstanz beginnen. Die Schlagfrequenz wurde während des gesamten Versuches alle fünf Minuten gemessen. Die kumulative Zugabe der Testsubstanz erfolgte alle 45 Minuten.

2.6.2 Versuchsaufbau am Papillarmuskel

Der Papillarmuskel wurde wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben präpariert und in die Apparatur 2 eingespannt. Nachdem er in das Organbad getaucht wurde spannte man ihn bei einer Stromstärke von 5 mV auf 3,92 mN vor. Wenn die Kontraktionsamplitude zu klein war konnte man den Versuch auch bei einer Stromstärke von 2mV durchführen. Auch beim Papillarmuskel war aufgrund der Elastizität des Organs ein Nachspannen während des Versuches nötig um eine Abnahme der Schlagkraft zu verhindern (Reiter 1967).

Der Papillarmuskel hatte, da die spontan schlagenden Purkinjefasern entfernt wurden, im Gegensatz zum Vorhof keine Spontanaktivität wodurch er durch elektrische Reizung zur Kontraktion angeregt wurde. Dies geschah mit einem Reizgerät (Accupulser A310 der Firma World Precision Instruments, USA).

Der Muskel wurde mit Hilfe von Rechteckimpulsen mit einer Frequenz von 1Hz und einer Dauer von 3 Millisekunden gereizt. Man erhöhte die Reizstromstärke so lange

bis eine Reaktion in Form einer Kontraktion zu sehen war. Die Reizstärke sollte nicht mehr als 10 Prozent über der ermittelten Schwellenstromstärke liegen, da sonst das Risiko bestand die Katecholaminspeicher zu entleeren und der Papillarmuskel in Folge eines „run down“ langsam aufhören würde zu schlagen (Furchgott et al. 1959).

Man zeichnete während der Kontrollphase wieder alle 5 Minuten die Amplitude auf indem man den Schreiber während einer Dauer von 6 Amplituden betätigte. Wenn sich während drei aufeinander folgenden Aufzeichnungen die mm der Amplitudengröße nicht änderten konnte man mit der Zugabe der Testsubstanz beginnen. Die Amplituden wurden während des gesamten Versuches alle fünf Minuten aufgezeichnet und es wurde wieder alle 45 Minuten die Konzentration erhöht.

2.6.3 Versuchsaufbau an der Pulmonalarterie

Der präparierte Ring der Pulmonalarterie (siehe Kapitel 2.2.3) wurde in die Apparatur¹ eingespannt und ins Organbad getaucht.

Dann wurden Schreiber und Amplifier in der Selben weise eingeschaltet und auf den Nullpunkt eingestellt wie bei Kapitel 2.6.1 beschrieben. Hier wurde jedoch eine Vorspannung von 9,81 mN angelegt. Man arbeitete bei einer Stromstärke von 5mV. Nach einer 20 minütigen Gewöhnungsphase wurde die Tyrode abgelassen und das Organbad mit 90 mmolarer Kaliumchloridlösung befüllt.

Man wartete nun bis die Kontraktionskurve am Milimeterpapier einen konstanten Wert erreicht hatte und begann dann kumulativ alle 45 Minuten die Testsubstanz zuzugeben. Je nachdem wie sich die Kurve nach Zugabe der Substanz verhielt konnte man gleich erkennen ob sie eine dilatierende Wirkung hatte.

2.6.4 Versuchsaufbau an der Aorta

Der Versuch Verläuft sehr ähnlich wie bei der Arteria pulmonalis. Die Aorta wurde wie in Kapitel 2.2.4 beschrieben präpariert und direkt in die Apparatur 1 eingespannt. Die Vorspannung bei der Aorta betrug 19,6 mN. Man arbeitete während der 20 minütigen Gewöhnungsphase bei einer Stromstärke von 10 mV und stellte erst vor Zugabe der 90 mmolaren Kaliumchloridlösung auf 5mV um. Nach

Zusatz der KCl-Lösung begann man wieder mit der Aufzeichnung über den Schreiber wobei man auch hier warten musste bis die Kontraktionskurve über einige Zeit konstant blieb bevor man mit dem Injizieren der Testsubstanz begann. Anhand der Kurvenveränderung konnte man die dilatierende Wirkung ablesen.

2.6.5 Versuchsaufbau am terminalen Ileum

Das terminale Ileum wurde nach Präparation (siehe Kapitel 2.2.5) in die Apparatur 1 eingehängt wobei das jejunale Ende nach oben und das caecale Ende nach unten zeigen sollte. Nach Absenken ins Organbad wurden Schreiber und Amplifier aktiviert und mittels Feintrieb eine Vorspannung von 4,9 mN angelegt. Man arbeitete bei einer Stromstärke von 5 mV.

Nach 20 Minuten Gewöhnungsphase wurde die Tyrode abgelassen, 60 mmolare KCl-Lösung eingefüllt und mit der Aufzeichnung begonnen.

Beim terminalen Ileum kam es, im Gegensatz zu Aorta und Pulmonalarterie bei denen der Anstieg langsam und stetig erfolgte, zu einem starken Ausschlag der Kurve durch vollständige Kontraktion des Präparats, die aber relativ schnell wieder zurückging und sich einpendelte.

Nachdem die Kurve konstant wurde konnte mit der Zugabe der Testsubstanz begonnen werden. Auch hier konnte man durch das Verhalten der Kurve ablesen ob die Substanz eine spasmolytische Wirkung auf das terminale Ileum hatte.

2.7 Auswertung der Ergebnisse

2.7.1 Auswertung des rechten Vorhofs

Bei der Auswertung der Versuche mit dem Atrium cordis dextrum wurde als messbare Größe die vom Schreibgerät aufgezeichnete Schlagfrequenz herangezogen. Es wurde jeweils 12 Sekunden (das entspricht einer Strecke von 6 cm am Papier) lang aufgezeichnet mit einem Papiervorschub von 5mm/s. Man zählte die Ausschläge des Vorhofs während dieser Strecke und multiplizierte den Wert mit 5, wodurch man die Anzahl der Schläge pro Minute erhielt. Der konstante Kontrollwert vor Zugabe der ersten Konzentration der Substanz wurde 100% genommen und alle darauffolgenden errechneten Chronotropiewerte als Prozentsätze des Kontrollwertes angenommen.

Somit konnte man herausfinden ob die Substanz eine negative oder positive chronotrope Wirkung hatte, je nachdem ob der Prozentwert zu- oder abnahm.

2.7.2 *Auswertung des Papillarmuskels*

Bei den Versuchen mit dem Musculus papillaris wurde die Höhe der Amplitude am Millimeterpapier mit dem Lineal abgemessen und mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert um den Wert in mN zu erhalten. Wenn man den Versuch bei einer Stromstärke von 5mV durchführte multiplizierte man mit 0,98. Bei 2mV multiplizierte man mit 0,98 und 0,4.

Auch hier stand der konstante Kontrollwert für 100% und man errechnete sich die Amplituden nach kumulativer Substanzzugabe als Prozentsätze dieses Ausgangswertes. Daraus konnte man eine positive der negative inotrope Wirkung feststellen.

2.7.3 *Auswertung von Aorta, Pulmonalarterie und Ileum*

Bei diesen drei Präparaten ging man nach dem selben Prinzip vor, indem man die Entfernung der Kontraktionskurve zur Nulllinie mit dem Lineal abmaß, und zwar jeweils an der Stelle der Injektion jeder Konzentrationsstufe die man während des Versuches mit einem Stift markiert hatte. Die abgemessenen Werte wurden mit dem Eichfaktor des Kraftwandlers multipliziert um den Messwert in mN zu erhalten.

Die konstante Gerade vor Zugabe der ersten Konzentrationsstufe wurde als Kontrollwert herangezogen und 100% gesetzt. Die Abnahme bzw. Zunahme der Kontraktionskraft konnte wurde in Bezug zu diesem Kontrollwert gesetzt und prozentuell berechnet.

2.8 Darstellung der Messergebnisse

Bei den Abmessungen und Berechnungen aller Messergebnisse war darauf zu achten dass man bei Verwendung von DMSO als Lösungsmittel nicht darauf vergaß die Eigenwirkung von DMSO zu berücksichtigen. Diese musste von den Ergebnissen abgezogen werden.

Von allen erhaltenen Messwerten berechnet man nun das arithmetische Mittel sowie der Standardfehler und die Standardabweichung. Aus diesen Werten war es möglich die Ergebnisse in einer Konzentrations-Wirkungskurve mit Hilfe des Programms „Sigma Plot“ graphisch darzustellen. In diesen Grafiken ist an der x-Achse die Kontraktionskraft bzw. die Schlagfrequenz und an der y-Achse die Konzentration der Substanz (in $\mu\text{mol/l}$) dargestellt. Wenn die Substanz eine starke Wirkung zeigte konnte man aus der erhaltenen Kurve die EC_{50} -Werte ermitteln. Der EC_{50} -Wert ist jener Wert (jene Konzentration) bei dem die Kontraktionskraft bzw. die Schlagfrequenz auf 50% des Kontrollwertes abgefallen ist.

In Bezug auf ihre Signifikanz wurden die Messergebnisse mit Hilfe des gepaarten student-t-Tests beurteilt. Für die Beurteilung der Signifikanz wurden die Messergebnisse in mN verwendet und nicht die in Prozent, da bei den Prozentergebnissen der Vergleichswert keine Streuung aufweist und so eine höhere Signifikanz vortäuschen würde.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,05$ (5%) wurde als signifikant, $P < 0,01$ (1%) als sehr signifikant und ein Wert von $P < 0,01$ (0,1%) als hoch signifikant bewertet.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit gibt an wie hoch die Wahrscheinlichkeit ist einen Wert der Grundgesamtheit irrtümlich als nicht zu ihr gehörig anzusehen (Sachs 1993).

3. ERGEBNISSE

Dieses Kapitel geht näher auf die Effekte der beiden Testsubstanzen PGU 81 und PGU 127 ein und beschreibt die während des praktischen Arbeitens erzielten Ergebnisse unter anderem mittels Tabellen und Grafiken.

Es wird jeweils die Wirkung der Testsubstanzen auf die fünf isolierten Organe (rechter Vorhof, Papillarmuskel, Pulmonalarterie, Aorta und terminales Ileum) analysiert.

3.1 Ergebnisse der Testsubstanz PGU 81

3.1.1 Wirkung von PGU 81 auf den rechten Vorhof

Der Effekt der Testsubstanz PGU 81 auf den rechten Vorhof wurde in 4 Versuchen ermittelt. Dafür wurde der Versuch wie in Kapitel 2.6.1 beschrieben durchgeführt.

Man analysierte die Änderung der Schlagfrequenz pro Minute.

