



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Pharmakologisches Profil von zwei neu synthetisierten  
Verbindungen (SWS85HCl und PGU187HCl) an  
isolierten Organen von Meerschweinchen

Verfasserin

Vesna Micic

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Pharmazie

Betreuer:

Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik

## Danksagung

Der größte Dank geht an meine wunderbaren Eltern, Milan und Jovanka Micic, die mich psychisch und finanziell unterstützt haben. Mit ihrer liebevollen Art und sehr viel Verständnis gaben sie mir Kraft das Studium durchzuziehen. Danke meine Lieben!!!

Als nächstes möchte ich mich bei meinem Betreuer Ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Christian Studenik, sehr herzlich bedanken, der es mir überhaupt ermöglicht hat, mich mit diesem Thema der Diplomarbeit zu befassen. Ich danke ihm sehr für seine fachliche Beratung, sein freundliches Wesen und Verständnis auch wenn die Versuche nicht so funktionierten, wie geplant.

Weiters möchte ich mich beim Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie für die Bereitstellung der Testsubstanzen bedanken.

Danke auch an meine Studienkollegen. Ich bedanke mich für das gemeinsame Lernen und für die gemeinsamen Labortage, die es ermöglichten die Studienzeit gut zu überstehen und tolle Freundschaften zu knüpfen.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Ziel der Diplomarbeit.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Einleitung.....</b>	<b>2</b>
2.1. Schwefelwasserstoff und seine Bedeutung.....	2
2.2. Chalconderivate und deren Bedeutung.....	3
<b>3. Material und Methodik.....</b>	<b>5</b>
3.1. Versuchstiere.....	5
3.2. Organisierung und Präparation.....	5
3.2.1. Isolierung und Präparation des Atriums cordis dextrum.....	6
3.2.2. Isolierung und Präparation des Musculus papillaris.....	7
3.2.3. Isolierung und Präparation der Arteria pulmonalis.....	8
3.2.4. Isolierung und Präparation des terminalen Ileum.....	9
3.2.5. Isolierung und Präparation der Aorta.....	10
3.3. Physiologisches Nährmedium (Tyrode).....	10
3.4. Versuchsapparaturen.....	11
3.4.1. Versuchsapparatur A.....	12
3.4.2. Versuchsapparatur B.....	14
3.4.3. Gasversorgung.....	15
3.4.4. Kraftwandler (a), Verstärker (b), Schreiber (c).....	16
3.5. Testsubstanzen SWS85HCl und PGU187HCl.....	17
3.5.1. Lösung und Einwaage der Testsubstanzen.....	18
3.6. Durchführung der Versuche.....	20
3.6.1. Kaliumchloridlösung.....	20
3.6.2. Versuchsdurchführung am Atrium cordis dextrum.....	21
3.6.3. Versuchsdurchführung am Musculus papillaris.....	22
3.6.4. Versuchsdurchführung an der Aorta.....	23
3.6.5. Versuchsdurchführung an der Arteria pulmonalis.....	24
3.6.6. Versuchsdurchführung am Ileum terminale.....	24

<b>3.7. Analyse der Versuchsreihe.....</b>	<b>25</b>
3.7.1. Versuchsreihe am Atrium dextrum cordis.....	25
3.7.2. Versuchsreihe am Musculus papillaris.....	25
3.7.3. Versuchsreihe an Aorta, Arteria pulmonalis und am terminalen Ileum.....	26
<b>3.8. Statistik.....</b>	<b>26</b>
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1. Ergebnisse der Testsubstanz SWS85HCl.....</b>	<b>28</b>
4.1.1. Wirkung von SWS85HCl auf das Atrium cordis dextrum.....	28
4.1.2. Wirkung von SWS85HCl auf den Musculus papillaris.....	31
4.1.3. Wirkung von SWS85HCl auf die Aorta.....	34
4.1.4. Wirkung von SWS85HCl auf die Arteria pulmonalis.....	37
4.1.5. Wirkung von SWS85HCl auf das Ileum terminalis.....	40
<b>4.2. Ergebnisse der Testsubstanz PGU187HCl.....</b>	<b>43</b>
4.2.1. Wirkung von PGU187HCl auf das Atrium cordis dextrum.....	43
4.2.2. Wirkung von PGU187HCl auf dem Musculus papillaris.....	46
4.2.3. Wirkung von PGU187HCl auf die Aorta.....	49
4.2.4. Wirkung von PGU187HCl auf die Arteria pulmonalis.....	52
4.2.5. Wirkung von PGU187HCl auf das Ileum terminalis.....	55
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>58</b>
<b>5.1. SWS85HCl und PGU187HCl und deren Wirkungen an quergestreifter Herzmuskulatur.....</b>	<b>58</b>
5.1.1. Wirkung auf die Schlagfrequenz des Atriums dextrum cordis.....	59
5.1.2. Wirkung auf die Kontraktionskraft des Musculus papillaris.....	59
<b>5.2. SWS85HCl und PGU187HCl und deren Wirkungen an den glattmuskulären Organen.....</b>	<b>60</b>
5.2.1. Wirkung auf den Kontraktionstonus der Aorta.....	60
5.2.2. Wirkung auf den Kontraktionstonus der Arteria pulmonalis.....	61
5.2.3. Wirkung auf den Kontraktionstonus des Ileum terminalis.....	61

<b>6. Zusammenfassung.....</b>	<b>62</b>
<b>7. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>64</b>
<b>8. Lebenslauf.....</b>	<b>65</b>

# 1. Ziel der Diplomarbeit

Die Diplomarbeit handelt von zwei Testsubstanzen SWS85HCl und PGU187HCl, die auf ihre Wirkung an den isolierten Organen des Meerschweinchens geprüft wurden. Die Meerschweinchen wurden als Versuchstiere ausgesucht, da ihre Ionenkanäle denen der Menschen in vieler Hinsicht ähnlich sind und so darauf geschlossen werden konnte, dass die Substanzen eine ähnliche Wirkung auf den menschlichen Organismus haben könnten.

Bei der Substanz SWS85HCl handelt sich um eine Prodrugverbindung, die möglicherweise enzymatisch Schwefelwasserstoff abspalten könnte.

Die PGU187HCl ist eine chalconähnliche Verbindung, die sehr viele pharmakologische Wirkungen aufweist.

Die Organe, die für die Versuche herangezogen wurden, waren:

Atrium cordis dextrum

Musculus papillaris

Aorta

Arteria pulmonalis

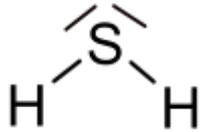
Terminales Ileum

Das Ziel war es, der Substanzen einen vasodilatierenden oder spasmolytischen Effekt nachzuweisen. Die unerwünschten Herzwirkungen wurden angestrebt. Dabei untersuchte man die Substanzen auf chronotrope bzw. inotrope Wirkungen.

Die Versuchsergebnisse wurden genau protokolliert und eine Konzentrations-Wirkungskurve grafisch dargestellt.

## **2. Einleitung**

### **2.1. Schwefelwasserstoff und seine Bedeutung**



Schwefelwasserstoff, H<sub>2</sub>S, ein intensiv nach faulen Eiern riechendes Gas (Geruchschwelle bei 0,025ml/m<sup>3</sup>), entsteht bei der Einwirkung von Säuren auf Schwermetallsulfide und bei der reduktiven Zersetzung von Eiweiß (Forth 2001).

Während Schwefelwasserstoff (H<sub>2</sub>S) in niedrigen Konzentrationen an seinem typischen Geruch leicht bemerkt werden kann, riecht er in höheren Konzentrationen süßlich (Mutschler 2008).

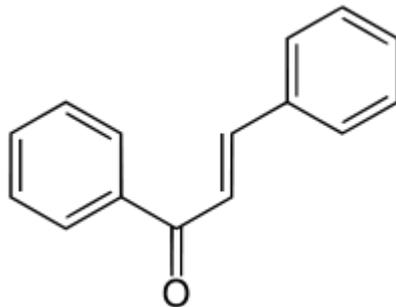
Die wichtigsten betroffenen Organe bei einer akuten Schwefelwasserstoffvergiftung sind das zentrale Nervensystem und der Atemtrakt. Bei Inhalation hoher H<sub>2</sub>S-Konzentrationen treten Bewußtseinsverlust und zentrale Atemlähmung auf. Eine zentrale Atemlähmung kann schon nach wenigen Atemzügen eintreten (apoplektiforme Vergiftung). Geringe H<sub>2</sub>S-Konzentrationen erzeugen Hyperpnoe, Schwäche und Krämpfe sowie Reizerscheinungen im Atemtrakt und teilweise Lungenödem. Spätfolgen sind Pneumonie und Herzmuskeldegeneration (Forth 2001).

Der genaue Wirkmechanismus einer H<sub>2</sub>S-Vergiftung ist noch nicht geklärt. In höheren Konzentrationen blockiert Schwefelwasserstoff bzw. das aus diesem im Organ gebildete Hydrogensulfid-Ion wie Blausäure die eisenhaltigen Atmungsenzyme. Darüber hinaus ist anzunehmen, dass Schwefelwasserstoff eine Störung des Zellstoffwechsels mit konsekutiver Hypoxie bewirkt (Mutschler 2008).

In vitro Versuchen bei Ratten relaxiert H<sub>2</sub>S durch Angriff am ATP abhängigen K(+) Kanal die Aortengewebe. In isolierten glatten Muskelzellen ermöglicht H<sub>2</sub>S eine direkte Öffnung der ATP abhängigen K(+) Kanäle und führt dazu, dass die Membran hyperpolarisiert wird. Die Expression der Enzyme, die für die Bildung von H<sub>2</sub>S verantwortlich sind, wurden in vaskulären glatten Muskelzellen identifiziert, jedoch nicht im Endothel (Zhao et al. 2001).

H<sub>2</sub>S ist ein gasförmiger Öffner des ATP abhängigen K(+) Kanals, doch es hat keine Kanalspezifität. Deswegen könnte H<sub>2</sub>S auch einige Effekte auf die Insulin-Sekretion haben (Pathel 2010).

## 2.2. Chalconderivate und deren Bedeutung



Die Flavonoide im weiteren Sinne ergeben sich formal durch die Ausbildung einer  $\alpha$ ,  $\beta$ - ungesättigten Carbonylgruppierung in dem anfangs erwähnten, hydroxylierten 1,3-Diphenylpropan. Dieser Körper ist das 2-Hydroxyphenylstyrylketon, welches die Stammverbindung der so genannten **Chalcone** ist, einer Untergruppe innerhalb der Flavonoidfamilie (Schneider 2004).

Chalcone sind gelb gefärbte Pflanzenstoffe. Sie sind mit Lipidlösungsmitteln extrahierbar, wenn sie durch Isoprenreste substituiert sind (Beispiel: Xanthohumol) oder wenn Hydroxyle durch Methylgruppen verschlossen sind (Beispiel: Chalcone aus dem Kavarhizom). Mit Alkohol extrahierbar sind die glykosidischen Vertreter (z.B. die Farbstoffe der Saflor- und Katzenpfötchenblüten) (Hänsel und Sticher 2010).

Flavonoide besitzen, vor allem bei In-vitro-Tests und bei pharmakologischen Untersuchungen an isolierten Organen, viele unterschiedliche Wirkungen. Allerdings scheinen Flavonoide bei peroraler Applikation nur zum Teil unverändert resorbiert zu werden. Ein großer Teil wird offenbar durch die im Darm lebenden Mikroorganismen metabolisiert, und die Metaboliten (Hydroxyphenylpropionsäure-, Hydroxyzimtsäure-, Hydroxybenzoesäure- und Hydroxyphenylelessigsäure-Derivate) werden resorbiert (Rimpler 1999).

Die wichtigsten Wirkungen sind:

- Antiallergisch, antiphlogistisch,
- Antiviral, antimikrobielle Wirkung,
- Antioxidative Wirkung,
- Antiproliferative, antikanzerogene Wirkung.

Daneben sind verschiedene weitere Aktivitäten nachgewiesen worden, u.a. analgetische, spasmolytische, hepatoprotektive, antiulzerogene, antihypertensive, kardioprotektive, hypoglykämische und mutagene (Hänsel und Sticher 2010).

Isoliquiritin, ein Chalcon, das von dem Extrakt der Süßholzwurzel isoliert wird, ist als eine wichtige Verbindung erkannt worden, welche für die Antiangiogenese verantwortlich ist (Orlikova et al. 2011).

## **3. Material und Methodik**

### **3.1. Versuchstiere**

Die Testsubstanzen SWS85HCl und PGU187HCl wurden bezüglich ihrer Wirkung an Meerschweinchen getestet. Die Meerschweinchen stammten von der Gattung "TRIK", die sich besonders günstig für die Versuche erwiesen hatte aufgrund der ähnlichen Ionenkanäle (verglichen mit den menschlichen Ionenkanälen). Man hatte die Meerschweinchen ausgesucht, die im Alter von vier bis sechs Wochen waren, die demnach in keinem Reproduktionsalter waren. Das Gewicht der Meerschweinchen betrug ungefähr 300-600 Gramm.

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte durch einen Genickschlag, da man ihnen einen schnellen und möglichst schmerzfreien Tod ermöglichen wollte. Die Isolierung der Organe erfolgte nach der Öffnung des Thorax mithilfe einer Schere. Die Organe die dabei entfernt wurden, waren Atrium dextrum cordis (rechter Vorhof), Musculus papillaris (Papillarmuskel) Aorta, Arteria pulmonalis (Lungenarterie) und Ileum terminalis (Dünndarm),

### **3.2. Organisolierung und Präparation**

Nach der erfolgreichen und schnellen Isolierung der Organe wurden diese in eine Elektrolytlösung übergeführt und anschließend mit 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid begast, um möglichst gleiche physiologische Bedingungen zu simulieren und dadurch das Absterben der Organe zu verhindern.

Für die Präparation der Organe wurden folgende Utensilien verwendet: Mikroskop, Sezierbesteck, Pinzette, Präpariernadeln, Spitzscheren, Federscheren, Pasteurpipetten und Petrischale.

**Abbildung 1:** Utensilien für die Isolierung und Präparation der Organe



### 3.2.1. Isolierung und Präparation des Atriums cordis dextrum

Das Herz des Menschen gliedert sich in zwei Teile, das rechte und das linke Herz, die jeweils aus einem kleineren Vorhof (Atrium) und einer größeren Kammer (Ventrikel) bestehen (Mutschler 1999).

Nach der Öffnung des Thorax wurde als erstes das Herz entnommen, welches gleich in die Elektrolytlösung eingetaucht wurde, um es vom Blut zu reinigen. Man platzierte das Herz in eine mit Elektrolytlösung befüllten Petrischale, die mit einem Korkboden ausgestattet war, um die Präparation zu erleichtern.

Das Herz wurde mit zwei Präpariernadeln an der Basis und an der Spitze fixiert und so konnte man das anhaftende Fett- und Lungengewebe leichter und schonend vom Herzen mittels Federschere entfernen, ohne ins Herz rein zu schneiden.

Nachdem der rechte Vorhof isoliert wurde, wurde dieser in eine andere mit Elektrolytlösung befüllte Petrischale, die auch einen Kork als Boden hatte, gebracht.

Mit zwei Präpariernadeln wurden die Enden befestigt und mit einem Faden abgebunden. Um das Versuchsorgan in die Apparatur einspannen zu können, musste man Häkchen aus Silberdraht in die Bindfäden einbringen. Bis tatsächlich das Organ in die Versuchsapparatur eingespannt wurde, wurde der rechte Vorhof in einem Becherglas mit Elektrolytlösung aufbewahrt und begast.

**Abbildung 2:** Atrium cordis dextrum im Organbad



### 3.2.2. Isolierung und Präparation des Musculus papillaris

Nachdem man das Atrium cordis dextrum entfernt hatte, wurde als nächstes der Musculus papillaris isoliert, indem das Kammerseptum geöffnet wurde. Die Purkinje-Fasern mussten gründlich entfernt werden, da sie die Impulsbildung des Papillarmuskels übernehmen und so falsche Versuchsergebnisse liefern würden.

Am Ansatz des Papillarmuskels wurde ein Faden gebunden und ein Silberdrahthäkchen fixiert. Bevor der Versuch gestartet wurde, wurden die Papillarmuskeln in eine Nährlösung gebracht und begast, um den empfindlichen Musculus papillaris vor dem Absterben zu bewahren.

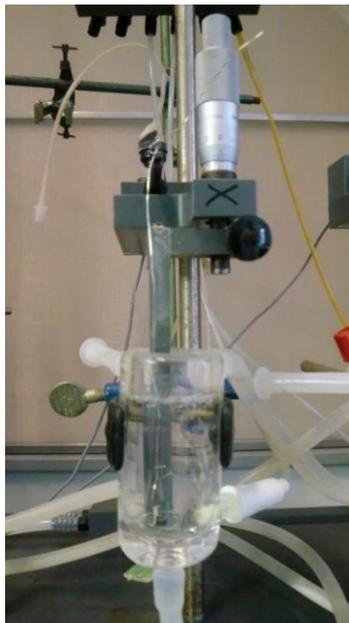
### 3.2.3. Isolierung und Präparation der Arteria pulmonalis

Die Pulmonalarterie wurde nahe dem Herzen isoliert und nur jener Abschnitt wurde verwendet, der vor dem Eintritt in die rechte und linke Arterie lag.

Danach wurden das Fett- und Muskelgewebe entfernt, indem die Pulmonalarterie in der Petrischale fixiert wurde. Nach der erfolgreichen Säuberung wurde die Pulmonalarterie in einzelne 2-3 mm breite Stücke geschnitten.

Auch hier war es besonders wichtig die einzelnen Stücke in der begasten Elektrolytlösung aufzubewahren.

**Abbildung 3:** Arteria pulmonalis im Organbad



### 3.2.4. Isolierung und Präparation des terminalen Ileum

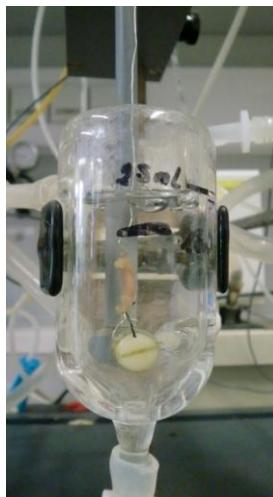
Ein 20-30 cm langes Stück vom terminalen Ileum wurde vom Bauchraum entnommen, mit einem Faden abgebunden und vom nachfolgenden Caecum abgetrennt.

Nach der Abtrennung wurde das Darmstück mit ausreichender Nährlösung und sauerstoff- und kohlendioxidhaltigem Gas versorgt, um die physiologischen Bedingungen so gut wie möglich aufrecht zu erhalten.

Danach wurde ein ca. 3-4 cm langes Stück abgeschnitten und die weitere Präparation erfolgte in der Petrischale. Die Petrischale war mit Nährlösung befüllt und das Organstück fixierte man am oberen und unteren Ende mit zwei Präpariernadeln auf dem Korkboden. Der Darminhalt wurde noch mit einer Pasteurpipette, die mit der Nährlösung befüllt war, durchgespült, um ihn zu säubern. Anschließend wurden an den beiden Darmenden kleinere Stücke schräg abgeschnitten, um zu gewährleisten, dass die Testsubstanz tatsächlich in die Lumenschleimhaut eindringen konnte.

Das obere und untere Ende wurden mit dem Faden abgebunden und Silberdrahthäkchen angehängt.

**Abbildung 4:** Ileum terminalis im Organbad



### 3.2.5. Isolierung und Präparation der Aorta

Nachdem man alle bis jetzt genannten Organe vom Meerschweinchen entnommen hatte, war das letzte Organ, das isoliert wurde, die Aorta. Der Thorax wurde weit geöffnet gehalten, um die Aorta entlang des Rückgrates vorsichtig herausschneiden zu können, ohne sie zu beschädigen.

