



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Pharmakologische Wirkung eines neu synthetisierten  
Diarylimidazols (PGU 124) an isolierten Organen von  
Meerschweinchen

Verfasserin

Dalja Ali

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**

In erster Linie möchte ich bei Herrn Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Christian Studenik für die Realisierung der Diplomarbeit am Department für Pharmakologie und Toxikologie bedanken, vor allem aber auch für sein Verständnis und für das hervorragende Arbeitsklima. Immer wenn man kurz vor dem Verzweifeln war, weil die Versuche nicht wie erwartet verliefen, gab uns Herr Univ.- Prof. Mag. Dr. Studenik den nötigen Antrieb.

Ebenso möchte ich mich beim Department für Medizinische/ Pharmazeutische Chemie für die Synthese und Bereitstellung der Testsubstanz bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt natürlich meiner Familie, die stets für mich da war und mich sowohl seelisch als auch finanziell unterstützt hat. Und die immer an meinen Abschluss geglaubt hat, auch wenn ich mir öfters nicht ganz sicher war, ob ich dieses Studium jemals absolvieren würde.

Meinen Bruder sollte ich auch erwähnen weil, er mir freundlicherweise viele Unklarheiten bezüglich des Arbeitens am Computer beseitigt hat.

## Inhalt

1. Einleitung.....	1
1.1. Zielsetzung und Aufbau .....	1
1.2. Resveratrol .....	1
1.2.1 Vorkommen und Entdeckung.....	1
1.2.2. Synthese .....	2
1.2.3. Wirkung und Verwendung .....	2
1.2.4. Pharmakokinetik.....	3
2. Material und Methoden .....	5
2.1. Versuchstiere.....	5
2.2. Präparate .....	5
2.2.1 Isolierung des rechten Vorhofs .....	5
2.2.2. Isolierung der Papillarmuskeln .....	6
2.2.3. Isolierung des terminalen Ileums .....	7
2.2.4. Isolierung der Aorta.....	8
2.2.5. Isolierung der Arteria pulmonalis.....	9
2.3. Physiologische Nährlösungen.....	10
2.3.1 . Nährlösungen für den rechten Vorhof , den Papillarmuskel, das terminale Ileum und die Arteria pulmonalis .....	10
2.4. Testsubstanzen.....	12
2.5. Versuchsanordnung.....	13
2.5.1. Versuchsanordnung A.....	14
2.5.2. Versuchsanordnung B .....	15
2.5.3. Gaszufuhr .....	16
2.5.4. Kraftwandler, Verstärker, Reizgerät, Schreiber .....	17
2.6. Versuchsablauf .....	17

2.6.1. Versuchsablauf bei Arteria pulmonalis .....	18
2.6.2. Versuchsablauf bei Aorta .....	19
2.6.3. Versuchsablauf bei Ileum terminales .....	19
2.6.4. Versuchsablauf beim rechten Vorhof.....	20
2.6.5. Versuchsablauf bei Papillarmuskel.....	21
2.7. Bereitung der Stammlösungen.....	22
2.7.1. Stammlösung der Testsubstanz.....	22
3. Ergebnisse.....	24
3.1. Wirkung von PGU 124 auf terminales Ileum .....	24
3.2. Wirkung von PGU 124 auf die Aorta .....	27
3.3. Wirkung von PGU 124 auf die Arteria pulmonalis .....	31
3.4. Wirkung von PGU 124 auf den Papillarmuskel.....	34
3.5 Wirkung von PGU 124 auf den Vorhof .....	38
3.6. Resultate der Untersuchung mit Nitro- L-Arginin .....	42
3.6.1. Resultate der Versuche mit 30 µl Nitro- L-Arginin .....	42
3.6.2. Resultate der Versuche mit 100 µl Nitro-L-Arginin .....	45
4. Diskussion.....	49
4.1. Versuchsreihen am quergestreiften Herzmuskel.....	49
4.2. Versuchsreihen an glattmuskulären Organen.....	50
4.3. Versuchsreihen mit PGU 124 in Kombination mit Nitro-L-Arginin.....	52
4.3.1 Versuch mit PGU 124 in Kombination mit 30 µl Nitro-L-Arginin.....	52
4.3.2. Versuch mit PGU 124 in Kombination mit 100 µl Nitro-L-Arginin.....	53
5. Zusammenfassung.....	54
6. Literaturverzeichnis.....	56
7. Curriculum Vitae.....	58

# **1. Einleitung**

## ***1.1. Zielsetzung und Aufbau***

Ziel dieser Diplomarbeit war es, die Wirkung der am Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie hergestellten Substanz PGU 124, auf isolierte Organe des Meerschweinchens zu untersuchen.

Zuerst wurde die Wirkung der Testsubstanz auf die glatte Muskulatur der Aorta, Arteria pulmonalis und des terminalen Ileums getestet.

Die weiteren Untersuchungen am Papillarmuskel lieferten Informationen über eine mögliche positive bzw. negative inotrope Wirkung. Am rechten spontan schlagenden Vorhof sollte die chronotrope Wirkung untersucht werden.

Mithilfe des Nitro-L-Arginin sollte ein Wirkmechanismus am Ileum terminales untersucht werden, indem man die eNos blockierte und dann beobachtete, ob nach dem Hinzufügen des Diarylimidazols es zur endothelialen Freisetzung von NO kommen würde.

## ***1.2. Resveratrol***

### **1.2.1 Vorkommen und Entdeckung**

Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilben) wurde erstmals im Jahr 1940 isoliert. Es handelt sich dabei um ein natürlich vorkommendes Phytoalexin, in Erdnüssen, Weintrauben, Himbeeren usw. Besonders vorherrschend ist Resveratrol in der Haut von roten Weintrauben.

Nonomura et al. isolierten erstmals diesen Naturstoff 1963 aus einem sogenannten Knöterichgewächs (*Poligonum cuspidatum*). Der Nachweis von Resveratrol erfolgte 1976 von Langcake und Pryce. Im Jahre 1994 gelang es Waterhouse et al. die Existenz entsprechender Glykoside zu beweisen. Neben den bereits schon erwähnten Resveratrol-Quellen, konnte Resveratrol noch in mehr als 70 weiteren Pflanzen, wie zum Beispiel, Fichte, Lilie, Eukalyptus nachgewiesen werden. Am reichlichsten kommt der Naturstoff aber in der

Kulturpflanze *Vitis vinifera* (Vitaceae) vor. Diese Pflanze ist für die Weinproduktion schon seit tausenden Jahren von großer Bedeutung. Das enthaltene Polyphenol findet man in Traubenkernen, den Stielen, Wurzeln und Reben. In der Schale findet sich jedoch die höchste Konzentration an Resveratrol (Celotti et al. 1996). Frische Weintraubenschalen enthalten ca. 50- 100 µg/g Resveratrol. Die Höhe des Resveratrolgehalts hängt von der Dauer der Hülsenextraktion bei der Herstellung ab.

### **1.2.2. Synthese**

Für die Resveratrolsynthese in den Pflanzen sind die Ausgangsverbindungen p- Coumaroyl CoA und Malonyl CoA , unter der Einwirkung von Stress, Verletzungen, Infektionen oder starker UV- Bestrahlung wesentlich (Soleas et al. 1997). Weiters wurde das große Potential von Resveratrol als Heilmittel erkannt. Resveratrol ist ein Abwehrstoff und wird als Stressmetabolit bei verstärkter Belastung in der Pflanze gebildet. Da Resveratrol ein Phytoalexin ist, wird dem Naturstoff auch eine fungizide Wirkung zugeschrieben (Soleas et al. 1997, Hipskind und Pavia 2000, Becker et al. 2003). Aus diesem Grund transformierten Wissenschaftler die Resveratrolsynthasegene beispielsweise in Tabak oder Weinreben um so eine erhöhte Pilzresistenz zu erreichen.

### **1.2.3. Wirkung und Verwendung**

Die abwehrstärkende Wirkung von Resveratrol ist nicht nur in der Pflanze, sondern auch im menschlichen Körper zu beobachten. Da mehrere Studien betreffend der positiven Wirkung von Resveratrol veröffentlicht wurden , möchte ich nun auf einige dieser Studien näher eingehen.

In der Studie von Gronbäk et al. (1995) konnte gezeigt werden, dass ein mäßiger Weinkonsum das Risiko früher zu sterben um 50% reduziert im Vergleich zur Weinabstinenz.

Aufgrund der antioxidativen Wirkung glaubte Kopp 1998, dass das 'Französische Paradox' auf einen höheren Rotweinkonsum und damit auf Resveratrol zurückzuführen ist. Das 'Französische Paradox' beschreibt das Phänomen, dass in Frankreich die Sterblichkeitsrate an koronaren Herzerkrankungen um fast das Zweifache niedriger ist als in den USA.

Es wurde außerdem anhand weiterer Versuche erkannt, dass Resveratrol auf die menschliche Squalenmonooxygenase eine inhibierende, nicht kompetitive Wirkung besitzt. Dieses Enzym, katalysiert die Oxidation von Squalen zu Squalenepoxid- ein wichtiger Reaktionsschritt in der Cholesterinbiosynthese. Dadurch konnte die protektive Wirkung vom Naturstoff Resveratrol bezüglich der kardiovaskulären Erkrankungen erklärt werden.

Sehr bald erkannte man aber auch noch die anticancerogene Wirkung von Resveratrol. Anhand von Versuchen die bei diversesten Tumorarten durchgeführt wurden, konnte nämlich die Proliferation von Tumorzellen durch Resveratrol verhindert werden (Aggrwal et al. 2004).

Frankel et al. bemerkte 1993, dass Rotwein mit den darin enthaltenen phenolischen Substanzen die Oxidation (kupferkatalysiert) des LDL signifikant mehr hemmt als Tocopherol. Man kam dann drauf, dass die LDL- Peroxidation nicht nur durch die Chelatbindung zwischen Kupfer und Resveratrol verringert wird, sondern auch dass, Resveratrol selbst als Radikalfänger fungiert. Das bedeutet wiederum, dass Resveratrol freie Radikale abfängt bevor sie die Membran attackieren (Belguendouz et al. 1998, Fremont et al. 1999).

Im Jahr 2003 beobachteten Savaskan et al. die neuroprotektive Wirkung von Resveratrol. Sie stellten fest, dass der Naturstoff die Überlebensfähigkeit der Zelle steigert und zusätzlich noch intrazellulär die antioxidative Wirkung des Gluthations (Radikalfänger) erhöht.

#### **1.2.4. Pharmakokinetik**

Die Bioverfügbarkeit von oral verabreichtem Resveratrol beträgt ca. 70%. Die Plasmahalbwertszeit liegt bei ca. 9 Stunden. Die Ausscheidung erfolgt größtenteils renal. Im Plasma kann unverändertes Resveratrol nur in sehr geringen Mengen nachgewiesen werden, weil Resveratrol sehr rasch metabolisiert wird. Bei der Metabolisierung kommt es zur

Konjugation mit Schwefelsäure und Glucuronsäure, sowie zur Hydrierung der Doppelbindung. Bei den Hauptmetaboliten, die sowohl in Urin als auch in Serum nachgewiesen werden können, handelt es sich einerseits um trans-Resveratrol-3-O-glucuronid andererseits aber auch um trans-Resveratrol-3-O-sulfat. Der nicht metabolisierte Anteil des Resveratrols bindet vor allem an Albumin.

Und obwohl Resveratrol einem ausgeprägtem Metabolismus unterliegt, werden dem Resveratrol etliche Wirkungen zugeschrieben, das liegt an den aktiven Metaboliten, aber auch daran dass, Resveratrol in den Epithelzellen akkumuliert (Yu et al. 2002, Jannin et al. 2004).

## **2.Material und Methoden**

### ***2.1.Versuchstiere***

Bei den Organen die für die Versuche herangezogen wurden, handelte es sich um isolierte Organe weiblicher und männlicher Meeresschweinchen (HIM-DH) mit einem Körpergewicht von 250-600g.

Im nüchternen Zustand - damit wird ein konstanter Ruhetonus der glatten Muskulatur des terminalen Ileums bezweckt – wurden die Versuchstiere durch Genickschlag getötet, und somit erfolgte ein schneller und vor allem schmerzloser Tod.

Anschließend erfolgte eine rasche Explantation des Herzens, seiner Gefäße und des Darms. Das isolierte Herz wurde unmittelbar danach in eine zuvor bereitgestellte physiologische Nährlösung transferiert. Dadurch wurden Hypoxie und Koagulation des Blutes verhindert.

In einem weiteren Schritt wurde das Abdomen mit einer Schere geöffnet. Nachdem das Caecum identifiziert wurde, wurden vorsichtig und ohne Ausübung von Traktion und Kompression ca.10 cm des terminalen Ileums entnommen. Das aboral gelegene Ende wurde mit einem Bindefaden markiert und ebenfalls bis zur weiteren Präparation in physiologischer Nährlösung aufbewahrt.

Die Präparation von Papillarmuskel und Arteria pulmonalis erfolgte unter dem Mikroskop.

Danach wurden alle isolierten Organe bis zum Versuchsbeginn in einer mit Oxymix (95% Sauerstoff, 5% Kohlendioxid) perfundierten Nährlösung (Tyrode) aufbewahrt.

### ***2.2. Präparate***

#### **2.2.1 Isolierung des rechten Vorhofs**

Nach der Entfernung des Perikards wurde das Herz an Basis und Spitze mittels Präpariernadeln fixiert. Der Grund, weshalb der rechte und nicht der linke Vorhof verwendet wurde ist, dass der Rechte spontan aktiv schlägt. Der rechte Vorhof wurde entlang des Sulcus coronarius von den Ventrikeln abgesetzt, wobei der Sinusknoten unverletzt bleiben

sollte .Der Sinusknoten selbst befindet sich in der Nähe der Einmündung der Vena cava superior. Da aber die genaue Lage unter dem Mikroskop nicht zu erkennen war, musste man bei der Entfernung des Fettes in Sinusknotennähe darauf achten um das zarte Gewebe nicht zu verletzen.

Ein Häkchen aus Silberdraht wurde am rechten Herzohr (am Übergang des rechten und linken Vorhofs und an der gegenüberliegenden Stelle) angebracht, um das Präparat in die Versuchsapparatur einspannen zu können.