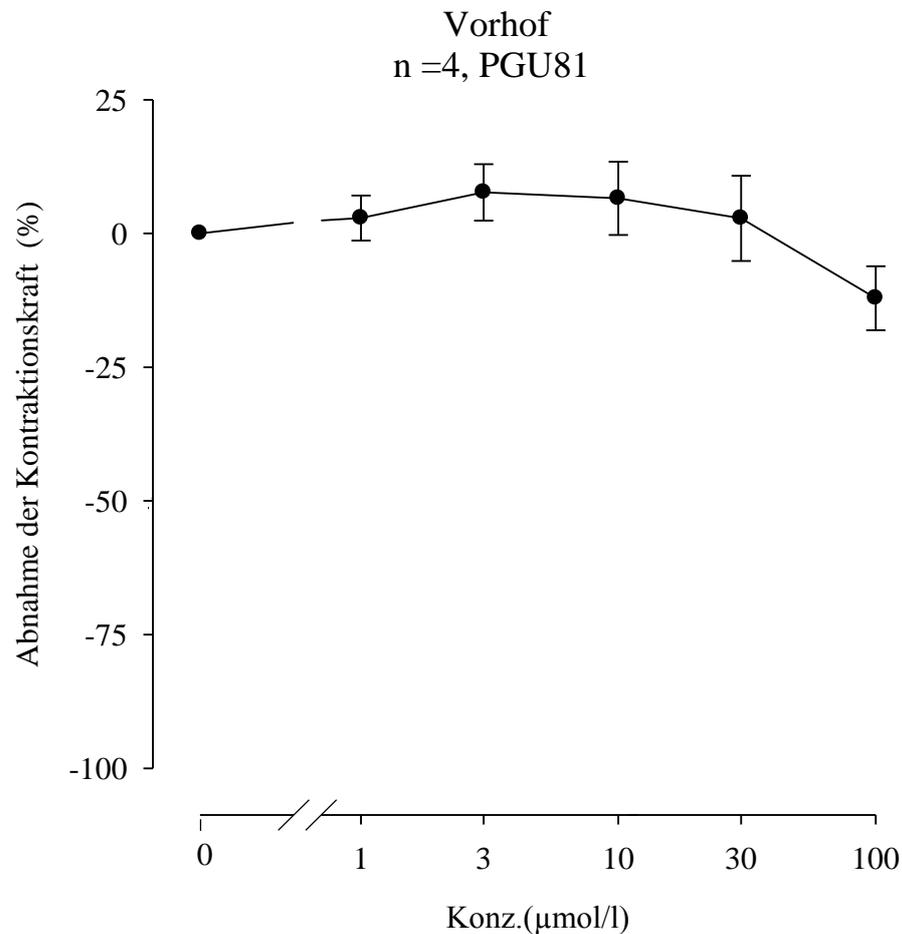
Tabelle 2: Ergebnisse von PGU 81 am rechten Vorhof

PGU 81E ($\mu\text{mol/l}$)	fc \pm SEM (Schläge/min)	fc \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	198,75 \pm 20,45	0 \pm 0	4	-
1	205 \pm 23,00	2,88 \pm 4,22	4	n.s
3	216,25 \pm 29,18	7,69 \pm 5,27	4	n.s
10	215 \pm 31,28	6,56 \pm 6,85	4	n.s
30	208,75 \pm 34,54	2,82 \pm 7,98	4	n.s
100	177,50 \pm 26,65	-12,11 \pm 5,97	4	n.s

Die Tabelle setzt sich zusammen aus Mittelwerten (fc) der Schlagfrequenz des rechten Vorhofs in mN und in Prozent inklusive Standardfehler (SEM) bezogen auf eine Minute. Weiters enthalten sind Informationen über die Anzahl der Versuche sowie über die Irrtumswahrscheinlichkeit (P), welche die Signifikanz der Ergebnisse beurteilt.

Man kann der Tabelle entnehmen, dass die Substanz kaum Einfluss auf die Schlagfrequenz hat.

Abbildung 11: Dosis-Wirkungskurve von PGU 81 am rechten Vorhof

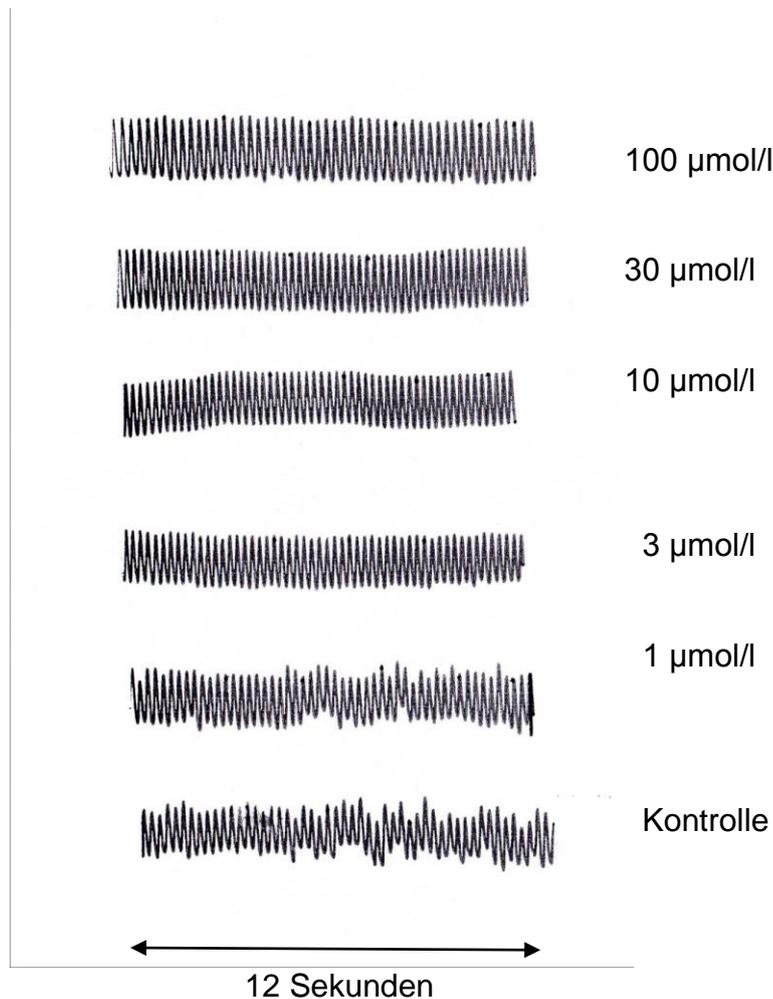


Der Graph zeigt die Abnahme der Schlagfrequenz bezogen auf die verschiedenen Konzentrationen. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen der kumulativ injizierten Testsubstanz in $\mu\text{mol/l}$ angegeben. Auf der Ordinate sieht man die Änderung der Schlagfrequenz (Chronotropie) in Prozent.

Entlang der Dosis-Wirkungskurve befinden sich schwarze Punkte, die für die Mittelwerte stehen. Die senkrechten Balken an den Punkten stellen die Standardfehler dar.

Die Kurve zeigt, dass die Substanz PGU 81 die Schlagfrequenz kaum beeinflusst.

Abbildung 12: Originalabbildung der Wirkung von PGU 81 auf den rechten Vorhof



Dies ist die Originalabbildung die mittels Schreiber aufgenommen wurde. Die Abbildung zeigt die Schläge des rechten Vorhofs. Diese wurden zwölf Sekunden lang aufgenommen. Indem man die abgezählten Schläge mit fünf multipliziert erhält man die Anzahl der Schläge pro Minute.

Man injizierte die Testsubstanz alle 45 Minuten um eine Konzentration von 1, 3, 10, 30 und 100 µmol/l zu erreichen. Es wurde alle fünf Minuten für je 12 Sekunden aufgezeichnet. Für die Abbildung wurde die Schlagfrequenz nach 45 Minuten herangezogen um eine Veränderung der Chronotropie zu erkennen.

3.1.2 Wirkung von PGU 81 auf den Papillarmuskel

Der Effekt der Testsubstanz PGU 81 auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels wurde in 4 Versuchsreihen ermittelt nachdem der Versuch wie in Kapitel 2.6.2 beschrieben durchgeführt wurde.

Tabelle 3: Ergebnisse von PGU 81 am Papillarmuskel

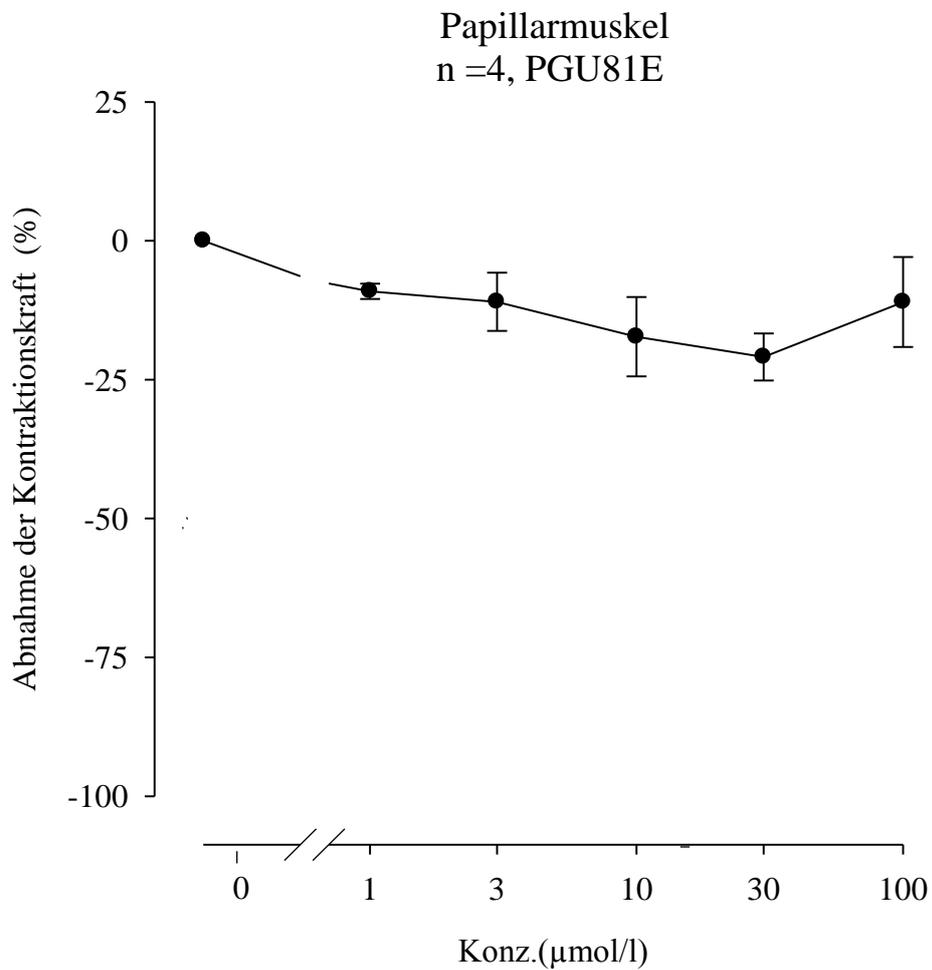
PGU 81E (µmol/l)	fc ± SEM (mN)	fc ± SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	0,84 ± 0,19	0 ± 0	4	-
1	0,76 ± 0,18	-9,11 ± 1,37	4	n.s
3	0,75 ± 0,20	-10,99 ± 5,23	4	n.s
10	0,68 ± 0,16	-17,27 ± 7,14	4	n.s
30	0,67 ± 0,17	-20,93 ± 4,23	4	n.s
100	0,78 ± 0,25	-11,03 ± 8,09	4	n.s

Der Tabelle können die Mittelwerte mit deren Standardfehlern in mN und in Prozent bei den jeweiligen Konzentrationen entnommen werden. Weiters ist die Versuchsanzahl sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit, die Rückschluss auf die Signifikanz der Versuche gibt, abzulesen.

Man kann sehen, dass die Inotropie etwas abgenommen hat, jedoch scheint die Substanz keinen nennenswerten Einfluss auf die Kontraktionskraft zu haben.

Wurden die Versuche bei einer Stromstärke von 5mV durchgeführt so multiplizierte man die abgemessene Höhe der Amplitude in cm mit dem Faktor 0,98. Wurde bei 2mV gearbeitet musste man noch einmal mit dem Faktor 0,4 multiplizieren.

Abbildung 13: Dosis-Wirkungskurve von PGU 81 auf den Papillarmuskel

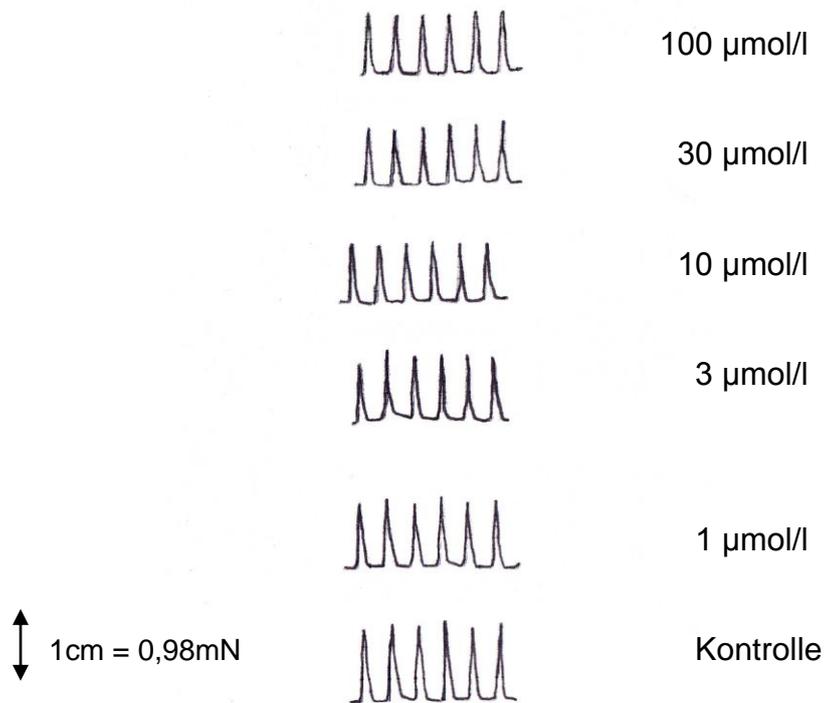


Anhand der Konzentrations-Wirkungskurve ist zu sehen, dass die Substanz zu einer geringen Abnahme der Inotropie führt.