Die Aorta wurde, wie die Arteria pulmonalis (Kapitel 3.2.3.), in eine Petrischale gebracht, an den beiden Enden fixiert und die Binde- und Muskelgewebe wurden mit einer Federschere vorsichtig weggeschnitten.

Um die Aorta für den Versuch verwenden zu können, wurde sie in kleinere Stücke geschnitten, die etwa 2-3 cm dick waren. Für den Versuch wurde ein Aortenstück entnommen, die restlichen Stücke hatte man in der Nährlösung begast.

### 3.3. Physiologisches Nährmedium (Tyrode)

Die Bereitung einer physiologischen Nährlösung war sehr wichtig, um die physiologischen Bedingungen nachzuahmen und dadurch die isolierten Organe am Leben zu erhalten.

Es wurde darauf geachtet, dass die Organteile immer in der Nährlösung waren bis die Versuche gestartet wurden.

Die Nährlösung wurde nach der Vorschrift von Reiter (1967) jeden Morgen zubereitet und somit wurde eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung hergestellt.

Die Zubereitung der Nährlösung erfolgte so, dass zuerst die Feststoffe mittels einer Waage eingewogen wurden und in einem 2 Liter Messkolben gebracht wurden. Dann wurden die Lösungen Natriumhydrogencarbonat, Magnesiumsulfat, Kaliumhydrogenphosphat und Natriumchlorid mithilfe einer Bürette, mit der die Mengen genau abgemessen wurden, beigemischt.

Mit Aqua bidestillata wurde auf  $\frac{3}{4}$  des Messkolbens aufgefüllt und kräftig durchgeschüttelt.

Die Mischung wurde dann für 20 Minuten mit 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid begast. Nach den 20 Minuten wurde Calciumchlorid mit einer automatischen Messpipette tropfenweise zugeführt, um das Ausfallen von Calciumsalzen zu verhindern, da sonst die Nährlösung unbrauchbar gewesen wäre. Schließlich wurde mit Aqua bidestillata auf 2 Liter des Messkolbens aufgefüllt.

Die Nährlösung wurde nicht nur für die Aufbewahrung von Organen verwendet, sondern auch für die Zubereitung der Kaliumchloridlösung. Die Versuche am Vorhof und Papillarmuskel erfolgten in der Nährlösung.

**Tabelle 1:** Zusammensetzung des Nährmediums

Substanz	Stocklösung	Stocklösung/l Tyrode (in ml)	mmol/l
<b>NaCl</b>	1000,25g/5l	33,60	114,90
<b>KCl</b>	50,33g/5l	35,00	4,73
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	125,00g/5l	83,70	24,90
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	142,02g/5l	3,20	1,18
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	62,00g/250ml	1,18	1,18
<b>Glucose</b>	Reinsubstanz	1,98	10,00
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	34,00g/250ml	1,18	3,20

### 3.4. Versuchsapparaturen

Die Durchführung der Versuche erfolgte an zwei unterschiedlichen Apparaturen A und B. Auf der Versuchsapparatur A wurden die Versuche mit Aorta, Arteria pulmonalis, terminalen Ileum und Atrium dextrum cordis durchgeführt. Auf der Versuchsapparatur B wurde Musculus papillaris eingespannt.

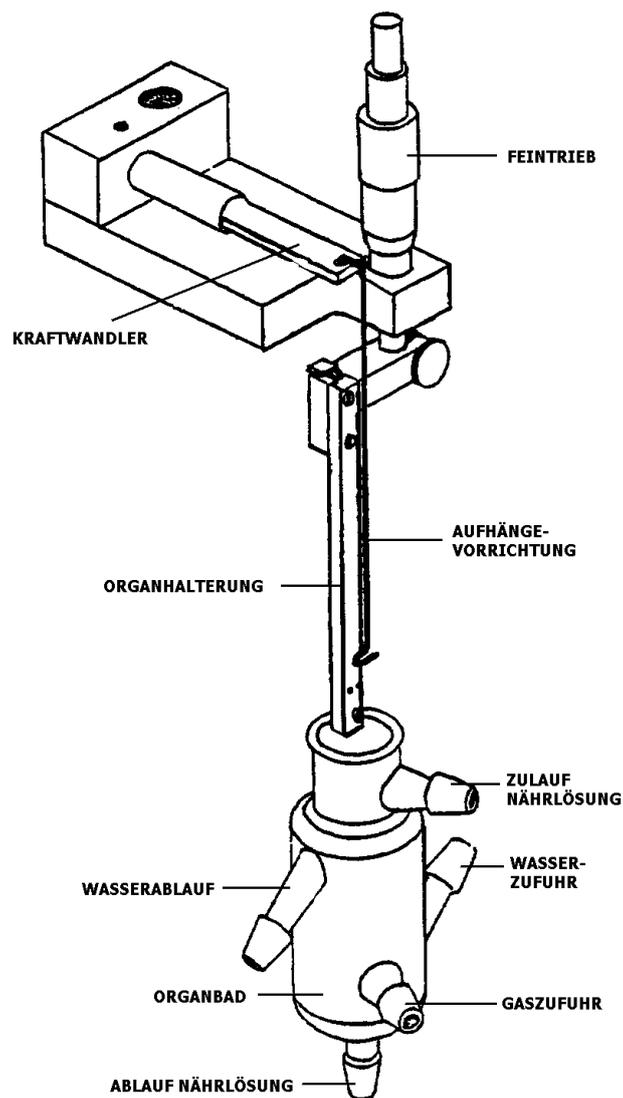
Beide Versuchsapparaturen waren mit einem Wasserbad und Gaszufuhr ausgestattet.

Das Wasserbad gewährleistete während der ganzen Versuche eine Temperatur von 35-37 Grad Celsius. Das Gas war wichtig, um den Organen genügend Sauerstoff (95%) und Kohlendioxid (5%) zu zuführen.

Die Reinigung der Versuchapparatur erfolgte vor Beginn und nach Abschluss der Versuche. Dazu wurde die Organzelle mit Aqua bidestillata und verdünnter Salzsäure gesäubert und schließlich mit Tyrode nachgespült.

### 3.4.1. Versuchsapparatur A

**Abbildung 5:** Versuchsapparatur A in skizzierter Darstellung



Bevor der Versuch starten konnte, wurde das Wasserbad auf 37 Grad Celsius erhitzt. Ein Schlauchsystem, das an der Wasserzufuhr- und Wasserablauföffnung fixiert war, gewährleistete, dass die Organzelle mit Wasser erwärmt wurde.

Danach konnte man die Organzelle mit der frisch zubereiteten Nährlösung befüllen, je nachdem, ob man eine größere Organzelle oder eine kleinere zur Verfügung hatte, wurden entweder 25 ml oder 8 ml zugegeben.

Nun konnte man das präparierte Organ mit der einen Seite auf die Aufhängevorrichtung anbringen und das andere Ende wurde am gebogenen Draht des Organhalters eingespannt (siehe Abbildung 5). Organpräparate wie Aorta und Arteria pulmonalis konnte man direkt anhängen. Das Atrium dextrum cordis und das terminale Ileum mussten Silberdrahthäkchen vorweisen, um das Anbringen auf die Apparatur zu erleichtern.

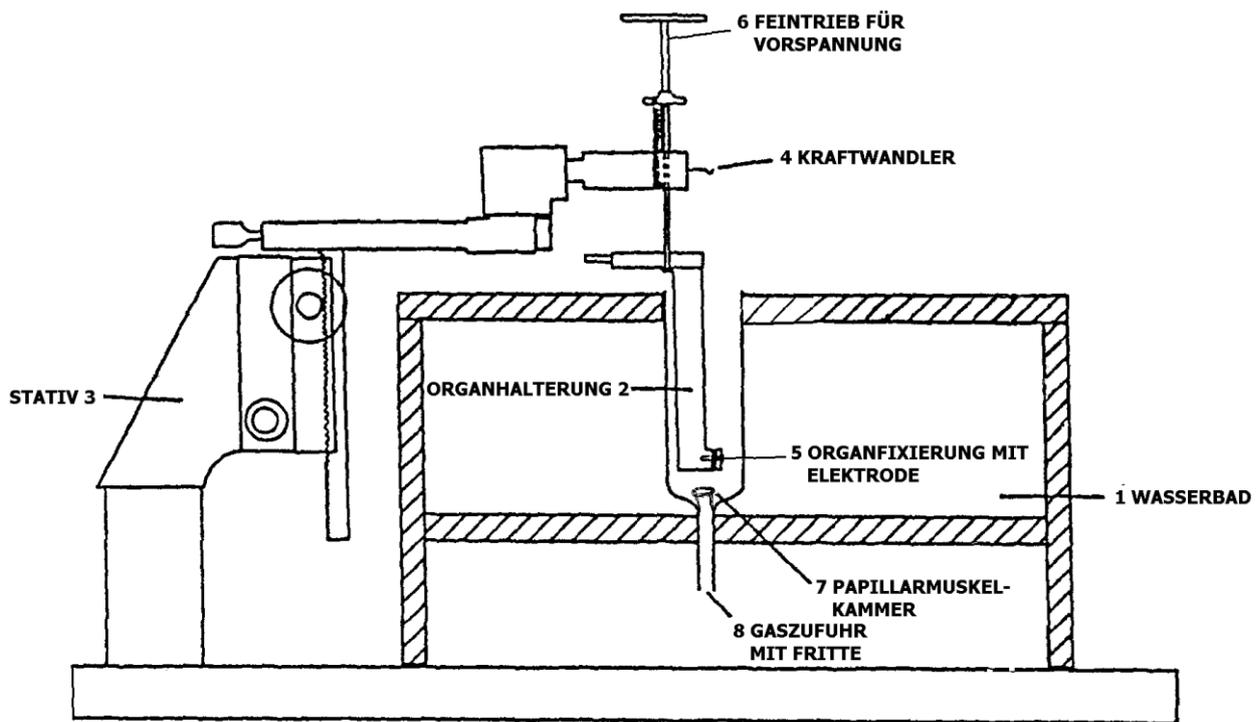
Nach der Öffnung des Gashahnes war es möglich das Organ, nach der schnellen Einspannung, in die Nährlösung einzutauchen. Die Stärke mit der das Gas die Tyrodelösung durchströmte, konnte über eine Schraubklemme an der Stativhalterung reguliert werden.

Damit die Plastizität der Organe ausgeglichen war, wurde mithilfe eines Feintriebels vorgespannt und nur so konnte man einen maximalen Kontraktionstonus erschaffen und damit die Versuche reproduzierbar machen. Der Kraftwandler registrierte die Kontraktionskraft, die in elektrische Impulse umgewandelt wurde und vom Schreiber auf einem Millimeterpapier erfasst wurde.

Die Elektrolytlösung konnte über einen Gummischlauch abgelassen werden, indem man die Quetschklemme, die am Schlauch angebracht war, geöffnet hatte.

### 3.4.2. Versuchsapparatur B

**Abbildung 6:** Versuchsapparatur B in skizzierter Darstellung



An dieser Apparatur wurde als Organ, der Papillarmuskel, eingespannt. Dieses Organpräparat musste mit Rechteckimpulsen elektrisch gereizt werden, weil es von selbst nicht kontrahieren konnte. Diese Versuchsapparatur erfüllte diese Bedingung.

Hier hatte man als eine Organzelle eine Papillarmuskelkammer, die sich direkt im Wasserbad befand. Das Wasserbad wurde auf 35 Grad Celsius erhitzt und die Papillarmuskelkammer wurde mit 25 ml Tyrodelösung befüllt. Die nötige Temperatur wurde vom Thermostat aufrechterhalten. Die am Papillarmuskelkammerboden angebrachte Gasfritte war für die Sauerstoffzufuhr essentiell (Abbildung 6).

Das Präparat mit seinem Silberdrahthäkchen wurde an der Organhalterung angehängt. Das andere Ende wurde zwischen dem rechteckigen Plexiglasplättchen und einer Platinkathode mit Schrauben eingeklemmt. Die Verbindung zum Kraftwandler wurde durch diese Arbeitsweise ermöglicht. Der Gashahn wurde

aufgedreht und nun tauchte man die Organhalterung in die mit Tyrode befüllte Papillarmuskelkammer. Wie bei der Versuchsanordnung A wurde auch hier mit dem Feintrieb vorgespannt, der die maximale Kontraktionskraft gewährleistete.

Der Kraftwandler erzeugte elektrische Impulse, die vom Schreiber aufgefasst wurden. Das Signal wurde zusätzlich vom Amplifier verstärkt.

Die Nährlösung wurde mit einer Kunststoffspritze, an der ein Gummischlauch angebracht war, entfernt, da dafür kein Abflusssystem vorhanden war.

### 3.4.3. Gasversorgung

Wie bereits schon erwähnt, war es sehr wichtig die Organe mit Gas, das sich aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid zusammensetzte, zu versorgen. Dies ermöglichte es die physiologischen Bedingungen nachzuahmen und somit den Untergang des Gewebes zu vermeiden. Mit der Begasung erreichte man, dass sich ein physiologischer pH-Wert von 7,2-7,4 eingestellt hatte.

Das Gas war in Stahlflaschen untergebracht. Die Gaszufuhr war mit Schläuchen ausgestattet, an denen Schraubklemmen angebracht waren, mit denen man die Strömungsgeschwindigkeit vom Gas regulieren konnte. Zu viel Begasung der Organe führte zu deren Schädigungen.

#### **Abbildung 7:** Gashahn



### 3.4.4. Kraftwandler (a), Verstärker (b), Schreiber (c)

**a)** der Kraftwandler (Transbridge der Firma World Precision Instruments, USA) erzeugte elektrische Impulse, indem er die mechanische Kontraktion, die von der Muskulatur der präparierten Organe stammte, umwandelte. Im Kraftwandler waren Dehnungsmessstreifen integriert, die auf die Kontraktion reagierten, indem sie gedehnt wurden und dadurch wurde der Widerstand geändert. Die Stromstärke, bei gleich bleibender Spannung, wurde proportional zum Widerstand auch geändert (Ohm'sches Gesetz).

**b)** der Verstärker, auch Amplifier (Transbridge 4-Channel Transducer Amplifier; World Precision Instruments, USA) genannt, verstärkte und vergrößerte das Signal.

**c)** das Signal vom Verstärker wurde an das Schreibgerät (Flatbed Recorder BD-112 Dual Channel; Firma Kipp und Zonen, Niederlande) übertragen, welches mit einem Pen ausgestattet war. Der Schreiber zeichnete das übermittelte Signal in Form von Kurven auf einem Millimeterpapier auf.

**Abbildung 8:** Anapulse Stimulator, Verstärker, Schreibgerät (von oben nach unten)

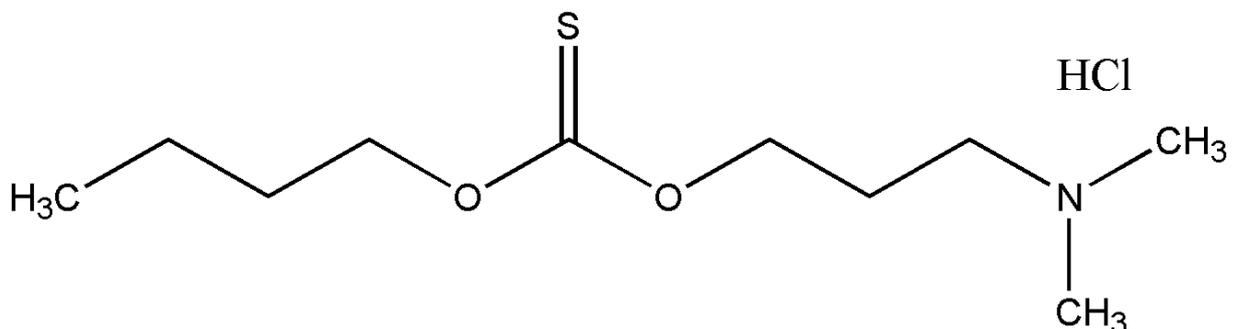


### 3.5. Testsubstanzen SWS85HCl und PGU187HCl

Die Neusynthese der zwei Substanzen erfolgte am Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie unter Leitung von Herrn Univ. Prof. Dr. Thomas Erker.

Die Testsubstanz **SWS85HCl** ist ein Diester der Thiokohlensäure. Die Annahme war, dass diese Verbindung Schwefelwasserstoff abspalten konnte, was die eigentliche Wirksubstanz darstellen würde und somit würde man diese Verbindung als ein Prodrug bezeichnen.

**Abbildung 9:** Strukturformel der Testsubstanz SWS85HCl

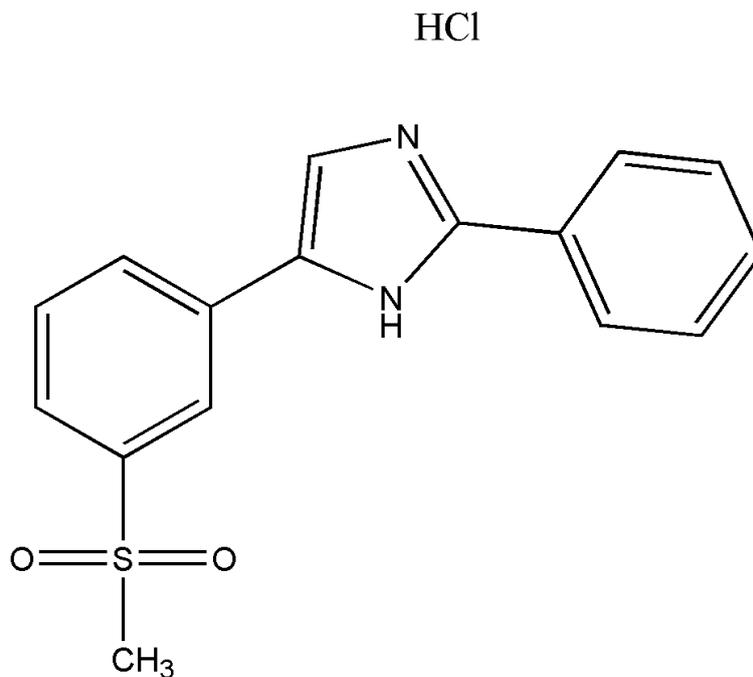


Nomenklatur: Butyl [2-(Dimethylamino)propoxy]methanthioat-Hydrochlorid

Molekulargewicht: 255,81

Bei der Substanz **PGU187HCl** handelt es sich um eine chalconähnliche Verbindung, die u.a. eine mögliche antioxidative und gefäßerweiternde Wirkung hat.

**Abbildung 10:** Strukturformel der Testsubstanz PGU187HCl



Nomenklatur: 5-[3-(Methylsulfonyl)phenyl]-2-phenyl-1H-imdazol-Hydrochlorid

Molekulargewicht: 334,82

### 3.5.1. Lösung und Einwaage der Testsubstanzen

Die Testsubstanz SWS85HCl wurde in Wasser gelöst.

Der Versuch die Substanz PGU187HCl in Wasser zu lösen, scheiterte und deswegen wurde DMSO, Dimethylsulfoxid, als Lösungsmittel herangezogen.

DMSO selbst hatte eine Eigenwirkung auf die Organe, um keine verfälschten Ergebnisse zu liefern, musste das bei der Auswertung einbezogen werden. DMSO wurde an isolierten Organen getestet, als wäre es eine Testsubstanz, um das Ausmaß deren Eigenwirkung zu erkunden.

Es wurden Prozentsätze ermittelt, die man bei manchen Organen addieren und bei anderen subtrahieren musste. Bei Atrium cordis dextrum, bei der die Schlagfrequenz untersucht wurde, hatte DMSO keine Auswirkung.

