



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Biologische Aktivität von Vanillin
an isolierten Organen von *Cavia porcellus*“

verfasst von / submitted by

Farisa Sotoudeh

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Magistra der Pharmazie (Mag. Pharm)

Wien, 2019 / Vienna, 2019

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Ao.Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich durch ihre fachliche Kompetenz und ihre persönliche Hingabe beim Abschluss meines Studiums und meiner Diplomarbeit unterstützt haben.

Zuerst gebührt mein Dank meinem Betreuer Herrn Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik, für die Bereitstellung dieses interessanten Themas, für seine Hilfsbereitschaft, seine Geduld und die Unterstützung, die er mir entgegenbrachte. Durch seine sachlichen und fachlichen Fertigkeiten habe ich die Gelegenheit erhalten, eine komplett neue Seite von der Universität kennenzulernen, Mut zu bekommen und an mich zu glauben. Die Energie und den Ansporn gegen Ende meines Studiums habe ich größtenteils ihm zu verdanken und ich werde ihm dafür für immer sehr dankbar sein.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Peter Höflich für die gute und fürsorgliche Betreuung der Meerschweinchen, sowie auch bei Herrn DI(FH) Mario Gabriel für seine stets gute Laune an jedem Arbeitstag bedanken.

Vor allem gebührt aber mein Dank meinen Eltern, besonders meine Mutter, die mir das Studium in Österreich überhaupt ermöglicht hat, mich emotional und bei all' meinen Entscheidungen stets unterstützt hat und immer hinter mir stand.

Außerdem bin ich meiner Schwester Farinaz sehr dankbar, dafür, dass sie mir immer das Gefühl gegeben hat, dass im Leben alles möglich ist, sowie für die finanzielle Unterstützung der letzten Jahre.

Noch ein besonderer Dank gebührt meinem Freund Omid, der mir während des Studiums emotional zur Seite stand, immer ein offenes Ohr für meine Sorgen hatte und mich geduldig motiviert hat.

All diesen Menschen habe ich es zu verdanken, dass ich soweit gekommen bin, trotz der vielen Momente, in denen der Abschluss für mich unerreichbar schien.

Es war ein sehr harter Weg für mich und deshalb danke ich jedem von Euch, dafür, dass ihr mich mit Geduld begleitet habt und zu mir standet.

DANKE

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
1.1 Vanille	1
1.2 Vanillin und Vanillinderivate	3
1.3 Mögliche Einsatzgebiete	5
1.3.1 Reizdarmsyndrom (RDS)	5
1.3.2 Spasmolytika	6
1.3.3. Koronare Herzkrankheit (KHK)	7
1.3.3.1 Herzinsuffizienz	7
1.3.3.2 Angina Pectoris	9
1.3.3.3 Myokardinfarkt	10
1.3.4 Hypertonie	11
1.3.4.1 Arterielle Hypertonie	11
1.3.4.2 Pulmonale Hypertonie	12
2. Zielsetzung	13
3. Material und Methoden	14
3.1 Die Substanz	14
3.2 Versuchstiere	15
3.3 Organe des Meerschweinchens	16
3.4 Präparation der isolierten Organe	17
3.4.1 Präparation von Atrium cordis dextrum (rechter Vorhof)	18
3.4.2 Präparation von Musculus papillaris (Papillarmuskel)	18
3.4.3 Präparation terminales Ileum	20
3.4.4 Präparation der Aorta descendens (absteigender Teil der Aorta)	21
3.4.5. Präparation Arteria pulmonalis (Pulmonalarterie)	22
3.5 Lösungen für die Versuche	23
3.5.1 Physiologische Elektrolytlösung (Tyrode)	23
3.6 Apparaturen	27
3.6.1 Apparatur 1	27
3.6.2 Apparatur 2	29
3.6.3 Apparatur 3	30
3.6.4 Messprinzip	31
3.7 Durchführung der Versuche	31
3.7.1 Versuch an der Aorta descendens	33
3.7.2 Versuch an der Arteria pulmonalis	33

3.7.3 Versuch am Ileum terminalis.....	34
3.7.4 Versuch am Atrium dextrum	34
3.7.5 Versuch am Musculus papillaris	35
3.7.6 Untersuchung des Wirkmechanismus	36
3.7.6.1 Nitro-L-Arginin als Antagonist	37
4. Datenauswertung.....	38
4.1 Datenauswertung an der Aorta descendens, Arteria pulmonalis und am terminales Ileum	38
4.2 Datenauswertung am Atrium dextrum	39
4.3 Datenauswertung am Papillarmuskel	39
5. Statistik.....	40
6. Ergebnisse der Wirksamkeit von Vanillin.....	41
6.1 Ergebnisse an der Aorta descendens	41
6.2 Ergebnisse an der Arteria pulmonalis.....	44
6.3 Ergebnisse am terminalen Ileum	47
6.4 Ergebnisse am Atrium dextrum	50
6.5 Ergebnisse am Musculus papillaris	53
6.6 Testung des Wirkmechanismus von Vanillin auf das Ileum terminale in Anwesenheit des Nitro-L-Arginin	56
7. Diskussion	59
7.1 Einfluss von Vanillin auf die glatte Muskulatur	59
7.1. Einfluss von Vanillin auf die Aorta descendens	60
7.1.2 Einfluss von Vanillin auf die Arteria pulmonalis	60
7.1.3 Einfluss von Vanillin auf das terminale Ileum	60
7.2 Einfluss von Vanillin auf die quergestreifte Herzmuskulatur	61
7.2.1 Einfluss von Vanillin auf den Atrium dextrum	61
7.2.2 Einfluss von Vanillin auf den Musculus papillaris	62
7.3 Einfluss auf den Wirkmechanismus.....	62
8. Zusammenfassung	63
9. Literaturverzeichnis.....	64
10. Abbildungsverzeichnis	66
11. Tabellenverzeichnis	67
12. Diagramme	68
13. Abkürzungsverzeichnis.....	69