Auf der Ordinate ist die Abnahme der Kontraktionskraft des Papillarmuskels abzulesen, auf der Abszisse die Konzentrationen der Substanz in µmol/l.

Die Punkte entlang der Kurve veranschaulichen den Mittelwert der vier Versuche bei der jeweiligen Konzentration, die Balken an den Punkten zeigen die Standardfehler.

Abbildung 14: Originalabbildung der Wirkung von PGU 81 auf den Papillarmuskel



Dies sind die mittels Schreiber aufgezeichneten Amplituden, welche die Kontraktionskraft des Papillarmuskels darstellen. Es wurden alle fünf Minuten 6 Kontraktionen aufgezeichnet, wobei diese Abbildung nur die Amplituden nach 45 Minuten zeigt.

Man sieht anhand der Größe der Amplituden, dass es zu keiner starken Veränderung der Inotropie in Anwesenheit der Testsubstanz kam.

3.1.3 Wirkung von PGU 81 auf die Aorta

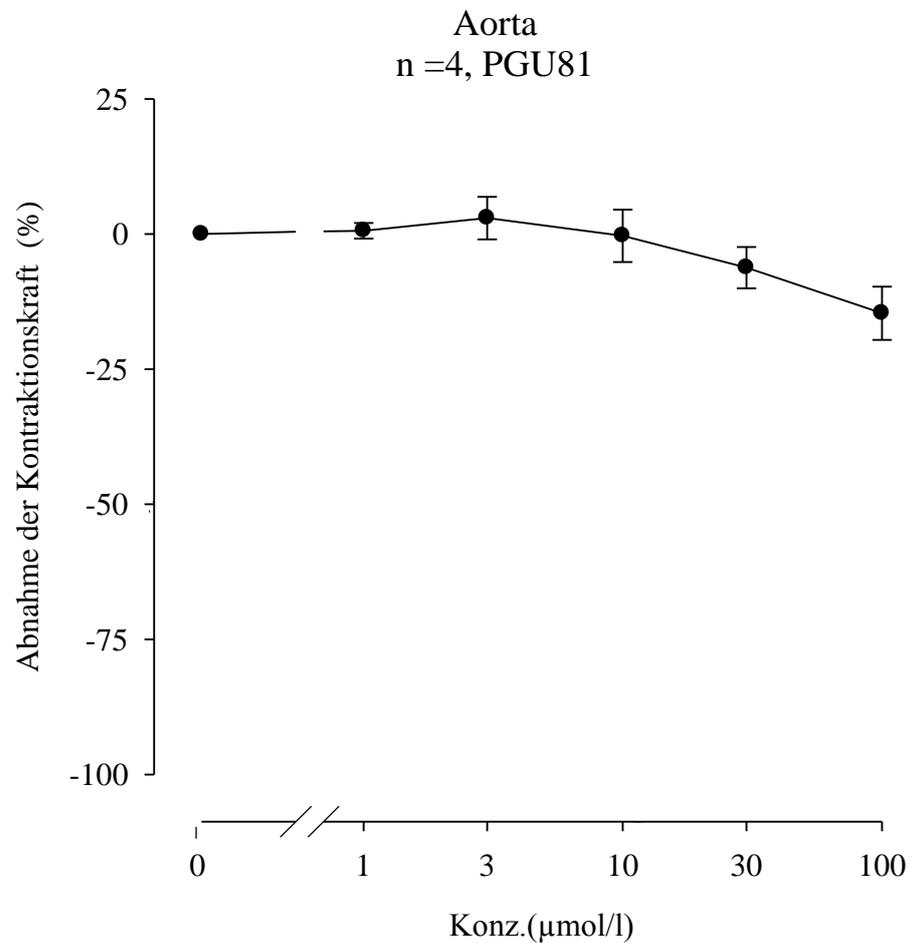
Die Wirkung der Testsubstanz PGU 81 auf die Aorta wurde in vier gemäß Kapitel 2.6.3 durchgeführten Versuchen ermittelt.

Tabelle 4: Ergebnisse von PGU 81 an der Aorta

PGU 81E ($\mu\text{mol/l}$)	fc \pm SEM (mN)	fc \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	7,01 \pm 0,83	0 \pm 0	4	-
1	7,03 \pm 0,78	0,59 \pm 1,45	4	n.s
3	7,13 \pm 0,61	2,95 \pm 3,94	4	n.s
10	6,88 \pm 0,56	0,33 \pm 4,84	4	n.s
30	6,56 \pm 0,60	-6,22 \pm 3,83	4	n.s
100	5,96 \pm 0,68	-14,64 \pm 4,92	4	n.s

Die Tabelle zeigt wieder die Mittelwerte und deren Standardfehler in mN und in Prozent von Kontrollwert der 100% entspricht. Weiters ist die Anzahl der Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit abzulesen.

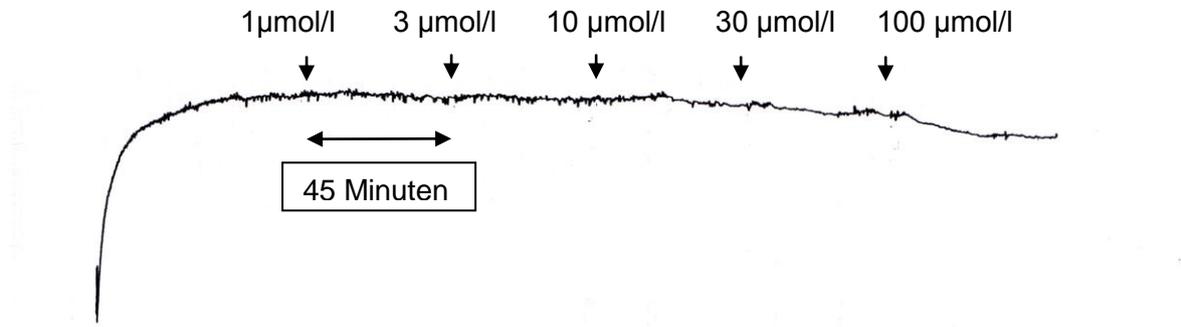
Abbildung 15: Dosis-Wirkungskurve von PGU 81 an der Aorta



Die Dosis Wirkungskurve zeigt, dass die Substanz zu einer geringen Abnahme der Kontraktilität führt. Auf der Ordinate ist die Abnahme der Kontraktilität in Prozent, auf der Abszisse die Konzentration der Substanz in $\mu\text{mol/l}$ abzulesen.

Die Punkte auf der Kurve stehen für die Mittelwerte der einzelnen Versuche bei der jeweiligen Konzentration, die Balken an den Punkten sind die Standardfehler.

Abbildung 16: Originalabbildung der Wirkung von PGU 81 auf die Aorta



Diese Originalaufzeichnung wurde mit Hilfe des Schreibers gemacht, wobei die Testsubstanz alle 45 Minuten auf die nächst höhere Konzentration zugegeben wurde. Hier erfolgt die Aufzeichnung kontinuierlich und nicht wie bei Papillarmuskel und Vorhof nur alle fünf Minuten.

Der Verlauf zeigt, dass es zu kaum einer Veränderung der Kontaktilität kam.

3.1.4 Wirkung von PGU 81 auf die Pulmonalarterie

Der Versuch an der Pulmonalarterie wurde gemäß Kapitel 2.6.4 durchgeführt. Es wurden vier Versuchsreihen gemacht.

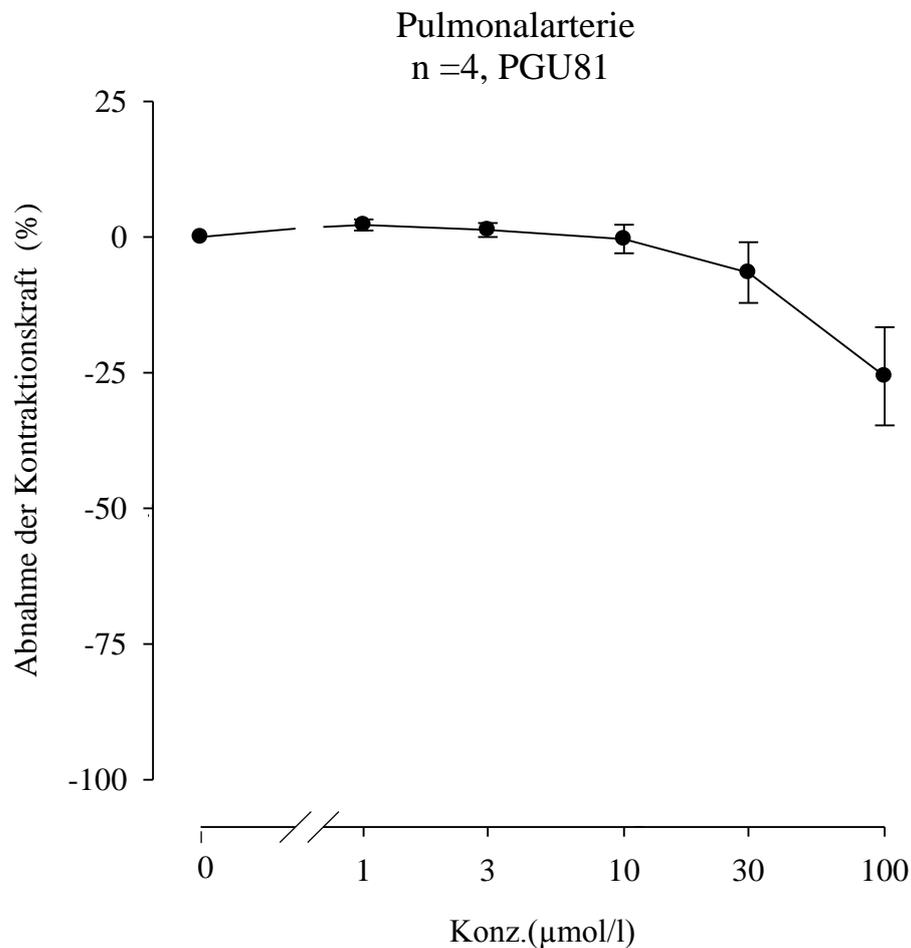
Tabelle 5: Ergebnisse von PGU 81 an der Pulmonalarterie

PGU 81E (µmol/l)	fc ± SEM (mN)	fc ± SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	9,95 ± 0,96	0 ± 0	4	-
1	10,14 ± 0,88	2,22 ± 1,03	4	n.s
3	10,05 ± 0,85	1,30 ± 1,28	4	n.s
10	9,85 ± 0,73	0,37 ± 2,63	4	n.s
30	9,19 ± 1,64	-6,55 ± 5,59	4	n.s
100	7,35 ± 0,99	-25,66 ± 9,06	4	0,05

Die Tabelle enthält Informationen über die arithmetischen Mittelwerte inklusive ihrer Standardfehler in mN und in Prozent vom Kontrollwert. Sie zeigt dass es zu einer dilatierenden Wirkung im höheren Konzentrationsbereich kam.

Weiters ist der Tabelle die Versuchsanzahl sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit zu entnehmen, die ein Maß für die Signifikanz darstellt.