Die Einwaage der Testsubstanz erfolgte auf einer Analysenwaage. Wie viel an Testsubstanz gebraucht wurde, war von zwei Faktoren abhängig. Erstens war wichtig das Molekulargewicht der Testsubstanz zu ermitteln und zweitens war darauf zu achten, was für ein Fassungsvermögen die, für den Versuch verwendete, Organzelle hatte.

Die Stammlösung, die sich aus der Testsubstanz und Wasser oder DMSO zusammensetzte, wurde jeden Tag frisch zubereitet. Die Substanzen wurden je nach errechneter Menge in Glasphiolen eingewogen und in 100 µmol/l Lösungsmittel (Wasser oder DMSO) gelöst.

**Tabelle 2:** Stammlösungen

<b>Stammlösung</b>	<b>Fassungsvermögen der Organzelle (in ml)</b>	<b>Einwaage der Substanz (in mg)</b>
<b>SWS85HCl</b>	25	0,64
<b>SWS85HCl</b>	8	0,20
<b>PGU187HCl</b>	25	0,84
<b>PGU187HCl</b>	8	0,27

Immer in Abständen von 45 Minuten erfolgte die Einspritzung der Stammlösung mit einer Kolbenhubpipette anhand des Pipettierschemas (Tabelle 3). Man begann von der kleinsten Menge (1 µl) und schloss den Versuch mit 70 µl ab. Bei der Einspritzung sollten der Silberdraht, der an der Organhalterung hing und das Organpräparat selbst nicht berührt werden, um keine falschen Kontraktionen zu messen und das Organ nicht zu verletzen.

**Tabelle 3:** Pipettierschema

<b>Konzentration im Organbad (in <math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>Zugeführtes Volumen (in <math>\mu\text{l}</math>)</b>
1	1
3	2
10	7
30	20
100	70

### **3.6. Durchführung der Versuche**

Es wurden drei bis fünf Versuche mit den Organen Atrium dextrum cordis, Musculus papillaris, Arteria pulmonalis, Ileum terminalis und Aorta gemacht.

Manchmal war es nötig, noch mehr Experimente mit der Testsubstanz an den Organen durchzuführen, um die Spanne der Durchschnittsergebnisse, die man nach den Versuchen ermittelt hatte, nicht so weit zu übertreffen, weil man sonst keine wissenschaftlichen Resultate über die entsprechende Testsubstanz präsentieren konnte.

#### **3.6.1. Kaliumchloridlösung**

Um die Testsubstanzen auf vasodilatierende bzw. spasmolytische Wirkung zu untersuchen, wurden die Organe mit einer Kaliumchloridlösung vorkontrahiert. Die Kaliumchloridlösung wurde jeden Tag in einem 100 ml Messkolben zubereitet. Für die Aorta und Arteria pulmonalis wurde eine 90 mmolare Lösung hergestellt. Während für die Versuche an der Darmmuskulatur eine 60 mmolare Lösung nötig war (Tabelle 4).

Der Papillarmuskel wurde elektrisch gereizt und der Vorhof kontrahierte aufgrund seines Sinusknotens von alleine, sodass für diese Organe eine Zufuhr der Kaliumchlorid überfällig war.

**Tabelle 4:** Kaliumchloridlösungen

<b>Organpräparat</b>	<b>Kaliumchlorid (in g)</b>	<b>Menge der Nährlösung (in ml)</b>
<b>Aorta, Arteria pulmonalis</b>	0,67	100
<b>Ileum terminalis</b>	0,45	100

### 3.6.2. Versuchsdurchführung am Atrium cordis dextrum

Das präparierte Organ (siehe Kapitel 3.2.1.) wurde nun in die Versuchsanordnung A (siehe Kapitel 3.4.1.) angehängt. Das Anbringen des Organs sollte möglichst schnell erfolgen, weil sich das Organ währenddessen außerhalb der Nährlösung und Begasung befand. Der Silberdraht, an dem das Organ hing, durfte nicht ganz gedehnt werden, weil er sich sonst bei der Vorspannung mit dem Feintrieb überdehnt hätte.

Nun wurde das Organ in die Organzelle, die mit der Tyrode befüllt war, eingetaucht. Es wurde immer darauf geachtet, dass der Gasstrom vorhanden war. Das Schreibgerät und der Amplifier wurden eingeschaltet und der Stift des Schreibers wurde auf die Nullposition gestellt. Als nächstes folgte die Vorspannung mit dem Feintrieb auf 10,4 mN, die Stromstärke betrug 5 mV. Bei der Vorspannung wich der Stift von der Nulllinie ab und musste mit dem Knopf am Amplifier wieder auf diese positioniert werden. Weiters wartete man 20-30 Minuten, damit sich das Organ an das Milieu anpassen konnte und damit der rechte Vorhof in der Zeit zu schlagen beginnen konnte. Wenn das nicht der Fall war, wurde der Versuch abgebrochen.

Schließlich begann die Kontrollphase, in der man alle 5 Minuten eine Frequenz von

12 Sekunden mit dem Schreiber erfasste. Die 12 Sekunden betragen ungefähr 6 Kästchen am Millimeterpapier. Wenn die letzten drei Werte eine konstante Schlagfrequenz ergaben, wurde mit einer Kolbenhubpipette die Testsubstanz eingespritzt (siehe Pipettierschema in Kapitel 3.5.1.)

Es wurde die Schlagfrequenz alle fünf Minuten 12 Sekunden lang gemessen und nach 45 Minuten wurde die nächste Konzentration der Substanz in die Organzelle pipettiert. Durch die Multiplikation mit dem Faktor 5 erhielt man die Schlagfrequenz pro Minute.

### 3.6.3. Versuchsdurchführung am Musculus papillaris

Der isolierte und präparierte Papillarmuskel (Kapitel 3.2.2.) wurde als einziges Organ an der Versuchsanordnung B (Kapitel 3.4.2.) zwischen der Platinelektrode und dem kleinen rechteckigen Plexiglasstück fixiert und in die Papillarmuskelkammer, die sich direkt im Organbad befand, eingetaucht. Bevor der Versuch startete, wurde das Organbad auf die richtige Temperatur (35 Grad Celsius) eingestellt.

Das Schreibgerät und der Amplifier wurden eingeschaltet. Daraufhin folgte die Vorspannung auf 3,92 mN bei einer Stromstärke von 2 mV bzw. 5 mV. Der Schreiber wurde auch hier auf die Nullposition gebracht.

Es folgte eine Anpassungsphase des Organs, die 10 bis 20 Minuten dauerte. Nun musste der Papillarmuskel elektrisch gereizt werden. Dies geschah über Silberelektroden von einem Reizgerät (Accupulser A310-Akkumulator Stimulus von WPI, USA). Dann wurde das Organ 3 Millisekunden lang mit einer Frequenz von 1 Hz mit Rechteckimpulsen stimuliert. Die Reizung betrug nicht mehr als 10% über dem Schwellenwert und wurde später auch sogar noch minimiert, um den Katecholaminspeicher nicht zu entleeren.

Nun wurde die Kontrolle durchgeführt, in der sich eine konstante Amplitudengröße einstellen musste, um die Testsubstanz prüfen zu können. Dazu wurde alle fünf Minuten die Amplitude mit dem Schreiber erfasst. Nachdem sich eine Konstante eingestellt hatte, wurde die Testsubstanz in die Papillarmuskelkammer hinzugefügt.

Man begann auch hier mit 1  $\mu\text{l}$  der Testsubstanz und steigerte die Konzentration bis auf 70  $\mu\text{l}$ .

Bis zur Einspritzung der nächsten Konzentration vergingen 45 Minuten, in denen man die Amplitudengröße alle 5 Minuten mit dem Schreiber aufzeichnete.

#### 3.6.4. Versuchsdurchführung an der Aorta

Die für den Versuch vorbereitete Aorta (Kapitel 3.2.5.) wurde in der Versuchsanordnung A (Kapitel 3.4.1.) eingespannt. Die Aorta wurde zwischen der Aufhängevorrichtung und einem gebogenem Silberdraht, der sich am Ende vom Organhalter befand, zügig angebracht. Die Organhalterung samt Aorta wurde in die, mit 37 Grad Celsius temperierte und mit Nährlösung und Gas versorgte, Organzelle befördert.

Amplifier und das Schreibgerät wurden eingeschaltet und der Stift des Schreibers auf der Nulllinie positioniert. Bei einer Stromstärke von 10 mV wurde mit dem Feintrieb auf 19,6 mN vorgespannt. Nachdem sich das Organ 20 Minuten lang in der Organzelle eingewöhnt hatte, wurde die Stromstärke auf 5 mV reduziert. Dadurch wurde der Schreiber von der Nullposition bewegt und musste wieder mit dem Feintrieb vom Amplifier zurückbewegt werden und mit den Tasten "Record on" und "Pen down" wurde der Schreiber für die Aufzeichnung bereit gestellt. Die Nährlösung wurde abgelassen und die schon vorbereitete 90 mmolare Kaliumchloridlösung (Kapitel 3.6.1.), die wesentlich für die maximale Kontraktion der Muskulatur war, wurden in die Organzelle gefüllt. Die Kontrollphase dauerte mindestens 45 Minuten, in der eine Messmarke von ca. 5 cm überschritten werden musste, bevor das Schreibgerät eine Kurve aufzeichnete. Die Testsubstanz wurde erst dann dazugegeben, wenn ein konstantes Plateau erreicht wurde. Auch hier wurde nach 45 Minuten die nächst höhere Konzentration der Testsubstanz dazugegeben. Anhand der Kurve konnte man schon visuell die eventuell vorhandene Dilatation der Aorta aufgrund der Testsubstanz ablesen.

### 3.6.5. Versuchsdurchführung an der Arteria pulmonalis

Der Versuch mit der Lungenarterie erfolgte wie bei der Hauptschlagader (Kapitel 3.6.4.).

Bei der Arteria pulmonalis erfolgte die Vorspannung allerdings gleich bei 5 mV auf 9,81 mN und die Stromstärke wurde während des Versuches nicht weiter geändert. Auch bei der Lungenarterie wurde eine 90 mmolare Kaliumchloridlösung dazugegeben (Kapitel 3.6.1.), um eine maximale Kontraktion zu erreichen. Ein gewisser Schwellenwert musste auch überschritten werden, bevor man mit der Einspritzung der Testsubstanz begann.

### 3.6.6. Versuchsdurchführung am Ileum terminale

Die Versuchsanordnung A (Kapitel 3.4.1.) war für den Versuch am isolierten und präparierten Darm (Kapitel 3.2.4.) geeignet. Das Anbringen des Darmstücks an der Apparatur erfolgte wie bei der Aorta (Kapitel 3.6.4.) und Arteria pulmonalis (Kapitel 3.6.5.).

Die Organhalterung wurde in die begaste Nährlösung eingetaucht.

Der Amplifier und das Schreibgerät wurden aktiviert. Es folgte die Vorspannung auf 4,9 mN bei einer Stromstärke von 5 mV. Der Schreiber wurde auf die Nullposition gestellt. Nun wartete man 20 Minuten, bis sich das Organ an das Milieu angepasst hatte. Danach wurde die Nährlösung mittels Öffnung der Quetschklemme am Schlauchsystem abgelassen und die 60 mmolare Kaliumchloridlösung (Kapitel 3.6.1.) zum Organpräparat hinzugefügt. Ab diesem Zeitpunkt begann die Aufzeichnung mit dem Schreiber. Ein gewisser Schwellenwert musste erreicht und konstant gehalten werden, was eine Schwierigkeit öfters darstellte, bis der Schreiber die Kurve am Millimeterpapier aufzeichnete. Es dauerte mindestens 45 Minuten, bis sich ein konstantes Plateau einstellte, das einen maximalen Kontraktionsschlag des Organs darstellte. Danach wurde mit der Einspritzung der Substanz nach dem Pipettierschema (Kapitel 3.5.1.) begonnen.

## **3.7. Analyse der Versuchsreihe**

### **3.7.1. Versuchsreihe am Atrium dextrum cordis**

Mit dem Versuch am rechten Vorhof wurde untersucht, ob die Testsubstanz einen positiv oder negativ chronotropen Effekt hatte. Wie bereits in Kapitel 3.6.2. erwähnt, wurden die Schläge 45 Minuten lang mit einer bestimmten Konzentration der Substanz alle 5 Minuten für 12 Sekunden an dem Millimeterpapier aufgezeichnet. Daraufhin wurden die Schläge gezählt und mit dem Faktor 5 multipliziert, da dies der Schlagfrequenz pro Minute entsprach.

Der letzte Messwert der Kontrollphase wurde als 100% genommen. Auf diesen Wert bezogen, konnte man daraus schließen, ob es sich um eine Chronotropieabnahme oder Chronotropiezunahme handelte.

### **3.7.2. Versuchsreihe am Musculus papillaris**

Die Versuchsreihe mit dem Papillarmuskel wurde durchgeführt, um einen positiven oder negativen Einfluss der Testsubstanz auf die Inotropie zu überprüfen.

Die aufgezeichneten 6 Amplituden wurden mit einem Lineal abgemessen und mit dem Faktor der Kalibration vom Kraftwandler multipliziert. Je nachdem, welche elektrische Spannung gewählt wurde, musste man mit dem entsprechenden Faktor multiplizieren. Bei 5 mV betrug der Kalibrationsfaktor 0,98 mN und bei 2 mV 4mN. Um eine Aussage über die Wirkung der Testsubstanz auf den Papillarmuskel machen zu können, wurde bei der Berechnung die Kontrollphase wieder als 100% angenommen.

### 3.7.3. Versuchsreihe an Aorta, Arteria pulmonalis und am terminalen Ileum

Die Aorta und Arteria pulmonalis wurden bei den Versuchen herangezogen, um die Testsubstanz auf ihre vasodilatatorische Wirkung zu prüfen.

Beim terminalen Ileum wurde die Substanz auf eine spasmolytische Wirkung untersucht.

Nach der Kontrollphase, die eine Zugabe der Kaliumchloridlösung beinhaltete, wurde der Abstand der Kurve mit einem Lineal bis zur Nullposition gemessen. Dieser Wert stellte die 100% der Kontraktion dar. Bei jeder Einspritzung der Testsubstanz wurde der Abstand gemessen. Nachdem der Versuch beendet war, mussten die Werte in mN umgewandelt werden. Es wurde bei 5 mV mit 0,98 mN und bei 10 mV mit 2 x 0,98 mN multipliziert.

Nun erhielt man die Ergebnisse in Bezug auf den Kontrollwert.

### 3.8. Statistik

Nach Erhaltung der Ergebnisse (Kapitel 3.7.), erfolgte die statistische Auswertung. Das dafür verwendete Programm war Sigma Plot 9.0, mit dem man den arithmetischen Mittelwert ( $\bar{f}_c$ ) aus der Anzahl der durchgeführten Versuche ermittelte. Es erfolgte die Berechnung des Standardfehlers des Mittelwerts (SEM) in %. Das Programm lieferte eine grafische Darstellung der Konzentrations-Wirkungskurve. In der Abszisse wurde die eingespritzte Testsubstanz-Konzentration in  $\mu\text{mol/l}$  aufgetragen und die Ordinate stellte die Kontraktionskraft bzw. die Schlagfrequenz in % dar.

Aus dieser Konzentrations-Wirkungskurve konnte eine mögliche effiziente Konzentration, bei der eine halbmaximale Wirkung eintrat, ermittelt werden. Dies war nur der Fall, wenn die Kontraktionskraft bzw. Schlagfrequenz um 50% abnahm.

Die statistische Signifikanz von den erhaltenen Messergebnissen wurde mit dem gepaarten "Student-t-Test" errechnet. Es wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit aufgestellt, die eine wissenschaftliche Beurteilung der Messergebnisse liefern konnte. Die Messwerte, die eine Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 5% (P 0,05) hatten, wurden als signifikant bezeichnet. Die Werte, die eine Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 1 % (P 0,001) hatten, wurden als hochsignifikant dargestellt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Ergebnisse der Testsubstanz SWS85HCl

#### 4.1.1. Wirkung von SWS85HCl auf das Atrium cordis dextrum

Die Versuche wurden genau nach Kapitel 3.6.2. durchgeführt. Für die Aussagekraft der Wirkungsergebnisse wurden 4 Versuche an 4 unterschiedlichen Vorhöfen durchgeführt. Anschließend wurden der arithmetische Mittelwert, der Standardfehler und die Irrtumswahrscheinlichkeit berechnet.

Aus der Tabelle 5 kann man die Beeinflussung der Substanz auf die Chronotropie ablesen. Erst bei der Konzentration von 100 µmol/l kann man eine Veränderung sehen.

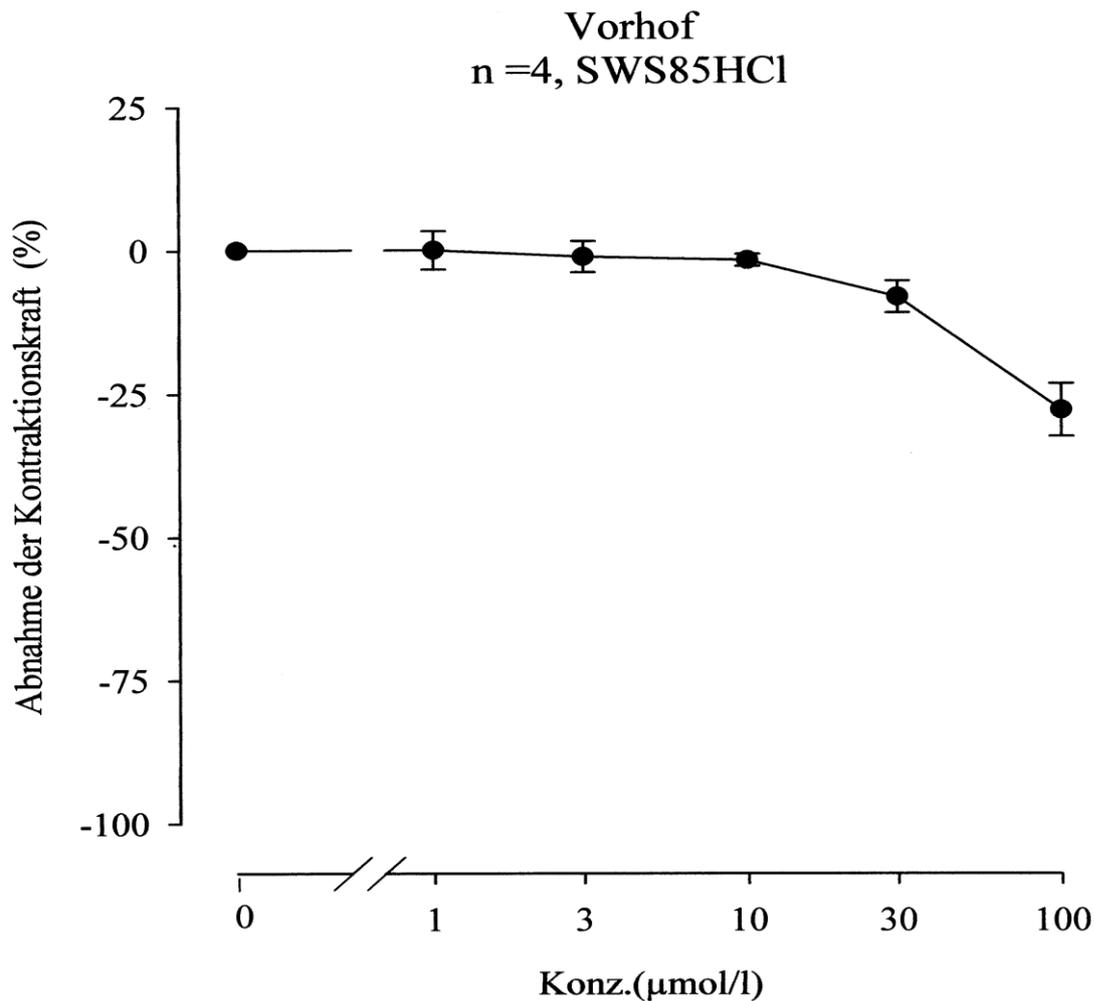
**Tabelle 5** : SWS85HCl-Messergebnisse am rechten Vorhof

<b>SWS85 (µmol/l)</b>	<b>fc ±SEM (mN)</b>	<b>fc ±SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	215±5,40	0±0	4	-
<b>1</b>	215±7,36	0,09±3,35	4	n.s.
<b>3</b>	212,5±6,29	-1,09±2,72	4	n.s.
<b>10</b>	211,25±3,75	-1,69±1,05	4	n.s.
<b>30</b>	197,5±5,95	-8,08±2,79	4	n.s.
<b>100</b>	155±8,9	-27,49±4,61	4	0,05

#### **Legende zu Tabelle 5:**

Die Tabelle gibt Auskunft über den arithmetischen Mittelwert (fc) der Schlagfrequenz, umgerechnet pro Minute (mN) unter Berücksichtigung des Standardfehlers (SEM). Sie zeigt auch den Mittelwert mit dem Standardfehler in %, bezogen auf den Kontrollwert. Weiters kann man die Anzahl der Versuche (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) aus der Tabelle ablesen.