Abbildung 1 : Versuchsapparatur mit fertig isoliertem und eingespanntem Vorhof

### **2.2.2. Isolierung der Papillarmuskeln**

Der rechte Ventrikel wurde von der Arteria pulmonalis entlang des Septums bis zur Herzspitze geöffnet, aufgeklappt und dann wurden Präpariernadeln angebracht. Da die vorhandenen Purkinjefasern durch ihre Spontanaktivität den Versuchsablauf beeinflussen würden, wurden diese enternt.

Die Silberdrahthäkchen wurden samt einem Bindefaden am Ansatz der Muskelsehne angebracht, dann die Sehne durchtrennt und mit großer Vorsicht der Muskel herausgeschnitten.

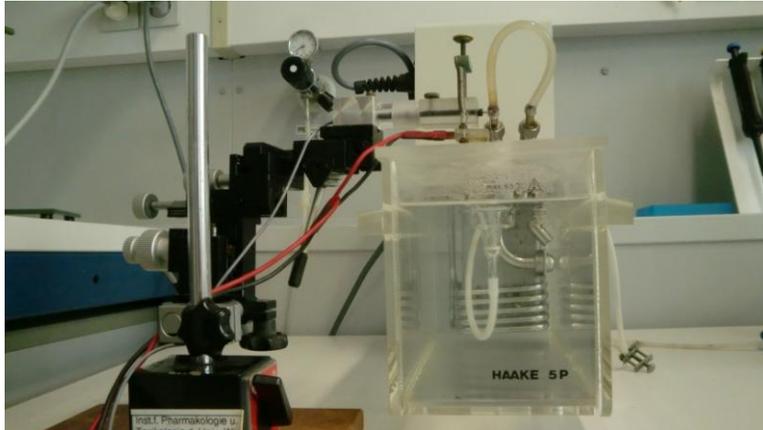


Abbildung 2: Apparatur mit eingespanntem Papillarmuskel

### 2.2.3. Isolierung des terminalen Ileums

Es wurde ein ca. 0,5- 1 cm langes Stück vom Darm abgeschnitten, und in einer mit Kork ausgelegten und mit Nährlösung gefüllten Petrischale mit Präpariernadeln fixiert. Wichtig dabei war es, das Darmstück bei der Fixierung nicht zu überdehnen. Gegebenenfalls musste manchmal auch der Darm mittels Pasteurpipette durchspült werden, um es vom Chymus zu reinigen. An die beiden Enden des Ileumstücks wurden je ein Drahtäkchen mit Bindefaden angebracht, wobei man darauf Acht geben sollte, dass die Darmöffnung an beiden Enden frei lag, also unverschlossen, um das Einwirken der Testsubstanz von allen Seiten der Schleimhaut zu gewährleisten.

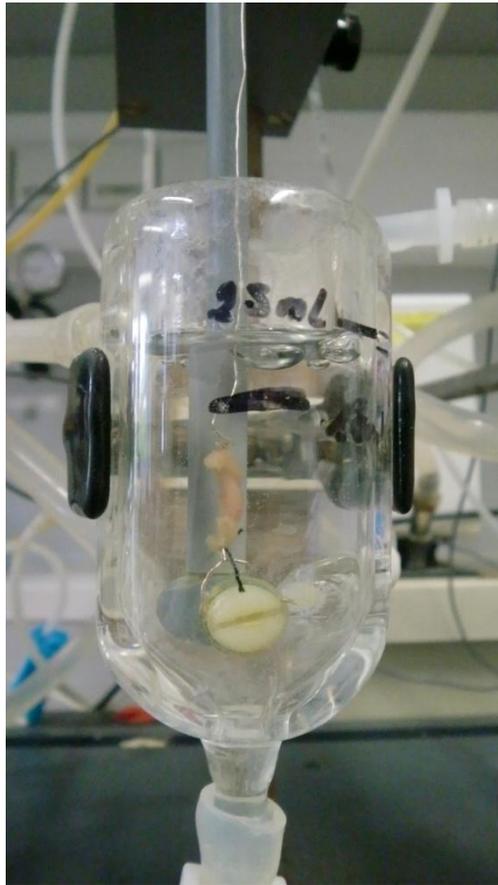


Abbildung 3: Versuchsanordnung mit fertig präpariertem Ileum

#### **2.2.4. Isolierung der Aorta**

Nach der Explantation des Herzens wurde entlang der Wirbelsäule ein 2- 3 cm langes Stück der thorakalen Aorta mittels Schere und Pinzette entnommen und anschließend in einem mit Tyrode gefülltem Becherglas aufbewahrt.

Für die weitere Präparation wurde die Aorta in eine mit physiologischer Nährlösung gefüllten Petrischale übertragen und mit Präpariernadeln fixiert. Danach wurden Muskel – und Fettgewebe vorsichtig entfernt , ohne dabei die Aorta zu verletzen. Anschließend wurde die Aorta in 2- 3 mm große ringförmige Stücke geteilt. Die fertig präparierten Aortastücke mussten dann sofort in ein mit physiologischer Nährlösung gefülltes Becherglas transferiert und bis zum Versuchsbeginn dort aufbewahrt, und mit Oxymix begast werden.



Abbildung 4 : 2-3 mm große Aortenringe

### **2.2.5. Isolierung der Arteria pulmonalis**

Unter dem Mikroskop wurden das Perikarp sowie Teile der Lunge und Fettreste mit Hilfe einer Federschere entfernt. Die Arteria pulmonalis wurde so nahe wie möglich am Herzen entnommen. Für den Versuch wird das vom Herzen wegführende 5- 10 mm lange Stück verwendet. Das Präparat wurde dann in der Folge wieder in einer Petrischale mittels Präpariernadeln fixiert, um das anhaftende Muskel – und Fettgewebe zu entfernen. Schließlich wurden 2-3 mm breite ringförmige Stücke von der Arteria pulmonalis abgeschnitten. Wieder wurden die Stücke in physiologischer Nährlösung aufbewahrt und bis zum Versuchsbeginn mit Oxymix begast.

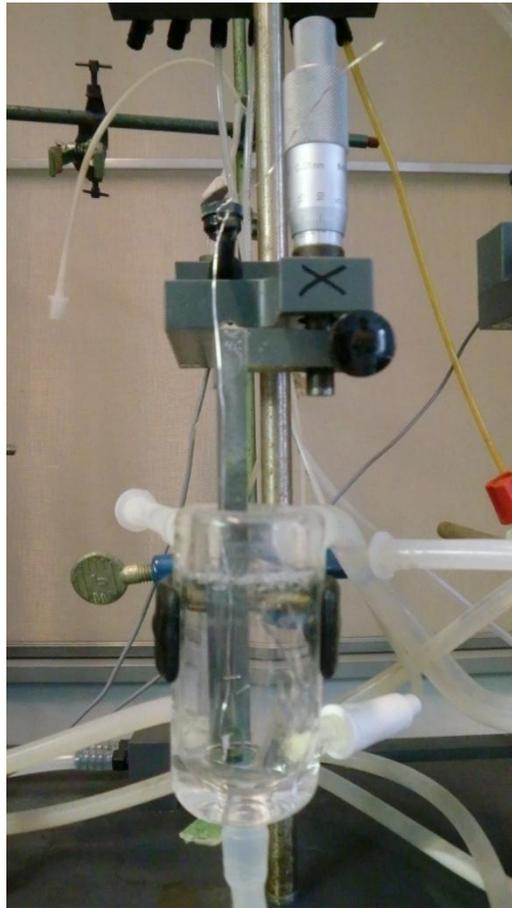


Abbildung 5: eingespannte Arteria pulmonalis

### ***2.3. Physiologische Nährlösungen***

#### **2.3.1 . Nährlösungen für den rechten Vorhof , den Papillarmuskel, das terminale Ileum und die Arteria pulmonalis**

Die für die Versuche verwendete Nährlösung entsprach einer modifizierten Krebs- Henseleit- Lösung und wurde nach der Vorschrift von Reiter (1967) hergestellt :

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

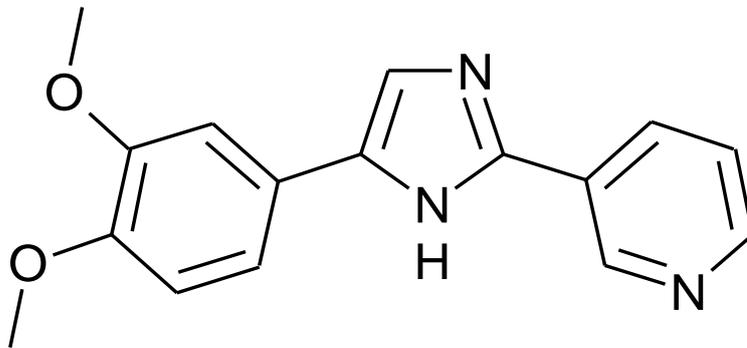
Tabelle 1: Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung

Die Nährlösung wurde täglich frisch hergestellt. Dazu wurden die oben genannten Substanzen in den entsprechenden Mengen in einen Messkolben, mit einem Fassungsvermögen von 2 Liter gefüllt, und mit Aqua bidestillata (bis zur 2l – Marke) aufgefüllt. Nach einer 10- minütigen Perfusion mit Oxymix wurde tropfenweise und langsam Calciumchlorid hinzugefügt, um das Ausfallen von dem schwerlöslichen Calciumsalz zu verhindern. Nach dem Hinzufügen von Calciumchlorid wurde die Nährlösung weitere 10 Minuten mit Oxymix begast.

Die Nährlösung wurde während des ganzen Versuchsablaufs kontinuierlich mit Oxymix begast, einerseits um einen konstanten pH-Wert im physiologischen Bereich ( ph 7,2-7,4) und andererseits um eine ausreichende Sauerstoffversorgung der isolierten Präparate zu gewährleisten.

## 2.4. Testsubstanzen

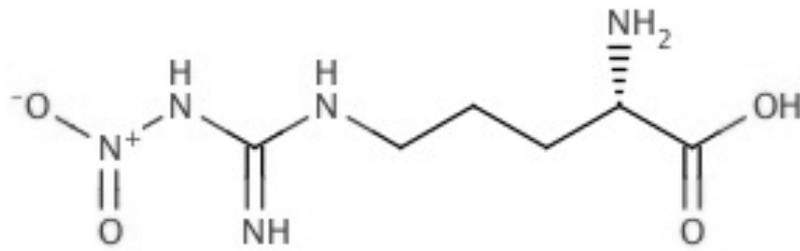
Bei der 1. Substanz handelt es sich um ein Derivat des Naturstoffes Resveratrol, welches PGU 124 genannt wird. Die verwendete Testsubstanz wurde am Institut für pharmazeutische Chemie der Universität Wien hergestellt und für die Versuche der Diplomanden zur Verfügung gestellt.



PGU 124; MG: 281,31 g/mol

Nomenklatur: 4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-(3-pyridyl)-1*H*-imidazol

Im zweiten Teil der Diplomarbeit sollte der Wirkmechanismus von PGU 124 mit Hilfe von Nitro-L-Arginin untersucht werden.



MG: 219.2 g/mol

Nitro- L-Arginin wurde im Versuch als NO- Antagonist eingesetzt.

NO wird vom Endothel freigesetzt und wirkt somit relaxierend auf die Gefäßmuskulatur. Über die cytosolische Guanylatcyclase aktiviert Stickstoffmonoxid die Bildung vom cytosolischen Guanosinmonophosphat. In Folge dessen kommt es zum Absinken des Ca-Spiegels, was wiederum eine Relaxierung der Gefäße verursacht.

Wenn nun die NO- Synthase durch Stickstoffmonoxid inhibiert wird, sinkt die NO- conc. In der Folge wird die ganze Kaskade, über die Guanylatcyclase zum Stoppen gebracht.

Anhand der Versuche konnte nachgewiesen werden, dass die Kontraktilität des Darms mit dem Zusetzen von Nitro-L-Arginin gesteigert wird. (Rosemann 2002).

## ***2.5. Versuchsanordnung***

Um das Gelingen der Versuche zu gewährleisten, mussten möglichst physiologische Umstände für die isolierten Organe hinsichtlich Temperatur, Sauerstoffversorgung und pH-Wert geschaffen werden.

Zur Durchführung der Versuche gab es zwei verschiedene Apparaturen. Die Apparatur A wurde für die Versuche am Papillarmuskel herangezogen. Während Apparatur B für alle anderen übrigen Organe geeignet war.

### 2.5.1. Versuchsapparatur A

Diese Apparatur besteht aus einem Wasserbad, dessen Temperatur mittels einer Heizspirale und eines Thermostats kontrolliert wird. Für die Versuche muss die Temperatur des Wasserbads bei  $35 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Mithilfe einer Kunststoffspritze wurde das Organbad gereinigt beziehungsweise die Nährlösung des Bades gewechselt.

Die Organhalterung bestand aus Kunststoff und war auf einem Stativ mit einem Stativschlitten befestigt.

Der sogenannte Kraftwandler stellte das eigentliche Messinstrument dar. Er befand sich ebenfalls am Stativ, jedoch etwas weiter oben ( siehe Abbildung 6).

Für die Versuchsdurchführung wurde das isolierte Organ (in diesem Fall, Papillarmuskel) mit dem zuvor angebrachten Silberhäkchen an einen Silberdraht gehängt. Der Draht diente der Verbindungsherstellung zum Kraftwandler. Das freie Ende wurde dann mittels eines kleinen Metallplättchens mit einer Silber-Silberchloriddraht-Kathode durch einen Schraubmechanismus verbunden. Wichtig war es bei diesem Schritt zügig zu arbeiten, um das Absterben der Organe durch Minderversorgung mit Sauerstoff zu verhindern. Außerdem musste darauf Acht gegeben werden, das Organ beim Einspannen nicht zu überdehnen, da dies die Ergebnisse verfälschen könnte. Nun konnte die gesamte Apparatur in das Organbad abgelassen werden, wobei zu beachten war, dass das gesamte Organ in die Nährlösung eingetaucht war.