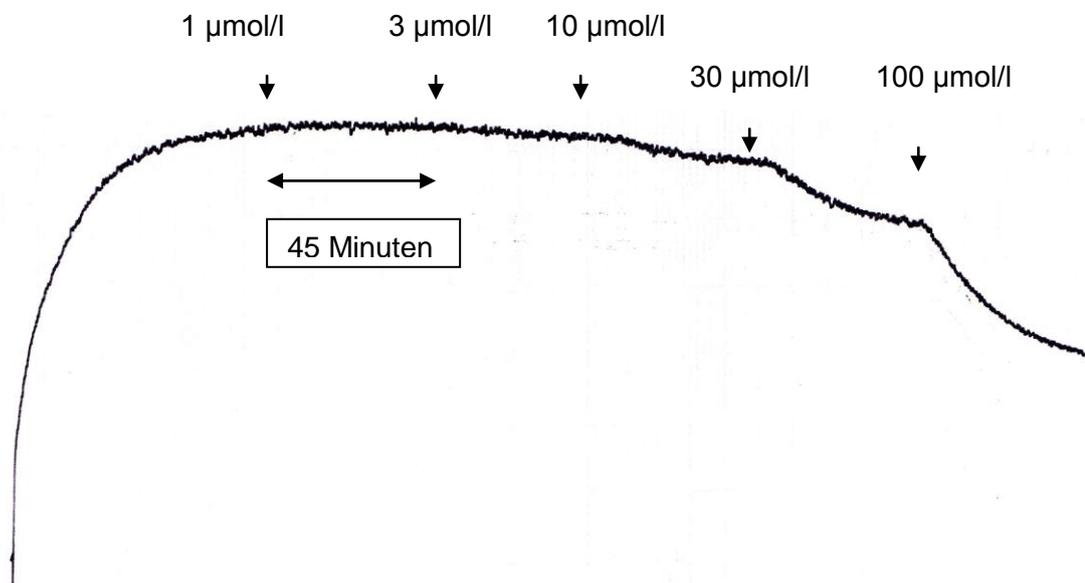
Abbildung 17: Dosis-Wirkungskurve von PGU 81 an der Pulmonalarterie



Die Dosis-Wirkungskurve enthält auf der Abszisse die Konzentration an Testsubstanz in µmol/l und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent. Es ist deutlich zu erkennen, dass sich bei niedrigeren Konzentrationen an Substanz kaum eine Veränderung zeigte und erst im höheren Konzentrationsbereich von ca. 30 bis 100 µmol/l eine dilatierende Wirkung zeigte.

Die Mittelwerte der Versuche sind als Punkte auf der Kurve dargestellt, die Standardfehler als Balken an den Punkten. In diesem Fall war der Standardfehler im letzten Konzentrationsbereich, also bei 100 µmol/l sehr hoch.

Abbildung 18: Originalabbildung der Wirkung von PGU 81 an der Pulmonalarterie



Die Originalaufzeichnung des Schreibers zeigt erst eine wahrnehmbare Veränderung der Kontraktionskraft nach Zugabe von 20 bzw. 70 µl dh. bei einer Konzentration von 30 bis 100 µmol/l. Die Aufzeichnung erfolgte kontinuierlich.

3.1.5 Wirkung von PGU 81 auf das terminale Ileum

Zur Ermittlung des spasmolytischen Effekts der Testsubstanz PGU 81 wurden vier Versuchsreihen wie in Kapitel 2.6.5 beschrieben durchgeführt.

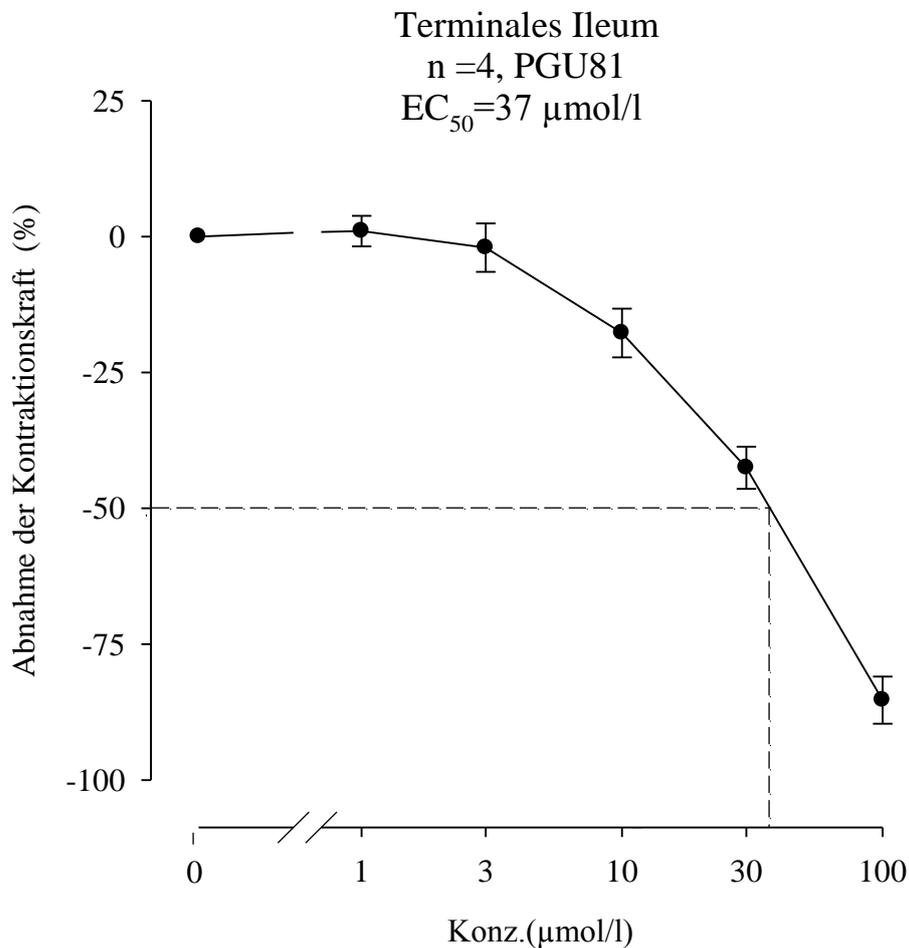
Tabelle 6: Ergebnisse von PGU 81 am terminalen Ileum

PGU 81E ($\mu\text{mol/l}$)	fc \pm SEM (mN)	fc \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	9,58 \pm 1,38	0 \pm 0	4	-
1	9,58 \pm 1,13	1,02 \pm 2,80	4	n.s
3	9,24 \pm 0,97	-2,03 \pm 4,46	4	n.s
10	7,74 \pm 0,73	-17,75 \pm 4,49	4	0,05
30	5,36 \pm 0,44	-42,53 \pm 3,88	4	0,01
100	1,36 \pm 0,39	-85,31 \pm 4,34	4	0,001

Die Tabelle zeigt Mittelwerte und deren Standardfehler in mN und in Prozent vom Kontrollwert. Außerdem sind die Anzahl der durchgeführten Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben. Diese zeigt die Signifikanz der durchgeführten Versuche an.

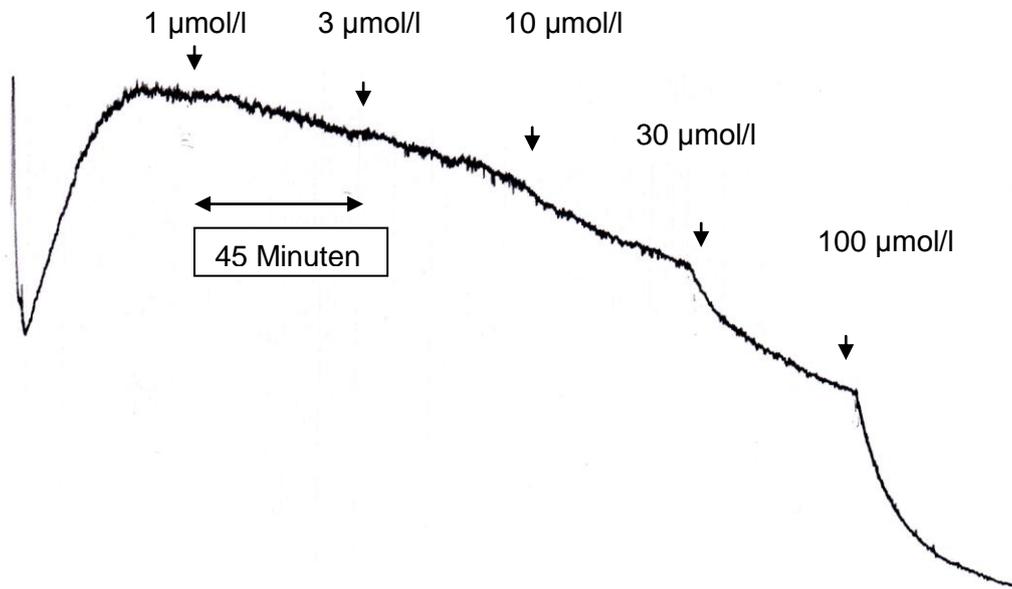
Man sieht sofort die stark spasmolytische Wirkung der Testsubstanz vor allem in den höheren Konzentrationsbereichen

Abbildung 19: Dosis-Wirkungskurve von PGU 81 am terminalen Ileum



Die Dosis-Wirkungskurve stellt die starke spasmolytische Wirkung von PGU 81 auf das terminale Ileum sehr anschaulich dar. Man sieht dass die Kurve nach Zugabe der höchsten Konzentrationsstufe um ca. 85 % im Vergleich zum Kontrollwert abnimmt. Aufgrund der sehr starken Wirkung konnte der EC₅₀-Wert graphisch ermittelt werden, indem man eine Gerade von der Ordinate zur Dosis-Wirkungskurve legte und eine zweite von diesem Punkt an der Kurve hinunter zur Abszisse.

Abbildung 20: Originalabbildung der Wirkung von PGU 81 auf das terminale Ileum



In der Originalaufzeichnung ist zuerst eine langsamere und stetige Abnahme, später, bei den höheren Konzentrationen eine stufenweise Reduktion der Kontraktionskraft zu sehen. Bei 30 und 100 µmol/l ist die spasmolytische Wirkung der Substanz PGU81 sehr stark. Der Einfluss auf den Verlauf der Kurve jeweils nach Zugabe der Substanz ist deutlich sichtbar.

3.2 Ergebnisse der Testsubstanz PGU 127

3.2.1 Wirkung von PGU 127 auf den rechten Vorhof

Die Versuche am rechten Vorhof wurden wieder wie in Kapitel 2.6.1 beschrieben durchgeführt. Um die Auswirkungen auf die Chronotropie zu ermitteln wurden 3 Versuchsreihen gemacht.

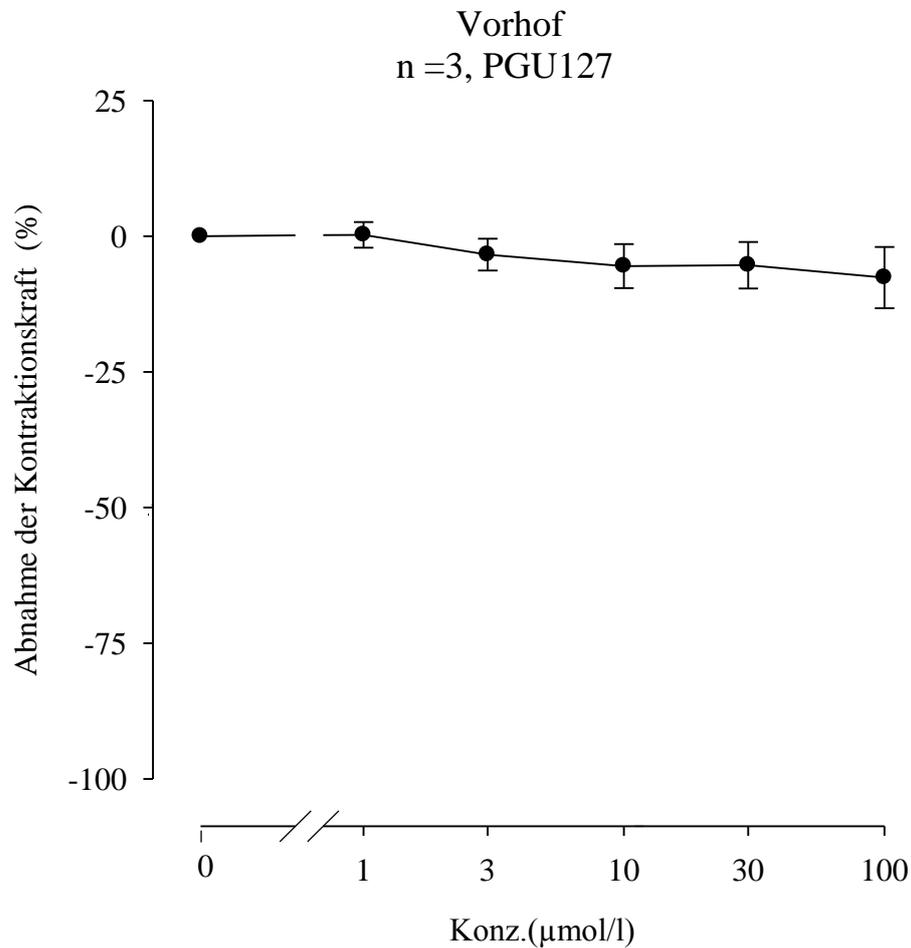
Tabelle 7: Ergebnisse von PGU 127 auf den rechten Vorhof

PGU 127 ($\mu\text{mol/l}$)	Schlagfrequenz \pm SEM (mN)	Schlagfrequenz \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	225 \pm 12,58	0 \pm 0	3	-
1	225 \pm 7,64	0,26 \pm 2,37	3	n.s
3	216,66 \pm 6,01	-3,38 \pm 2,94	3	n.s
10	211,66 \pm 4,41	-5,49 \pm 4,05	3	n.s
30	211,66 \pm 6,67	-5,34 \pm 4,29	3	n.s
100	206,66 \pm 7,26	-7,62 \pm 5,65	3	n.s

Die Tabelle zeigt die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz mit ihren dazugehörigen Standardfehlern in Schlägen pro Minute und in Prozent vom Kontrollwert. Weiters zeigt sie die Anzahl der Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit.