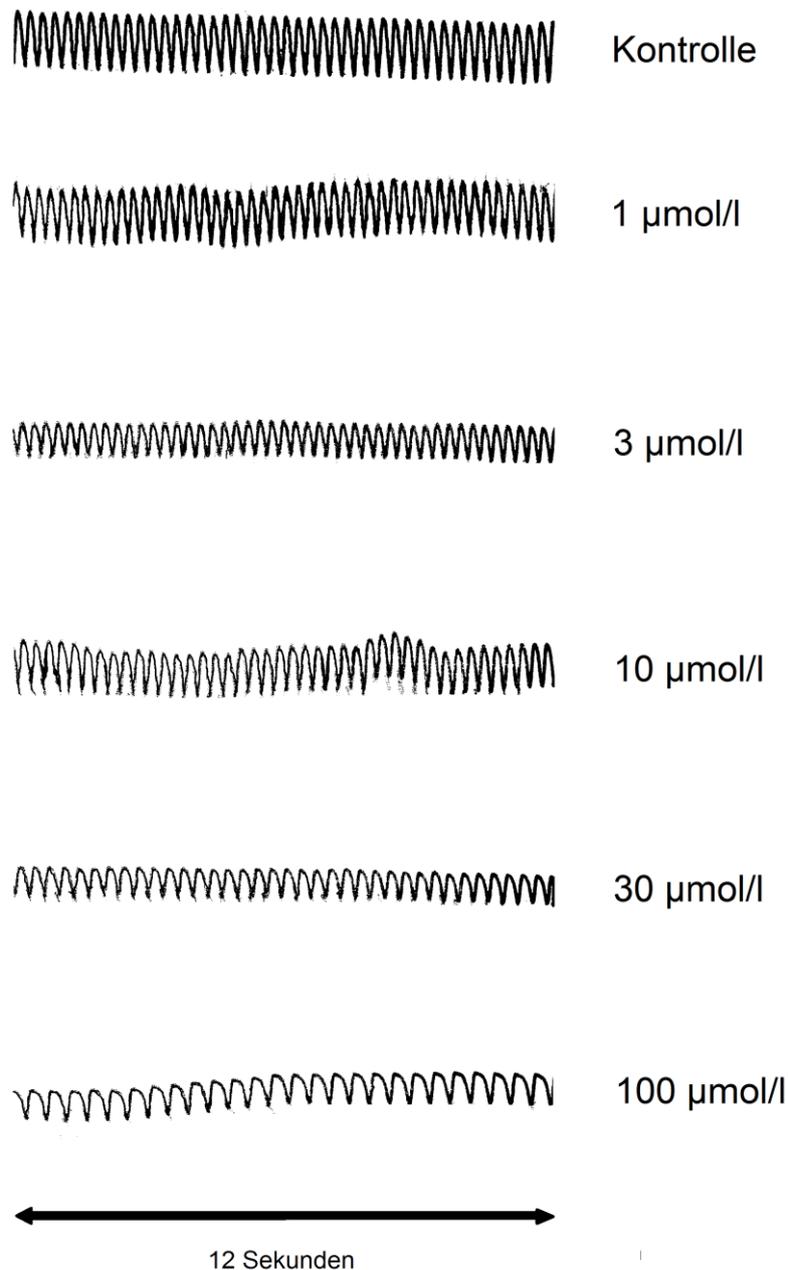
**Abbildung 11:** SWS85HCl-Konzentrations-Wirkungskurve am rechten Vorhof



**Legende zu Abbildung 11:**

Die Kurve veranschaulicht den Einfluss der Substanz auf die Schlagfrequenz. Auf der Abszisse sind die jeweiligen Konzentrationen in µmol/l angegeben und auf der Ordinate ist die Abnahme der Kontraktionskraft in % dargestellt. Die Punkte in der Grafik repräsentierten die Mittelwerte der Ergebnisse und die Balken stehen für den jeweiligen Standardfehler. Die Konzentrationen 1 µmol/l, 2 µmol/l, 3 µmol/l und 10 µmol/l zeigen kaum Einfluss auf die Schlagfrequenz. Die Konzentration 30 µmol/l zeigt einen minimalen Einfluss. Bei 100 µmol/l kann man im Unterschied zu anderen Konzentrationen eine Abnahme der Kontraktionskraft sehen, aber der EC<sub>50</sub>-Wert wird weder erreicht, noch überschritten.

**Abbildung 12:** SWS85HCl-Originalaufzeichnung am rechten Vorhof



**Legende zu Abbildung 12:**

Die Abbildung 12 zeigt die Originalaufzeichnung, die mit dem Schreiber 12 Sekunden lang mit den bestimmten Konzentrationen (1 µmol/l, 3 µmol/l, 10 µmol/l, 30 µmol/l und 100 µmol/l) in Abstand von 45 Minuten aufgezeichnet wurden. Auch hier, wie in der Abbildung 11, kann man erkennen, dass eine geringe Kontraktionskraftreduktion schon bei der Konzentration 30 µmol/l stattfindet und bei 100 µmol/l ist eine deutlichere Abnahme der Schlagfrequenz zu sehen.

#### 4.1.2. Wirkung von SWS85HCl auf den Musculus papillaris

Die Überprüfung der Wirkung auf den Papillarmuskel erfolgte anhand von 5 Versuchen. Die Versuche wurden so durchgeführt, wie es in Kapitel 3.6.3. beschrieben wird. Es wurde untersucht, ob die Substanz entsprechende Wirkung auf die Kontraktionskraft hatte, das heißt, ob sie einen positiven oder negativen inotropen Effekt vorweisen konnte. Es wurden der arithmetische Mittelwert, der Standardfehler und die Irrtumswahrscheinlichkeit berechnet.

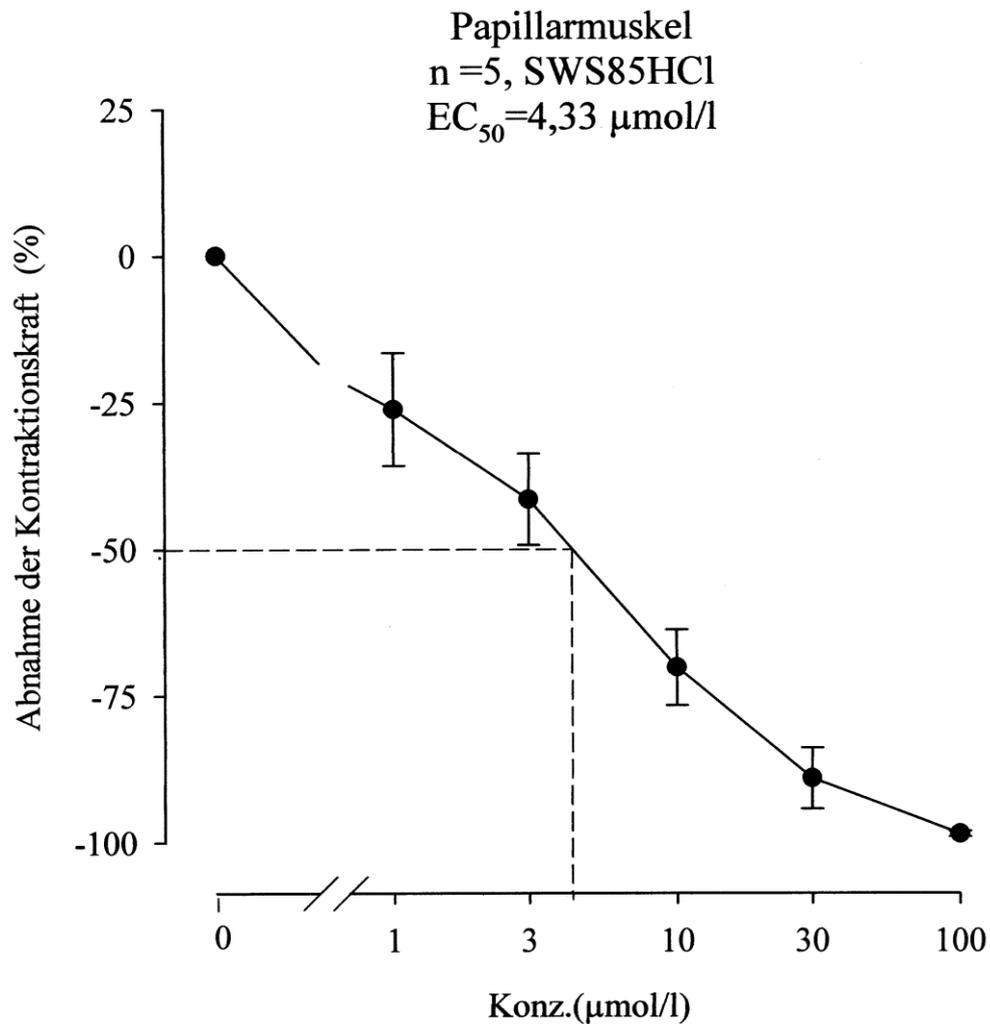
**Tabelle 6:** SWS85HCl-Messergebnisse am Papillarmuskel

<b>SWS85 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	1,9 $\pm$ 0,77	0 $\pm$ 0	5	-
<b>1</b>	1,17 $\pm$ 0,26	-26,19 $\pm$ 9,63	5	0,05
<b>3</b>	0,95 $\pm$ 0,24	-41,56 $\pm$ 7,75	5	0,01
<b>10</b>	0,62 $\pm$ 0,18	-70,22 $\pm$ 6,46	5	0,01
<b>30</b>	0,21 $\pm$ 0,08	-89,13 $\pm$ 5,21	5	0,001
<b>100</b>	0,04 $\pm$ 0,03	-98,51 $\pm$ 0,5	5	0,001

**Legende zu Tabelle 6:**

Die Tabelle gibt Informationen über den arithmetischen Mittelwert (fc) der Kontraktionskraft in mN unter Berücksichtigung des Standardfehlers (SEM). Es zeigt auch den Mittelwert mit dem Standardfehler in %, bezogen auf den Kontrollwert. Weiters gibt die Tabelle Auskunft über die Anzahl der Versuche (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P). Aus der Tabelle kann abgelesen werden, dass die Kontraktionskraft sehr stark abnimmt.

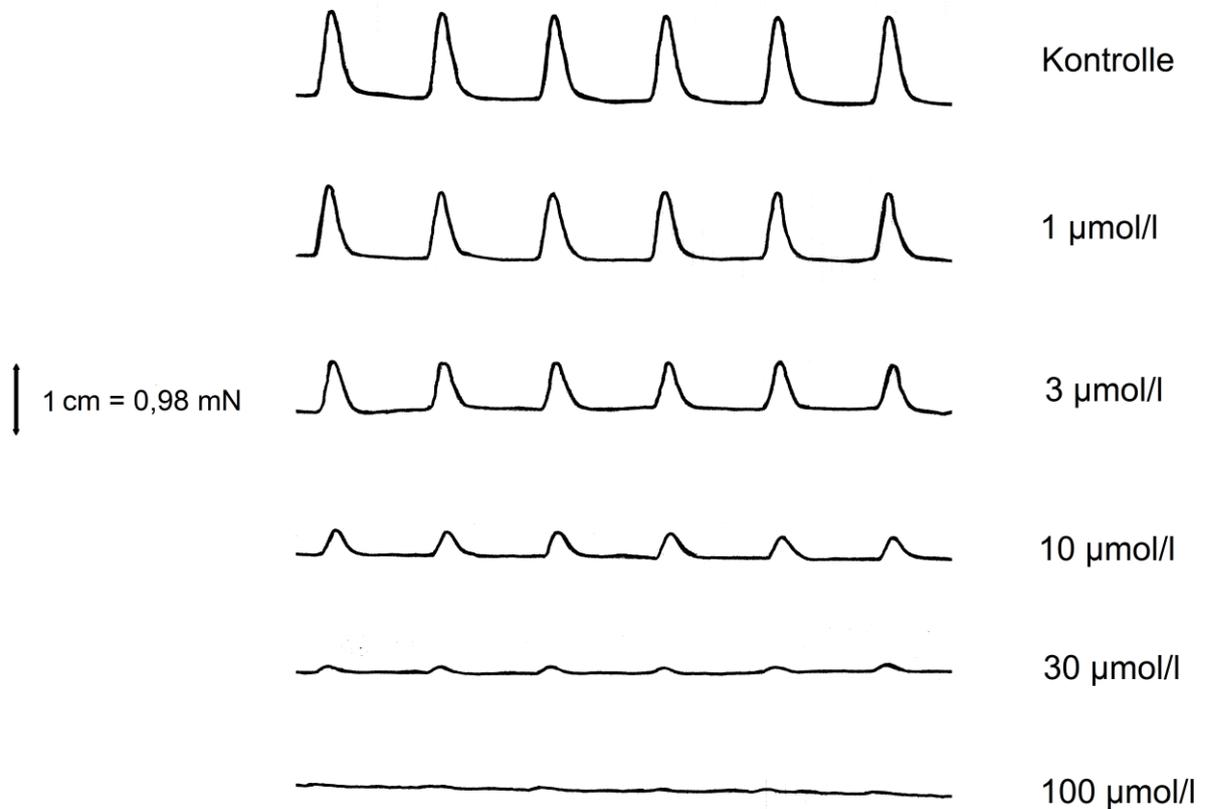
**Abbildung 13:** SWS85HCl-Konzentrations-Wirkungskurve am Papillarmuskel



**Legende zu Abbildung 13:**

Die Konzentrations-Wirkungskurve beschreibt auf der x-Achse die jeweiligen Substanzkonzentrationen, mit der kleinsten Konzentration beginnend. Die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft. Die schwarzen Punkte stellen den Mittelwert der Ergebnisse dar und deren dazu gehörige Balken stehen für den Standardfehler. Es ist deutlich zu erkennen, dass bei jeder injizierten Konzentration eine Abnahme der Kontraktionskraft erfolgt. Schon nach der Einspritzung von 3 µmol/l wurde der EC<sub>50</sub>-Wert erreicht und überschritten. Der EC<sub>50</sub>-Wert beträgt 4,33 µmol/l.

**Abbildung 14:** SWS85HCl-Originalaufzeichnung am Papillarmuskel



**Legende zu Abbildung 14:**

Die Abbildung zeigt den Versuchsverlauf beginnend mit der Kontrollphase. Die Abbildung stellt die Auswirkungen der Testsubstanz auf die Kontraktionskraft dar. Nach 45 Minuten erfolgte die Einspritzung der nächst höheren Konzentration. Aus der Abbildung kann man herauslesen, dass bei jeder zugeführten Konzentration eine Reduktion der Kontraktilität erfolgt. Eine besonders starke Abnahme ist bei einer Konzentration von 100  $\mu\text{mol/l}$  zu sehen.

### 4.1.3. Wirkung von SWS85HCl auf die Aorta

Die Durchführung der Versuche erfolgte wie in Kapitel 3.6.4. beschrieben. Das Ziel der Versuche war zu erkunden, ob die Testsubstanz SWS85HCl die Kontraktion der Aorta in irgendeiner Weise beeinflusste. Es wurden dabei 4 Versuche analysiert, aus denen der arithmetische Mittelwert und deren Standardfehler ermittelt wurden.

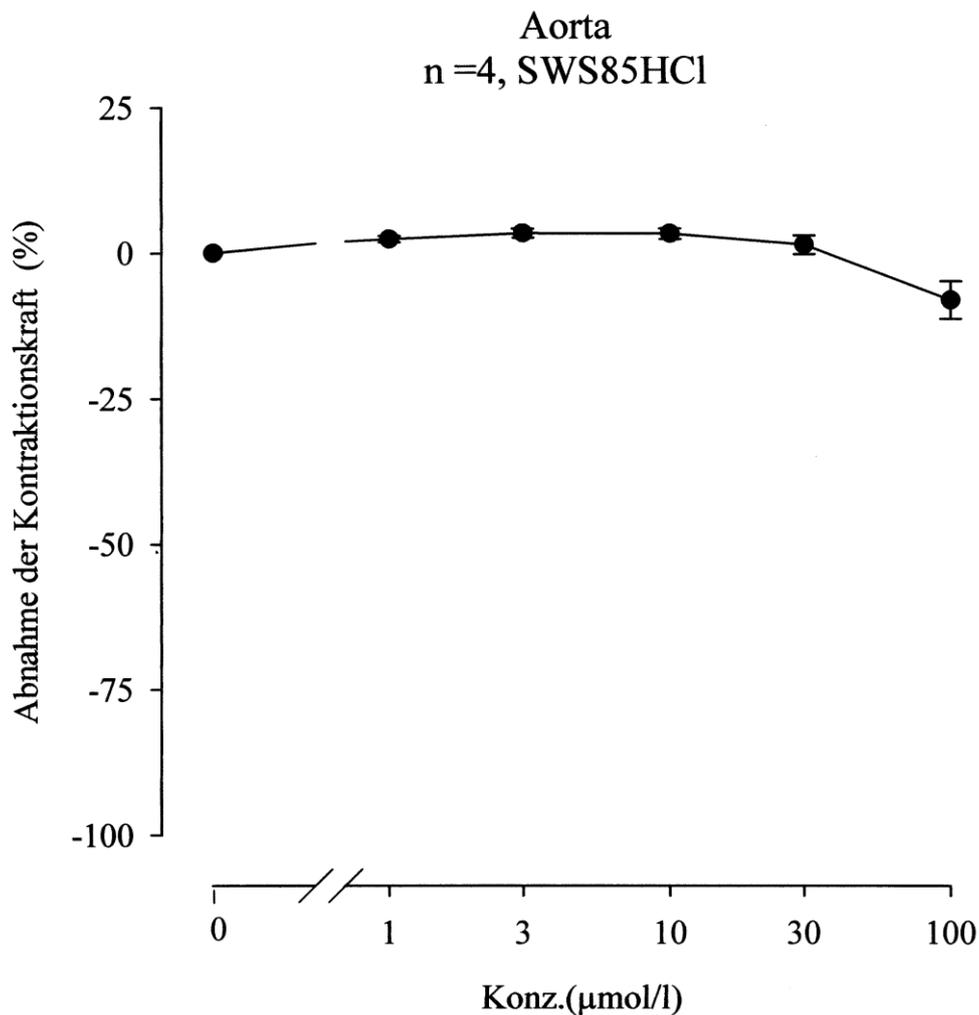
**Tabelle 7:** SWS85HCl-Messergebnisse an der Hauptschlagader

<b>SWS85 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	7,08 $\pm$ 0,46	0 $\pm$ 0	4	-
<b>1</b>	7,25 $\pm$ 0,49	2,33 $\pm$ 0,56	4	n.s.
<b>3</b>	7,33 $\pm$ 0,49	3,43 $\pm$ 0,8	4	n.s.
<b>10</b>	7,37 $\pm$ 0,52	3,34 $\pm$ 0,94	4	n.s.
<b>30</b>	7,25 $\pm$ 0,58	1,44 $\pm$ 1,61	4	n.s.
<b>100</b>	6,59 $\pm$ 0,64	-8,03 $\pm$ 3,23	4	n.s.