1. Einleitung

1.1 Vanille

Herkunft:

VANILLA PLANTIFOLIA (Echte Vanille) aus der Familie der Knabenkrautgewächse ORCHIDACEAE (Orchideen)

Drogenbezeichnung :

Die unreif gepflückten und fermentierten Früchte = *Vanillae fructus*.
Umgangssprachlich wird die Frucht der Vanille als "Vanilleschote" bezeichnet.

Aussehen :

Als eine kletternde Schlingpflanze mit kräftigem Stengel wächst diese Orchidee hoch in Baumkronen, wo sie sich mit der Haftwurzel festhält. (Apotheker et al. 2015).

Die nicht synthetisch hergestellten, bei uns im Handel erhältlichen, Vanilleprodukte stammen alle von der "Echten Vanille" ab. Andere Wildarten wie z.B. "Vanilla tahitensis" (aus Hawaii und Tahiti) und "Vanilla Pompona" (aus Venezuela und der Karibik) spielen keine grosse Rolle. Sie sind quasi minderwertige Schoten und werden am Naturstandort wild gesammelt oder nur gelegentlich kultiviert (Brücher et al.1977).

Vanille als tropische Orchidee ist in Zentralamerika, Mexiko und im nördlichen Südamerika beheimatet und wird auf Reunion, Madagaskar sowie auch auf Mauritius kultiviert.

Die Blüte hat eine besondere Bauart, die nur eine Befruchtung durch Kolibris und ganz bestimmten Insekten zulässt. Aufgrund des Fehlens dieser Tiere in den Kulturländern, kann man keine Früchte erhalten und ist deshalb auf künstliche Befruchtung angewiesen, das durch das Andrücken der Pollensäcke auf die Narben verursacht wird (Hänsel et al. 2007).

Die Gewinnung erfolgt durch die Ernte der noch nicht vollständig reifen, gelblichen und vor allem ungeöffneten Früchte. Zu diesem Zeitpunkt ist die Frucht geruchlos.

Um die schwarzbraune Farbe und das charakteristische Vanillearoma zu erhalten, muss zunächst ein Fermentationsprozess erfolgen.

Dieser Prozess kann grundsätzlich auf 2 verschiedene Arten durchgeführt werden:

- a) Mexikanisches oder Trockenverfahren
- b) Südamerikanisches oder Heißverfahren

Ad a:

Die noch nicht gereiften Früchte werden über einige Tage unter der Sonne getrocknet. In Decken gehüllt werden sie anschliessend in sogenannten "Schwitzkästchen" gebracht und fermentiert, wodurch es zu einer Temperaturerhöhung kommt. Dieses Verfahren wird mehrmals wiederholt.

Ad b:

Bei diesem Verfahren werden die unreifen Früchte der Vanillie einmal beziehungsweise mehrmals, abhängig von der Temperatur, in Wasser (65-90°C), zwischen einigen Sekunden bis zu drei Minuten eingetaucht, wodurch das Gewebe abgetötet wird. Danach werden die Früchte abgetropft. Damit diese einen Schwitzprozess durchmachen können, werden sie zu einem Haufen geschichtet, oder über Nacht in Behälter verpackt. Am nächsten Tag werden sie zwischen Woldecken unter die Sonne gelegt und über mehrere Wochen getrocknet .

Je nach Gebiet kann es bei beiden Verfahren zu Abweichungen kommen (Hänsel et al. 2007)

Durch diese Prozesse erreicht man, dass das Glucovanillin aufgespalten wird, sodass man als Endprodukte Glucose und Vanillin erhält. Der Unterschied zwischen natürlich und synthetisch hergestelltem Vanillin besteht darin, dass natürliches Vanillin ein weitaus intensiveres Aroma hat, weil es sich nicht nur aus dem Hauptaromastoff Vanillin, sondern sich aus mehr als 30 weiteren Stoffen wie z.B. Vanillylalkohol (ÄÖ), Zimtsäureester und Derivate der Anissäure, zusammensetzt (Lieberei et al. 2007).

Sensorische Eigenschaften:

Vanille riecht angenehm blumig. In Lebensmittel, wie z.B. Speiseeis, erkennt man die sie durch die kleinen, 0,3mm dicken, schwarzbraunen Samen (Hänsel et al. 2007).

Vanille ist vielseitig einsetzbar, z.B. wird sie in der Süßwarenindustrie zur Aromatisierung von Bonbons, Schokolade, in der Speiseproduktion, sowie in der Küche zum Verfeinern von Süßspeisen, Feingebäck und Speiseeis sehr oft verwendet. Auch in der Pharmazie findet sie zum Aromatisieren und zum Süßen von Präparaten Verwendung (Hänsel et al. 2007).