Es ist ersichtlich, dass die Substanz keinen signifikanten Einfluss auf die Schlagfrequenz des rechten Vorhofs zeigt.

Abbildung 21: Dosis-Wirkungskurve von PGU 127 auf den rechten Vorhof

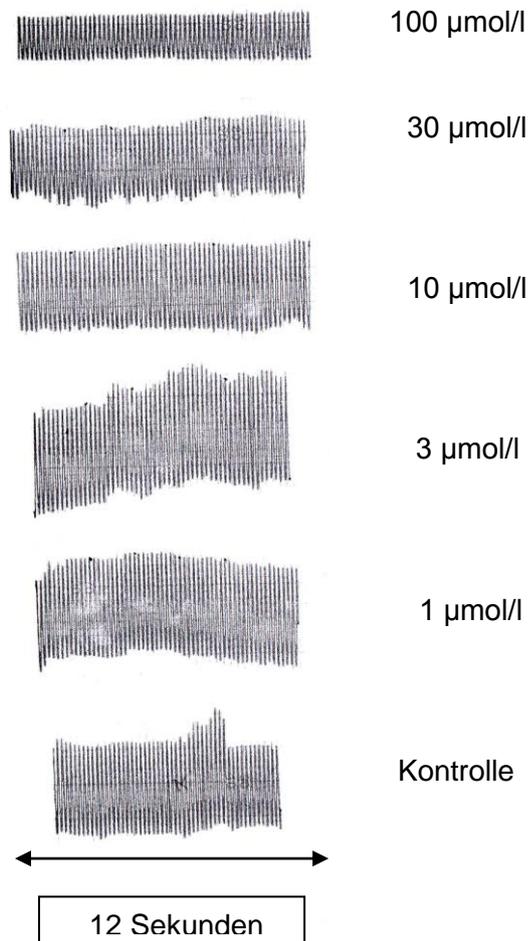


Auch in der Dosis-Wirkungskurve zeigt sich auf den ersten Blick die kaum existierende Wirkung der Substanz auf den rechten Vorhof.

Die Ordinate zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen in µmol/l ersichtlich.

Man sieht wieder die Mittelwerte als Punkte auf der Kurve dargestellt, ebenso die Standardfehler als Balken.

Abbildung 22: Originalabbildung der Wirkung von PGU 127 auf den rechten Vorhof



Diese Abbildung zeigt die Originalaufzeichnungen nach jeweils 45 Minuten nach Substanzzugabe. Es wurde alle fünf Minuten gemessen, aber nur die Aufzeichnung im „steady state“ für die Berechnung herangezogen, indem man die Anzahl der Schläge während der 12 Sekunden mit fünf multiplizierte um auf die Schläge pro Minute zu kommen.

3.2.2 Wirkung von PGU 127 auf den Papillarmuskel

Der Effekt der Testsubstanz PGU 127 wurde in 4 Versuchen gemäß Kapitel 2.6.2 ermittelt um einen eventuellen Einfluss auf die Inotropie herauszufinden.

Tabelle 8: Ergebnisse der Wirkung von PGU 127 auf den Papillarmuskel

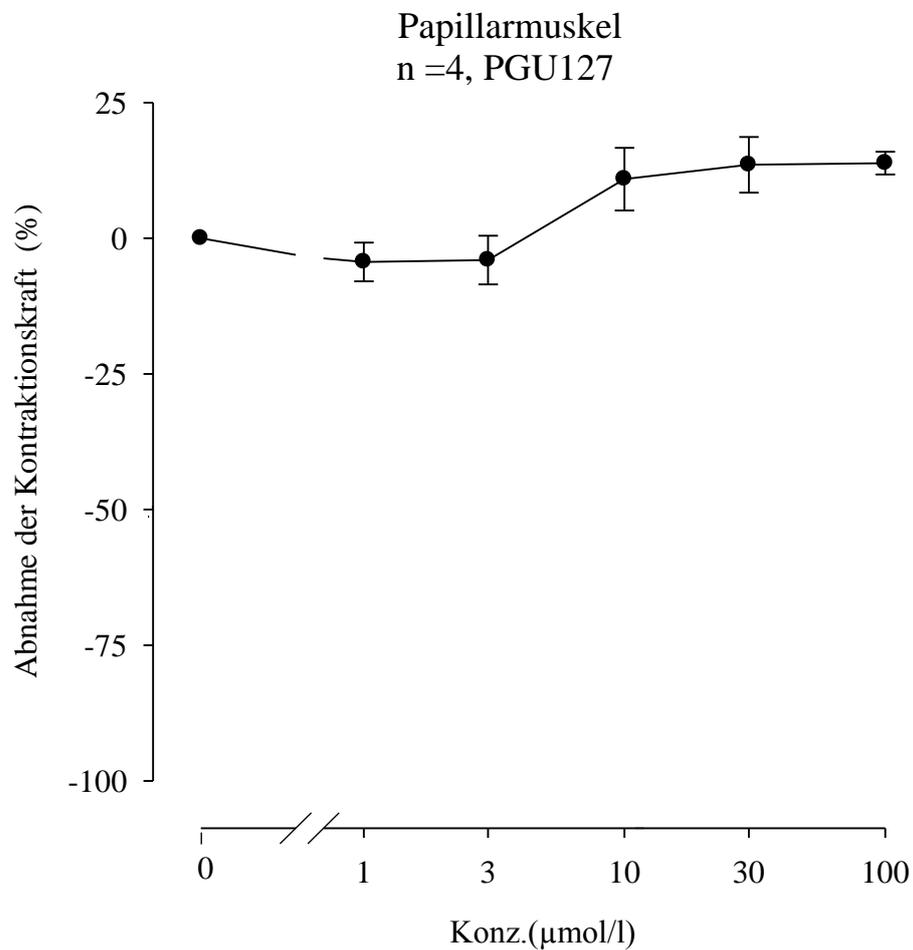
PGU 127 ($\mu\text{mol/l}$)	fc \pm SEM (mN)	fc \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	2,24 \pm 1,23	0 \pm 0	4	-
1	2,15 \pm 1,20	-4,38 \pm 3,56	4	n.s
3	2,23 \pm 1,30	-4,03 \pm 4,48	4	n.s
10	2,65 \pm 1,58	10,89 \pm 5,78	4	n.s
30	2,68 \pm 1,58	13,54 \pm 5,14	4	n.s
100	2,54 \pm 1,38	13,84 \pm 2,10	4	n.s

In der Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte inklusive deren Standardfehlern in mN und in Prozent angegeben. Es ist ersichtlich, dass die Substanz eine leichte positiv inotrope Wirkung auf den Papillarmuskel zeigt.

Weiters enthält die Tabelle Informationen über Versuchsanzahl und Irrtumswahrscheinlichkeit.

Wurden die Versuche bei einer Stromstärke von 5mV durchgeführt so musste man die abgemessene Höhe der Amplitude in cm mit dem Faktor 0,98 multiplizieren. Wurde bei 2mV gearbeitet musste man noch einmal mit dem Faktor 0,4 multiplizieren.

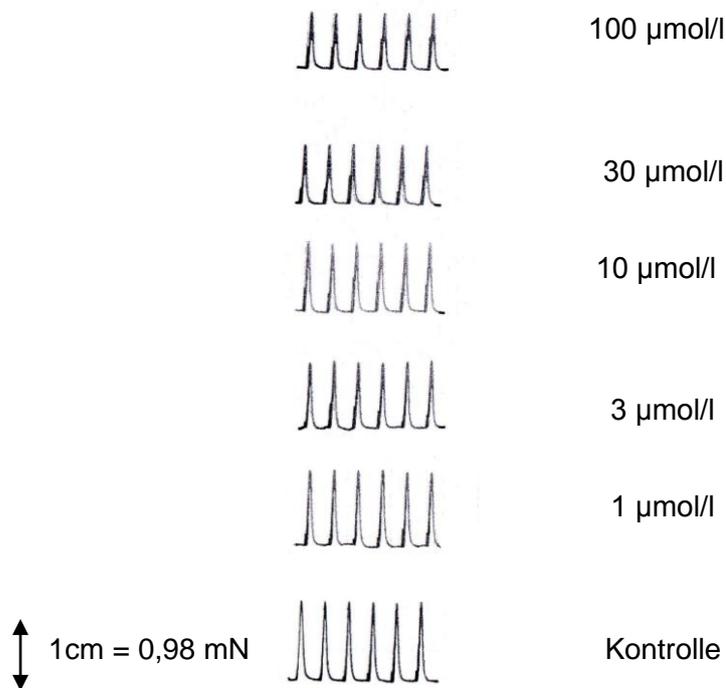
Abbildung 23: Dosis-Wirkungskurve von PGU 127 auf den Papillarmuskel



Die Dosis-Wirkungskurve zeigt einen leichten Anstieg, was auf eine positiv inotrope Wirkung der Substanz zurückzuführen ist. Der Effekt ist allerdings erst ab einer Konzentration von etwa 10 µmol/l sichtbar.

Die Punkte auf der Kurve symbolisieren die Mittelwerte der vier durchgeführten Versuche. Die Balken, welche durch die Punkte verlaufen stehen für den jeweiligen Standardfehler.

Abbildung 24: Originalabbildung der Wirkung von PGU 127 auf den Papillarmuskel



Die Originalaufzeichnung enthält nur jene Amplituden die jeweils nach 45 Minuten nach injizieren der Testsubstanz aufgezeichnet wurden. Die Höhe der Amplitude spiegelt die Kontraktionskraft des Papillarmuskels wieder. In diesem Fall beeinflusste die Substanz PGU 127 die Inotropie de Papillarmuskels nicht sehr stark.

3.2.3 Wirkung von PGU 127 auf die Aorta

Die Wirkung von PGU 127 auf die Aorta wurde in vier Versuchsdurchgängen ermittelt. Die Versuche wurden wie in Kapitel 2.6.3 beschrieben durchgeführt.