**Legende zu Tabelle 7:**

Aus der Tabelle kann man den arithmetischen Mittelwert (fc) der durchgeführten Versuche und deren Standardfehler, der sowohl in mN als auch in % angegeben ist, ablesen. Weiters ist in der Tabelle die Anzahl der Versuche (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) angegeben.

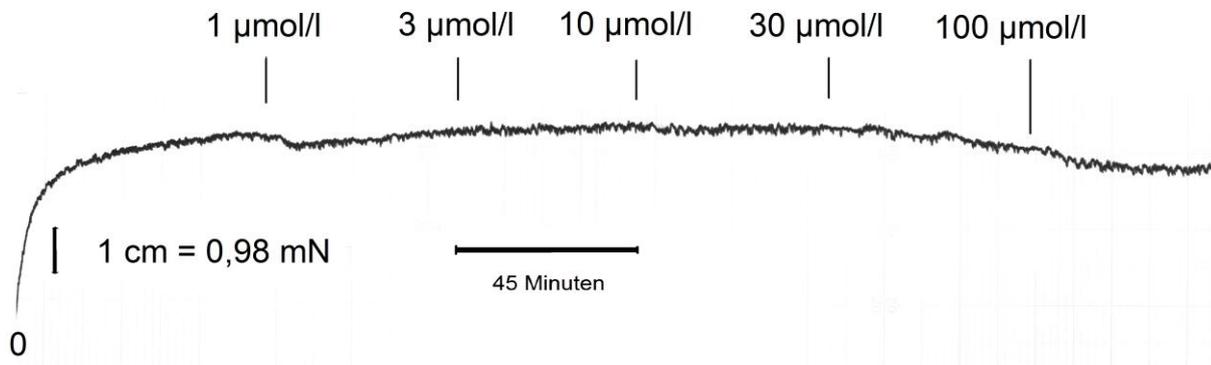
**Abbildung 15:** SWS85HCl-Konzentrations-Wirkungskurve an der Hauptschlagader



**Legende zu Abbildung 15:**

Die Konzentrations-Wirkungskurve enthält auf der x-Achse die Konzentrationen: 1 µmol/l, 3 µmol/l, 10 µmol/l, 30 µmol/l und 100 µmol/l und auf der y-Achse ist die Abnahme der Kontraktionskraft in % angegeben. Die Mittelwerte sind als Punkte aufgetragen und von ihnen ausgehende Balken stellen den Standardfehler da. Die Kurve zeigt bis zur 30 µmol/l Konzentration einen eher flachen Verlauf. Erst ab der 30 µmol/l Konzentration der Testsubstanz zeigt sich eine Abnahme der Kontraktionskraft, die aber den EC<sub>50</sub>-Wert nicht erreicht.

**Abbildung 16:** SWS85HCl-Originalaufzeichnungen der Hauptschlagader



**Legende zu Abbildung 16:**

Hier kann man die vom Schreiber erfasste Originalaufzeichnung betrachten. Die jeweiligen Konzentrationen wurden in Abständen von 45 Minuten zugegeben, nachdem die Kontrollphase beendet war. Sowohl auf der Konzentrations-Wirkungskurve, als auch auf der Originalregistrierung kann man erkennen, dass erst ab der 30 µmol/l Konzentration eine sehr geringe Abnahme der Kontraktion an der Hauptschlagader erfolgt.

#### 4.1.4. Wirkung von SWS85HCl auf die Arteria pulmonalis

Die Versuche erfolgten, wie in Kapitel 3.6.5. beschrieben so, dass eine Vorkontraktion mit einer Kaliumchloridlösung erfolgte und dadurch eine Kontrollphase durchgeführt wurde. Danach erfolgte alle 45 Minuten die Einspritzung der unterschiedlichen Testsubstanzkonzentrationen. Dabei wurde getestet, ob die Testsubstanz eine gefäßdilatierende Wirkung hatte. Um ein reproduzierbares Resultat liefern zu können, wurden 5 Versuche durchgeführt. Von diesen 5 Versuchen wurden der arithmetische Mittelwert und der Standardfehler berechnet.

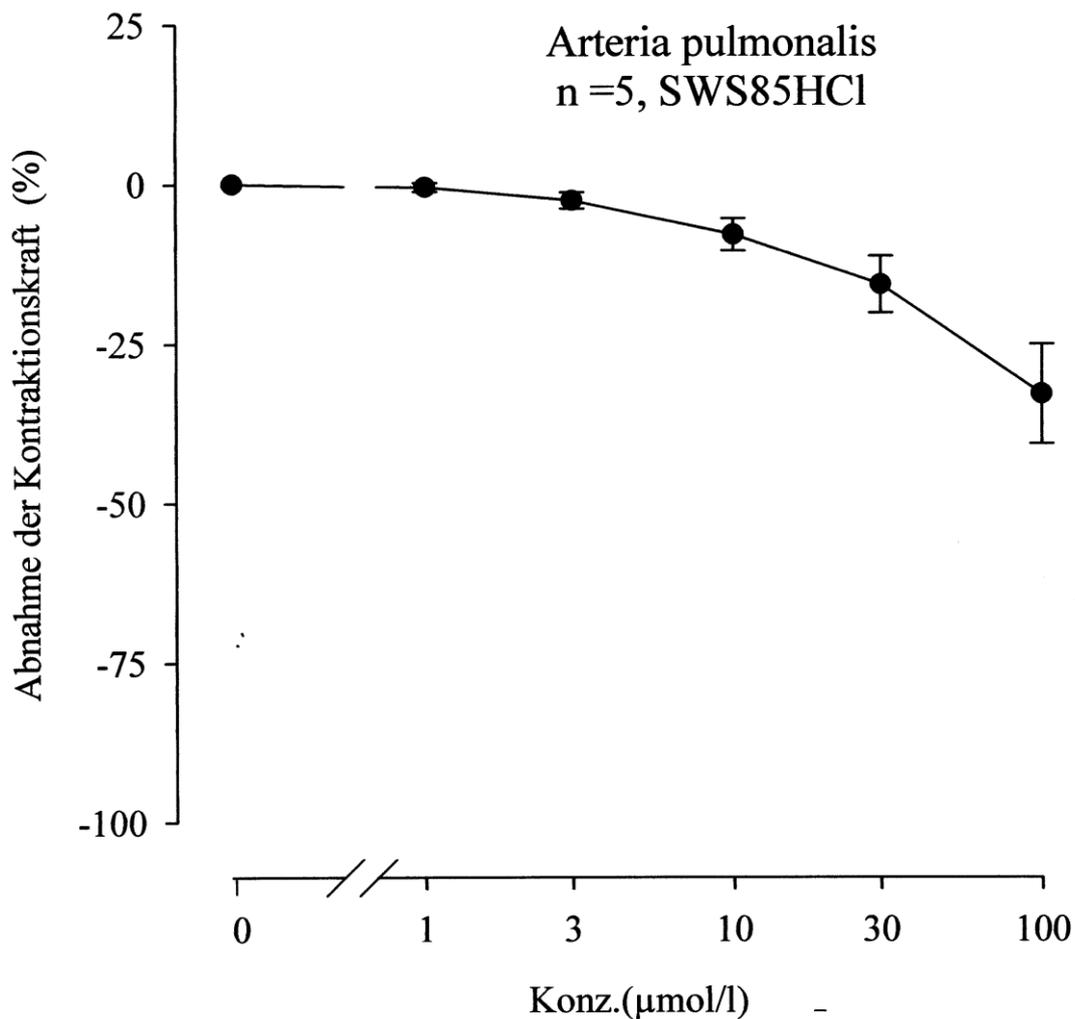
**Tabelle 8:** SWS85HCl- Messergebnisse an der Lungenarterie

<b>SWS85 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	10,76 $\pm$ 1,81	0 $\pm$ 0	5	-
<b>1</b>	10,66 $\pm$ 1,72	-0,49 $\pm$ 0,72	5	n.s.
<b>3</b>	10,43 $\pm$ 1,67	-2,59 $\pm$ 1,30	5	n.s.
<b>10</b>	9,91 $\pm$ 1,65	-7,95 $\pm$ 2,54	5	n.s.
<b>30</b>	9,12 $\pm$ 1,62	-15,76 $\pm$ 4,45	5	n.s.
<b>100</b>	7,31 $\pm$ 1,55	-32,90 $\pm$ 7,78	5	0,05

**Legende zu Tabelle 8:**

Aus der Tabelle kann man den arithmetischen Mittelwert (fc) unter Berücksichtigung des Standardfehlers in mN und % ablesen. Die Tabelle zeigt auch die Anzahl (n) der durchgeführten Versuche und es ist weiters die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) angegeben.

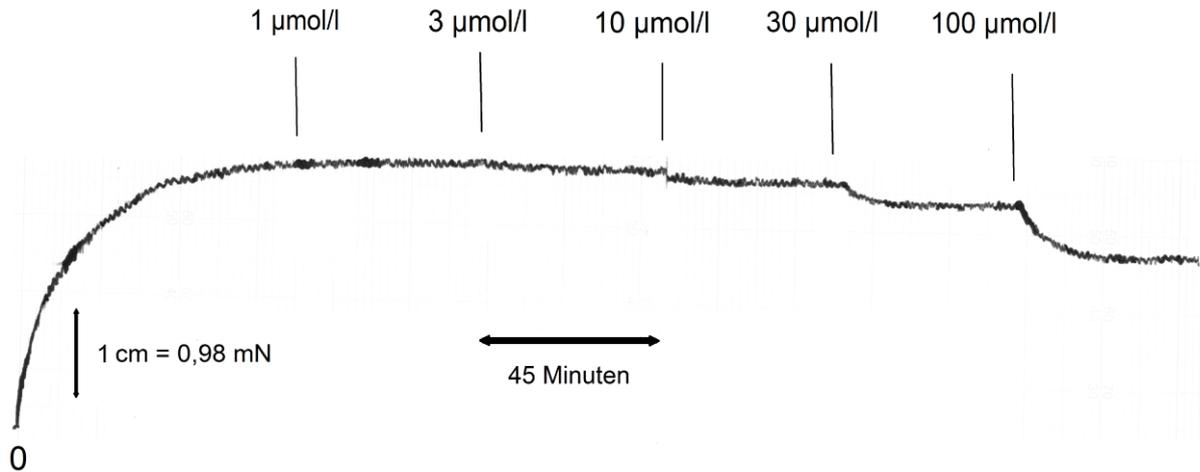
**Abbildung 17:** SWS85HCl-Konzentrations-Wirkungskurve an der Lungenarterie



**Legende zu Abbildung 17:**

Die Konzentrations-Wirkungskurve der Lungenarterie zeigt auf der Abszisse die jeweiligen injizierten Konzentrationen in µmol/l und auf der Ordinate ist die Abnahme der Kontraktionskraft in % angegeben. Der Mittelwert ist in Form von Punkten dargestellt und der entsprechende Standardfehler ist in Form von Balken sichtbar. Eine deutliche Relaxation ist ab der 10 µmol/l Konzentration zu sehen. Doch weder die 10 µmol/l noch die 100 µmol/l Konzentration erreichen den EC<sub>50</sub>-Wert.

**Abbildung 18:** SWS85HCl-Originalaufzeichnung an der Lungenarterie



**Legende zu Abbildung 18:**

Die Abbildung zeigt die vom Schreiber grafisch dargestellte Originalaufzeichnung. Es ist sichtbar, wie die Kontrollphase verlaufen ist und wie sich die Kurve bei entsprechenden Konzentrationen ändert. Der zeitliche Abstand bis die nächste Konzentration eingespritzt wurde, dauerte 45 Minuten. Aus dem Grafen geht hervor, dass die Kontraktion minimal bis zu 100 μmol/l abnimmt, ab diesem Wert kann man eine Reduktion der Kontraktilität deutlicher sehen.

#### 4.1.5. Wirkung von SWS85HCl auf das Ileum terminalis

Hier wurde die mögliche spasmolytische Wirkung der Testsubstanz überprüft. Dabei wurden insgesamt 4 Versuche durchgeführt, wobei man sich an den Versuchsablauf, der in Kapitel 3.6.6. ausführlich beschrieben wurde, gehalten hatte. Schließlich wurden der Mittelwert und der Standardfehler der Versuche bestimmt.

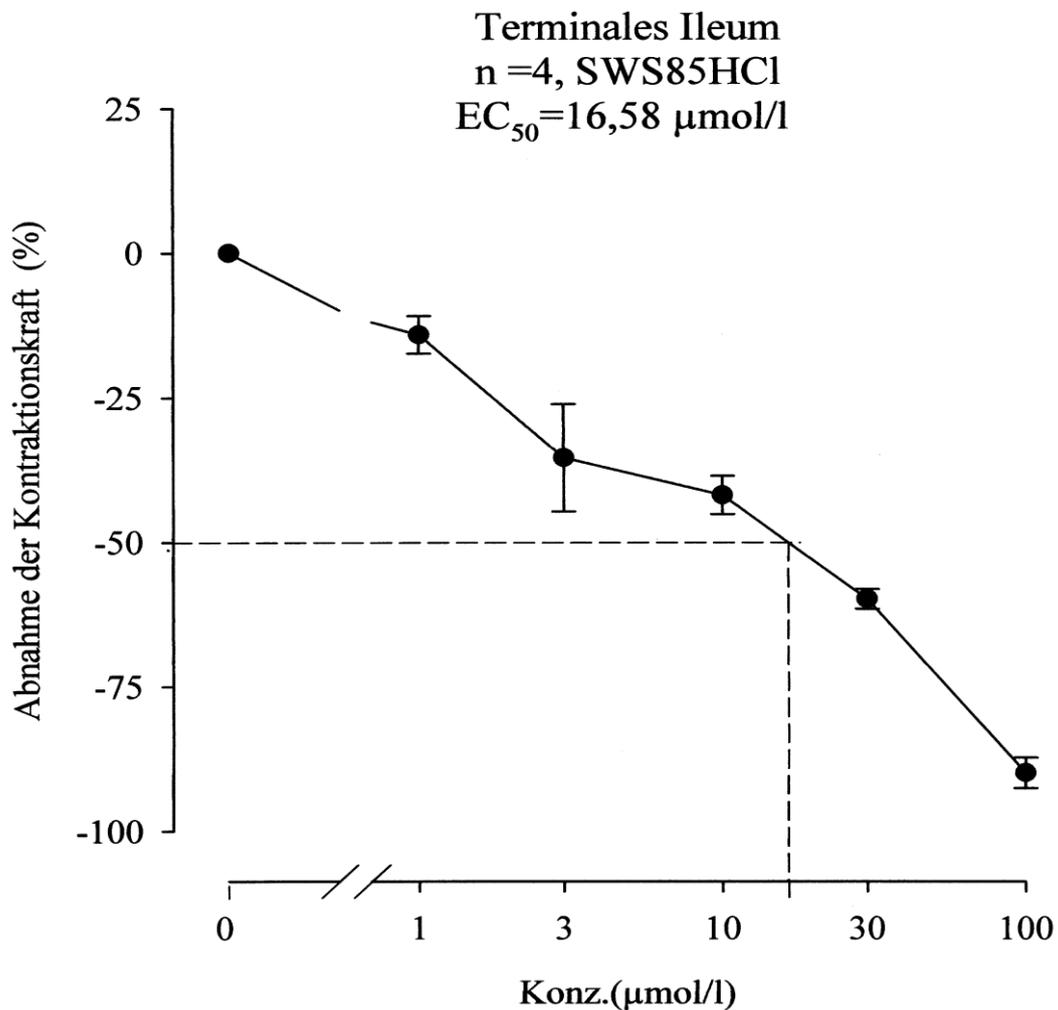
**Tabelle 9:** SWS85HCl- Messergebnisse an dem Dünndarm

<b>SWS85 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	6,00 $\pm$ 0,43	0 $\pm$ 0	4	-
<b>1</b>	5,19 $\pm$ 0,56	-14,11 $\pm$ 3,29	4	n.s.
<b>3</b>	3,96 $\pm$ 0,75	-35,41 $\pm$ 9,27	4	0,05
<b>10</b>	3,53 $\pm$ 0,44	-41,87 $\pm$ 3,30	4	0,01
<b>30</b>	2,43 $\pm$ 0,26	-59,85 $\pm$ 1,72	4	0,01
<b>100</b>	0,64 $\pm$ 0,21	-89,9 $\pm$ 2,67	4	0,001

**Legende zu Tabelle 9:**

Die Tabelle zeigt den arithmetischen Mittelwert (fc) und den Standardfehler (SEM) der Versuche in mN und in Prozent unter Berücksichtigung der Kontrollwerte. Sowohl die Anzahl (n) der Testversuche als auch die Irrtumswahrscheinlichkeit P sind angeben.

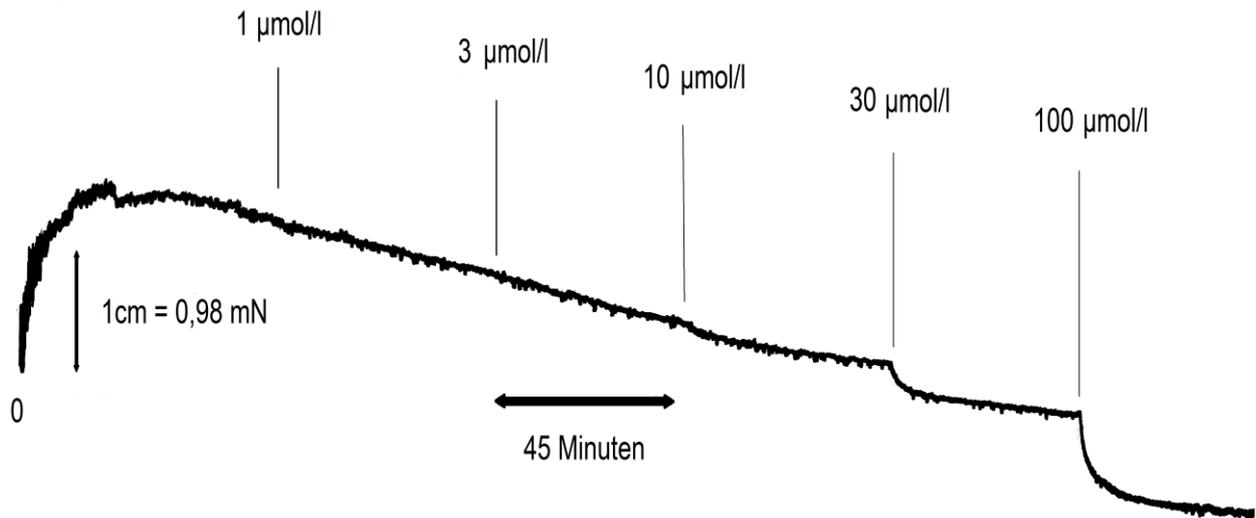
**Abbildung 19:** SWS85HCl-Originalaufzeichnung an dem Dünndarm



**Legende zu Abbildung 19:**

Die Abbildung zeigt den Verlauf der Versuchsreihen grafisch. Auf der Abszisse findet man die Konzentrationen (1 µmol/l, 3 µmol/l, 10 µmol/l, 30 µmol/l und 100 µmol/l), die während eines Versuchs eingespritzt wurden. Die Punkte stellen den Mittelwert der Versuchsreihe dar und die Balken geben den Standardfehler wieder. Die Abnahme der Kontraktionskraft in % ist auf der Ordinate dargestellt. Aus der Grafik ist deutlich zu erkennen, dass mit jeder zugeführten Konzentration eine Abnahme der Kontraktionskraft entsteht. Der EC<sub>50</sub>-Wert ist mit 16,58 µmol/l Substanzkonzentration erreicht.