Die Qualität der im Handel angebotenen Vanille unterscheidet sich besonders durch die Herkunft. Die Bourbon-Vanille gilt weithin als die qualitativ hochwertigste und ist aus diesem Grund in Europa am teuersten (Hermann 1983).

1.2 Vanillin und Vanillinderivate

Vanillin (Vanillinum Ph. Eur.) ist der Hauptwirkstoff von *Vanilla planifolia* und wird als antioxidativ wirksames Geruchs- und Geschmackskorrigens verwendet. (Teuscher et al. 2004).

Die *Vanilla planifolia* Früchte enthalten rund 4% Vanillin (Hermann 1983).

Im Unterschied dazu enthält die Mexikanische Vanille 1,3-1,8% und die aus Madagaskar stammende Bourbon Vanille bis zu 3% Vanillin (Hänsel et al. 2007).

Wie schon erwähnt, entsteht der typische Geruch der Vanille erst im Laufe eines Fermentationsprozesses. Chemisch betrachtet, besteht der enzymatische Prozess darin, dass aus geruchlosen Vorstufen durch die Glycosidaseeinwirkung, die Duftstoffe freigesetzt werden. Aus frischen Früchten wird somit z.B. Vanillin als Vanillinmonoglycosid isoliert. Die glykosidischen Vorstufen sind geruchlos. Neben

Vanillin ist auch in erste Linie p-Hydroxybenzaldehyd für das feine, ausgeglichene, Aroma verantwortlich (Hänsel et al. 2007).

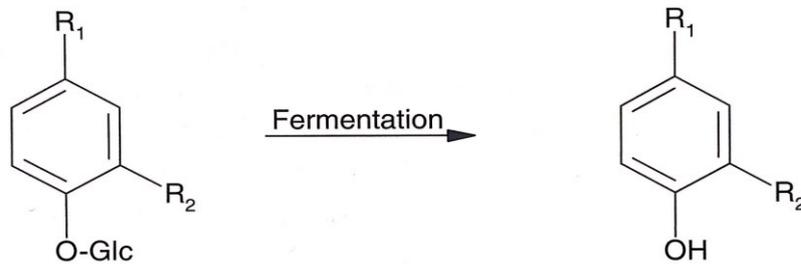


Abb. 1. Durch Einwirkung von Glycosidasen werden aus geruchlosen Vorstufen Duftstoffe freigesetzt.

Glucoside	R1	R2	Aglyka (= Aromastoffe)
Glucovanillin	CHO	OCH ₃	Vanillin
Glucovanillinsäure	COOH	OCH ₃	Vanillinsäure
Glucovanillinalkohol	CH ₂ OH	OCH ₃	Vanillinalkohol
p-Hydroxybenzaldehyd- β-D-glucosid	CHO	H	p-Hydroxybenzaldehyd
p-Hydroxybenzoesäure- β-D-glucosid	COOH	H	p-Hydroxybenzoesäure

Tabelle 1: Glycoside und ihre Aglyka (Hänsel et al 2007)

Diese Aromastoffe sind innerhalb der Frucht in sogenannten Papillen lokalisiert, die auf der Innenwand der Frucht sitzen (Hänsel et al. 2007).

“Vanillin kann auch halbsynthetisch aus Eugenol, durch Ozonisierung von Holz oder durch alkalische Hydrolyse, der bei der Cellulosegewinnung anfallenden Sulfitablauge und durch oxidativer Spaltung des so gewonnenen Coniferylalkohols erhalten werden” (Teuscher et al. 2004).

Analytische Charakterisierung :

Der einfachste Weg, um Vanillin in Vanille nachzuweisen, ist die Dünnschichtchromatographie mit Dichlormethan-Aceton (95:5) als Fließmittel, Vanillin als Referenzsubstanz und Dinitrophenylhydrazin Reagenz zum Nachweis. Das Vanillin sollte sich nach dem Besprühen mit Dinitrophenylhydrazin Reagenz im Tageslicht orangebraun färben.

Eine weitere Möglichkeit ist mittels HPLC, aber auch mit anderen chromatographischen und spektroskopischen Methoden können Vanillin, weitere Aromastoffe, sowie die entsprechenden glykosidischen Vorstufen nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden. Jedoch reichen diese Methoden für den Nachweis der Authentizität von Vanilleextrakten nicht aus. Heute werden in der Lebensmittelindustrie Methoden zur Isotopenbestimmung wie GC-IRMS und SNIF-NMR eingesetzt (Hänsel et al. 2007).

Verwendung in der Homöopathie :

“Eine ausgeprägte Hautreizung, wie sie durch den milchigen Saft des Sumach hervorgerufen wird; manchmal durch den Umgang mit den Schoten verursacht, auch durch lokale Anwendung eines Vanille-Auszugs im Haarwaschmittel. Es wird angenommen, dass Vanille Gehirn und sexuelle Neigung anregt. Bei Menschen, die mit Vanille arbeiten, werden verschiedenartige Beschwerden des Nervensystems und Blutkreislaufs erzeugt. Ist ein menstruationsförderndes Mittel und ein Aphrodisiakum. Dosierung: Die sechste bis 30. Potenz haben sich bei Hauterkrankungen als heilsam erwiesen“ (Boericke 2004).