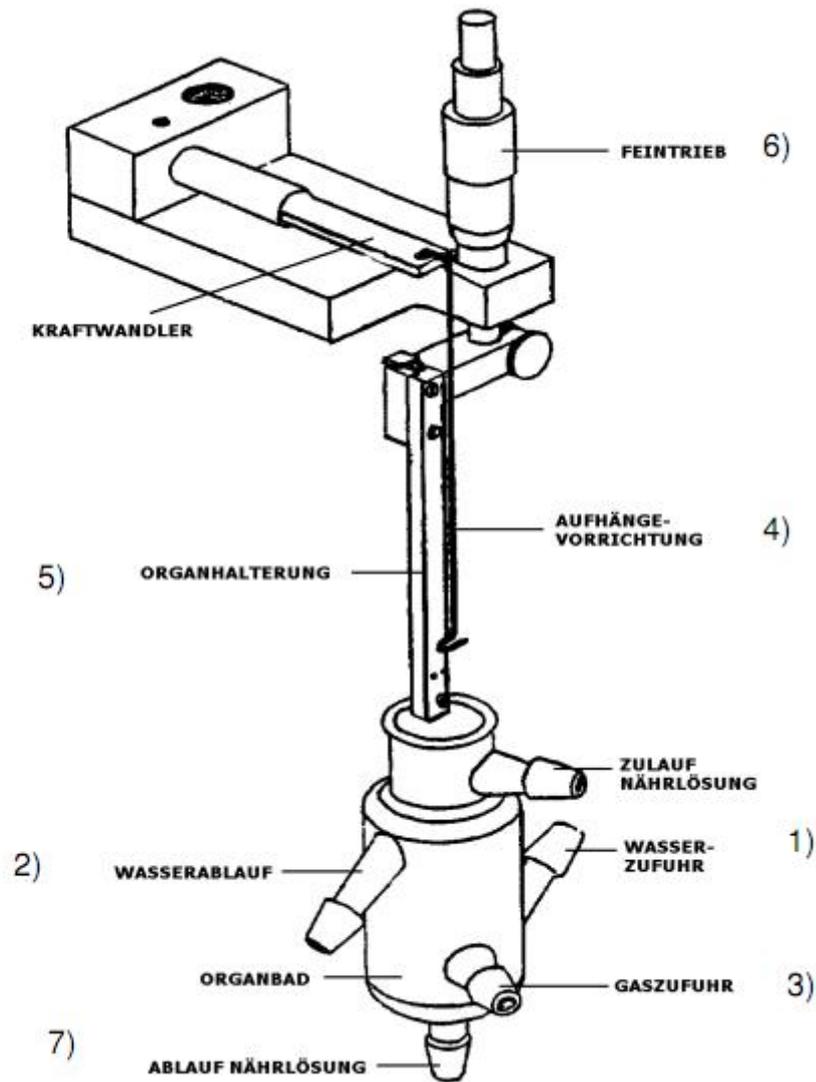


Abbildung 6: schematische Darstellung der Versuchsanordnung A

### 2.5.2. Versuchsanordnung B

Diese Apparatur besteht auch aus einem Organbad, welches aus einem doppelwandigen Glaskörper besteht. Der Glaskörper dient der Temperaturregulation. Die Versuchsanordnung B unterscheidet sich außerdem durch die Fixierungsmöglichkeit des Organs an der Organhalterung. Zur Befestigung wurden zwei Silberdrähte verwendet. Ein Draht befand sich am Steg und ein zweiter an der Aufhängevorrichtung des Kraftwandlers.

Zur Reinigung des Organbades , bzw. zum Ablassen der Nährlösung befand sich am Boden des Glaskörpers ein Abwasserschlauch.

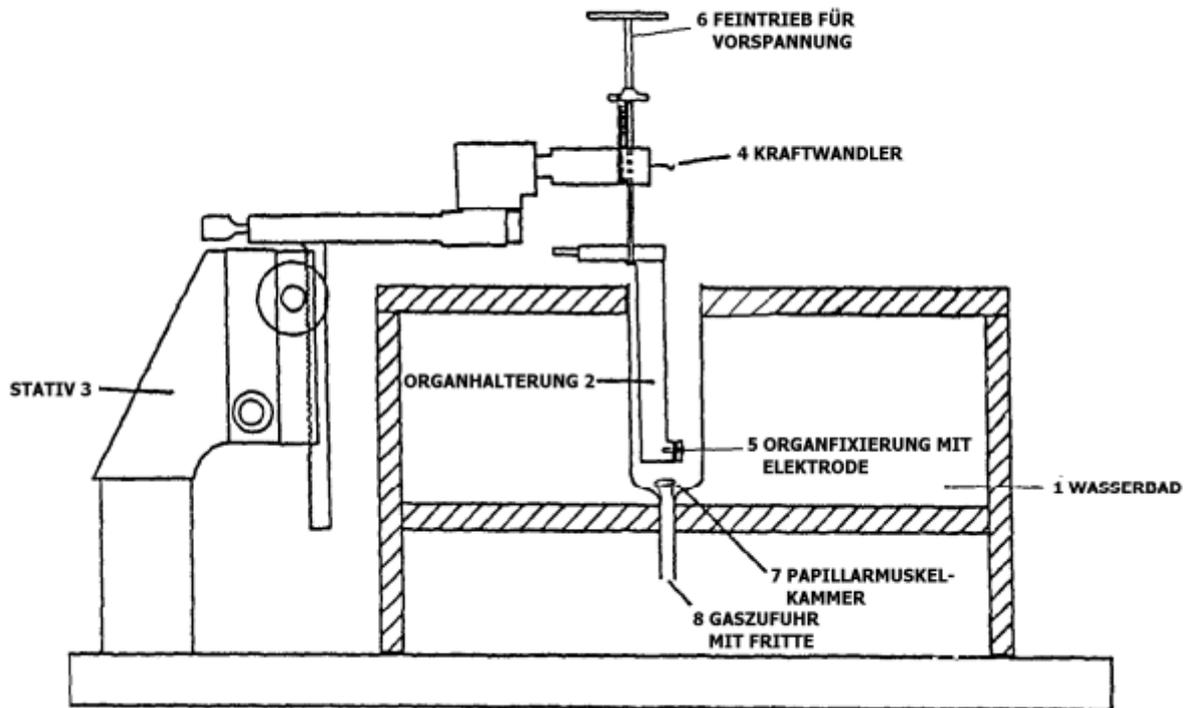


Abbildung 7: schematische Darstellung der Versuchsanordnung B

### 2.5.3. Gaszufuhr

Die Gasversorgung der Apparaturen wurde anhand einer Gasflasche gewährleistet. Die einzelnen Ventile sind mittels Schläuche mit den Geräten verbunden. Diese Verbindungsschläuche mündeten in einer Fritte, um eine feine Gasverteilung in der Nährlösung zu gewährleisten. Die Gaszufuhr selbst wurde mittels Schraubklemmen, welche sich den Schläuchen befand, reguliert.

Bei dem verwendeten Gas, handelte es sich um ein Gasgemisch, zusammengesetzt aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid. Das Gas wird auch Oxymix genannt. Während des gesamten Versuches musste man drauf achten, dass die Gasversorgung gewährleistet war, denn sie diente:

- der ausreichenden Sauerstoffversorgung der isolierten Organe
- der Aufrechterhaltung des physiologischen pH- Werts (7,2-7,4) im Organbad
- und der homogenen Verteilung der Testsubstanz in der Tyrode

#### **2.5.4. Kraftwandler, Verstärker, Reizgerät, Schreiber**

Der Kraftwandler (Transducer), welcher durch Gewichte geeicht ist, ermöglicht die Umwandlung mechanischer Kontraktion in elektrische Impulse. Dies war nötig, weil ja Inotropie eine rein mechanische Größe ist und als solche so nicht aufgezeichnet werden konnte. Der Transducer bestand aus einem Dehnungsstreifen, der bei Dehnung seinen Widerstand änderte. Beruhend auf dem Ohm'schen Gesetz ( $I = U/R$ ), ändert sich bei gleichbleibender Spannung die Stromstärke proportional zum Widerstand.

Mithilfe des Verstärkers, auch Amplifier (4-Channel Transducer Amplifier; World Precisions Instruments, USA) genannt, wurde das elektrische Signal verstärkt.

Das sogenannte Reizgerät Accupulser A 310 (World Precision Instruments, Hamden, USA) war deshalb von Bedeutung, da der Papillarmuskel im Vergleich zum Vorhof keine Spontanaktivität aufweist, und deshalb durch elektrische Reize zur Kontraktion angeregt werden musste. Das isolierte Organ wurde mit Rechteckimpulse für 3 ms bei Frequenz von 1 Hz gereizt. Um die richtige Reizstärke herauszufinden, wurde sie so lange erhöht, bis das eingespannte Präparat anfang eine Kontraktion zu zeigen. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten musste der Muskel eine Kontraktion pro Sekunde durchführen.

Den letzten Schritt im Versuchsablauf, stellt der Schreiber ( Flatbed Recorder BD- 112 Dual Channel; Firma Kipp & Zonen, NL ) dar, hierbei wurde das verstärkte Signal in Form von Kurven auf Millimeterpapier aufgezeichnet.

### ***2.6. Versuchsablauf***

Am Vortag war es immer wichtig nach dem Beenden der Versuche , bzw. nach jedem durchgeführten Versuch die Apparaturen zu reinigen. Dazu wurde zunächst eine 2% ige Salzsäure verwendet, um auskristallisierte Salze der Nährlösung zu entfernen. Danach wurde

die Apparatur zweimal mit Aqua bidestillata gründlich durchgespült. Am Anfang eines Versuchstages wurde dann noch einmal mit frisch hergestellter Tyrodelösung und mit Aqua bidestillata gespült.

Das Organbad wurde mit der entsprechenden Menge an Tyrodelösung befüllt, abhängig von der Größe des Organbades entweder 8 oder 25 ml. Dann wurde die Gaszufuhr mithilfe einer Schraube geregelt.

Das Hinzufügen der Testsubstanzen erfolgte kumulativ in folgenden Konzentrationsstufen 1; 3; 10; 30; 100  $\mu\text{mol/l}$ .

### **2.6.1. Versuchsablauf bei Arteria pulmonalis**

Das Präparat wurde zunächst eingehängt und dann sofort ins Organbad abgesenkt, welches mit Nährlösung (Tyrode) aufgefüllt und mit Oxymix begast wurde. Die eingehängte Arteria pulmonalis sollte so tief in der Nährlösung eingetaucht sein, sodass das Präparat komplett mit Nährlösung bedeckt war.

Der Schreiber wurde eingeschaltet und sein Stift auf die Nulllinie gestellt. Anschließend wurde der Verstärker aktiviert, wodurch sich der Schreiber verstellte und man ihn deshalb wieder auf Null stellen musste. Nun wurde mittels Feintrieb auf 9,81 mV vorgespannt um eine stärkere Kontraktion zu erhalten. Durch das Vorspannen wurde der Stift des Schreibers wieder verstellt, sodass man erneut mittels Regelknopf des Amplifiers auf die Nulllinie korrigieren musste. Nach einer Anpassungszeit von 20 Minuten korrigierte man etwaige Abweichungen vom Nullpunkt mittels Mikrometer nach. Der nächste Schritt war es nun die Änderung der Kontraktionskraft zu messen, dies erfolgte durch Vorkontraktion mit KCL-Lösung, deren Konzentration 90 mmol/l betrug. Dies entsprach einer Einwaage von 0,67 g KCL in 100 ml Tyrodelösung. Nach 20 Minuten Wartezeit, wurde die im Organbad vorhandene Nährlösung abgelassen, und dann wurde das Organbad, abhängig von dessen Größe entweder mit exakt 8 oder 25 ml KCL-Lösung aufgefüllt. Die daraufhin erfolgte Kontraktion wurde vom Schreiber erfasst und aufgezeichnet. Nun musste gewartet werden, bis sich ein Plateau gebildet hat, das heißt die Konzentrationskurve durfte sich ab diesem Zeitpunkt nicht mehr verändern. Nun konnte die Testlösung hinzugefügt werden.

Die Zugabe fand mittels Finnipipetten (Fa. Labsystems, Finnland). Beim Hinzufügen der Testsubstanz musste man jedoch vorsichtig vorgehen, um die Organhalterung nicht zu berühren, weil dadurch der Stift verstellt wurde. Falls man aber trotz größter Vorsicht, mit der Halterung in Berührung kam, so musste man wieder mit dem Stift in Ausgangsposition zurückgehen. Die jeweiligen Volumina der Testlösung wurden kumulativ jeweils nach einer Zeitspanne von 45 Minuten zugegeben. Die dadurch entstandene Veränderung der Kontraktion wurde vom Schreiber aufgezeichnet. Der Zeitpunkt der jeweiligen Substanzzugabe wurde manuell am Millimeterpapier gekennzeichnet.

### **2.6.2. Versuchsablauf bei Aorta**

Der fertig präparierte Aortenring wurde direkt eingehängt und dann in das mit Nährlösung aufgefüllte Organbad eingetaucht.

Schreiber und Verstärker wurden in gleicher Weise wie bei Kapitel 2.6.2 aktiviert. Nun wurde bei 10 mV eine Vorspannung von 19,6 mN angelegt. Nach einer Anpassungsphase von 20 min wurde auf 5 mV umgeschaltet. Etwaige Verstellung des Schreiberstiftes wurde korrigiert, sodass der Stift sich wieder auf der Nulllinie befand. Nun wurde am Schreiber mittels „Pen down“ und „Record on“ mit den Aufzeichnungen angefangen. Daraufhin wurde sofort die Nährlösung abgelassen und eine 90 mmolare KCL- Lösung zugefügt. Nach dem die Konzentrationskurve ein konstantes Plateau erreicht hatte, konnte man in einem Intervall von 45 min mit dem kumulativen Einspritzen der Testlösung anfangen (siehe Pipettierschema). Mögliche dilatierende Wirkung der Testsubstanz wurde durch das kontinuierliche Aufzeichnen der Kontraktionskurve festgehalten.

### **2.6.3. Versuchsablauf bei Ileum terminales**

Das zuvor präparierte Darmstück wurde mit den Silberdrahthäkchen an die Apparatur 2 angebracht. Nach dem Einhängen des Präparats wurde es in die Tyrodelösung eingetaucht.

Anschließend wurden Schreiber und Amplifier wie schon zuvor beschrieben eingeschaltet und eingestellt. Beim Ileum wurde der Versuch jedoch bei einer Stromstärke von 5 mV und einer Vorspannung von 4,9 mN durchgeführt.

Nach einer 20 minütigen Gewöhnungsphase, wurde bei einer leichten Veränderung der Nulllinie, wieder nachgestellt. Es wurde nun wieder die Nährlösung abgelassen und durch KCL- Lösung ersetzt. Diesmal wurde aber eine 60 mmolare Kaliumchloridlösung verwendet, dies entsprach einer Einwaage von 0,44 g KCl gelöst in 100 ml Nährlösung. Es kam sofort zum Ausschlag der Kontraktionskurve, die sich aber nach kurzer Zeit wieder langsam einpendelte.