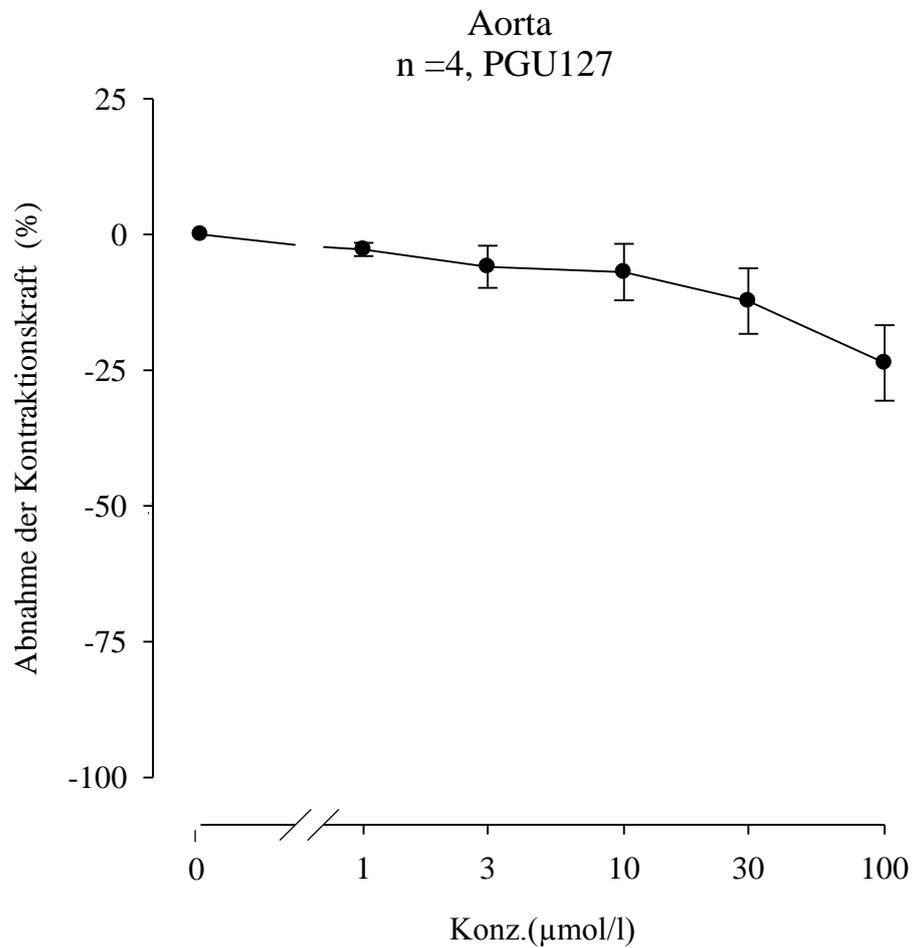
Tabelle 9: Ergebnisse von PGU 127 an der Aorta

PGU 127 ($\mu\text{mol/l}$)	fc \pm SEM (mN)	fc \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	10,44 \pm 2,17	0 \pm 0	4	-
1	10,02 \pm 2,21	-2,77 \pm 1,23	4	n.s
3	9,94 \pm 2,26	-2,55 \pm 3,88	4	n.s
10	9,89 \pm 2,32	-2,13 \pm 5,19	4	n.s
30	9,38 \pm 2,35	2,87 \pm 6,03	4	n.s
100	8,23 \pm 2,26	-23,68 \pm 6,95	4	0,05

Die Tabelle enthält die berechneten arithmetischen Mittelwerten und deren Standardfehler, sowohl in mN als auch in Prozent vom Kontrollwert, der 100% entspricht.

Weiters sind die Irrtumswahrscheinlichkeit und die Versuchsanzahl in der Tabelle enthalten.

Abbildung 25: Dosis-Wirkungskurve von PGU 127 an der Aorta

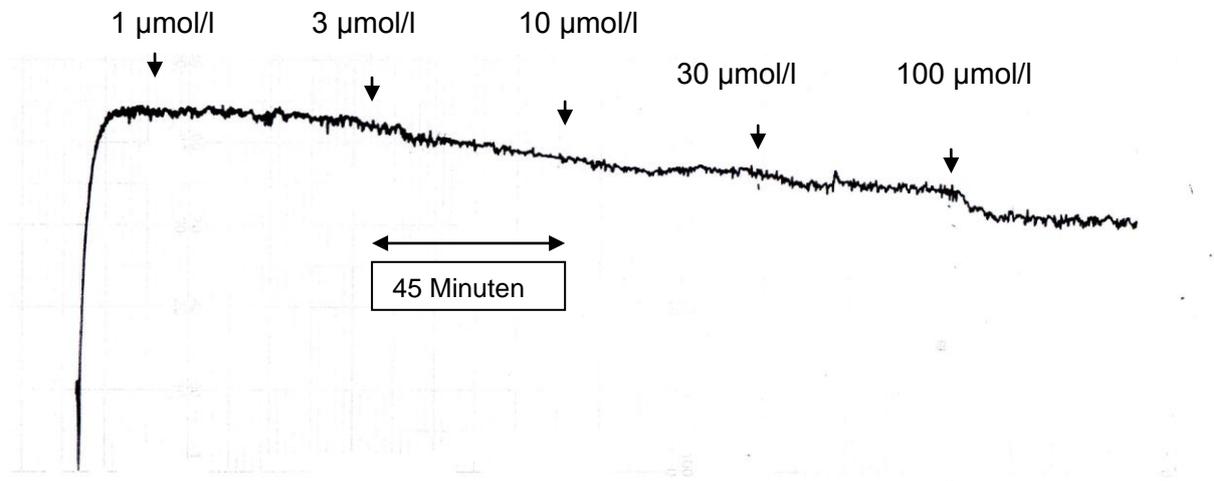


Die Dosis-Wirkungskurve zeigt, dass es zu einer geringen Abnahme der Kontraktionskraft durch PGU 127 kam.

Die Abnahme der Kontraktionskraft ist auf der y-Achse angegeben, die x-Achse spiegelt die enthaltene Konzentration an Testsubstanz in µmol/l wieder.

Entlang der Kurve sind Punkte mit senkrecht verlaufenden Balken zu sehen, welche die Mittelwerte mit dazugehörigem Standardfehler darstellen.

Abbildung 26: Originalabbildung der Wirkung von PGU 127 an der Aorta



Die kontinuierliche Aufzeichnung des Kurvenverlaufs zeigt eine stetige aber geringe Abnahme der Kontraktionskraft der Aorta.

3.2.4 Wirkung von PGU 127 auf die Pulmonalarterie

Der Effekt von PGU 127 auf die Pulmonalarterie wurde gemäß Kapitel 2.6.4 durchgeführt. Es wurden vier Versuchsdurchgänge gemacht um die Wirkung der Substanz auf die Kontraktionskraft zu ermitteln.

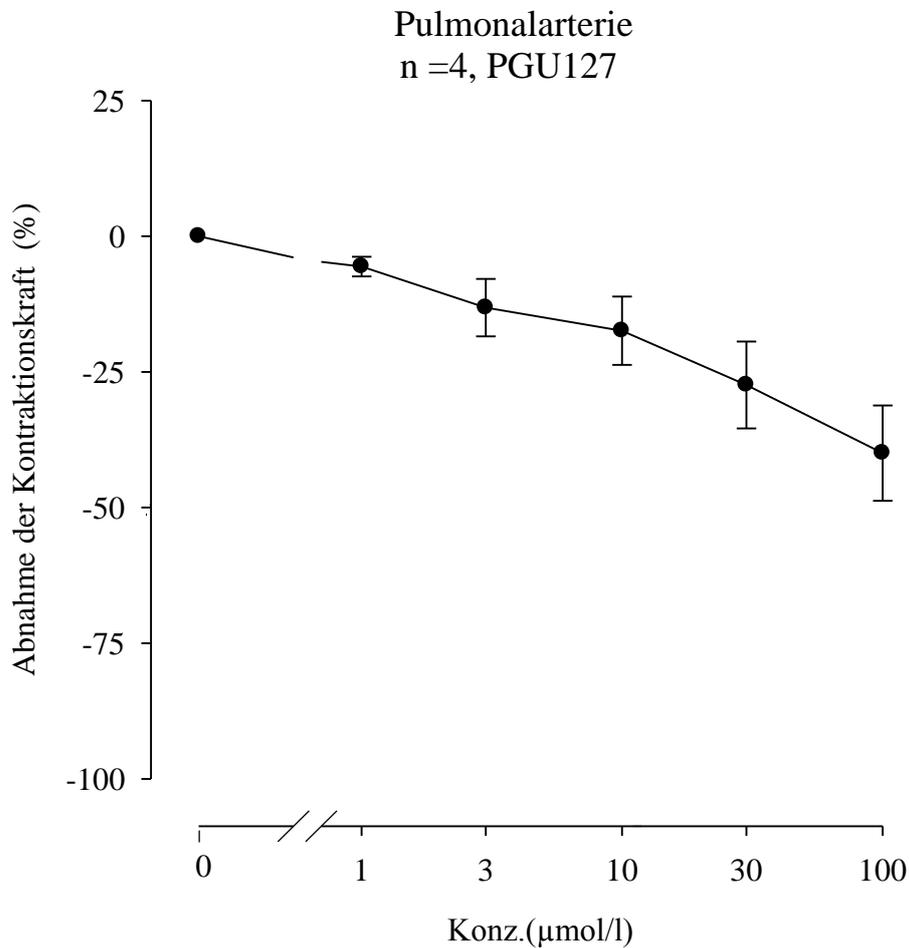
Tabelle 10: Ergebnisse von PGU 127 an der Pulmonalarterie

PGU 127 ($\mu\text{mol/l}$)	fc \pm SEM (mN)	fc \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	8,89 \pm 1,00	0 \pm 0	4	-
1	8,43 \pm 1,03	-5,58 \pm 1,81	4	n.s
3	7,85 \pm 1,23	-13,15 \pm 5,29	4	0,05
10	7,51 \pm 1,30	-17,41 \pm 6,30	4	0,05
30	6,66 \pm 1,28	-27,4 \pm 8,01	4	0,01
100	4,68 \pm 1,64	-39,98 \pm 8,79	4	0,01

Die Tabelle beinhaltet die berechneten Mittelwerte und deren Standardfehler in mN und in Prozent, sowie die Anzahl der Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit, die eine Aussage über die Signifikanz erlaubt.

Man kann in der dritten Spalte eine Abnahme der Kontraktionskraft um etwa 40 % im Vergleich zu Ausgangswert ablesen.

Abbildung 27: Dosis-Wirkungskurve von PGU 127 an der Pulmonalarterie

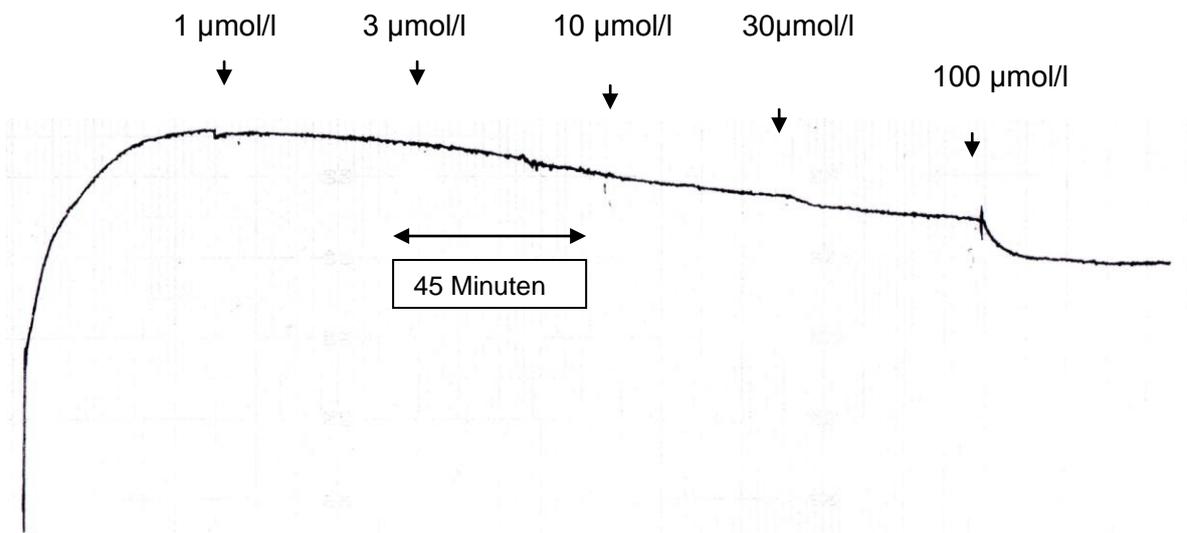


Die Abbildung zeigt die Dosis-Wirkungskurve mit der Abnahme der Kontraktionskraft auf der y-Achse und der Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ auf der x-Achse.

Man sieht, dass die Kontraktionskraft mit steigender Substanzzugabe kontinuierlich abnimmt. Eine ausreichende Abnahme um in diesen Konzentrationsbereichen einen EC_{50} -Wert zu erhalten ist jedoch nicht gegeben.

Entlang der Dosis-Wirkungskurve befinden sich Punkte mit senkrecht verlaufenden Balken, welche die Mittelwerte mit dazugehörigem Standardfehler veranschaulichen.

Abbildung 28: Originalabbildung der Wirkung von PGU 127 auf die Pulmonalarterie



Die Kontraktion der Pulmonalarterie wurde mittels Schreiber kontinuierlich aufgezeichnet. In der oben gezeigten Originalabbildung der Aufzeichnung ist eine leichte Abnahme der Kontraktionskraft abzulesen, die sich nach Zugabe der Testsubstanz auf 100 µmol/l verstärkt.