1.3 Mögliche Einsatzgebiete

1.3.1 Reizdarmsyndrom (RDS)

Einer der häufigsten gastroenterologischen Krankheiten ist das Reizdarmsyndrom (Colon irritabile). Es handelt sich dabei um Schmerzen und Funktionsstörungen des

Dickdarms, die Frauen häufiger betreffen als Männer. Dabei kommt es zu abdominalen Schmerzen oder Unwohlsein an mindestens 3 Tage pro Monat während der letzten 3 Monate und zur Änderung der Stuhlfrequenz und Stuhlkonsistenz. Unter anderem kann es auch zu Vollegefühl sowie Blähungen kommen und oft bestehen auch in dieser Zeit psychische Probleme, wie Depressionen, Schlafstörungen sowie Angststörungen.

Man unterteilt das Reizdarmsyndrom in 4 Gruppen: Diarrhoetyp, Obstipationstyp, Blähtyp und Schmerztyp. Auf Basis dessen wird die Therapie an den Leitsymptomen orientiert (Mutschler et al. 2008).

- Psychotherapie: Verhaltenstherapie, Entspannungsverfahren, Bauchhypnose
- Bei Schmerzen: Spasmolytika, Ballaststoffe, Probiotika, ggfs. trizyklische Antidepressiva (TCA) oder SSRI
- Bei Diarrhoe: Loperamid, Ballaststoffe, Probiotika
- Bei Obstipation: Laxantien (Macrogol), Probiotika, Ballaststoffe (Karow et al 2016)

1.3.2 Spasmolytika

Arzneimittel, die krampflösende Eigenschaften besitzen, werden Spasmolytika genannt. Angewendet wird es zur Beseitigung von Spasmen, also Verkrampfungen und schmerzhafte Kontraktionen der glatten Muskulatur (Mutschler et al. 2008).

Die Hauptindikationen ergeben sich bei Spasmen des Gastrointestinal- und Urogenitaltraktes, Blasenentleerungsstörung, irritables Colon, Spasmen der Bronchien und der Gefäße (Mutschler et al. 2008).

Spasmolytisch wirkende Arzneimittel teilt man in neurotrope, muskulotrope und neurotrop-muskulotrope Spasmolytika ein (Ammon 2010).

Atropin, Scopolamin und Butylscopolamin gehören zu den neurotrophen Spasmolytika. Sie wirken über die Nervenfasern des Parasympathikus. Durch die Erregung dieser Nervenfasern kommt es zur Anspannung der glatten Muskulatur. Diese Erregung kommt durch das Anbinden des körpereigenen Botenstoffes Acetylcholin an entsprechende Rezeptoren, die sich am Parasympathikus befinden, zustande.

Neurotrope Spasmolytika haben die Eigenschaft, Acetylcholin zu verdrängen, die parasympatische Aktivität zu unterdrücken und somit die glatte Muskulatur zur erschlaffen. Deshalb werden sie auch Parasympatolytika genannt (Mutschler et al. 2008).

Die Parasympatholytika mit tertiärer Stickstoffverbindung, wie z.B. Atropin, werden oral sehr gut und schnell resorbiert, wohingegen bei den quartären Ammoniumverbindungen, z.B. Butylscopolamin, die orale Resorption sehr gering ist. Daher sollten diese parenteral oder i.v. verabreicht werden. Dies bringt einen Vorteil mit sich, und zwar überqueren die quartären Stoffe die Blut-Hirn Schranke nicht, wodurch sie auch nicht zentral wirksam sind (Mutschler et al. 2008).

Muskulotrope Spasmolytika haben eine direkte Einwirkung auf die glatte Muskulatur und können somit erschlafft werden, ohne Einfluss auf die Nerven zu haben (Mutschler et al. 2008).

1.3.3. Koronare Herzkrankheit (KHK)

Die koronare Herzkrankheit ist durch ein Missverhältnis von Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot gekennzeichnet. Die häufigste Ursache ist die Atherosklerose der Koronargefäße (Karow et al. 2016).

Dies führt zur Einengung der koronaren Strombahn, beziehungsweise, sollte es auch zusätzlich zu einer Thrombenbildung kommen, zu einem vollständigen Verschluss von Koronararterien, womit diese nicht mehr im Stande sind, das Herz mit sauerstoffreichem Blut zu versorgen. Die Folge dessen können unterschiedliche Krankheiten, wie Angina Pectoris, Herzinfarkt oder Herzinsuffizienz sein (Mutschler et al. 2008).

Das kardiovaskuläre Risiko ist abhängig von Rauchen, Übergewicht, Hypertonie, Hyperlipidämie und Diabetes mellitus (Mutschler et al. 2008).

1.3.3.1 Herzinsuffizienz

Von einer Herzinsuffizienz spricht man, wenn der Herzmuskel, trotz ausreichendem venösen Angebot, nicht die benötigte Pumpleistung erbringen kann, die für die

Versorgung des Körpers erforderlich ist. Das Herzzeitvolumen (HZV) ist somit zu gering (Mutschler et al. 2008).

Man unterscheidet, je nachdem welcher Ventrikel betroffen ist, zwischen einer Rechts-, Links- oder einer Globalinsuffizienz (Braun et al. 2014).

Anhand des zeitlichen Verlaufes kann man entweder auf eine akute oder chronische Herzinsuffizienz schließen (Karow et al. 2016).