Nachdem die konstante Plateauphase der Kontraktionskurve erreicht war, nach mindestens 45 min, konnte mit der kumulativen Injektion von der Testlösung begonnen werden (siehe Pipettierschema).

#### **2.6.4. Versuchsablauf beim rechten Vorhof**

Der fertig präparierte Vorhof wurde mit den 2 angebrachten Silberdrahthäkchen in die Versuchsanordnung 1 eingehängt und in das Organbad eingetaucht.

Beim Einspannen musste man darauf achten das Organ nicht allzu sehr zu dehnen, da später mittels Feintrieb das isolierte Organ nochmals gespannt wurde.

Der Schreiber wurde eingeschaltet und auf die Nulllinie gestellt. Anschließend wurde der Amplifier aktiviert, wodurch sich der Stift verstellte und man wieder auf die Nulllinie korrigieren musste. Nun wurde wieder mittels Feintrieb auf 10,4 mN vorgespannt. Dies erfolgte bei einer Stromstärke von 5 mV. Durch das Vorspannen verrückte der Schreiberstift und wurde aber dann wieder mit dem Regelknopf des Amplifiers auf die Nulllinie korrigiert. Da diese Vorspannung während des ganzen Versuchsablaufs aufrechterhalten bleiben sollte, musste wegen der hohen Elastizität des Organs, laufend mittels Feintrieb nachjustiert werden.

Nach einer Anpassungszeit von ca. 30 min beobachtete man die Schlagfrequenz, indem man alle 5 min die Ausschläge über eine Länge von 6 cm aufzeichnete. Der Papiervorschub wurde dabei auf eine Geschwindigkeit von 5mm/s eingestellt. Sobald die Anzahl der Schläge konstant war, also eine konstante Chronotropie herrschte (+/- 1 Schlag), konnte mit der kumulativen Zugabe von der Testsubstanz, die alle 45 min erfolgte, begonnen werden. Mit dem Einspritzen begann die Kontrollphase, nun musste bis zum Ende des Versuchs alle 5 min eine Messung durchgeführt werden, indem man wieder die Ausschläge über eine Länge von 6 cm aufzeichnete.

### **2.6.5. Versuchsablauf bei Papillarmuskel**

Der isolierte und fertig präparierte Papillarmuskel wurde an die Versuchsapparatur 2 angebracht und in das auf 35 Grad Celsius temperierte Organbad eingesenkt. Bei einer Stromstärke von 5 mV ( bei Bedarf 2 oder 1 mV ) wurde er bei 3.92 mN vorgespannt. Da der Papillarmuskel im Vergleich zum Vorhof keine Spontanaktivität besitzt, wurde der Papillarmuskel mittels elektrischer Reizung zur Kontraktion angeregt (siehe Kapitel 2.5.5). Auch hier war das Nachjustieren der Vorspannung während des ganzen Versuchsablaufs aufgrund der Plastizität des Organs nötig. Eine Abnahme der Kontraktionskraft wurde somit durch die Verringerung der Ausgangsspannung verhindert ( Reiter 1967).

Nach der Anpassungsphase begann man mit der Kontrolle, hierfür wurden alle 5 Minuten mindestens 6 Kontraktionsamplituden mit dem Schreiber aufgezeichnet. Sobald diese konstant waren, konnte wieder mit der kumulativen Zugabe der Testsubstanz begonnen werden. Auch hier erfolgte wieder die Substanzzugabe alle 45 min, und genauso wie bei dem zuvor beschriebenen Vorhof musste alle 5 Minuten eine Messung gemacht und dokumentiert werden.

## **2.7. *Bereitung der Stammlösungen***

Da die Untersuchungssubstanz wasserunlöslich war, wurde sie in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. DMSO ist ein organisches Lösungsmittel, das eine gewisse Wirkung an den isolierten Organen besaß. Dies beeinträchtigte natürlich die Versuchsergebnisse und musste deshalb bei der Ergebnisauswertung berücksichtigt werden.

Um die Eigenwirkung von DMSO bestimmen zu können, mussten Versuchsreihen erstellt werden, die nach demselben Schema abliefen, wie die tatsächlichen Versuche. Die gemessenen DMSO- Werte wurden als gemittelte Prozentsätze beim jeweiligen Organ entweder addiert oder subtrahiert . Die Wirkung von DMSO auf den rechten Vorhof wurde ignoriert, da es die Schlagfrequenz nicht beeinträchtigte.

### **2.7.1. Stammlösung der Testsubstanz**

Die Stammlösung bestehend aus DMSO und Testsubstanz musste täglich frisch hergestellt werden. Beim Einwiegen der Substanz musste jedoch berücksichtigt, ob der Versuch in einem 25 ml – oder 8ml Organbad durchgeführt wurde.

Tabelle 2: Stammlösungen

<b>Stammlösung</b>	<b>Organbad</b>	<b>Einwaage der Substanz</b>
PGU 124	25ml	0,70mg
PGU 124	8ml	0,23mg

Das Gewicht der Untersuchungssubstanz wurde über die molare Masse ermittelt. Die abgewogene Menge der Testsubstanz wurde in 100 µl DMSO gelöst.

Während der Versuchsreihen wurde die Stammlösung in unterschiedlichen Konzentrationen mit Hilfe der Kolbenhubpipette zugefügt (siehe Pipettierschema). Das kumulative Einspritzen der Testsubstanz erfolgte immer nach Erreichen des „steady state“ im Abstand von 45 min. Beim Einspritzen sollte darauf geachtet werden, dass man den Kraftwandler nicht berührte.

Zugeführtes Volumen	Gesamtkonzentration im Organbad
1 $\mu$ l	1 $\mu$ mol/l
2 $\mu$ l	3 $\mu$ mol/l
7 $\mu$ l	10 $\mu$ mol/l
20 $\mu$ l	30 $\mu$ mol/l
70 $\mu$ l	100 $\mu$ mol/l

Tabelle 3: Pipettierschema

### 3. Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Versuchsergebnisse der jeweiligen Testsubstanzen an den isolierten Organen der Meerschweinchen analysiert.

Um ein repräsentatives Ergebnis gewährleisten zu können, wurden pro Organ mindestens 4 Versuche durchgeführt.

Für die Überprüfung des Wirkmechanismus (mit Nitro-L-Arginin) mussten mindestens 3 Versuchsreihen an einem ausgewählten Organ (terminales Ileum).

Mit Hilfe von Tabellen und Konzentrations-Wirkungs-Kurven sollen die erhaltenen Daten nun analysiert werden.

#### ***3.1. Wirkung von PGU 124 auf terminales Ileum***

Der genaue Versuchsablauf wurde bereits in Kapitel 2.6.2 ausführlich beschrieben. Es wurden insgesamt 5 Versuche durchgeführt, um die Wirkung der Testsubstanz auf die Kontraktionskraft zu untersuchen. Das Präparat wurde zunächst mit einer Kaliumchloridlösung zur Vorkontraktion angeregt. Die Testsubstanz wurde in den Konzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100  $\mu\text{mol/l}$  in einem Abstand von jeweils 45 Minuten zugesetzt.

Zu Beginn des Versuchs, also nachdem die erste Konzentration der Testsubstanz zugesetzt wurde, betrug die Kontraktionskraft  $8,83 \pm 1,37$  mN im Mittel. Dieser Wert entsprach 100%. Bei den ersten drei Konzentrationen kam es zu einer leichten Abnahme der Kontraktionskraft. Bei dem Hinzufügen von 20  $\mu\text{l}$  Testsubstanz kam es zu einer stärkeren Abnahme (Kurve verschob sich zum ersten Mal stark nach rechts). Nach dem Zusetzen der letzten Konzentration wurde der tiefste Punkt erreicht. Dieser lag bei  $1,59 \pm 0,86$  mN.

<b>PGU 124</b>	<b>fc ± SEM</b> <b>(mN)</b>	<b>fc ± SEM</b> <b>(%)</b>	<b>Anzahl</b> <b>d.Versuche</b> <b>(N)</b>	<b>Irrtumswahr-</b> <b>scheinlichkeit</b> <b>(P)</b>
<b>0 (Kontrolle)</b>	8,83 ± 1,37	0 ± 0	5	-
<b>1</b>	7,82 ± 1,27	-11,46 ± 2,77	5	n.s.
<b>3</b>	6,82 ± 1,20	-23,90 ± 2,67	5	0,05
<b>10</b>	5,88 ± 1,37	-36,38 ± 5,25	5	0,05
<b>30</b>	3,87 ± 1,17	-59,52 ± 6,69	5	0,01
<b>100</b>	1,59 ± 0,86	-85,14 ± 7,29	5	0,001

Tabelle 4 : Wirkung von PGU 124 auf das terminale Ileum

Diese Tabelle soll die Mittelwerte der Kontraktionskraft (fc) und deren Standardfehler wiedergeben (SEM). Der Standardfehler wird sowohl in mN als auch in Prozent angegeben. Außerdem werden die Anzahl der Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben.

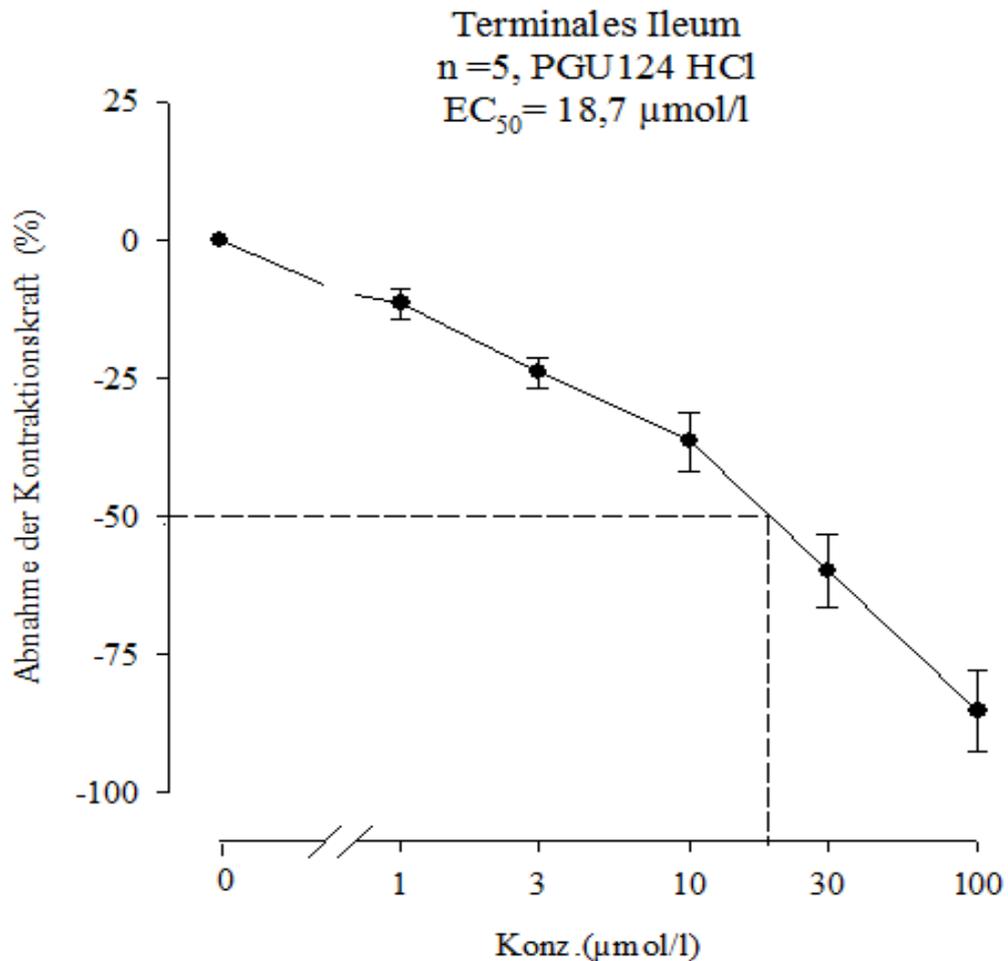


Abbildung 8 : Konzentrations-Wirkungskurve von PGU 124 am terminalen Ileum

Anhand dieser Kurve soll die Abnahme der Kontraktionskraft, bei verschiedenen Konzentrationen von PGU 124 veranschaulicht werden. Auf der Ordinate wird die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent angezeigt. Auf der Abszisse wird die jeweilige Konzentration in µmol/l angegeben. Die Abnahme der Kontraktionskraft ist besonders gut ersichtlich. Bei diesem Versuch wurde ein EC<sub>50</sub>-Wert von 18,7 µmol/l erreicht. Die Länge der senkrechten Balken soll die Standardfehler wiedergeben.

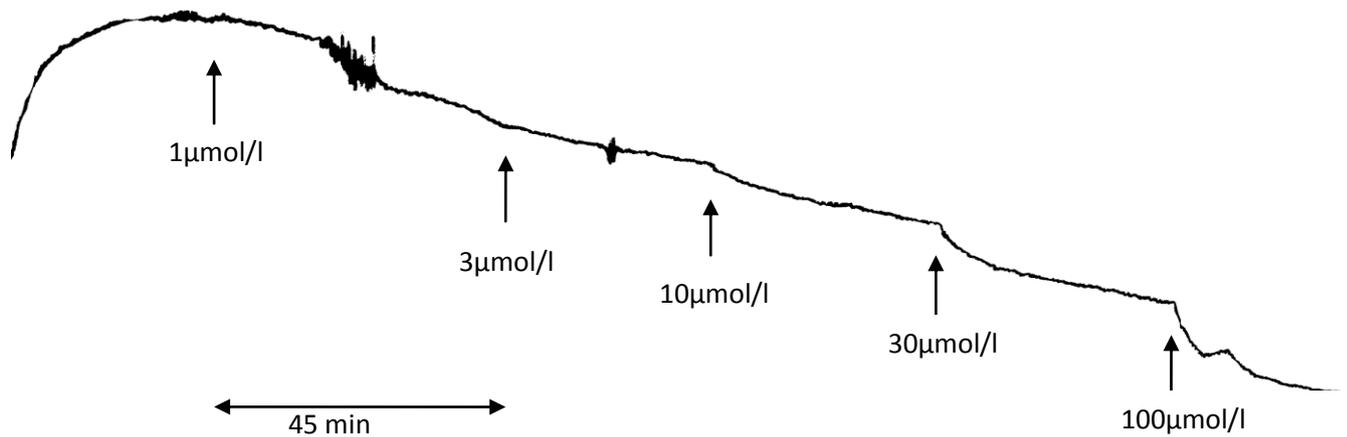


Abbildung 9 : Originalaufzeichnung von PGU124 am terminalen Ileum

Anhand der Abbildung sieht man sehr schön wie mit jedem (einzelnen) Zusetzen der unterschiedlichen Konzentrationen eine Abnahme der Kontraktionskraft stattfindet. Die stärkste Abnahme wurde bei der letzten Konzentration registriert.