**Abbildung 20:** SWS85HCl-Originalaufzeichnung an dem Dünndarm



**Legende zu Abbildung 20:**

Die Abbildung zeigt die Originalaufzeichnung, die vom Schreiber registriert wurde. Darauf sind die injizierten Konzentrationen abgebildet, die in zeitlichen Abständen von 45 Minuten dazugegeben wurden. Es geht deutlich hervor, dass die spasmolytische Wirkung mit der Zunahme der Konzentration ansteigt.

## 4.2. Ergebnisse der Testsubstanz PGU187HCl

### 4.2.1. Wirkung von PGU187HCl auf das Atrium cordis dextrum

Die Wirkung der Testsubstanz wurde auf dem rechten Vorhof untersucht, um festzustellen, ob die Substanz die Schlagfrequenz des Sinusknotens beeinflusst. Wie der Ablauf der Versuchserie erfolgte, wurde in Kapitel 3.6.2. beschrieben. Nachdem die 3 Versuche abgeschlossen wurden, berechnete man den Mittelwert und den Standardfehler.

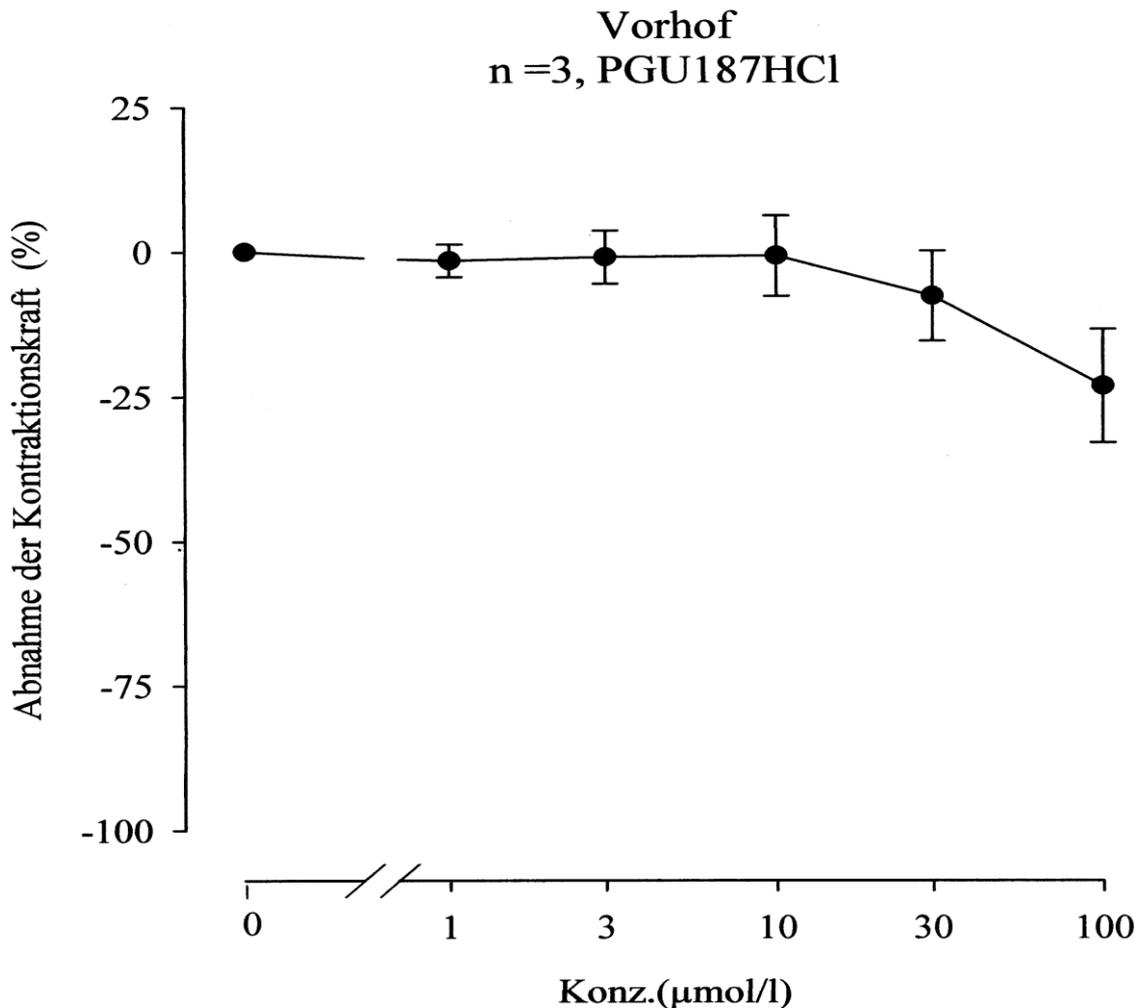
**Tabelle 10:** PGU187HCl-Messergebnisse am Vorhof

<b>PGU187 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	213,33 $\pm$ 3,3	0 $\pm$ 0	3	-
<b>1</b>	210 $\pm$ 2,89	-1,54 $\pm$ 2,82	3	n.s.
<b>3</b>	211,67 $\pm$ 6,01	-0,95 $\pm$ 4,58	3	n.s.
<b>10</b>	211,67 $\pm$ 11,67	-0,7 $\pm$ 6,96	3	n.s.
<b>30</b>	196,67 $\pm$ 13,64	-7,67 $\pm$ 7,79	3	n.s.
<b>100</b>	163,33 $\pm$ 18,78	-23,19 $\pm$ 9,81	3	n.s.

#### **Legende zu Tabelle 10:**

Die Tabelle gibt Auskunft über den arithmetischen Mittelwert (fc) der Schlagfrequenz umgerechnet pro Minute (mN) unter Beeinflussung des Standardfehlers (SEM). Sie veranschaulicht auch den Mittelwert mit dem Standardfehler in %. Weiters ist die Anzahl der Versuche (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) in der Tabelle angegeben.

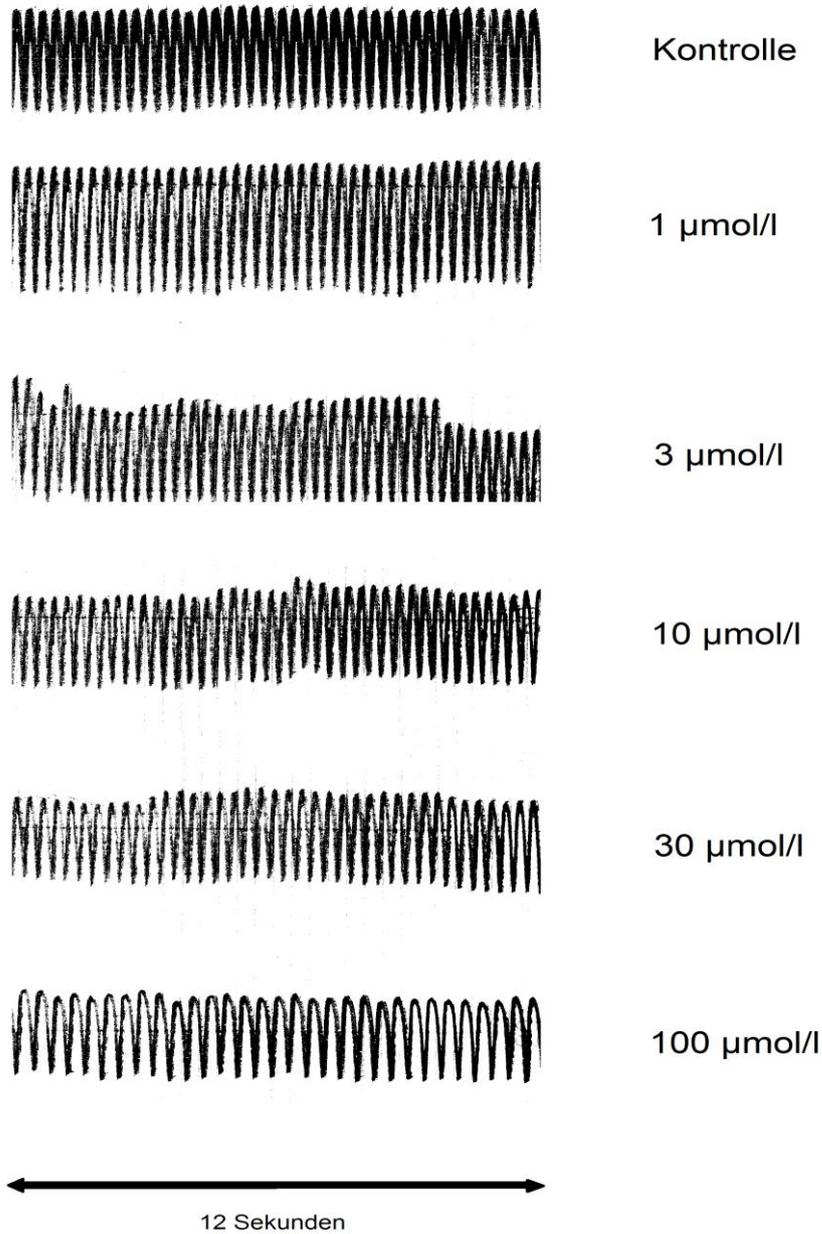
**Abbildung 21:** PGU187HCl-Konzentrations-Wirkungskurve am rechten Vorhof



**Legende zu Abbildung 21:**

Die Wirkungs-Konzentrationskurve stellt auf der x-Achse die injizierten Konzentrationen von der kleinsten beginnend dar. Auf der y-Achse ist die prozentuelle Abnahme der Schlagfrequenz angegeben. Der Mittelwert ist durch schwarze Kügelchen gekennzeichnet und der Standardfehler ist mit den Balken gleichzusetzen. Aus der Grafik geht hervor, dass die Konzentrationen von 1  $\mu\text{mol/l}$  bis 10  $\mu\text{mol/l}$  eine eher flache "Gerade" ergeben. Ab 10  $\mu\text{mol/l}$  ist eine Reduktion der Schlagfrequenz zu beobachten, die aber den  $\text{EC}_{50}$ -Schwellenwert nicht erreicht.

**Abbildung 22:** PGU187HCl-Originalaufzeichnung am rechten Vorhof



**Legende zu Abbildung 22:**

Die Abbildung zeigt die Originalregistrierung, die vom Schreiber aufgezeichnet wurde. In der Abbildung wird die Kontrolle gezeigt und die Substanzkonzentrationen, die jeweils nach 45 Minuten zugegeben wurden. Die Grafik zeigt keine signifikante Reduktion der Schlagfrequenz vom Sinusknoten.

#### 4.2.2. Wirkung von PGU187HCl auf dem Musculus papillaris

Wie im Kapitel 3.6.3. beschrieben, liefen die Versuche ab. Aus den 5 durchgeführten Versuchen ermittelte man den Mittelwert und die Standardabweichung. Aufgrund dessen wurde ausgesagt, ob die Substanz einen inotropen Effekt auf den isolierten Papillarmuskel hatte.

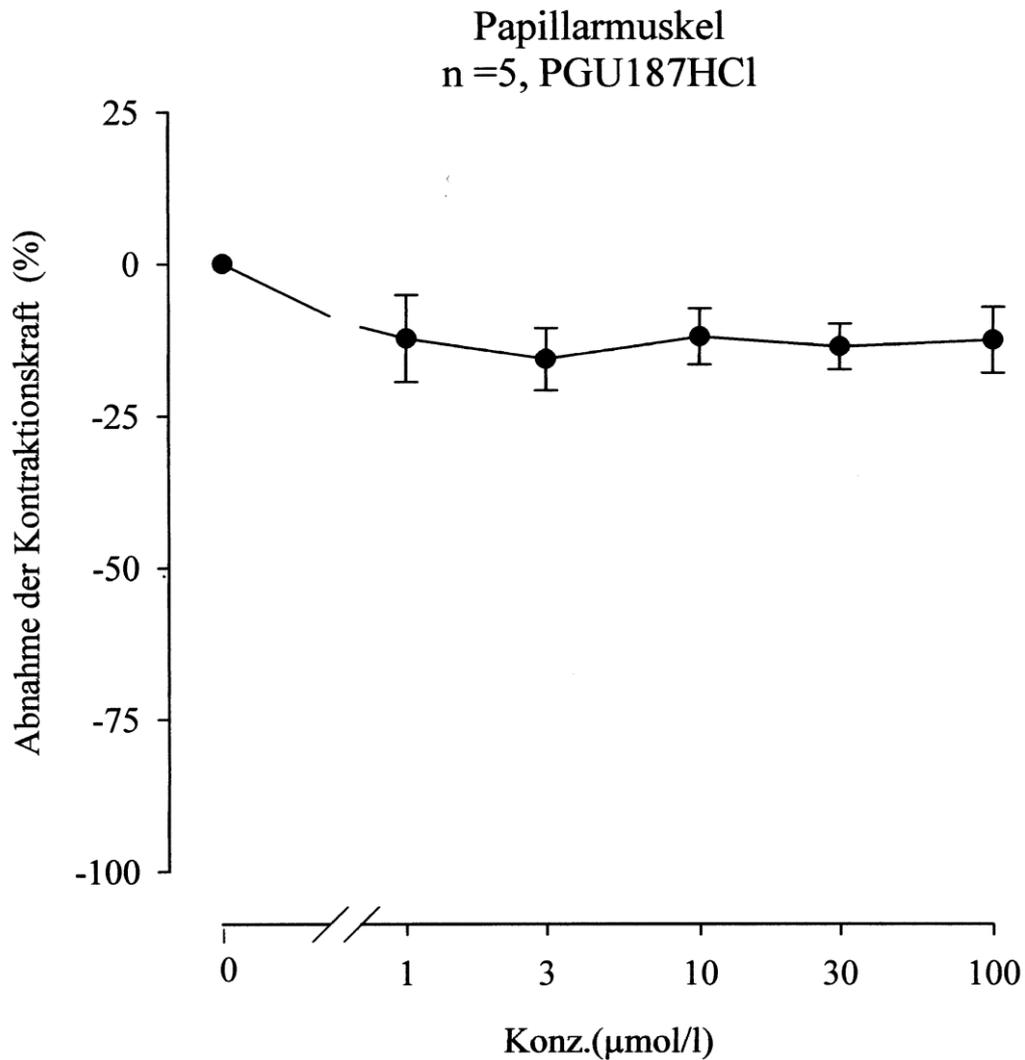
**Tabelle 11:** PGU187HCl-Messergebnisse am Papillarmuskel

<b>PGU187 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	1,46 $\pm$ 0,52	0 $\pm$ 0	5	-
<b>1</b>	1,36 $\pm$ 0,56	-12,26 $\pm$ 7,16	5	n.s.
<b>3</b>	1,32 $\pm$ 0,56	-15,71 $\pm$ 5,13	5	n.s.
<b>10</b>	1,38 $\pm$ 0,58	-12,00 $\pm$ 4,62	5	n.s.
<b>30</b>	1,33 $\pm$ 0,54	-13,66 $\pm$ 3,75	5	n.s.
<b>100</b>	1,31 $\pm$ 0,50	-12,57 $\pm$ 5,41	5	n.s.

**Legende zu Tabelle 11:**

Die Tabelle informiert über den arithmetischen Mittelwert (fc) der Kontraktionskraft in mN unter Berücksichtigung des Standardfehlers (SEM). Sie gibt Auskunft über den Mittelwert mit dem Standardfehler in % bezogen auf den Kontrollwert. Weiters ist die Anzahl der Versuche (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) angegeben.

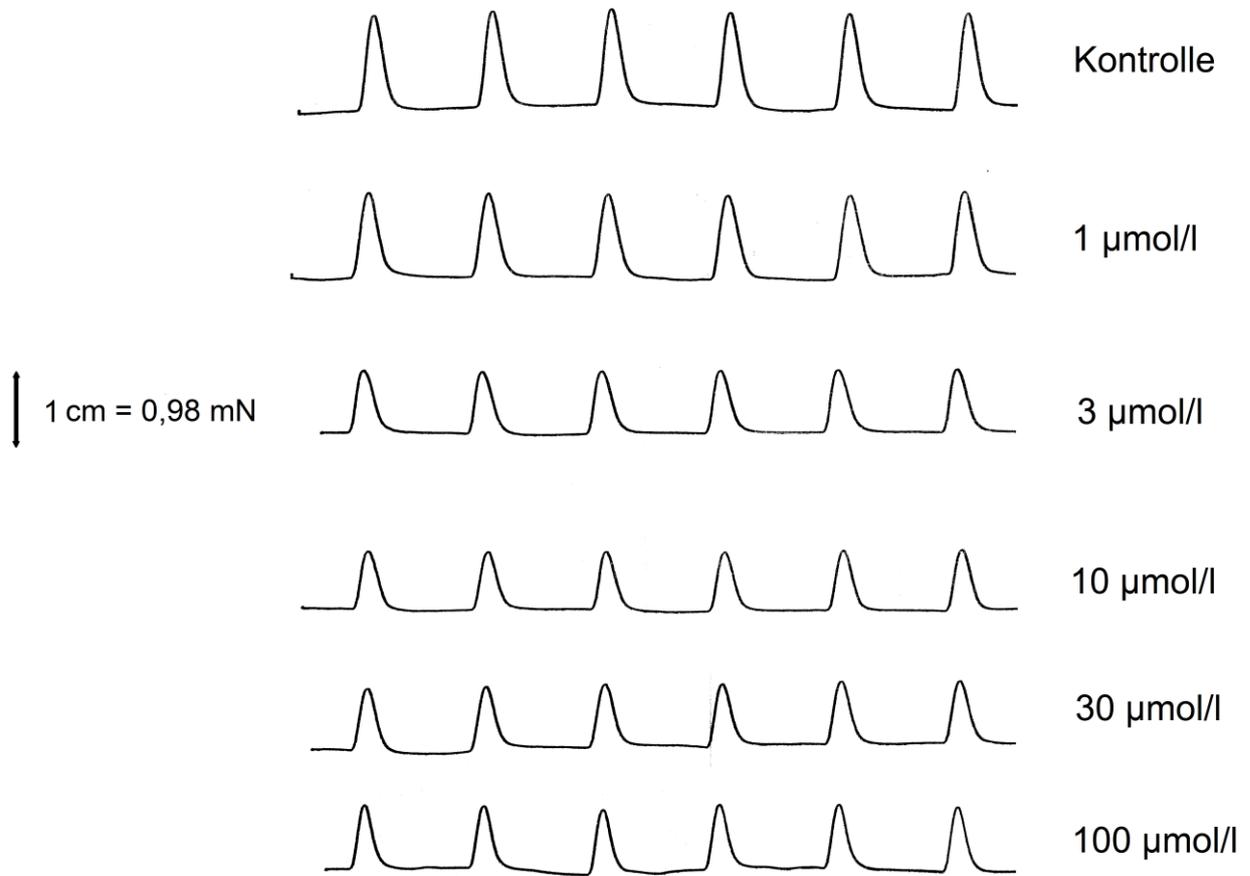
**Abbildung 23:** PGU187HCl-Konzentrations-Wirkungskurve am Papillarmuskel



**Legende zu Abbildung 23:**

Auf der Abszisse der Konzentrations-Wirkungskurve sind die Konzentrationen 1 µmol/l, 3 µmol/l, 10 µmol/l, 30 µmol/l und 100 µmol/l angegeben. Die Ordinate stellt die Abnahme der Kontraktionskraft in % dar. Der Mittelwert ist durch schwarze Punkte dargestellt, der Standardfehler ist durch Balken, die von den Punkten ausgehen, gezeichnet. Bei 1 µmol/l zeigt sich eine Abnahme der Kontraktionskraft, die aber mit zunehmender Konzentration an Testsubstanz nicht weiter abnimmt. Der EC<sub>50</sub>-Wert wird mit der PGU187HCl-Substanz nicht erreicht.