Die Ursache für eine akute Herzinsuffizienz kann vorallem ein Myokardinfarkt sein, bei dem es zu einem größeren Ausfall des Herzmuskelgewebes kommt. Akute Herzinsuffizienz kann zusätzlich auch durch eine akute Überbelastung des Herzens, das z.B. bei einer Lungenembolie oder bei einem Abriss einer Herzklappe, bei dem es zu einem plötzlichen Druckanstieg im Lungenkreislauf kommt, ausgelöst werden (Mutschler et al. 2008).

Dabei kann es zu einer Dyspnoe, Tachypnoe, Orthopnoe, Asthma cardiale oder einem Lungenödem kommen (Braun et al. 2014).

Im Gegensatz zu einer akuten, sind für eine chronische Herzinsuffizienz vorallem Hypertonie und Herzrhythmusstörungen verantwortlich. In seltenen Fällen können auch angeborene und erworbene Herzfehler, sowie toxische Schädigungen durch Alkohol, Quecksilber und Arsen ein Grund für chronische Herzinsuffizienz sein. (Mutschler et al. 2008).

Hierbei kommt es zur Gewichtsabnahme, peripheren Ödemen oder zu Leberstauungen (Braun et al. 2014).

Mithilfe der NYHA Klassifikation (New York Heart Assoziation) kann man auf den Schweregrad der Herzinsuffizienz schließen.

Stadium	Klinik	HZV
I	Keine Beschwerden bei alltäglicher Belastung	Unter Belastung normal
II	Beschwerden bei stärkerer körperlicher Belastung	Unter Belastung normal
III	Beschwerden bei leichter körperlicher Belastung	Unter Belastung vermindert
IV	Beschwerden in Ruhe (Ruhe-Insuffizienz)	In Ruhe vermindert

Tabelle 2: Schweregrad der Herzinsuffizienz nach NYHA

Ziele der medikamentösen Therapie sind eine Verminderung der Nachlast mit Vasodilatoren und Diuretika. Die Verminderung der Vorlast wird mittels Diuretika, Nitraten und Vasodilatoren durchgeführt, wobei die Steigerung der Kontraktilität mit Hilfe von ACE-Hemmern und Glykosiden erreicht wird. Damit kann man die Beschwerden lindern, die Lebensqualität verbessern und die Lebenszeit verlängern (Braun et al. 2014)

1.3.3.2 Angina Pectoris

Bei einem Angina Pectoris-Anfall, auch "Herzenge" genannt, leidet der Patient an einem charakteristischen Druckgefühl hinter dem Brustbein. Dieses Druckgefühl kann man sich so vorstellen, als würde der Brustkorb von Fesseln eingeeignet werden (Mutschler et al. 2008).

Der Schmerz kann bis einige Minuten anhalten und in die Achseln, Schultern und dem linken Oberarm ausstrahlen. Gelegentlich kann der Schmerz auch am Hals, Unterkiefer, rechten Arm oder Oberbauch gespürt werden. Durch akut erhöhten, linksventrikulären Füllungsdruck kommt es zur Dyspnoe. Der Patient meidet dabei Bewegung und hat Todesangst (Braun et al. 2014).

Ähnlich wie bei Herzinsuffizienz, gibt es auch hier eine Klassifikation nach Schweregrad, jedoch nach CCS (Canadian Cardiovascular Society).

I	Angina Pectoris nur bei schwerer körperlicher Tätigkeit
II	Geringe Beeinträchtigung bei normaler körperlicher Tätigkeit (z.B. rasches Treppensteigen, Bergauf gehen) und bei psychischer Belastung
III	Erhebliche Beeinträchtigung bei normaler körperlicher Tätigkeit, z.B. Angina Pectoris bei Treppensteigen in den 1.Stock, bei längerem langsamen Gehen, bei leichter Hausarbeit
IV	Angina Pectoris bei geringer Belastung oder in Ruhe

Tabelle 3: Schweregradeinteilung nach CCS

Angina Pectoris wird klinisch in eine stabile und eine instabile Form eingeteilt (Mutschler et al. 2007).

Bei der stabilen Angina Pectoris treten die Symptome bei gleicher körperlicher oder psychischer Belastung über einen längeren Zeitraum auf. Sie dauern 3-5 Minuten an und reagieren ausgezeichnet auf Nitroglycerin und Isosorbiddinitrat (ISDN). Die instabile Angina, auch Ruheangina genannt, tritt jedoch ohne körperliche Belastung oder sogar auch im Schlaf auf. Sie kann innerhalb kurzer Zeit an Anfallshäufigkeit und Intensität zunehmen, oder gar sehr plötzlich auftreten. Möglich ist dies auch zwei Wochen nach einem Infarkt (Postinfarktangin) (Erdman 2011).

Bei symptomatischer Angina Pectoris werden als Erstlinientherapie kurzwirkende Nitrate begleitet mit Beta Blocker oder frequenzsenkenden Calciumantagonisten verschrieben. Als Zweitlinientherapie verabreicht man (zusätzlich) Ivabradin, langwirkende Nitrate, oder Ranolazin. Als Prävention bieten sich ASS, Statin und gegebenenfalls ACE Hemmer, oder Angiotensin 1-Blocker bei Begleiterkrankungen an (Karow et al. 2016).