### ***3.2. Wirkung von PGU 124 auf die Aorta***

Zur Untersuchung der Auswirkung der Testsubstanz auf die Kontraktionskraft der Aorta, wurden 4 Präparate herangezogen. Um eine maximale Vorkontraktion zu erreichen, wurde das isolierte Präparat mit KCl- Lösung versetzt. Die Lösung wurde wieder in den jeweiligen Konzentrationen, in einem 45-minütigem Intervall zugesetzt. Auch hier wurde die Eigenwirkung vom Lösungsmittel DMSO bei der Berechnung berücksichtigt.

Zu Beginn des Versuches, betrug die Kontraktionskraft  $5,44 \pm 0,84$  mN. Bei der kumulativen Zugabe der Testsubstanz gab es kaum eine Veränderung der Kontraktionskraft. Erst ab der Zugabe von  $30 \mu\text{mol/l}$  kam es zur ersten bemerkbaren Veränderung der Kontraktionskraft. Mit dem Hinzufügen der letzten Konzentration erreichte die zu ermittelnde Größe ihren tiefsten Punkt, dieser lag bei  $1,72 \pm 0,16$  mN beziehungsweise  $- 67,28 \pm 3,48\%$ .

<b>PGU 124</b>	<b>fc ±SEM (mN)</b>	<b>fc ± SEM (%)</b>	<b>Anzahl d. Versuche</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit (P)</b>
<b>0(Kontrolle)</b>	5,44 ± 0,84	0 ± 0	4	-
<b>1</b>	4,87 ± 0,72	-9,90 ± 0,65	4	n.s.
<b>3</b>	4,44 ± 0,70	-18,51 ± 1,61	4	0,05
<b>10</b>	4,11 ± 0,60	-24,21 ± 1,60	4	0,05
<b>30</b>	3,27 ± 0,35	-38,95 ± 2,97	4	0,01
<b>100</b>	1,72 ± 0,16	-67,28 ± 3,47	4	0,001

Tabelle 5 : Wirkung von PGU 124 auf die Aorta

In der Tabelle findet man die verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanz , sowie die Änderung der Kontraktionskraft (in mN und Prozent angegeben). Zusätzlich sind auch Irrtumswahrscheinlichkeit sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche angeführt.

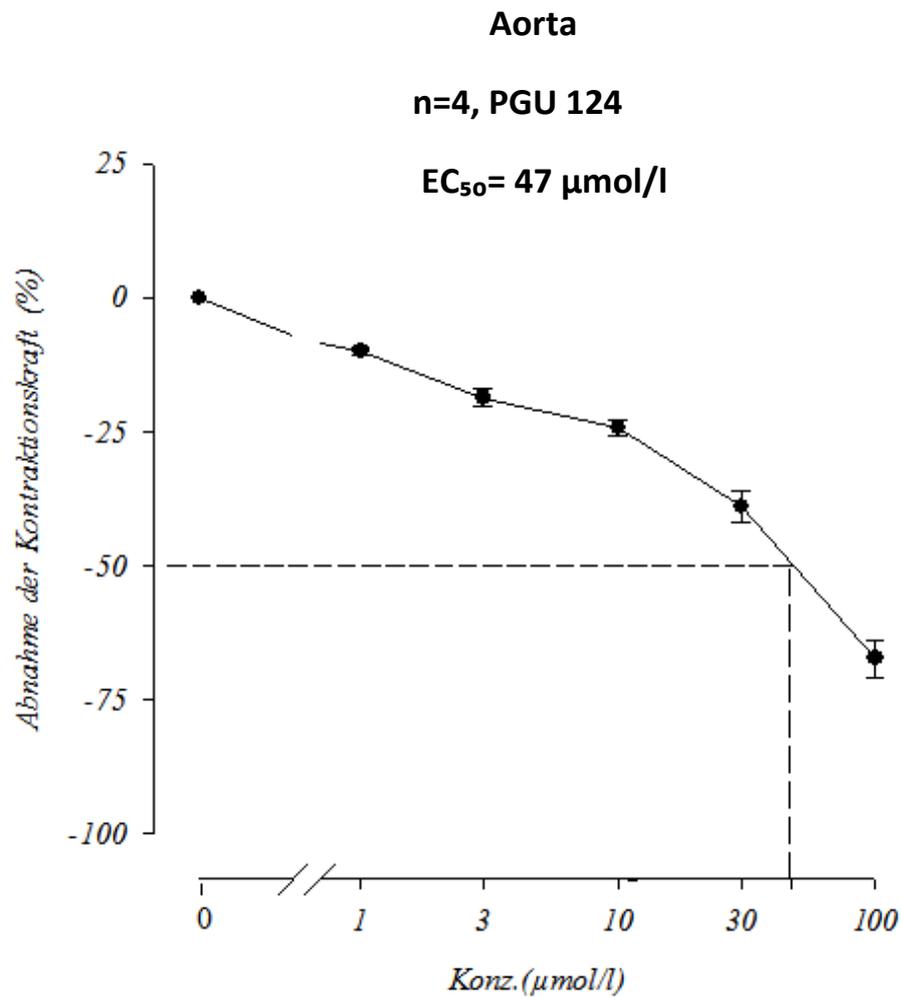


Abbildung 6 : Konzentrations-Wirkungskurve von PGU 124 an der Aorta

Der Graph stellt deutlich dar, dass die Kontraktionskraft am Anfang nicht signifikant abnahm. Erst ab einer Konzentration von 30 µmol/l merkt man die deutliche Abnahme der Kontraktionskraft. Auch hier gab es wieder einen EC<sub>50</sub> -Wert, dieser betrug 47 µmol/l.

Die senkrechten Balken sollen den Standardfehler wiedergeben.

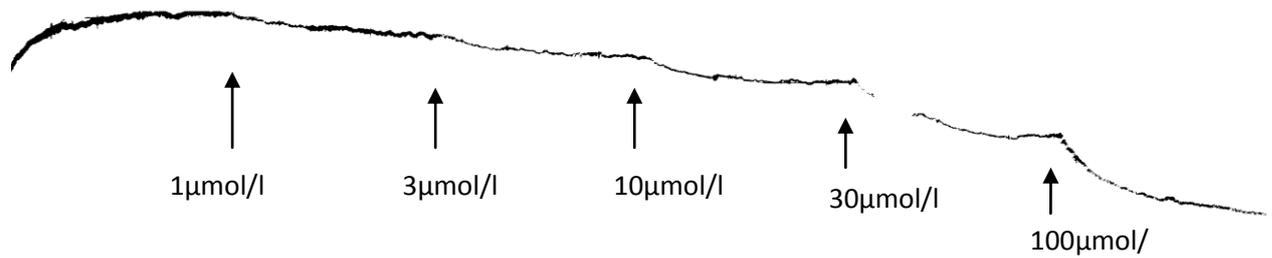


Abbildung 11 : Originalaufzeichnung von PGU 124 an der Aorta

Die Aufzeichnung zeigt deutlich, dass zu Beginn des Versuches es kaum zu einer Veränderung der Kontraktionskraft kam. Erst mit dem Zusetzen von 30 µmol/l Testsubstanz trat die erste signifikante Abnahme der Kontraktionskraft ein.

### ***3.3. Wirkung von PGU 124 auf die Arteria pulmonalis***

Zur Untersuchung der Wirkung der Testsubstanz, wurde das isolierte Präparat wieder mit einer Kaliumchloridlösung versetzt. Mit Hilfe dieser Lösung sollte auch hier eine Vorkontraktion der Arteria pulmonalis erreicht werden. Nach dem Erreichen der Plateuphase wurde die Substanz in den Konzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l jeweils in einem Abstand von 45 Minuten zugesetzt. Auch hier wurde die Eigenwirkung von DMSO bei der Berechnung berücksichtigt.

Zu Beginn des Versuches nahm die Kontraktionskraft kaum ab. Eine signifikante Änderung konnte beim Zusetzen von 30 µmol/l beobachtet werden. Die stärkste Abnahme der Kontraktionskraft wurde bei der letzten Konzentration registriert. Die Kontraktionskraft betrug nun  $5,16 \pm 1,95\text{mN}$  bzw.  $- 41,87 \pm 4,84\%$ .

<b>PGU 124</b>	<b>fc ±SEM (mN)</b>	<b>fc ±SEM (%)</b>	<b>Anzahl d.Versuche</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit P</b>
<b>0(Kontrolle)</b>	10,44 ±1,84	0±0	4	-
<b>1</b>	9,96 ±1,82	-4,86±0,60	4	n.s.
<b>3</b>	9,51 ±1,76	-9,44±1,58	4	n.s.
<b>10</b>	9,28 ±1,69	-11,43±1,92	4	0,05
<b>30</b>	8,38 ±1,60	-20,40±3,36	4	0.05
<b>100</b>	5,16±1,95	-41,87±4,84	4	0,01

Tabelle 6 : Wirkung von PGU 124 auf die Arteria pulmonalis

In der Tabelle sind die verwendeten Konzentrationen der Testsubstanz, die Mittelwerte der Kontraktionskraft ersichtlich. Außerdem sind Anzahl der durchgeführten Versuche und Irrtumswahrscheinlichkeit angeführt.

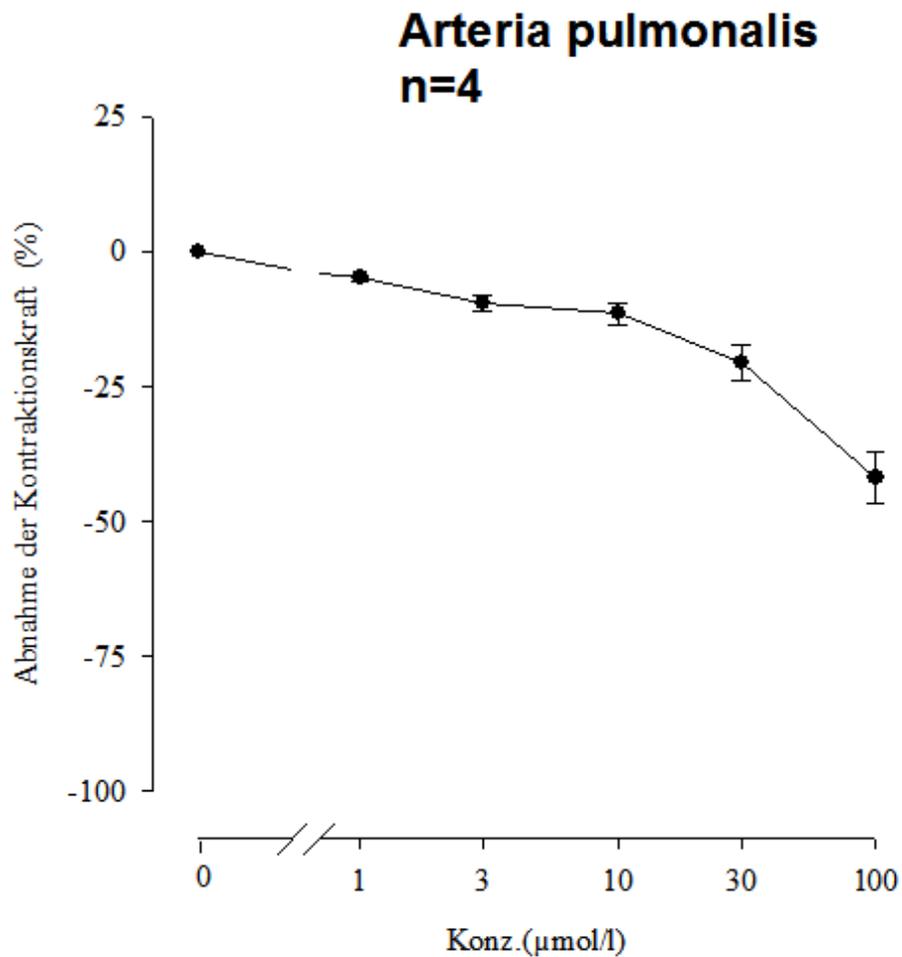


Abbildung 12 : Konzentrations-Wirkungs- Kurve von der isolierten Arteria pulmonalis

In der Abbildung soll die Abnahme der Kontraktionskraft dargestellt werden. Auf der Ordinate (y-Achse) ist die Kontraktionskraft in Prozent angegeben. Auf der Abszisse (x-Achse) sind die unterschiedlichen Konzentrationen in µmol/l eingetragen. Wie ersichtlich ist, konnte hier kein EC<sub>50</sub>- Wert ermittelt werden.



Abbildung 13 : Originalaufzeichnung von PGU 124 an der Arteria pulmonalis

Die Aufzeichnung des Versuches, welcher an der Arteria pulmonalis stattfand, zeigt anfangs einen steilen Anstieg der Kontraktionskraft. Dieser Anstieg kam durch die Vorkontraktion mit KCl-Lösung zustande. Danach veränderte sich kaum etwas an der Kurve, erst ab der Zugabe von 30 µmol/l kam es zur ersten bemerkbaren Abnahme der Kontraktionskraft.

### ***3.4. Wirkung von PGU 124 auf den Papillarmuskel***

Die Versuchsdurchführung erfolgte wie bereits erklärt. Für die Untersuchung der PGU-Wirkung wurden 4 Versuche am isolierten Papillarmuskel durchgeführt. Das Organbad wurde wieder mit den jeweiligen Konzentrationen ( siehe vorangegangene Versuche) in einem Intervall von 45 Minuten versetzt. Die Auswirkungen von DMSO wurden auch hier wieder berücksichtigt.

Während der Kontrollphase betrug die Kontraktionskraft  $1,12 \pm 0,35$  mN. Die folgenden Konzentrationszusätze verursachten eine Abnahme der Inotropie. Jedoch wurde ab einer Zugabe von 10 µmol/l ersichtlich, dass die Inotropie wieder langsam zunahm, bis sie schließlich am Ende des Versuches  $1,15 \pm 0,38$  mN bzw.  $1,4 \pm 2,75$  % betrug.