**Abbildung 24:** PGU187HCl-Originalaufzeichnung am Papillarmuskel



**Legende zu Abbildung 24:**

Hier ist die Originalzeichnung abgebildet, die die Auswirkung der Inotropie des Papillarmuskels unter den unterschiedlichen Substanzkonzentrationen beinhaltet. Hier sind die Kontrolle und die zugeführten Konzentrationen ersichtlich. Eine verminderte Abnahme der Kontraktion ist zu beobachten.

### 4.2.3. Wirkung von PGU187HCl auf die Aorta

Es wurde untersucht, ob die Substanz eine dilatierende Wirkung auf die Aorta zeigt. Dabei wurden 4 Versuche mit verschiedenen Aortenringen durchgeführt. Die Versuche hat man so, wie im Kapitel 3.6.4. beschrieben, gehandhabt. Nach Beendigung der Versuche wurden der Mittelwert und deren Standardfehler ermittelt.

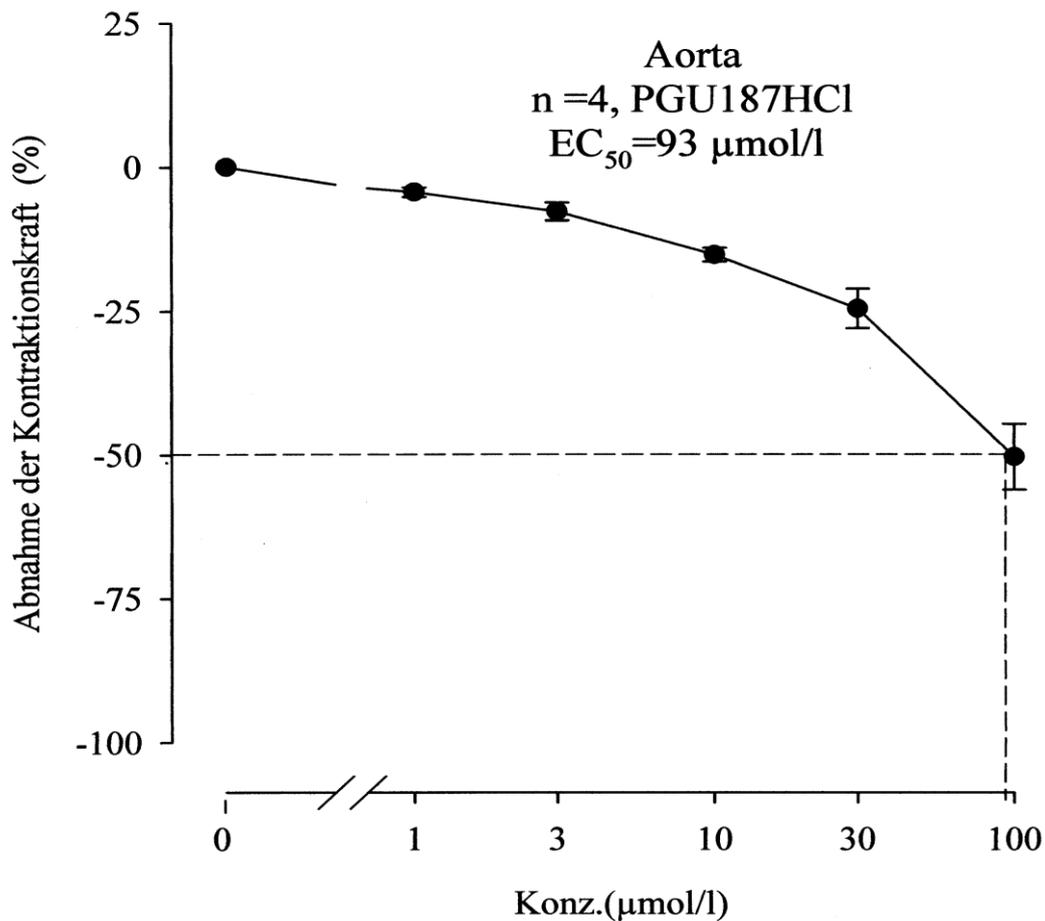
**Tabelle 12:** PGU187HCl-Messergebnisse an der Aorta

<b>PGU187 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	5,93 $\pm$ 0,06	0 $\pm$ 0	4	-
<b>1</b>	5,67 $\pm$ 0,04	-4,34 $\pm$ 0,83	4	n.s.
<b>3</b>	5,47 $\pm$ 0,07	-7,7 $\pm$ 1,55	4	n.s.
<b>10</b>	5,03 $\pm$ 0,08	-15,23 $\pm$ 1,19	4	0,05
<b>30</b>	4,47 $\pm$ 0,17	-24,57 $\pm$ 3,43	4	0,01
<b>100</b>	2,94 $\pm$ 0,33	-50,31 $\pm$ 5,7	4	0,01

**Legende zu Tabelle 12:**

Aus der Tabelle geht der arithmetische Mittelwert (fc) der durchgeführten Versuche und deren Standardfehler, der sowohl in mN, als auch in % berechnet ist, hervor. Die Anzahl der Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit sind auch abgebildet.

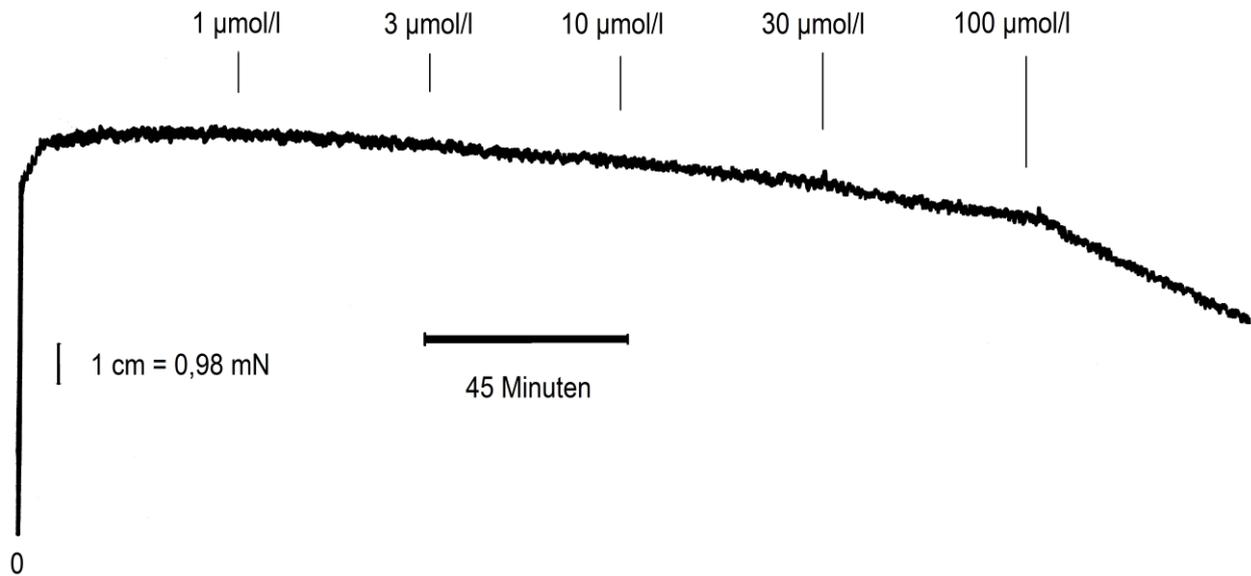
**Abbildung 25:** PGU187HCl-Konzentrations-Wirkungskurve an der Aorta



**Legende zu Abbildung 25:**

Auf der x-Achse der Konzentrations-Wirkungskurve sind die eingespritzten Konzentrationen in µmol/l aufgetragen. Die y-Achse enthält die Abnahme der Kontraktion in %. Die schwarzen Kügelchen repräsentieren die Mittelwerte der durchgeführten Versuche und die Balken stehen für deren Standardfehler. Die Grafik zeigt eine Abnahme der Kontraktion. Bei den Konzentrationen von 30 µmol/l bis 100 µmol/l zeigt sich eine steile Abnahme. Der EC<sub>50</sub>-Wert wird bei der Konzentration von 93 µmol/l erreicht.

**Abbildung 26:** PGU187HCl-Originalaufzeichnung an der Aorta



**Legende zu Abbildung 26:**

Die Abbildung zeigt eine Kurve, wie sie vom Schreiber aufgezeichnet wurde. Nach der Kontrollphase erfolgte die Einspritzung der Testsubstanz in folgenden Konzentrationen:

1 µmol/l, 3 µmol/l, 10 µmol/l, 30 µmol/l und 100 µmol/l in Abständen von 45 Minuten.

Die Kurve zeigt eine deutliche dilatierende Wirkung nach 100 µmol/l.

#### 4.2.4. Wirkung von PGU187HCl auf die Arteria pulmonalis

Mit den 4 Versuchen, die an der Arteria pulmonalis durchgeführt wurden, wurde getestet, ob die Substanz PGU187HCl einen gefäßerweiternden Effekt vorweisen konnte. Die 4 Versuche wurden so, wie in Kapitel 3.6.5. besprochen, durchgeführt. Anschließend war es wichtig den Mittelwert der Versuche und den Standardfehler zu errechnen.

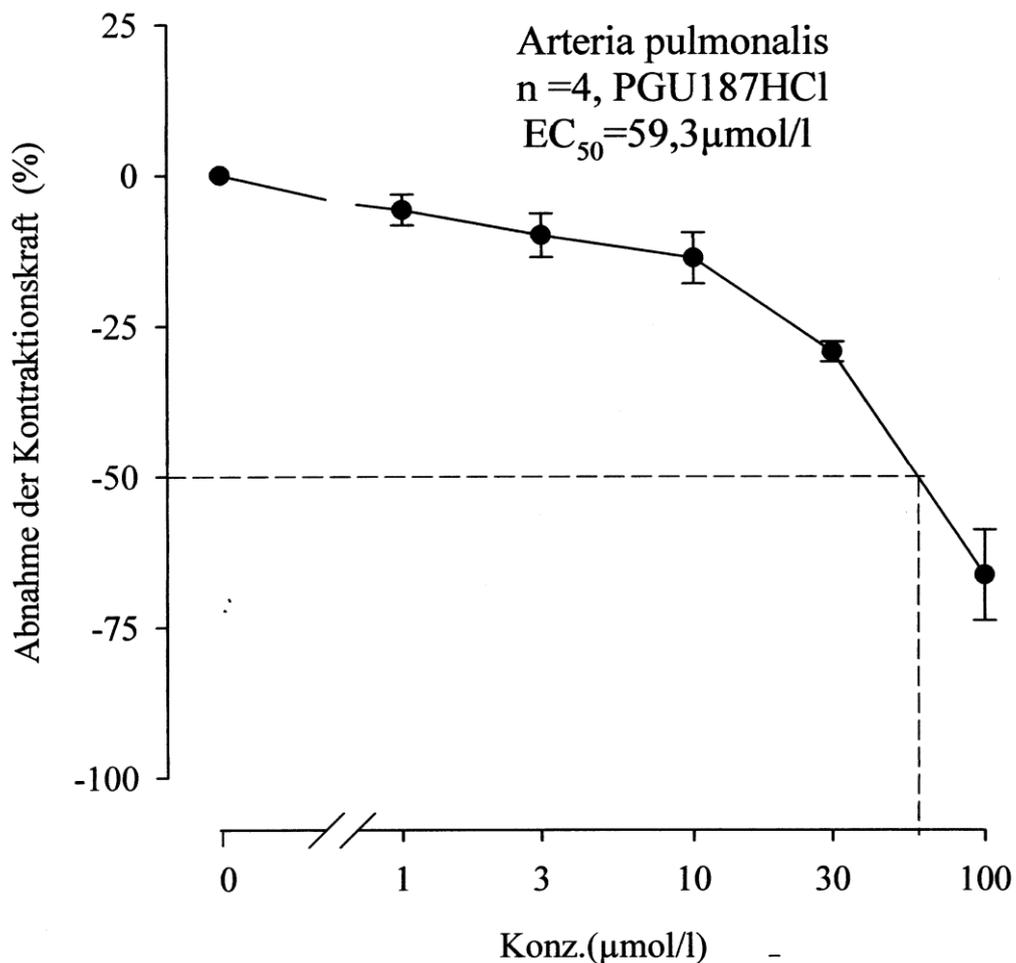
**Tabelle 13:** PGU187HCl-Messergebnisse an der Lungenarterie

<b>PGU187 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	11,42 $\pm$ 1,45	0 $\pm$ 0	4	-
<b>1</b>	10,69 $\pm$ 1,25	-5,77 $\pm$ 2,57	4	n.s.
<b>3</b>	10,17 $\pm$ 1,15	-9,97 $\pm$ 3,64	4	n.s.
<b>10</b>	9,71 $\pm$ 1,01	-13,76 $\pm$ 4,25	4	0,05
<b>30</b>	8 $\pm$ 0,86	-29,31 $\pm$ 1,65	4	0,05
<b>100</b>	3,93 $\pm$ 1,11	-66,36 $\pm$ 7,52	4	0,01

**Legende zu Tabelle 13:**

Die Tabelle beschreibt den Mittelwert (fc) einschließlich des Standardfehlers (SEM) sowohl in mN als auch in % der durchgeführten Versuche. Die Anzahl der Versuche (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit kann man aus der Tabelle ablesen.

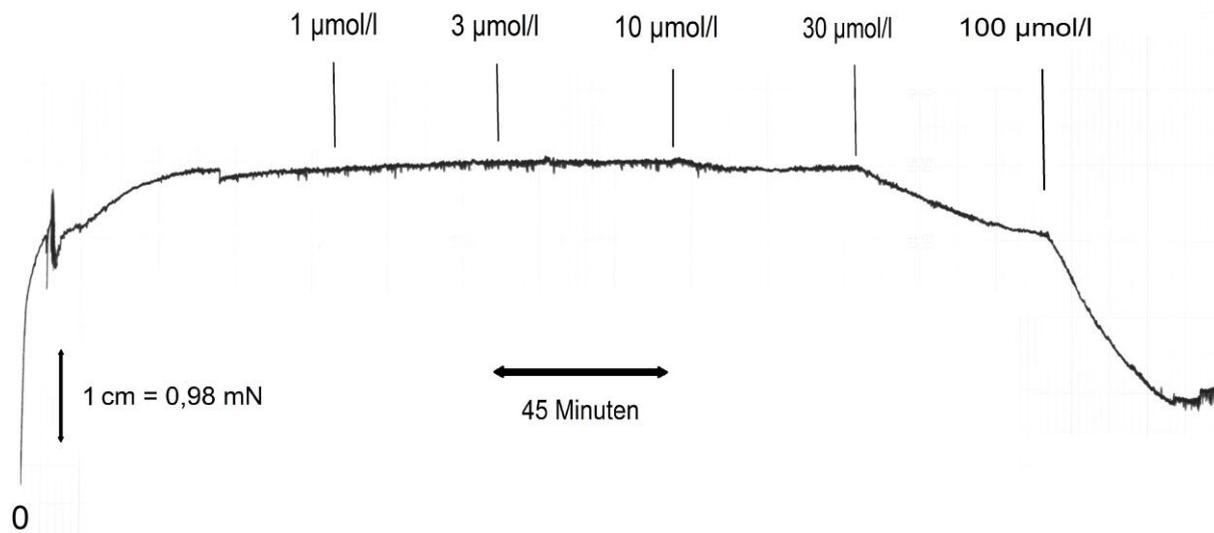
**Abbildung 27:** PGU187HCl-Konzentrations-Wirkungskurve an der Lungenarterie



**Legende zu Abbildung 27:**

Die Konzentrations-Wirkungskurve gibt auf der x-Achse die zugeführten Konzentrationen in µmol/l an. Auf der y-Achse ist die Abnahme der Kontraktionskraft in % veranschaulicht. Es ist deutlich zu erkennen, dass bei den Konzentrationen 1 µmol/l, 3 µmol/l, und 10 µmol/l eine Reduktion der Kontraktion erfolgt. Ab der Konzentration von 10 µmol/l ist eine steile Abnahme der Kontraktionskraft zu beobachten. Der EC<sub>50</sub>-Wert wird mit dieser Testsubstanz erreicht und er beträgt 59,3 µmol/l.

**Abbildung 28:** PGU187HCl-Originalaufzeichnung an der Lungenarterie



**Legende zu Abbildung 28:**

Die vom Schreiber registrierte Originalkurve zeigt ihren Verlauf während der Versuchsdurchführung. Darauf sieht man die Konzentrationen, die man in zeitlichen Abständen von 45 Minuten injiziert hatte.

Die Originalaufzeichnung zeigt, dass nach Einspritzung der letzten Konzentration eine dilatierende Wirkung deutlich zu erkennen ist.

#### 4.2.5. Wirkung von PGU187HCl auf das Ileum terminalis

Hier war das Ziel zu erforschen, ob die Testsubstanz PGU187HCl eine erwünschte spasmolytische Wirkung auf die Darmmuskulatur hatte. Dafür hat man 5 Versuche gebraucht, die nach dem Schema, das in Kapitel 3.6.6. ausführlich beschrieben ist, abliefen. Aus diesen Versuchen wurden der Mittelwert und sein Standardfehler ermittelt.