1.3.3.3 Myokoardinfarkt

Bei einem Herzinfarkt kommt es zu einer akuten Unterbrechung der Koronardurchblutung in einem Teil des Herzes. Hierbei kommt es zu einem Untergang von Herzmuskelgewebe (Myokardnekrose) und damit zum Herzinfarkt (Myokardinfarkt), wobei ein enormer Druck und ein starkes Schmerzgefühl wahrgenommen werden. Erscheinende „Signs & Symptoms“ dabei sind Blutdruckabfall, Fieber, Leukozytose, Blutzuckeranstieg und das Auftreten von erhöhter Muskelenzymkonzentration im Serum, sowie typische Veränderungen im EKG. Es gibt aber auch Infarkte, die vom Patient nicht bemerkt werden. Der Grund für einen Herzinfarkt ist sehr häufig ein thrombotischer Verschluss eines Koronararterienastes (Mutschler et al. 2008).

“Ziel der Therapie ist eine möglichst schnelle Wiederherstellung der Durchblutung, die heute vorallem kardiologisch (perkutane Ballonkathetisierung mit

Stentimplantation), aber auch pharmakologisch (Fibrinolyse), oder herzchirurgisch erfolgen kann“ (Lüllmann et al. 2016).

1.3.4 Hypertonie

1.3.4.1 Arterielle Hypertonie

Wenn die systolischen und/oder die diastolischen Werte die Norm überschreiten, spricht man von einer Hypertonie und es besteht die Gefahr, dass es zu einer Arteriosklerose kommt, die wiederum Krankheiten wie Apoplex, Nierenschädigung, oder Herzinsuffizienz mit sich bringen kann (Lüllmann et al. 2016).

Folgende Abbildung stellt die Einteilung der arteriellen Hypertonie dar.

Klassifikation	Systolisch	Diastolisch
Optimal	<120	<80
Normal	<130	<85
Hochnormal	130-139	85-89
Milde Hypertonie (Schweregrad 1)	140-159	90-99
Mittelschwere Hypertonie (Schweregrad 2)	160-179	100-109
Schwere Hypertonie (Schweregrad 3)	>180	>110
Isolierte systolische Hypertonie	>140	<90

Tabelle 4 : Klassifikation von Blutdruckbereichen (Mutschler et al. 2008)

Es stehen gut wirksame Medikamente zur Verfügung, wie ACE-Hemmer, Aldosteronantagonisten, Calciumkanal-Blocker und Beta Blocker, die als Mono- oder Kombinationstherapie mit z.B. Diuretika, wie Thiazide verabreicht werden können. In Kombination mit einer angepassten Lebensweise (NaCl-arme Ernährung), Gewichtsreduktion bei Übergewichtigen, Vermeidung von übermäßigem

Alkoholkonsum und dem Einstellen des Rauchens, kann die Hochdruckerkrankung erfolgreich behandelt werden (Karow et al. 2016).

1.3.4.2 Pulmonale Hypertonie

Von einer „Pulmonalen Hypertension“ (PH) spricht man, wenn im Lungenkreislauf ein erhöhter Blutdruck besteht. Dabei existieren verschiedene Unterformen, wobei eine der wichtigsten die pulmonale arterielle Hypertonie ist, die durch einen mittleren pulmonalarteriellen Blutdruck von > 25 mm Hg in Ruhe, oder > 30 mm Hg gekennzeichnet ist. Vasokonstriktion, „remodelling“ der pulmonalen Gefäßwand und Thrombose sind die drei Hauptfaktoren, die für den erhöhten Widerstand im pulmonalen Kreislauf verantwortlich sind. Die Lungengefäße verdicken und verengen sich weiter durch Proliferation der Endothelzellen und glatten Muskelzellen. Damit genügend Blut durch den Lungenkreislauf gepumpt werden kann, muss die rechte Herzkammer einen immer höheren Widerstand überwinden, was zu einer Hypertrophie des Herzmuskels führt. Durch die überbelastete rechte Herzkammer kommt es schließlich zu einer Rechtsherzinsuffizienz mit vermindertem Auswurf, die das Herz durch eine höhere Schlagfrequenz wieder auszugleichen versucht. Letzlich führt dieser Teufelskreis zu einem Rechtsherzversagen.

Ziel der Therapie der pulmonalen Hypertonie ist es, durch vasodilatierende Substanzen das Restlumen der pulmonalen Gefäße zu erhöhen und damit die Blutversorgung zu verbessern. Zu diesen Substanzen gehören Calciumantagonisten, Prostanoiden, wie z.B. Endoprostenol, Iloprost, Endothelin-Rezeptor-Antagonisten, PDE-5-Hemmer, oder Stimulatoren der löslichen Guanylatcyclyase. (Mutschler et al. 2008, Karow et al. 2016).

2. Zielsetzung

In Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Wirkung und der potentielle Wirkmechanismus von Vanillin an isolierten Meerschweinchenorganen erforscht.

Der Effekt dieser Substanz wurde an fünf unterschiedlichen Organen, darunter am rechten Herzvorhof, am Papillarmuskel des Herzens, an der Pulmonalarterie, an der absteigenden Aorta und am Dünndarm untersucht.

Um das Wirkungsprofil von Vanillin zu testen, wurden sowohl die Aorta descendens, als auch die Arteria pulmonalis nach Zugabe der Testsubstanz auf einen vasodilatierenden bzw. beim Darm auf einen spasmolytischen Effekt getestet. Anhand des Vorhofes und an den Papillarmuskeln wurde untersucht, ob eine mögliche Veränderung der Schlagfrequenz (Chronotropie) und der Kontraktionskraft (Inotropie) vorliegt.