PGU 124	fc ± SEM (mN)	fc ± SEM (%)	Anzahl d. Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
<b>0(Kontrolle)</b>	1,11±0,35	0±0	4	-
<b>1</b>	0,87±0,23	-19,44±5,07	4	n.s.
<b>3</b>	0,81±0,20	-24,03±4,30	4	n.s.
<b>10</b>	0,95±0,29	-14,71±3,65	4	n.s.
<b>30</b>	0,10±0,33	-11,89±1,81	4	n.s.
<b>100</b>	1,15±0,38	1,4±2,76	4	n.s.

Tabelle 7: Wirkung von PGU 124 auf isolierte Papillarmuskel

Dieser Tabelle kann man die verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanz, sowie die Änderung der Inotropie in mN bzw. Prozent entnehmen. Außerdem findet man die Anzahl der erfolgten Versuche sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit.

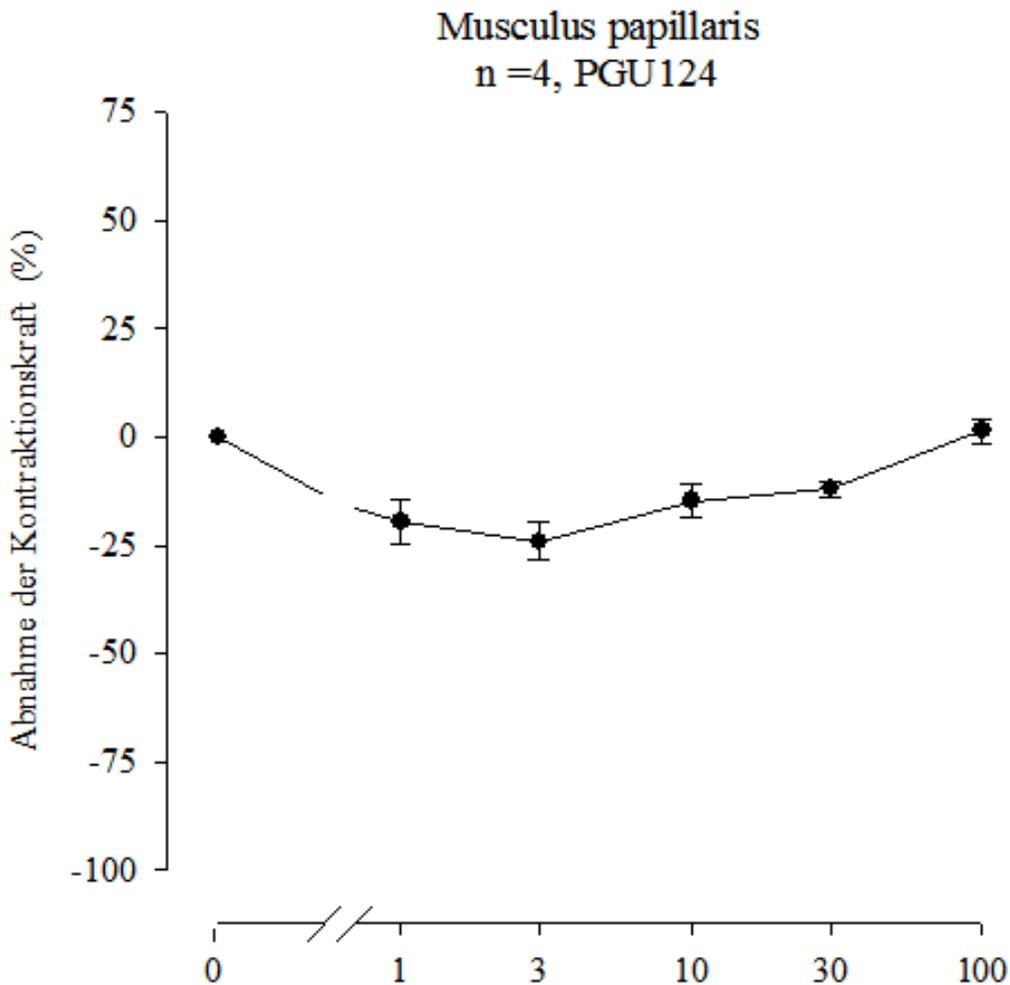


Abbildung 14 : Konzentrations-Wirkungskurve von dem isolierten Papillarmuskel

Der Graph stellt die Zunahme der Kontraktionskraft (Inotropie) dar. Auf der Ordinate ist die Kontraktionskraft in Prozent angegeben, auf der Abszisse sind hingegen die unterschiedlichen Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) der verwendeten Testsubstanz eingetragen. Es ist anhand der Kurve ersichtlich, dass die Inotropie zuerst abnimmt und dann aber zunimmt.

Die senkrechten Balken repräsentieren den Standardfehler.

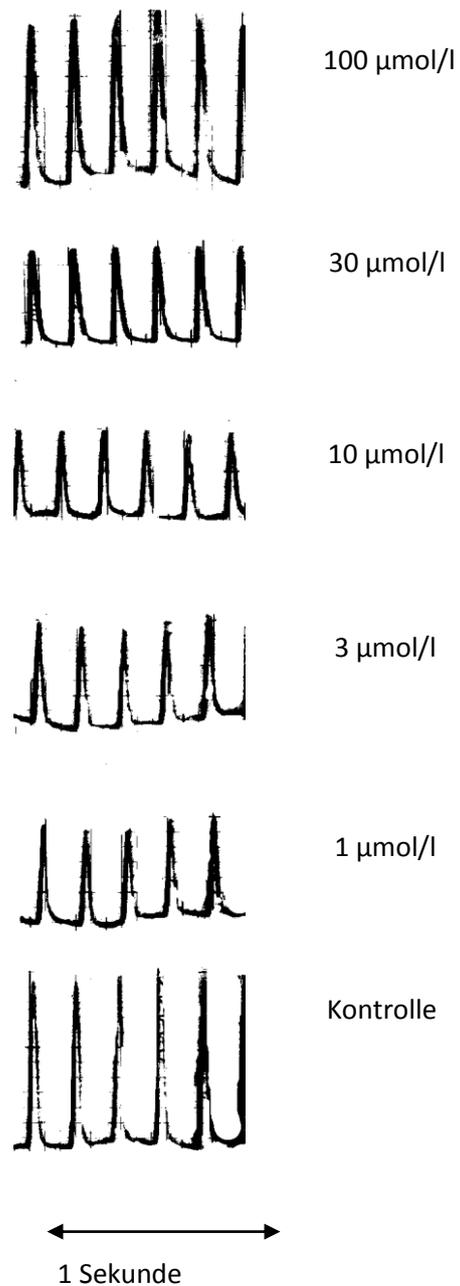


Abbildung 15 : Originalaufzeichnung von PGU 124 am Papillarmuskel

Die Aufzeichnung zeigt wie sich die Injektion der verschiedenen Konzentrationen auf die Inotropie auswirkt.

Die einzelnen Amplituden stellen die Kontraktionskraft dar. Je größer die Amplitude ist, umso stärker die Inotropie. Die Aufnahmen erfolgten alle 5 Minuten.

### ***3.5 Wirkung von PGU 124 auf den Vorhof***

Für die Untersuchung der Wirkung der Testsubstanz wurden 4 Organpräparate verwendet. In diesem Fall sollte die Veränderung der Schlagfrequenz beobachtet werden. Die Substanz wurde wieder wie gewöhnlich in den Konzentrationen 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l in einem Abstand von 45 Minuten zugesetzt. Die Auswirkungen von DMSO wurden natürlich auch hier berücksichtigt.

Während der Kontrollphase betrug die Schlagfrequenz  $158,75 \pm 11,79$  Schläge/Minute.

Die stärkste Abnahme der Frequenz war nach dem Zusetzen von 1 µmol/l zu sehen. Mit den weiter folgenden Konzentrationen nahm die Frequenz zwar weiter ab, jedoch nur sehr geringfügig. Sodass bei den Konzentrationen 30 und 100 µmol/l die Chronotropie beinahe konstant blieb.

<b>PGU 124</b>	<b>fc ± SEM (mN)</b>	<b>fc ±SEM (%)</b>	<b>Anzahl d. Versuche</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit</b>
<b>0(Kontrolle)</b>	158,75±11,79	0±0	4	-
<b>1</b>	146,25 ±12,31	-8,00±1,95	4	n.s.
<b>3</b>	146,25±14,34	-8,29±4,04	4	n.s.
<b>10</b>	142,50±13,15	-10,63±2,18	4	n.s.
<b>30</b>	143,75±14,63	-10,05±3,71	4	n.s.
<b>100</b>	143,75±16,63	-10,36±4,99	4	n.s.

Tabelle 8: Wirkung von PGU 124 auf rechte Vorhöfe

Dieser Tabelle kann man die verwendeten Konzentrationen der Testsubstanz, die Änderungen der Schlagfrequenz in mN sowie in Prozent entnehmen. Weiters sind auch Irrtumswahrscheinlichkeit und die Anzahl der durchgeführten Versuche angeführt.

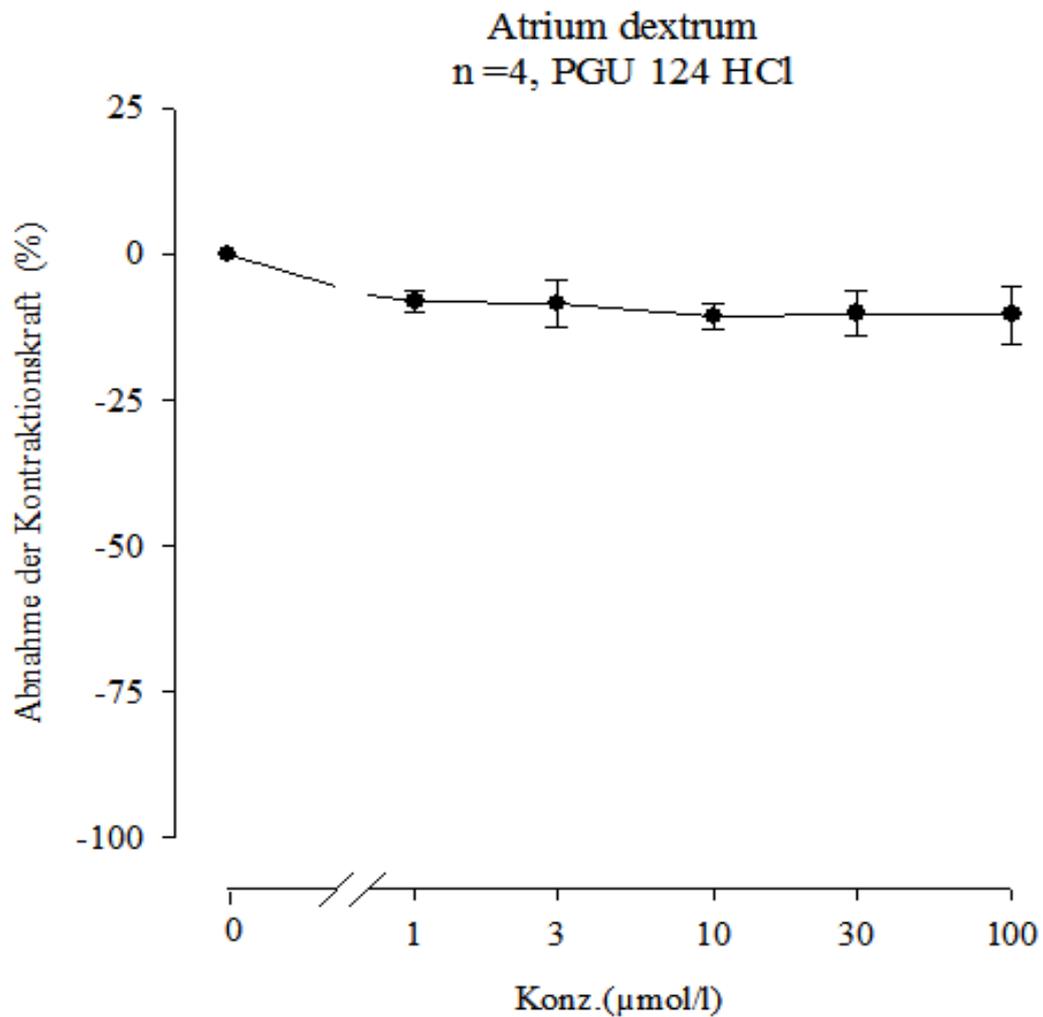


Abbildung 16 : Konzentrations- Wirkungskurve der Wirkung der Wirkung von PGU 124 an isolierten Vorhöfen

Der Graph verdeutlicht die Abnahme der Schlagfrequenz. Auf der Ordinate ist die Abnahme der Schlagfrequenz in Prozent angegeben, während auf der Abszisse die Konzentrationen in  $\mu\text{mol/l}$  eingetragen sind. Die senkrechten Balken sollen den Standardfehler darstellen.

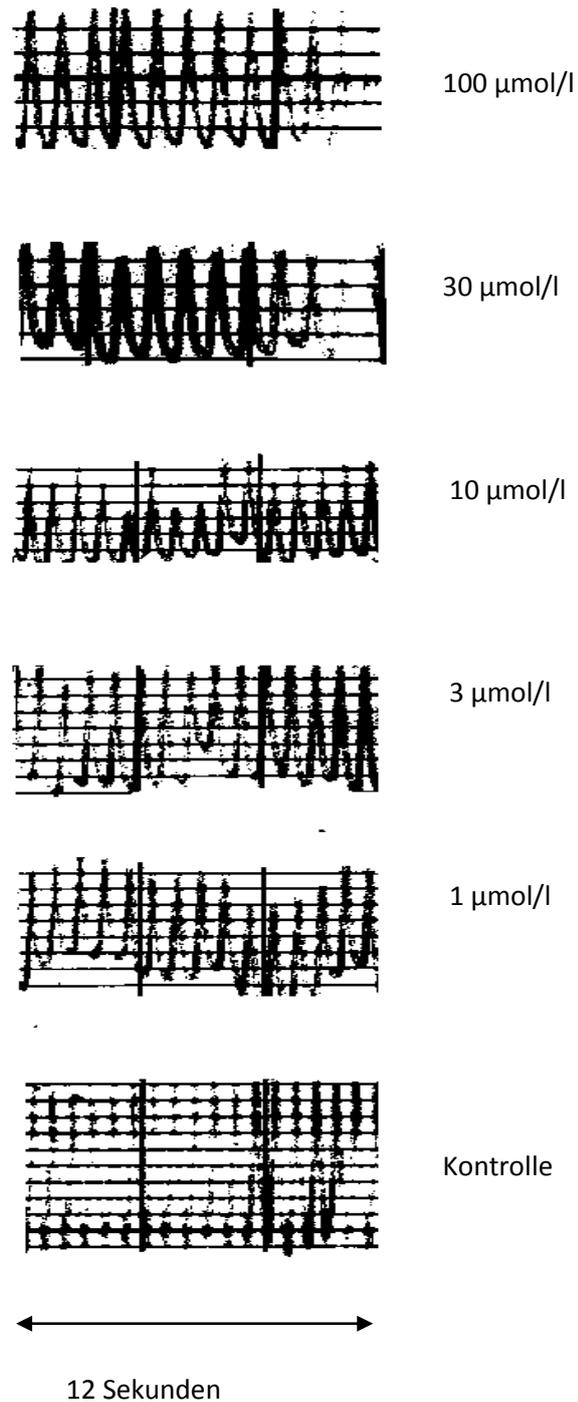


Abbildung 17: Originalaufzeichnung von PGU 124 an rechten Vorhöfen

Diese Aufzeichnung soll die Schlagfrequenz genauer darstellen, welche anhand der Ausschläge des Schreibers pro Minute berechnet wurde.