3.2.5 Wirkung von PGU 127 auf das terminale Ileum

Um eine eventuelle spasmolytische Wirkung von PGU 127 auf das terminale Ileum herauszufinden wurden vier Versuchsreihen wie in Kapitel 2.6.5 beschrieben durchgeführt.

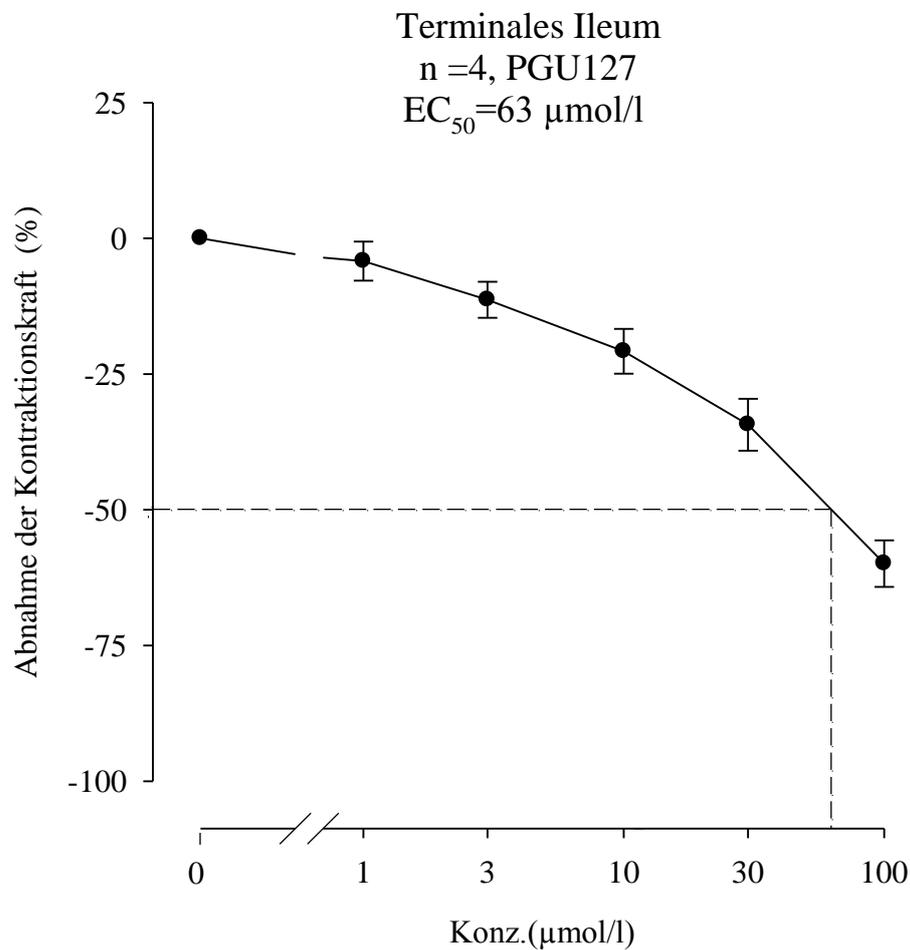
Tabelle 11: Ergebnisse von PGU 127 am terminalen Ileum

PGU 127 ($\mu\text{mol/l}$)	fc \pm SEM (mN)	fc \pm SEM (%)	Anzahl der Versuche (N)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	10,68 \pm 0,38	0 \pm 0	4	-
1	10,23 \pm 0,50	-4,2 \pm 3,60	4	n.s
3	9,49 \pm 0,59	-11,32 \pm 3,31	4	0,05
10	8,49 \pm 0,73	-20,82 \pm 4,13	4	0,05
30	7,05 \pm 0,71	-34,34 \pm 4,78	4	0,01
100	4,32 \pm 0,61	-59,92 \pm 4,30	4	0,01

Die abgebildete Tabelle stellt die arithmetischen Mittelwerte in mN und in Prozent vom Kontrollwert sowie deren Standardfehler dar. Weiters sind die Irrtumswahrscheinlichkeit und die Anzahl der Versuche tabellarisch erfasst.

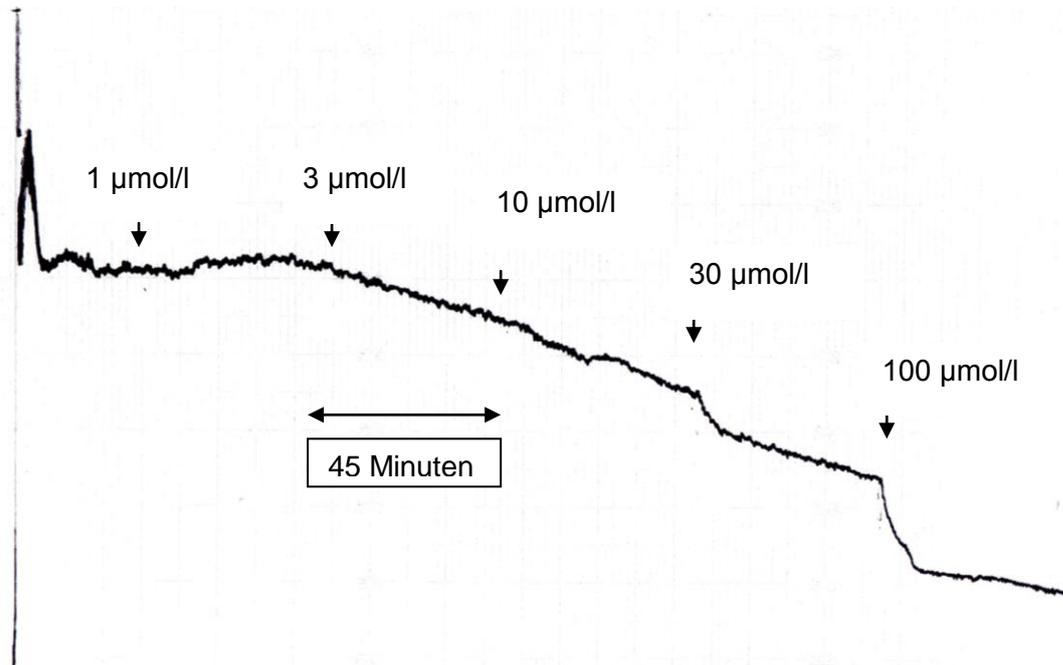
Man erkennt eine deutliche spasmolytische Wirkung der Substanz auf das terminale Ileum, da die Kontraktionskraft bei 100 $\mu\text{mol/l}$ auf ca. 40% des Ausgangswertes abgesunken ist.

Abbildung 29: Dosis-Wirkungskurve von PGU 127 am terminalen Ileum



Die Abbildung zeigt, dass die Substanz PGU 127 eine starke spasmolytische Wirkung auf das terminale Ileum hat. Daher konnte auch der EC₅₀-Wert ermittelt werden indem man zwei Geraden legte. Eine wurde von der Ordinate zur Dosis-Wirkungskurve gezogen und eine weitere daraufhin vom Schnittpunkt auf der Kurve nach unten zur Abszisse. Der dort ablesbare Wert entspricht der Konzentration bei der die Kontraktionskraft auf 50% des Ausgangswertes sinkt.

Abbildung 30: Originalabbildung der Wirkung von PGU 127 am terminalen Ileum



Auch diese Abbildung zeigt deutlich die spasmolytische Wirkung der Testsubstanz PGU 127 auf das terminale Ileum.

Auch hier wurde nach Erreichen eines konstanten Wertes im Abstand von 45 Minuten kumulativ die Testsubstanz injiziert.

4. DISKUSSION

Die Aufgabe der vorliegenden Diplomarbeit war es die eventuellen Wirkungen der beiden Testsubstanzen PGU 81 und PGU 127 zu analysieren.

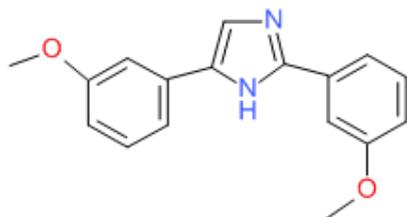
Die Fragestellung war es herauszufinden welchen Einfluss die zwei Substanzen auf die quergestreifte Muskulatur von Papillarmuskel und rechtem Vorhof sowie auf die glatte Muskulatur von Aorta, Pulmonalarterie und terminalem Ileum hatten.

Dabei wurde untersucht ob eine negative bzw. positive chronotrope Wirkung oder eine negative bzw. positive inotrope Wirkung vorhanden war. Ebenso wurde auf eine eventuell vorhandene spasmolytische Wirkung untersucht.

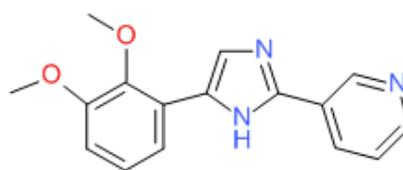
Die Vorbereitungen und der genaue Ablauf der Versuche wurde in den vorangegangenen Kapiteln bereits genau erklärt.

Zunächst wird noch einmal kurz auf die Struktur der beiden Verbindungen eingegangen.

PGU 81



PGU 127



Beide Verbindungen besitzen einen zentralen Imidazolring an den zwei aromatische Ringe substituiert sind.

An den Imidazolring von PGU 81 sind zwei m-Methoxyphenylringe gebunden.

Am Imidazolring des PGU 127 sind ein 1,2-Dimethoxyphenylring und ein Pyridinring substituiert.

In Kapitel 3 wurden die Ergebnisse aller Versuche beider Substanzen erklärt und mittels Dosis-Wirkungskurven und Originalaufzeichnungen graphisch dargestellt.

Im Folgenden sollen diese Ergebnisse noch näher analysiert werden.

4.1 PGU 81

Bei den Versuchen mit PGU 81 an isolierten Organen konnte bei beiden quergestreiften Organen, also rechter Vorhof und Papillarmuskel kein signifikanter Effekt gemessen werden. Weder die Chronotropie noch die Inotropie änderten sich in einem relevanten Ausmaß.

Ebenso zeigten sich bei den glattmuskulären Organen wie Aorta und Pulmonalarterie keine Signifikanten Wirkungen auf die Kontraktionskraft. Diese nahm bei beiden Organpräparaten erst im Konzentrationsbereich von 100 µmol/l ab. Das einzige Präparat an dem eine relevante Wirkung zu verzeichnen war ist das terminale Ileum. Bei diesem konnte die Substanz PGU 81 eine sehr starke spasmolytische Wirkung hervorrufen. Die Kontraktionskraft fiel hier äußerst rasch ab und betrug bei einer Konzentration von 100 µmol/l nur mehr etwa 14% des Kontrollwerts ohne Substanz. Die Dosis Wirkungskurve zeigte hier bei steigender Substanzkonzentration eine rasche exponentielle Abnahme.

Aufgrund dieser starken Wirkung konnte für das terminale Ileum auch der EC₅₀-Wert ermittelt werden. Dieser betrug 37 µmol/l, was bedeutet, dass die Kontraktionskraft bei diesem Wert auf die Hälfte des Ausgangswertes abgesunken ist.

5.2 PGU 127

Bei der Substanz PGU 127 zeigte sich ein ähnliches Bild in der Wirkung.

Sowohl beim rechten Vorhof als auch beim Papillarmuskel konnte wieder keine bedeutsame Wirkung festgestellt werden. Weder die Schlagfrequenz beim Atrium cordis dextrum, noch die Schlagkraft beim Musculus papillaris änderten sich. Bei den glattmuskulären Organen Aorta und Arteria pulmonalis zeigte sich zwar auch keine signifikante Wirkung, jedoch war der Effekt trotzdem stärker als bei PGU 81. Bei der Pulmonalarterie sank die Kontraktionskraft bei 100 µmol/l immerhin auf 60% des Ausgangswertes ab.

Der stärkste Effekt war auch bei dieser Testsubstanz auf das terminale Ileum zu verzeichnen. Jedoch war dieser geringer als bei PGU 81.

Bei PGU 127 sank die Kontraktionskraft bei 100 µmol/l auf 40% des Ausgangswertes ab. Der EC₅₀-Wert betrug 63 µmol/l.