Bei den Organen, bei denen Vanillin die höchste Aktivität aufgewiesen hat, wurde der Wirkmechanismus durchgeführt.

Um eine mögliche Beteiligung der NO-Synthase an der Wirkung der Testsubstanz nachzuweisen, wurde der Wirkmechanismus mit Nitro-L-Arginin getestet, dessen Wirkung bekannt war. Dadurch war es möglich, die Wirkstärke des Vanillins genauer, in Anwesenheit des Enzyminhibitors, zu erforschen.

Organ	Gemessener Effekt
Atrium dextrum	Chronotropie
Musculus papillaris	Inotropie
Arteria pulmonalis	Vasodilatation
Ileum terminalis	Vasodilatation (Spasmolyse)
Aorta descendens	Vasodilatation

Tabelle 5: gemessener Effekt auf die Organe

3. Material und Methoden

3.1 Die Substanz

Testsubstanz : Vanillin

Struktur :

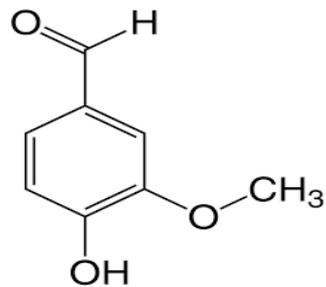


Abb. 2 : Struktur von Vanillin

IUPAC Name: 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd

Summenformel: $C_8 H_8 O_3$

Molekulare Masse: $152,14 \text{ g.mol}^{-1}$

Löslichkeit: Schlecht in Wasser und gut in Ethanol und Diethylether

Aggregatzustand: Fest

Farbe: Farblos

Schmelzpunkt: 82°C

3.2 Versuchstiere

Als Versuchstiere kommen Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Hamster in Frage, wobei im Rahmen dieser Diplomarbeit Meerschweinchen vom männlichen und weiblichen Geschlecht verwendet wurden, die zwischen vier und acht Wochen alt waren und im Durchschnitt 500 Gramm wiegen. Diese Meerschweinchen gehörten der Gattung TRIK an. Dieser Stamm ist speziell für Laborversuche optimiert und stellt keine Wildform dar.

Die Hauptgründe, weshalb Meerschweinchen verwendet wurden, sind einerseits, weil sich die Organe des Meerschweinchens und des Menschen nur sehr gering unterscheiden. Zum Beispiel besitzt das Herz des Meerschweinchens sehr ähnliche Na-, K-, Ca-Kanäle wie das der Menschen, was vorteilhaft für das Testen der Substanz ist, um daraus Arzneistoffe für den menschlichen Organismus zu entwickeln. Andererseits verfügen deren Organe über eine vorteilhafte Größe für eine praktische Handhabung. Zudem wird für die Versuche kein enormer Platz benötigt.

Um die Substanz auf die Organe testen zu können, wurde an jedem Labortag ein Versuchstier durch einen gezielten Genickbruch ums Leben gebracht. Dies ist eine sehr schnelle und schmerzfreie Methode, bei der die Organe möglichst wenig belastet werden.

Die benötigten Organe wurden mit Hilfe von OP-Scheren und OP-Pinzetten entnommen und in die frisch hergestellte Nährlösung eingelegt und begast. Somit waren die physiologische Bedingungen gewährleistet, damit die Organe nicht absterben.