Um die Schlagfrequenz pro Minute zu erhalten wurde für eine Dauer von 12 Sekunden aufgezeichnet und dann anschließend mit dem Faktor 5 multipliziert. Die kumulative Zugabe der Substanzlösung erfolgte in einem Intervall von 45 Minuten.

### ***3.6. Resultate der Untersuchung mit Nitro- L-Arginin***

Für diese Untersuchung wurde eine Reihe von Versuchen am terminalen Ileum durchgeführt. Insgesamt wurden 6 Versuche durchgeführt. Für die ersten 3 Versuche verwendete man 30 µl Nitro-L-Arginin, während für die restlichen Versuche 100 µl Nitro-L-Arginin verwendet wurden.

Die Präparierung des Organs erfolgte auf derselben Art und Weise, wie bei den vorangegangenen Versuchen. Das fertig präparierte Organ wurde nun an der entsprechenden Versuchsanordnung angebracht. Bei einer Stromstärke von 5 mV erfolgte die Vorspannung. Nach der Anpassungsphase wurde die Tyrode abgelassen, und das Organbad mit KCL-Lösung zur Vorkontraktion versetzt. Nach dem Erreichen der Plateauphase begann weiteren 45 Minuten wurde der Versuch beendet.

#### **3.6.1. Resultate der Versuche mit 30 µl Nitro- L-Arginin**

Die Versuchsdurchführung erfolgt wie in Kapitel 3.6. bereits besprochen.

In der Kontrollphase betrug die Kontraktionskraft im Mittel  $10,11 \pm 1,35$  mN. Nach dem Zusetzen von Nitro-L-Arginin kam es zu einer geringfügigen Abnahme der Kontraktionskraft. Eine signifikante Änderung wurde erst nach der Zugabe von PGU 124 sichtbar. Die Kontraktionskraft betrug nun  $4,70 \pm 0,20$  mN bzw.  $-51,60 \pm 7,11$  %.

Nitro-L-Arginin (30 µl)	fc ±SEM (mN)	Anzahl d. Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit
0 (Kontrolle)	10,11±1,35	3	-
30	8,41 ± 1,09	3	-
+20µl PGU124	4,70 ± 0,20	3	0,05

Tabelle 9: PGU 124 –Wirkung an mit Nitro- L-Arginin (µl) vorbehandelten terminalen Ilea

Die Tabelle enthält die Konzentration von Nitro-L-Arginin bzw. PGU 124, und die Mittelwerte der Kontraktionskraft in Prozent und in mN . Weiters sind die Anzahl der durchgeführten Versuche, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit angeführt.

**Terminales Ileum, Nitro-L-arginin  
PGU 124 HCl  
n=3**

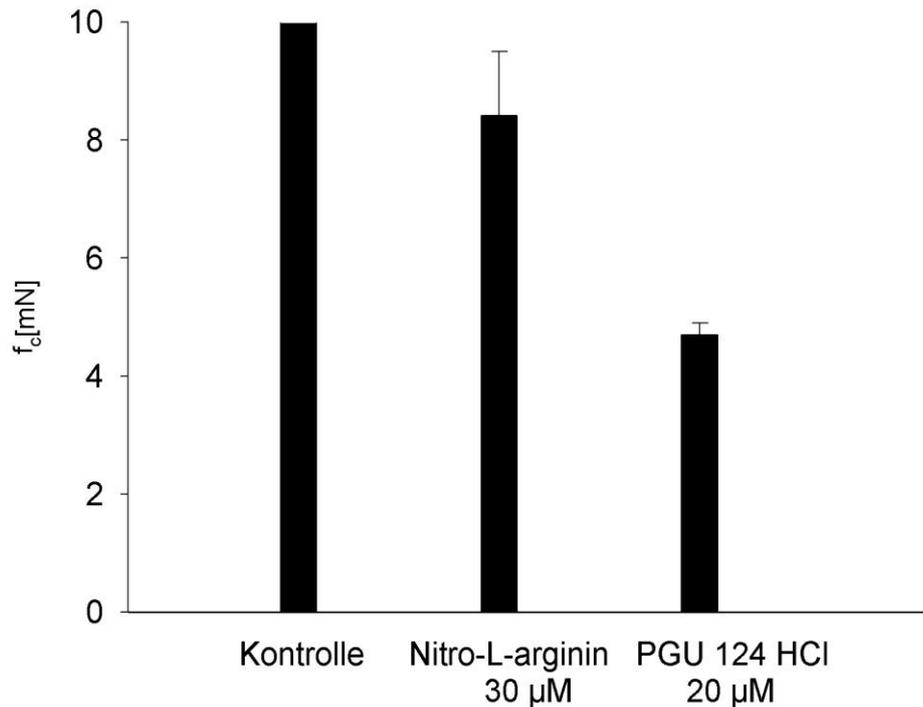


Abbildung 18 : Balkendiagramm von PGU 124 am terminalen Ileum unter dem Einfluss von Nitro-L-Arginin

Aus dem Balkendiagramm lässt sich erkennen, dass mit dem Zusetzen von 30 $\mu$ l Nitro-L-Arginin es zu einer leichten Abnahme der Kontraktionskraft kommt. Eine signifikante Abnahme der Kontraktionskraft erfolgt jedoch erst nach der Zugabe von 20  $\mu$ l PGU124.

Die x-Achse gibt die jeweiligen Konzentrationen in  $\mu$ mol/l wieder, während auf der y-Achse die Kontraktionskraft in mN angegeben ist. Die senkrechten Balken dienen der Darstellung der Mittelwerte aus den 3 Versuchen. Die strichförmige Verlängerung symbolisiert den Standardfehler.

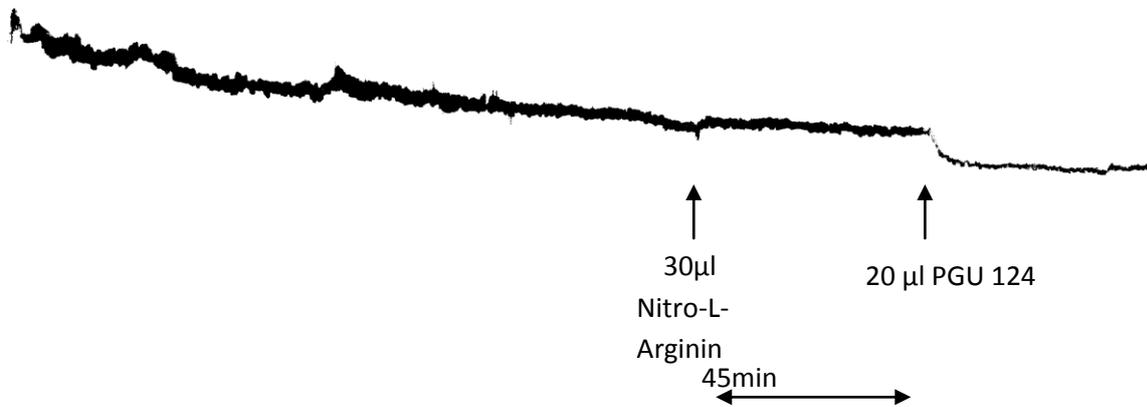


Abbildung 19: Originalaufzeichnung von PGU 124 - Wirkung am terminalen Ileum unter Einwirkung von 30µl Nitro-L-Arginin

### 3.6.2. Resultate der Versuche mit 100 µl Nitro-L-Arginin

Die Versuchsdurchführung ist in Kapitel 3.6 genau beschrieben.

Der einzige Unterschied zu den Versuchen in Kapitel 3.6. bestand nur darin, dass bei diesen Versuchen statt 30 µl nun 100 µl Nitro-L-Arginin verwendet wurden.

In der Kontrollphase betrug die Kontraktionskraft  $7,68 \pm 1,22$  mN. Mit dem Zusetzen von 100 µl Nitro-L-Arginin kam es zu einer leichten Veränderung in der Kontraktionskraft. Nach dem Zusetzen von PGU 124 kam es zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft.

<b>Nitro-L Arginin (100µl)</b>	<b>fc ± SEM (mN)</b>	<b>Anzahl d.Versuche</b>	<b>Irrtumswahrscheinlichkeit (P)</b>
<b>0(Kontrolle)</b>	7,68 ± 1,22	3	-
<b>100</b>	6,60 ± 1,48	3	-
<b>+ 20µl PGU124</b>	4,88 ± 1,44	3	n.s.

Tabelle 9 : PGU 124-Wirkung an mit 100 µl vorbehandelten terminalen Ilea

In der Tabelle sind die verwendeten Substanzkonzentrationen und die Mittelwerte der Kontraktionskraft. Außerdem sind Irrtumswahrscheinlichkeit und die Anzahl der Versuche.

**Terminales Ileum, Nitro-L-arginin  
PGU 124 HCl  
n=3**

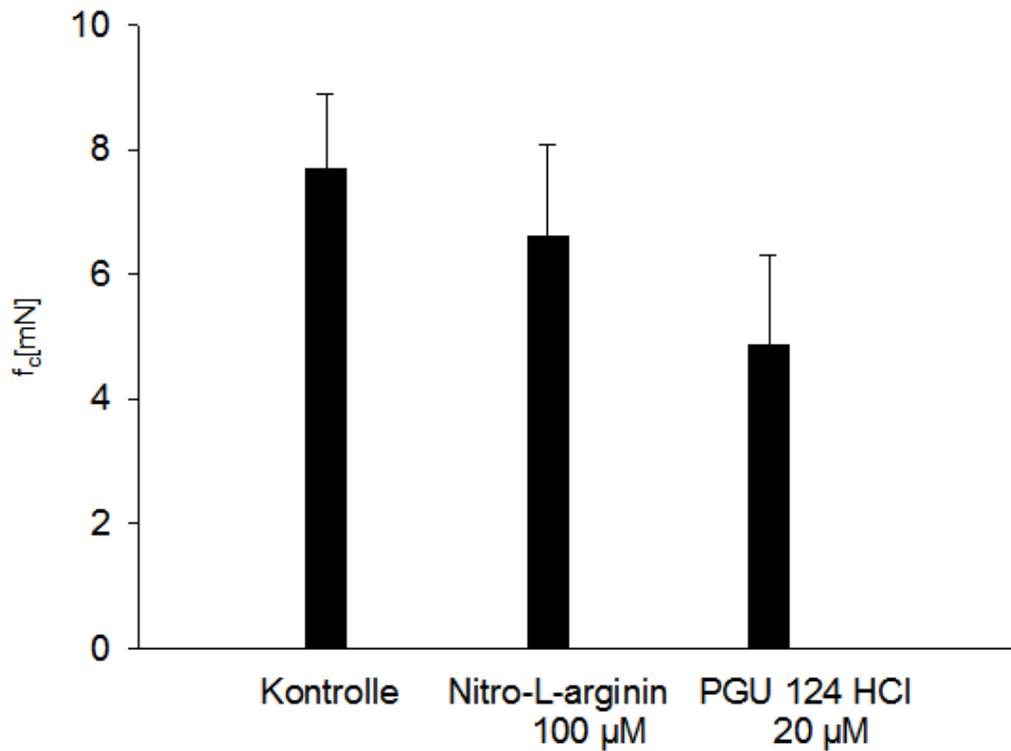


Abbildung 20: Balkendiagramm von PGU 124 am terminalen Ileum unter Einfluss von Nitro-L-Arginin

Das Diagramm zeigt, dass sich mit der Zugabe von Nitro-L-Arginin die Kontraktionskraft nicht ausschlagend verändert. Nach einer Zugabe von PGU 124 kommt es zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft.

Die Balken symbolisieren die Mittelwerte der 3 Versuche. Auf der x- Achse sind wieder die Sustanzkonzentrationen in  $\mu\text{mol/l}$  angegeben. Die Kontraktionskraft wird in mN auf der y- Achse eingetragen.

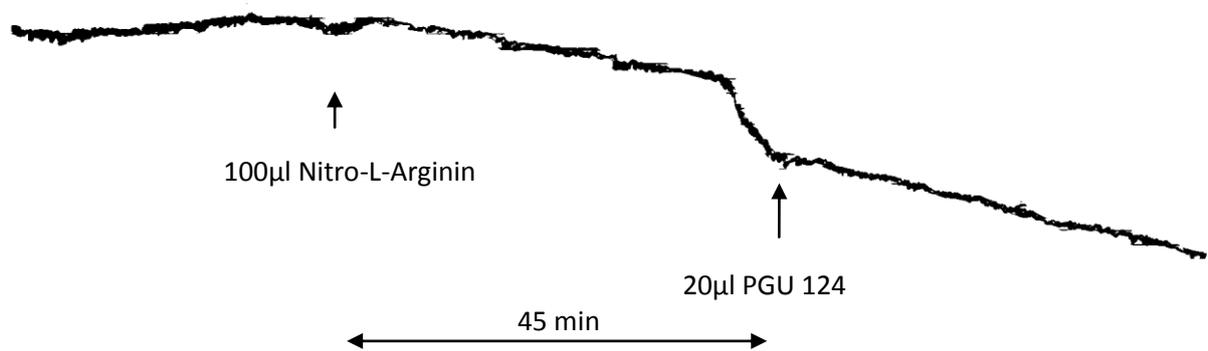


Abbildung 21: Aufzeichnung von PGU 124 –Wirkung am terminalen Ileum unter Einfluss von Nitro-L-Arginin (100µl)

Die Kurve lässt deutlich erkennen, dass mit dem Zusetzen von 100 µl Nitro-L-Arginin es zwar zu einer Abnahme der Kontraktionskraft kam, jedoch nicht in dem selben Ausmaß wie nach der Zugabe von PGU 124. Es kam nämlich zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft.