5.3 Vergleich der beiden Testsubstanzen

Die Versuche am rechten Vorhof und am Papillarmuskel hatten den Zweck den Einfluss der beiden Testsubstanzen auf die Inotropie und Chronotropie festzustellen. Am Vorhof der aufgrund des Sinusknotens autonom schlagen kann wurde die Chronotropie untersucht. Am Papillarmuskel, der diese Fähigkeit nicht hat und daher mit einer Elektrode gereizt werden musste, wurde die Inotropie analysiert.

Die glattmuskulären Organe wurden, um eine konstante Kontraktion zu erreichen, mit Kaliumchloridlösung chemisch vorkontrahiert um eine eventuell vorhandene spasmolytische oder dilatierende Wirkung durch die Testsubstanzen reproduzierbar feststellen zu können.

Tabelle 12: Vergleich der Wirkungen von PGU 81 und PGU 127

	PGU 81 fc ± SEM (%) bei 100 µmol/l	EC ₅₀ in µmol/l	PGU 127 fc ± SEM (%) bei 100 µmol/l	EC ₅₀ in µmol/l
Rechter Vorhof	-12,11 ± 5,97	> 100	-7,62 ± 5,65	> 100
Papillarmuskel	-11,03 ± 8,09	> 100	13,84 ± 2,10	> 100
Aorta	-14,64 ± 4,92	> 100	-23,68 ± 6,95	> 100
Pulmonalarterie	-25,66 ± 9,06	> 100	-39,98 ± 8,79	> 100
Terminales Ileum	-85,31 ± 4,34	37	-59,92 ± 4,30	63

In der Tabelle sind, um eine bessere Übersicht zu geben, die Werte der Kontraktionskraft in Prozent bei 100 µmol/l zusammengefasst dargestellt.

Es ist ersichtlich, dass sowohl PGU 81 als auch PGU 127 keinen bedeutenden Effekt auf die Chronotropie des rechten Vorhofs besitzen. Bei beiden Verbindungen nimmt die Schlagfrequenz minimal ab.

Interessant sind die Werte beim Papillarmuskel, der das einzige Organ ist bei dem sich die Substanzen nicht in ähnlicher Weise verhalten.

Bei PGU 81 wurde eine Abnahme der Schlagkraft auf ca. 89% festgestellt, wohingegen bei PGU 127 die Inotropie zunahm und auf ca. 114% anstieg.

Bei den glattmuskulären Organen Aorta und Pulmonalarterie zeigte jeweils PGU 127 eine stärkere Abnahme der Kontraktionskraft.

Bei der Aorta fiel die Kontraktionskraft bei PGU 127 auf 76,32% wohingegen sie bei PGU 81 nur auf einen Wert von 85,36% abnahm.

Auf die Pulmonalarterie war die Wirkung stärker als auf die Aorta, jedoch auch hier nicht ausreichend um einen EC_{50} zu erreichen. PGU 81 senkte die Kontraktionskraft der Pulmonalarterie auf 74,34% vom Kontrollwert. Bei PGU 127 betrug die Abnahme fast 40% da der Wert auf 60,02% absank.

Das einzige Organ auf das die beiden Testsubstanzen eine ausgeprägte Wirkung zeigten war das terminale Ileum. Hier war jedoch im Gegensatz zu Aorta und Pulmonalarterie PGU 81 die wirksamere Substanz.

Bei PGU 127 fiel die Kontraktionskraft des terminalen Ileum auf 40,08% des Ausgangswertes, bei PGU 81 sogar auf 14,69%.

Bei beiden Substanzen trat eine stärkere Spasmolyse ab Konzentrationen von etwa 30 $\mu\text{mol/l}$ auf. Aufgrund dieser intensiven relaxierenden Effekte konnte bei beiden Verbindungen ein EC_{50} -Wert erhalten werden. Dieser betrug bei PGU 81 37 $\mu\text{mol/l}$. Bei PGU 127 war er um einiges höher und betrug 63 $\mu\text{mol/l}$.

Aus diesen Ergebnissen kann man schließen, dass die unterschiedlichen Effekte auf die Unterschiede in der Struktur der Verbindungen zurückzuführen sind.

Die stärkere Wirkung bei PGU 81 im Vergleich zu PGU 127 auf das terminale Ileum könnte an den zwei Methoxyphenylringen liegen, die anscheinend einen stärkeren Effekt auslösen als der Dimethoxyphenylring und der Pyridinring an PGU 127.

Die spasmolytische Wirkung auf das terminale Ileum ist insofern sehr interessant, da es nicht sehr viele spasmolytische Wirkstoffe gibt die effektiv auf den Magen-Darm-Trakt wirken.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Diese Diplomarbeit beschäftigt sich mit der in vitro Untersuchung zweier am Department für medizinische/pharmazeutische Chemie der Universität Wien neu synthetisierter Modifikationen des Naturstoffs Resveratrol. Es handelt sich dabei um die Verbindungen PGU 81 und PGU 127.

Dafür wurde Versuche an der glatten Muskulatur von Aorta, Arteria pulmonalis und terminalem Ileum sowie an der quergestreiften Herzmuskulatur von Atrium cordis dextrum und Musculus papillaris durchgeführt.

Die Testsubstanzen wurden in Konzentrationen von 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ kumulativ in ein Organbad injiziert und die daraus resultierenden Reaktionen mittels Schreibern aufgezeichnet um später die genauen Werte der Veränderungen an den Organen berechnen zu können.

Am rechten Vorhof wurde der Einfluss der Substanzen auf eine positive oder negative Chronotropie getestet. Beim Papillarmuskel wurde die Inotropie untersucht. An den anderen Organen der glatten Muskulatur wurde getestet ob die Substanzen zu einer Veränderung der Kontraktionskraft führten und ab welcher Dosis dies der Fall war. Dafür wurden je Organ und Substanz mindestens vier Versuche durchgeführt um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Die Verbindung PGU 81 zeigte wenig Wirkung auf alle Organe bis auf das terminale Ileum. Bei diesem konnte bei 37 $\mu\text{mol/l}$ ein EC_{50} -Wert erreicht werden, was auf eine spasmolytische Wirkung der Substanz schliessen lässt.

Ebenso zeigte PGU 127 nur Wirkung auf das terminale Ileum und kaum Effekte auf die anderen glattmuskulären sowie auf die quergestreiften Organe. Bei dieser Substanz wurde der EC_{50} bei einer Konzentration von 63 $\mu\text{mol/l}$ erreicht.

Der spasmolytische Effekt auf das terminale Ileum war also bei PGU 81 größer als bei PGU 127.

6. LITERATURVERZEICHNIS

Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y (2004) Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 24:2783-840.

Aktories K, Förstermann U, Hoffmann F, Starke K (2009) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Urban & Fischer, 10. Auflage, 451,472-474,616-617,624-626, 1031

Alarcón de la Lastra CA, Villegas I (2007) Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans* 35:1156-60.

Austin MB, Bowman ME, Ferrer J-L, Schröder J, Noel JP (2004) An aldol switch discovered in stilbene synthases mediates cyclization specificity of type III polyketide synthases. *Chemistry & Biology* 11: 1179 – 1194

Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 444:337-42

Chan WK, Delucchi AB (2000) Resveratrol – a red wine constituent – is a mechanism-based inactivator of cytochrome P450 3A4. *Life Sci* 67: 3103-3112

Das S, Das DK (2007) Anti-inflammatory responses of resveratrol. *Inflamm Allergy Drug Targets* 6:168-73

Das S, Falchi M, Bertelli A, Maulik N, Das DK (2006) Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by the anti-inflammatory action of resveratrol. *Arzneimittelforschung*. 56:700-6

Das S, Alagappan VK, Bagchi D, Sharma HS, Maulik N, Das DK (2005) Coordinated induction of iNOS-VEGF-KDR-eNOS after resveratrol consumption: a potential mechanism for resveratrol preconditioning of the heart. *Vascul Pharmacol*. 42:281-9

Das DK, Maulik N (2006) Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv*. 6:36-47

Donnelly LE, Newton R, Kennedy GE, Fenwick PS, Leung RH, Ito K, Russell RE, Barnes PJ (2004) Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanisms, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 287:L774-83

Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA (2003) *Nature* 425:191-6

Jannin B, Menzel M, Berlot JP, Delmas D, Lancon A, Latruffe N (2004) Transport of resveratrol a cancer chemopreventive agent to cellular targets – plasmatic protein binding and cell uptake. *Biochem Pharmacol* 68: 1113-1118

Kapetanovic IM, Muzzio M, Huang Z, Thompson TN, McCormick DL (2010) Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*.

Kiziltepe U, Turan NN, Han U, Ulus AT, Akar F (2004) Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *J Vasc Surg*. 40:138-45

Kundu JK, Surh YJ (2008) Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: mechanistic perspectives. *Cancer Lett*. 8;269:243-61

Lee SY, Shin YW, Hahm KB (2008) Phytoceuticals: mighty but ignored weapons against *Helicobacter pylori* infection. *J Dig Dis.* 9:129-39

Lekli I, Szabo G, Juhasz B, Das S, Das M, Varga E, Szendrei L, Gesztelyi R, Varadi J, Bak I, Das DK, Tosaki A (2008) Protective mechanisms of resveratrol against ischemia-reperfusion-induced damage in hearts obtained from Zucker obese rats: the role of GLUT-4 and endothelin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 294:H859-66

Marier JF, Chen K, Prince P, Scott G, del Castillo JR, Vachon P (2005) Production of ex vivo lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interleukin-6 is suppressed by trans-resveratrol in a concentration-dependent manner. *Can J Vet Res.* 69:151-4

Olson ER, Naugle JE, Zhang X, Bomser JA, Meszaros JG (2005) Inhibition of cardiac fibroblast proliferation and myofibroblast differentiation by resveratrol. *Am J Physiol.* 288:H1131–H1138

Perez-Vizcaino F, Duarte J, Andriantsitohaina R (2006) Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic Res.* 40:1054-65

Pirola L, Fröjdö S (2008) Resveratrol: one molecule, many targets. *IUBMB Life* 60:323-32

Schmandke (2002) Resveratrol und Piceid in Weintrauben und Erdnüssen sowie daraus hergestellte Produkte. *Ernährungs Umschau* 9: 349 – 353

Schröder G, Brown JWS, Schröder J (1988), Molecular analysis of resveratrol synthase – cDNA, genomic clones and relationship with chalcone synthase. *Europ J Biochem* 172: 161 – 169

Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK (2007) Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF-alpha. *Phytother Res.* 21:278-83

Su HC, Hung LM, Chen JK (2006) Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*290:E1339-46

Thews G, Mutschler E, Vaupel P (1999) *Anatomie, Physiologie Pathophysiologie des Menschen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Samuel SM, Akita Y, Zhan L, Bertelli AA, Maulik G, Maulik N (2008) White wine induced cardioprotection against ischemia-reperfusion injury is mediated by life extending Akt/FOXO3a/NFkappaB survival pathway. *56:6733-9*

Udenigwe CC, Ramprasath VR, Aluko RE, Jones PJ (2008) Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutr Rev.* 66:445-54

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

Vidavalur R, Otani H, Singal PK, Maulik N (2004) *Exp Clin Cardiol.* 2006 Fall;11(3):217-25. Significance of wine and resveratrol in cardiovascular disease: French paradox revisited.

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

Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, Sinclair D (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature.* 430:686-9

Yu CW, Shin YG, Chow A, Li YM, Kosmeder JW, Lee YS, Hirschelmann WH, Pezzuto JM, Mehta RG, Van Breemen RB (2002) Human rat and mouse metabolism of resveratrol.

Zern TL, Fernandez ML (2005) Cardioprotective effects of dietary polyphenols. J Nutr. 135:2291-4

7. CURRICULUM VITAE

Persönliche Daten

Name	Sonja Hager
Adresse	1230 Wien, Anton Freunschlaggasse 100
Geburtsdatum	18. Jänner 1985
Staatsbürgerschaft	Österreich
Eltern	Elisabeth und Werner Hager
Geschwister	Martin Hager

Ausbildung

Seit November 2010 Toxikologie	Diplomarbeit am Department für Pharmakologie und Toxikologie
Seit SS 2004	Studium der Pharmazie, Wien
WS 2004	Studium Volkswirtschaft, Wirtschaftsuniversität Wien
1999 – 2004	Handelsakademie Hetzendorf, 1120 Wien
1995 – 1999	Gymnasium Kollegium Kalksburg, 1230 Wien
1991 – 1995	Volksschule Baslergasse, 1230 Wien