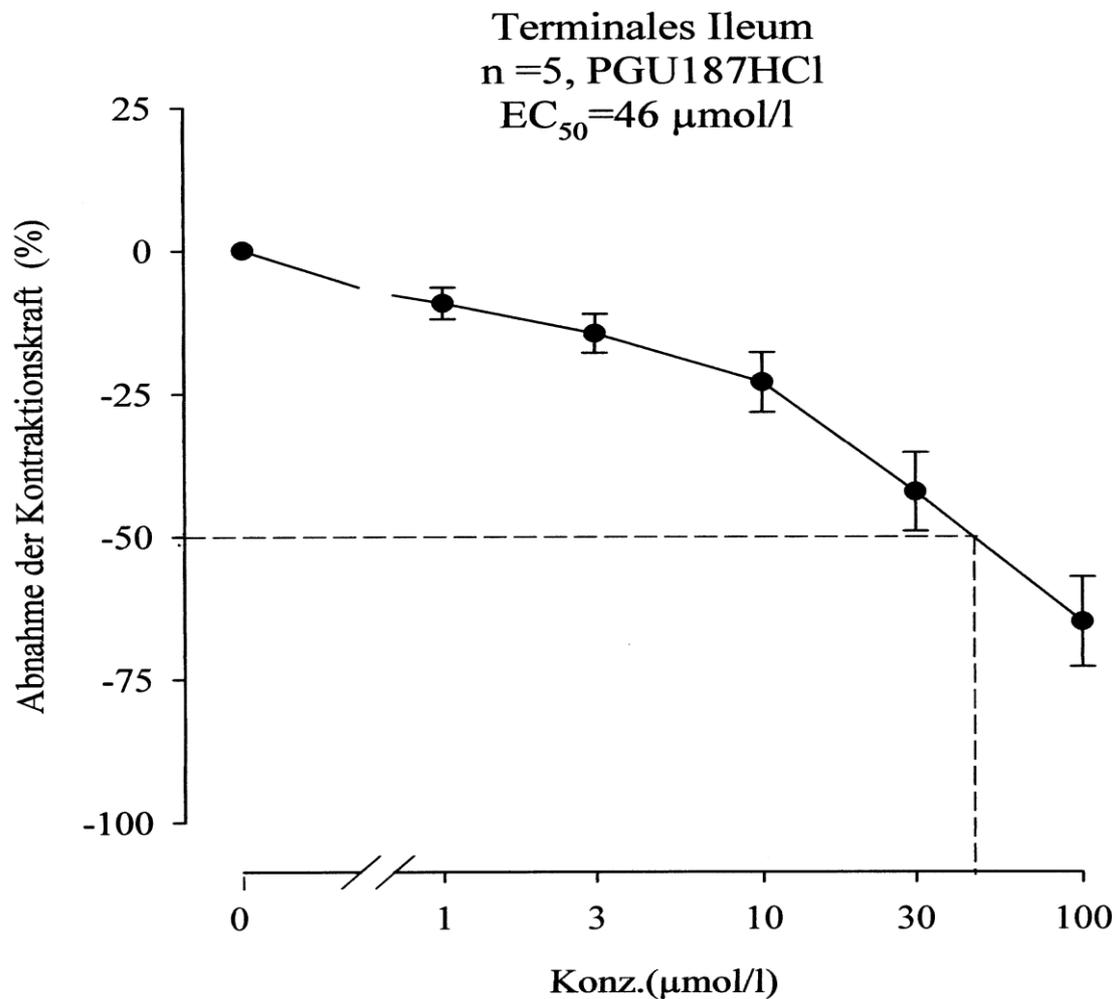
**Tabelle 14:** PGU187HCl-Messergebnisse an dem Dünndarm

<b>PGU187 (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (mN)</b>	<b>fc <math>\pm</math>SEM (%)</b>	<b>Anzahl der Versuche n</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>Kontrolle</b>	9,21 $\pm$ 0,82	0 $\pm$ 0	5	-
<b>1</b>	8,37 $\pm$ 0,79	-9,19 $\pm$ 2,75	5	n.s.
<b>3</b>	7,88 $\pm$ 0,74	-14,48 $\pm$ 3,42	5	0,05
<b>10</b>	7,09 $\pm$ 0,76	-23,05 $\pm$ 5,23	5	0,05
<b>30</b>	5,20 $\pm$ 0,54	-42,23 $\pm$ 6,85	5	0,01
<b>100</b>	3,21 $\pm$ 0,72	-64,95 $\pm$ 7,87	5	0,01

**Legende zu Tabelle 14:**

In der Tabelle kann der arithmetische Mittelwert (fc) mit seinem Standardfehler (SEM) abgelesen werden. Die zwei Parameter sind in mN und in % angegeben. Aus der Tabelle gehen noch die Anzahl der Versuche (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit hervor.

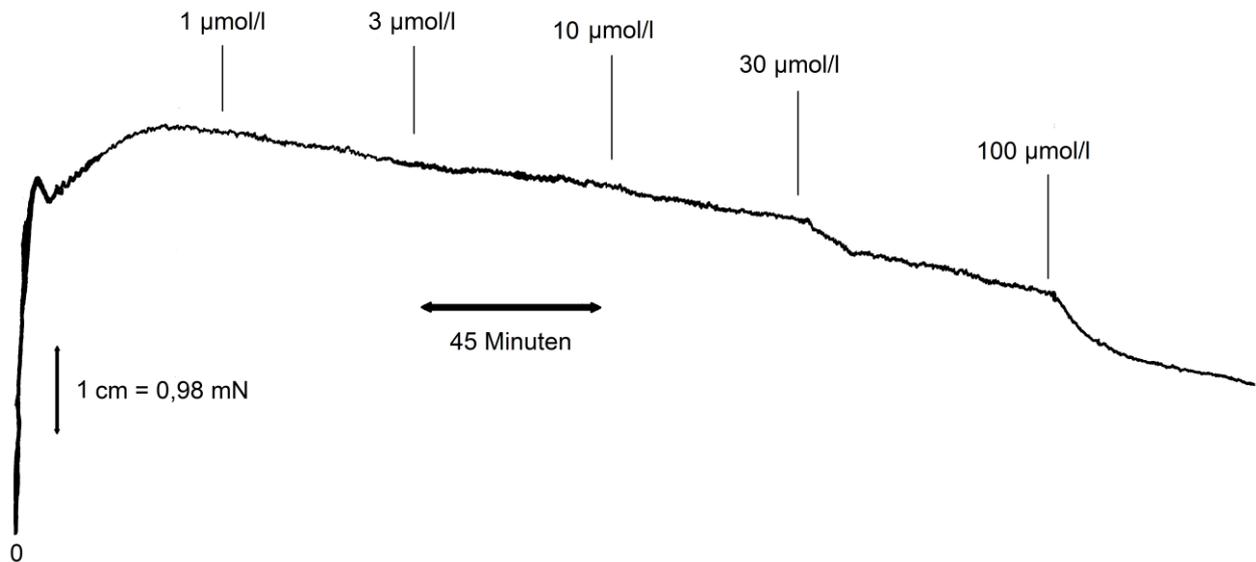
**Abbildung 29:** PGU187HCl-Konzentrations-Wirkungskurve an dem Dünndarm



**Legende zu Abbildung 29:**

Die Konzentration in µmol/l ist auf der Abszisse aufgetragen, während die Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in % darstellt. Aus der Kurve geht deutlich hervor, dass mit jeder Konzentrationssteigerung eine Abnahme der Kontraktion erfolgt. Die letzten 3 Konzentrationen zeigen die steilste Abnahme der Kurve im Gegensatz zu den anderen Konzentrationen. Der EC<sub>50</sub>-Wert wird erst nach der Einspritzung von 30 µmol/l erreicht und beträgt 46 µmol/l.

**Abbildung 30:** PGU187HCl-Originalaufzeichnung an dem Dünndarm



**Legende zu Abbildung 30:**

Die vom Schreiber registrierte Originalaufzeichnung zeigt an, wann die nächst höhere Konzentration eingespritzt wurde (nach 45 Minuten) und welche Auswirkungen es auf den Verlauf der Kurve hatte. Auch hier kann man Veränderungen bereits früh erkennen, wobei für die größte spasmolytische Wirkung, die letzten Konzentrationen verantwortlich sind.

## **5. Diskussion**

Die beiden neu synthetisierten Testsubstanzen SWS85HCl und PGU187HCl wurden auf ihre Wirkungen untersucht. Das Ziel der Diplomarbeit war es, zu erforschen, ob die Substanzen eine spasmolytische (am terminalen Ileum), eine dilatierende (an der Aorta und an der Arteria pulmonalis), eine chronotrope Wirkung (am Atrium cordis dextrum) und eine inotrope Wirkung (am Musculus papillaris) zeigten, wobei Wirkungen an den Herzmuskelpräparaten nicht begrüßt wurden. Wie bereits in Kapitel 3.1. erwähnt, wurden die Organe des Meerschweinchens genommen, weil die Ionenkanäle denen des Menschen ähnlich sind.

Es war wünschenswert eine gefäßerweiternde und eine krampflösende Wirkung mit den Testsubstanzen zu erzielen. Ob dieses Ziel erreicht wurde, wird in Kapitel 6. beschrieben.

Es wurde ein Augenmerk besonders auf die SWS85HCl-Testsubstanz gerichtet. Diese Substanz zeigte anscheinend die Fähigkeit den Schwefelwasserstoff freizusetzen, um so zu den genannten Effekten zu kommen.

Bei der chalconähnlichen Verbindung, die die Testsubstanz PGU187HCl aufweist, war ein dilatierender und spasmolytischer Effekt zu beobachten.

### **5.1. SWS85HCl und PGU187HCl und deren Wirkungen an quergestreifter Herzmuskulatur**

Die Wirkungen der Substanzen auf die quergestreifte Muskulatur wurden an den Organen Atrium cordis dextrum und an dem Musculus papillaris geprüft. Dabei wurde der inotrope Effekt (positiv inotrop oder negativ inotrop) auf dem Papillarmuskel untersucht während der chronotrope Effekt an dem rechten Vorhof analysiert wurde.

Um eine erfolgreiche Durchführung der Versuche zu gewährleisten, wurde der Musculus papillaris mit Rechtecksimpulsen elektrisch gereizt. Durch den vorhandenen Sinusknoten, schlägt der rechte Vorhof autonom, deswegen war es nicht nötig den rechten Vorhof weder chemisch noch elektrisch zu reizen.

**Tabelle 15:** Wirkungen der Testsubstanzen an der quergestreiften Herzmuskulatur

	<b>SWS85HCl</b> <b>fc±SEM (in %)</b> <b>bei 100 µmol/l</b> <b>Endkonzentration</b>	<b>EC<sub>50</sub></b> <b>(in µmol/l)</b>	<b>PGU187HCl</b> <b>fc±SEM (in %)</b> <b>bei 100 µmol/l</b> <b>Endkonzentration</b>	<b>EC<sub>50</sub></b> <b>(in µmol/l)</b>
<b>Atrium cordis dextrum</b>	-27,49±4,61	>100	-23,19±9,81	>100
<b>Musculus papillaris</b>	-98,51±0,5	4,33	-12,57±5,41	>100

#### 5.1.1. Wirkung auf die Schlagfrequenz des Atriums dextrum cordis

Bei der Substanz SWS85HCl zeigte sich im Bezug auf den Kontrollwert 215±5,4 mN wenig Einfluss auf die Kontraktionskraft. Der EC<sub>50</sub>-Wert wurde in diesem Fall nicht erreicht.

Die Substanz PGU187HCl wurde mit ihrem Kontrollwert (213,33±3,3 mN) verglichen, auch hier zeigte sich wenig Kontraktionskraftänderung, wobei man auch keinen EC<sub>50</sub>-Wert feststellen konnte.

#### 5.1.2. Wirkung auf die Kontraktionskraft des Musculus papillaris

Die SWS85HCl-Testsubstanz zeigte einen sehr deutlichen negativ inotropen Effekt. Der Kontrollwert war bei 1,9±0,77 mN und bei 100 µmol/l Substanzkonzentration war eine Kontraktionsabnahme um 98,51±0,5% feststellbar. Der EC<sub>50</sub>-Wert wurde schon bei 4,33 µmol/l erreicht. Damit zeigte diese Substanz an der Papillarmuskulatur ihre stärkste dilatierende Wirkung.

Die Versuche mit der PGU187HCl-Testsubstanz ergaben keine klare Kontraktionsabnahme an der quergestreiften Muskulatur des Papillarmuskels.

## 5.2. SWS85HCl und PGU187HCl und deren Wirkungen an den glattmuskulären Organen

Der Nachweis der Wirkung wurde an der glatten Muskulatur von Aorta, Arteria pulmonalis und Ileum terminalis durchgeführt. Um eine Aussagekraft der Versuche zu gewährleisten, musste diesmal chemisch vorkontrahiert werden. Bei der Aorta und Arteria pulmonalis erfolgte dies mit einer 90 mmolaren Kaliumchloridlösung. Das Ileum terminalis wurde mit einer 60 mmolaren Kaliumchloridlösung kontrahiert. Die dilatierende Wirkung wurde an den Organen Aorta und Arteria pulmonalis getestet und die spasmolytische Wirkung wurde an der Darmmuskulatur erforscht.

**Tabelle 16:** Wirkungen der Testsubstanzen an der glatten Muskulatur

Organpräparat	SWS85HCl Fc±SEM (in %) bei 100 µmol/l Endkonzentration	EC <sub>50</sub> (in µmol/l)	PGU187HCl Fc±SEM (in %) bei 100 µmol/l Endkonzentration	EC <sub>50</sub> (in µmol/l)
<b>Aorta</b>	-8,03±3,23	>100	-50,31±5,7	93
<b>Arteria pulmonalis</b>	-32,90±7,78	>100	-66,36±7,52	59,3
<b>Ileum terminale</b>	-89,9±2,67	16,58	-64,95±7,87	46

### 5.2.1. Wirkung auf den Kontraktionstonus der Aorta

Die Untersuchungen mit der SWS85HCl-Testsubstanz zeigten im Bezug auf die glatte Muskulatur der Aorta keinen wesentlichen Einfluss.

Mit der PGU187HCl-Substanz war eine dilatierende Wirkung an der Hauptschlagader nachgewiesen. Im Bezug auf den Kontrollwert  $5,93 \pm 0,06$  mN, der die 100%ige Kontraktion darstellte, nahm die Kontraktion um  $50,31 \pm 5,7\%$  ab. Der  $EC_{50}$ -Wert wurde bei  $93 \mu\text{mol/l}$  erreicht.

### 5.2.2. Wirkung auf den Kontraktionstonus der Arteria pulmonalis

Die Untersuchungen mit der SWS85HCl-Substanz ergaben keine relevanten Kontraktionsänderungen an der Arteria pulmonalis.

In der Relation zum Kontrollwert  $11,42 \pm 1,45$  mN erreichte die PGU187HCl-Testsubstanz eine Kontraktionsabnahme an der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis um  $66,36 \pm 7,52\%$  und damit zeigte diese Testsubstanz an der Lungenarterie die stärkste dilatierende Wirkung. Ein  $EC_{50}$ -Wert konnte bei  $59,3 \mu\text{mol/l}$  festgestellt werden.

### 5.2.3. Wirkung auf den Kontraktionstonus des Ileum terminalis

Die SWS85HCl-Substanz zeigte eine  $89,9 \pm 2,67\%$ ige Abnahme der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert von  $6,00 \pm 0,43$  mN, der die 100%ige Kontraktion darstellte, dadurch wurde eine spasmolytische Wirkung der Substanz nachgewiesen. Mit  $16,58 \mu\text{mol/l}$  wurde der  $EC_{50}$ -Wert erreicht.

Die Versuchsreihen, die mit der PGU187HCl-Substanz durchgeführt wurden, bewiesen einen spasmolytischen Effekt. Mit der Abnahme der Kontraktionskraft um  $64,95 \pm 7,87\%$  bezogen auf die Kontrollphase  $9,21 \pm 0,82$  mN, war auch ein  $EC_{50}$ -Wert bei einer Konzentration von  $46 \mu\text{mol/l}$  feststellbar.

## 6. Zusammenfassung

Die vorliegende Diplomarbeit beschäftigt sich mit dem pharmakologischen Screening von neu am Department für Medizinische und Pharmazeutische Chemie entwickelten Substanzen, die die Abkürzungen SWS85HCl und PGU187HCl haben.

Beide Testsubstanzen wurden an isolierten und präparierten Organen des Meerschweinchens geprüft und zwar am Atrium cordis dextrum, Musculus papillaris, Aorta, Arteria pulmonalis und Ileum terminalis.

Atrium cordis dextrum und Musculus papillaris enthalten die quergestreifte Muskulatur. Die Aorta, Arteria pulmonalis und Ileum terminalis weisen eine glatte Muskulatur auf.

Es war wichtig, physiologische Bedingungen zu schaffen, um die Organe lange am Leben zu erhalten. Die Versuche wurden in 2 unterschiedlichen Apparaturen durchgeführt, je nachdem mit welchem Organ die Versuche durchgeführt wurden. Die Testsubstanzen wurden kumulativ in den Konzentrationen von 1  $\mu\text{mol}$ , 3  $\mu\text{mol}$ , 10  $\mu\text{mol}$ , 30  $\mu\text{mol}$  und 100  $\mu\text{mol}$  in Abständen von 45 Minuten hinzugefügt. Die Anzahl der dafür gebrauchten Versuche waren unterschiedlich. Wenn das Ergebnis eindeutig war, wurden nur 3 Versuche gebraucht, wenn das nicht der Fall war, wurden bis zu 5 Versuche für die Aussagekraft der Wirkung benötigt.

Die Wirkungen, die man untersuchen wollte, waren Inotropie, Chronotropie, Dilatation und Spasmolyse.

Die Testsubstanz **SWS85HCl** zeigte am Vorhof bei den letzten Konzentrationen, ab 10  $\mu\text{mol}$ , eine Abnahme der Kontraktion, doch der  $\text{EC}_{50}$ -Wert wurde nicht erreicht. Am Papillarmuskel hingegen wurde der  $\text{EC}_{50}$ -Wert erreicht und man kann von einer Wirkung am Papillarmuskel sprechen.

An der glatten Muskulatur konnte man beim terminalen Ileum eine deutliche Spasmolyse der Substanz sehen.

An den anderen Organen der glatten Muskulatur konnte man keinen eindeutigen Effekt erforschen, da die Abnahme der Kontraktion wesentlich geringer war.

Aus diesen Resultaten konnte man schließen, dass die SWS85HCl-Testsubstanz keine Spezifität hatte, das heißt, dass sowohl an der glatten als auch an der quergestreiften Muskulatur eine Wirkung hervorgerufen wurde.

Die Testsubstanz **PGU187HCl** zeigte an der quergestreiften Herzmuskulatur, am Vorhof und am Papillarmuskel keine nennenswerte Wirkung. Es war zwar eine geringe Abnahme der Kontraktion am Vorhof erst bei höheren Konzentrationen zu sehen, die doch den  $EC_{50}$ -Wert nicht erreichten.

Eine Wirkung an der glatten Muskulatur zeigte die Testsubstanz bei jedem verwendeten Organ (Aorta, Arteria pulmonalis und terminales Ileum). Eine deutliche Abnahme der Kontraktion und der  $EC_{50}$ -Wert wurden bei diesen Organen erreicht.

Bei der PGU187HCl-Testsubstanz konnte nachgewiesen werden, dass eine Affinität zu der glatten Muskulatur bestand. Auf die quergestreifte Herzmuskulatur hatte die Testsubstanz PGU187HCl keine nennenswerte Wirkung.

## **7. Literaturverzeichnis**

Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Starke K (2001) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 8. Auflage, Urban und Fischer Verlag München

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

Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R (2001) The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous K(ATP)channel opener EMBO J 20:6008-6016

Dingermann T, Hiller K, Schneider G, Zündorf I (2004) Schneider Arzneidrogen, 5. Auflage, Elsevier GmbH München

Hänsel R, Sticher O (2010) Pharmakognosie-Phytopharmazie, 9. Auflage, Springer Medizin Verlag Heidelberg

Rimpler H (1999) Biogene Arzneistoffe, 2. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart

Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential, Genes Nutr 6:125-47

Patel M, Shah G (2010) Possible role of hydrogen sulfide in insulin secretion and in development of insulin resistance. J Young Pharm 2:148-51

Thews G, Mutschler E, Vaupel P (1999) Anatomie Physiologie Pathophysiologie des Menschen, 5. Auflage, Stuttgart: Wiss. Verl.- Ges.

## **8. Curriculum Vitae**

### ***Persönliche Daten***

<b>Name</b>	Vesna Micic
<b>Geburtsdatum</b>	04.08.1984
<b>Geburtsort</b>	Wien
<b>Staatsbürgerschaft</b>	Österreich
<b>Eltern</b>	Micic Milan Micic Jovanka

### ***Ausbildung***

<b>1991-1992</b>	Volksschule Gornja Paleznica (Doboj), Bosnien und Herzegowina
<b>1992-1995</b>	Volksschule Grünentorgasse, 1090 Wien
<b>1995-2003</b>	Gymnasium Wasagasse, 1090 Wien
<b>Seit 2003</b>	Studium der Pharmazie an der Universität Wien