## 4. Diskussion

Im Rahmen dieser Diplomarbeit, wurden die Wirkung von PGU 124 und der daraus resultierende Wirkmechanismus untersucht.

Die Untersuchungen wurden an 5 isolierten Organen von Meerschweinchen vorgenommen. Folgende Organe wurden hierfür verwendet : Atrium dextrum, Aorta, Musculus papillaris, terminales Ileum und Arteria pulmonalis.

Der Versuchsablauf wurde bereits in den vorangegangenen Kapiteln ausführlich beschrieben.

Im Folgenden soll nun auf die Wirkung von PGU 124 näher eingegangen werden.

### 4.1. Versuchsreihen am quergestreiften Herzmuskel

Anhand der Versuche am Musculus papillaris und am Atrium dextrum, sollten Inotropie bzw. Chronotropie untersucht werden. Am Musculus papillaris sollte eine mögliche positiv oder negativ inotrope Wirkung beobachtet werden. Während am Atrium dextrum eine etwaige positiv oder negativ chronotrope Wirkung geprüft werden sollte. Zur Überprüfung dieses Effekts am Papillarmuskel, musste das Organ zunächst mit Hilfe einer Elektrode gereizt werden. Bei dem rechten Vorhof wurde dieser Schritt unterlassen, da das Organ spontan aktiv ist, aufgrund des autonom schlagenden Sinusknotens.

Organ	PGU124 fc $\pm$ SEM (%) bei 100 $\mu$ mol/l Endkonzentration	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ mol/l)
Atrium dextrum	-10,36 $\pm$ 4,99	>100
Musculus papillaris	1,4 $\pm$ 2,76	>100

Tabelle 10: Wirkung von PGU 124 auf die Herzmuskulatur

Anhand der Tabelle wird ersichtlich, dass PGU 124 eine sehr schwache Wirkung am rechten Vorhof ausübt. Es kommt zu einer geringen Abnahme der Chronotropie. Der Kontrollwert betrug nämlich  $158,75 \pm 11,79$  Schläge pro Minute. Nach dem Zusetzen der weiteren Substanzkonzentrationen kam es zu einer geringfügigen Änderung der Chronotropie. Zeitweise blieb die Schlagfrequenz sogar unverändert. Mit der Zugabe der letzten Konzentration betrug die Kontraktionskraft schließlich  $-10,36 \pm 4,99$  %. Daraus lässt sich also schließen, dass durch den Einfluss von PGU 124 es zu einer schwach negativen Chronotropie kam.

Beim Papillarmuskel kam es ebenfalls nicht zu einer starken Änderung der Kontraktionskraft. Der positiv inotrope Effekt, mit  $1,4 \pm 2,76$  % bzw.  $1,15 \pm 0,38$  mN bei der Endkonzentration war im Vergleich zum Ausgangswert ( $1,11 \pm 0,35$ ) kaum merkbar. Anfangs kam es sogar zu einer leichten Abnahme der Inotropie. Ab einer Konzentration von  $10 \mu\text{mol/l}$  stieg aber die Inotropie langsam wieder an.

Bei beiden Organen konnte kein  $\text{EC}_{50}$ -Wert ermittelt werden.

Man kann also sehr gut erkennen, dass die Testsubstanz PGU 124 keine signifikante Wirkung an isolierten Herzmuskelpräparaten ausgeübt hat.

## ***4.2. Versuchsreihen an glattmuskulären Organen***

Mit Hilfe einer KCL-Lösung sollte die glatte Muskulatur von Aorta, Arteria pulmonalis und terminalem Ileum chemisch vorkontrahiert werden. Dadurch kam es zu einem konstanten Kontraktionstonus. Für die Versuche an der Aorta und an der Arteria pulmonalis wurde eine 90 mmolare KCL-Lösung verwendet. Während für Darmversuche eine 60 mmolare KCL-Lösung hergestellt wurde. Somit konnte eine spasmolytische bzw. dilatierende Wirkung untersucht werden.

Organ	PGU124 fc ±SEM (%) bei 100 µmol/l Endkonzentration	EC <sub>50</sub> (µmol/l)
Aorta	-67,28 ±3,47	47
Arteria pulmonalis	-41,87 ± 4,84	> 100
terminales Ileum	-85,14 ±7,29	18,7

Tabelle 11: Wirkung von PGU 124 auf die glatte Muskulatur

Anhand der Werte in der Tabelle ist sehr gut ersichtlich, dass PGU 124 an den glattmuskulären Organen eine wesentlich stärkere Wirkung ausübt als an der Herzmuskulatur.

So betrug der Kontrollwert beim terminalen Ileum  $8,83 \pm 1,37$  mN. Bei der kumulativen Zugabe der Testsubstanz kam es zu einer stetigen Abnahme der Kontraktionskraft. Eine signifikante Änderung war aber erst nach dem Zusetzen von  $30 \mu\text{mol/l}$  zu sehen. Der tiefste Wert wurde bei der letzten Konzentrationsstufe erreicht. Die Endkonzentration betrug nun  $1,59 \pm 0,86$  mN bzw.  $-85,14 \pm 7,29\%$ .

Bei der Aorta betrug der Mittelwert der Kontraktionskraft in der Kontrollphase  $5,44 \pm 0,84$  mN. Im Laufe des Versuches kam es zwar auch zur Abnahme der Kontraktionskraft, jedoch in einem viel geringeren Ausmaß im Vergleich zum terminalen Ileum. Die erste signifikante Abnahme wurde nach dem Zusetzen von  $30 \mu\text{mol/l}$  registriert ( $3,27 \pm 0,35$  mN bzw.  $-38,95 \pm 2,97\%$ ). Die Endkonzentration betrug dann schlussendlich  $-67,28 \pm 3,47 \%$  bzw.  $1,72 \pm 0,16$  mN. Wenn man nun den Kontrollwert mit dem Endwert vergleicht, so erkennt man die signifikante Abnahme der Kontraktionskraft.

Auch bei der Arteria pulmonalis war die signifikante Abnahme der Kontraktionskraft bei einer Endkonzentration von  $5,16 \pm 1,95$  mN bzw.  $-41,87 \pm 4,84 \%$  verglichen mit dem Kontrollwert ( $10,44 \pm 1,84$  mN) deutlich erkennbar. Auch hier nahm die Kontraktionskraft während des Versuchsablaufs nur geringfügig ab. Eine signifikante Änderung kam es durch das Zusetzen von  $30 \mu\text{mol/l}$  Testsubstanz zustande.

Da PGU 124 eine sehr starke Wirkung an den glattmuskulären Organen ausübt, konnte bei 2 dieser Organe ein EC<sub>50</sub>- Wert ermittelt werden. Bei der Aorta betrug der EC<sub>50</sub>- Wert 47 µmol/l. Während beim Darm der EC<sub>50</sub>- Wert bei 18,7 µmol/l lag.

Ausgenommen von der Arteria pulmonalis konnte bei der Aorta eine signifikante vasodilatierende Wirkung und eine signifikante spasmolytische Wirkung am terminalen Ileum festgestellt werden

### ***4.3. Versuchsreihen mit PGU 124 in Kombination mit Nitro-L-Arginin***

In dieser Versuchsreihe wurden insgesamt 6 Versuche am terminalen Ileum durchgeführt. Die ersten 3 Versuche wurden mit 30 µl Nitro-L-Arginin durchgeführt. Bei den restlichen Versuchen wurden 100 µl Nitro-L-Arginin verwendet.

Der Zweck dieser Versuche war es festzustellen, ob unter dem Einfluss von Nitro-L-Arginin ,das bekanntlich ein NO- Antagonist, NO endothel freigesetzt wird, und damit eine Relaxation entsteht.

#### **4.3.1 Versuch mit PGU 124 in Kombination mit 30 µl Nitro-L-Arginin**

Für den Versuch wurden nach dem Erreichen der Plateauphase 30 µl ins Organbad eingespritzt. Nach 45 Minuten injizierte man 20 µl PGU 124. Nachdem weitere 45 Minuten vergangen waren ,wurde der Versuch beendet.

Der Kontrollwert betrug  $10,11 \pm 1,35$  mN. Nach dem Hinzufügen von Nitro-L-Arginin und PGU 124 erreichte man einen Endwert von  $4,70 \pm 0,20$  mN.

### **4.3.2. Versuch mit PGU 124 in Kombination mit 100 µl Nitro-L-Arginin**

Der Versuchsablauf unterscheidet sich vom Versuch (in Kapitel 3.3.1.) nur dadurch, dass statt 30µl Nitro-L-Arginin nun 100 µl Nitro-L-Arginin verwendet wurden.

Der Mittelwert betrug in der Kontrollphase  $7,68 \pm 1,22$  mN und erreichte dann mit dem Beenden des Versuches  $4,88 \pm 1,22$  mN bzw  $-38,66 \pm 10,46$  %.

An den Werten kann man ablesen, dass eine mögliche NO-Freisetzung am Zustandekommen der spasmolytischen Wirkung beteiligt sein könnte.

## 5. Zusammenfassung

Das Ziel dieser wissenschaftlichen Arbeit war die in vitro- Untersuchung von einem am Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie der Universität Wien synthetisierten Resveratrolderivat.

Die verwendete Testsubstanz, PGU 124 wurde in den Konzentrationen 1  $\mu\text{mol/l}$ , 3  $\mu\text{mol/l}$ , 10  $\mu\text{mol/l}$ , 30  $\mu\text{mol/l}$  und 100  $\mu\text{mol/l}$  an 5 verschiedenen Organen von Meerschweinchen getestet. Es handelte sich hierbei um folgende Organe: Arteria pulmonalis, Atrium dextrum, Aorta, Musculus papillaris und das terminale Ileum.

Am Musculus papillaris sollte auf eine negative oder positive Inotropie geprüft. Beim Atrium dextrum wurde der Einfluss der Testsubstanz auf die Chronotropie getestet. Bei den restlichen Präparaten, also den glattmuskulären Organen untersuchte man, inwiefern PGU 124 die Kontraktionskraft beeinflussen wird. Zur Gewährleistung der Aussagekraft, wurden pro Organ mindestens 4 Versuchsreihen durchgeführt.

Beim Papillarmuskel kam es durch den Einsatz von PGU 124 zu einer geringen Zunahme der Inotropie. Auch beim Vorhof kam es nur zu einer geringfügigen Änderung der Kontraktionskraft, es kam zu einer schwach chronotropen Wirkung. Bei beiden Organen der Herzmuskulatur konnte kein  $\text{EC}_{50}$ - Wert ermittelt werden.

Bei den restlichen Organen hingegen war eine Änderung der Kontraktionskraft sehr gut ersichtlich. Die Versuche an der Arteria pulmonalis zeigten ab einer Zugabe von 30  $\mu\text{mol/l}$  die erste signifikante Änderung der Kontraktionskraft. Der tiefste Wert wurde bei der letzten Konzentrationsstufe erreicht. Ein  $\text{EC}_{50}$ - Wert konnte hier aber nicht ermittelt werden.

Beim terminalen Ileum konnte eine sehr starke spasmolytische Wirkung festgestellt werden. Während des gesamten Versuches kam es zur stetigen Abnahme der Kontraktionskraft. Ab einer Konzentration von 30  $\mu\text{mol/l}$  trat eine signifikante Abnahme der Kontraktionskraft auf. Bei diesem Versuch konnte erstmals ein  $\text{EC}_{50}$ - Wert erreicht werden.

Die Werte für die Versuche an der Aorta zeigten ebenfalls eine Abnahme der Kontraktionskraft, signifikant wurde sie aber erst durch die Zugabe von 30  $\mu\text{mol/l}$  Testsubstanz. Hier konnte auch ein  $\text{EC}_{50}$ - Wert errechnet werden.

Da am terminalen Ileum die stärkste Abnahme der Kontraktionskraft festgestellt werden konnte, wurde dieses Organ zur Untersuchung des Wirkmechanismus der Testsubstanz herangezogen. Dazu wurde Nitro-L-Arginin verwendet.

Somit könnte die spasmolytische Wirkung von PGU 124 zumindest teilweise durch eine NO-Freisetzung verursacht werden.

## 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*: 2783-840

Becker JW, Armstrong GO, van der Merwe MJ, Lambrechts MG, Vivier MA Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the synthesis of the wine related antioxidant resveratrol. *FEMS Yeast Res* 4: 79-85

Belguendouz L, Fremont L, Gozzelino MT (1989) Interaction of trans-resveratrol with plasma lipoproteins. *Biochem Pharmacol* 55: 811-816

Celotti E, Ferrani R, Zironi R, Conte LS (1996) Resveratrol content of some wines from dried Valpolicella grapes : Recioto and Amarone. *Chromatogr A* 730: 47- 52

Frankel EN, Kanner J, Geerman JB, Parks E, Kinsella JE (1993) Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 341: 454-457

Fremont L, Belguendouz L, Delpal S (1999) Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life Sci* 64: 2511-2521

Grönbak M, Deis A, Sorensen TIA, Becker U, Schnohr P, Jensen G (1995) Mortality associated with moderate intakes of red wine beer or spirits. *Br Med J* 310: 1165-1169

Kopp P., (1998) Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'. *Eur J Endocrinol* 138: 619-620

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

Savaskan E, Olivieri G, Meier F, Seifritz E, Wirz-Justice A, Müller – Spahn F (2003) Red wine ingredient resveratrol protects from beta-amyloid neurotoxicity. *Gerontology* 49: 380-383

Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM (1997) Wine as a biological fluid-history production and role in disease prevention. *J Clin Lab Analysis* 11: 287-313

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. *Pharm Res* 19: 1907-1914

## 7. Curriculum Vitae

### Persönliche Daten

<i>Name</i>	Dalja Ali
<i>Geburtsdatum</i>	09.04.1986
<i>Geburtsort</i>	Wien
<i>Staatsbürgerschaft</i>	Österreich
<i>Eltern</i>	Ibrahim Ali und Nadia Abdelsamd
<i>Geschwister</i>	Islam Ali (Student) Rami Ali (Zivildienstler)

### Ausbildung

<i>1992- 1996</i>	Volksschule-Jagdgasse 22
<i>1996/97- 2004</i>	Wiedner Gymnasium
<i>Seit 2004</i>	Studium der Pharmazie, Wien
<i>SS 2011</i>	Beginn der Diplomarbeit