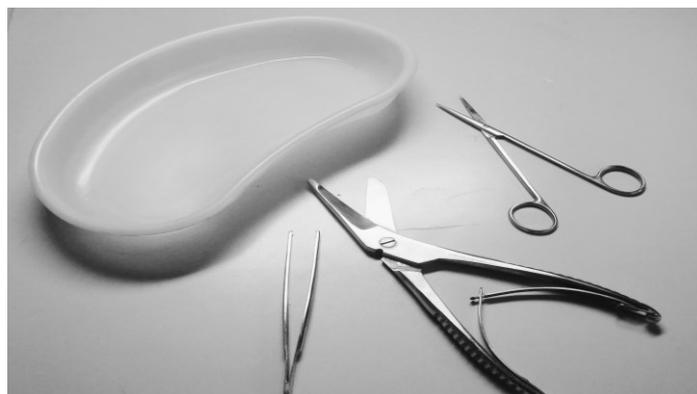


Abb. 3 Präparierbesteck

3.3 Organe des Meerschweinchens

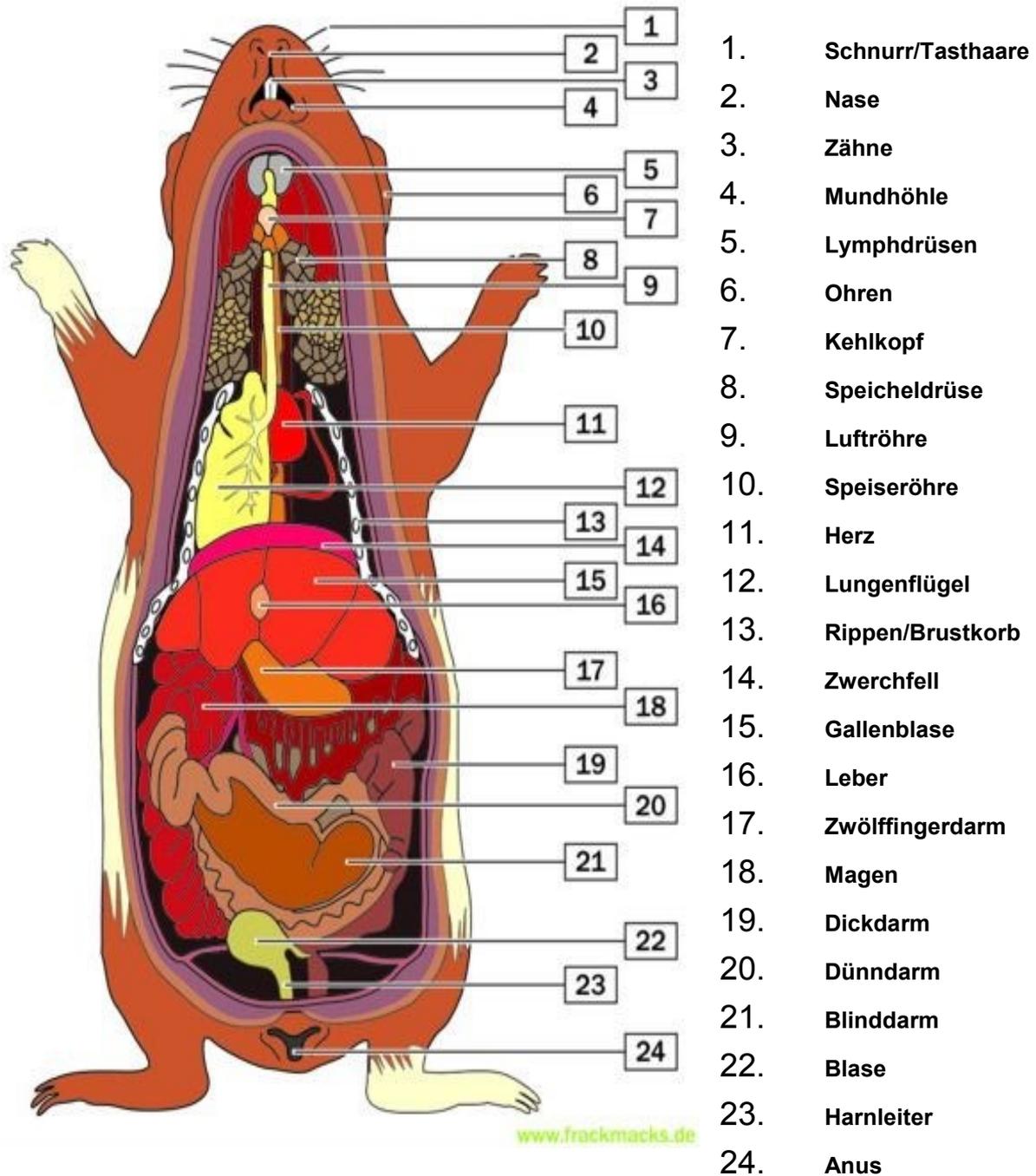


Abb. 4 Organe des Meerschweinchens

3.4 Präparation der isolierten Organe

Nach dem das Herz (bei dem noch ein kleiner Teil der Lungenarterie dranhing), eine ca. 4 cm lange, heraupräparierte, Aorta descendens und das ca. 25 cm lange Ileum terminale isoliert wurden, hat man diese Organe jeweils in unterschiedliche Bechergläser mit frisch hergestellter Elektrolytlösung aufbewahrt. Der Dünndarm wurde noch zuvor am oberen Ende mit einem Stück Faden verbunden, damit man die beiden Enden während der Versuche voneinander unterscheiden kann.

Nach der Entnahme der Organe folgte unmittelbar darauf die Präparation dieser unter einer Stereolupe, um die einzelnen Arbeitsschritte so genau wie möglich durchführen zu können. Die Organe wurden in einer Petrischale aus Glas, welche am Boden mit einem dünnen Korken ausgekleidet war, mittels Präpariernadeln befestigt. Diese Petrischalen wurden bis zum Rand mit Tyrodelösung gefüllt. Das Präparierbesteck bestand grundsätzlich aus Pinzetten, Schere, Federgriffscheren und Saugpipetten, um es von überschüssigem Fett- und Muskelgewebe und unerwünschten Flüssigkeitsbestandteilen entfernen zu können. Für das Einhängen der Herz- und Darmpräparate in die Apparatur mussten am Organ Silberhäkchen mittels eines Fadens angebracht werden.

Während des Präparierens war es enorm wichtig, einerseits die Organe nicht zu verletzen, beziehungsweise zu überdehnen, und andererseits, so schnell wie möglich zu arbeiten, um die Lebensdauer des isolierten Präparats zu verlängern.



Abb. 5: Isolierter Darm



Abb. 6: Präparierplatz

3.4.1 Präparation von Atrium cordis dextrum (rechter Vorhof)

Der rechte Vorhof wurde zur Messung der Auswirkung der Testsubstanz auf die Herzfrequenz (Chronotropie) untersucht. Dabei wurde der ganze Vorhof präpariert, da eine Isolierung der Sinusknoten (welche der eigentliche Schrittmacher des Herzens ist) aufgrund der anatomischen Lage nicht möglich war.

Das Herz wurde unter der Betrachtung durch das Lichtmikroskop mittels Präpariernadeln an Basis und Spitze in die Petrischale befestigt, von Fett- und Bindegewebe befreit und gesäubert. Durch einen Schnitt entlang der Herzkranzfurche wurde der Vorhof von dem restlichen Herzen abgetrennt. Wichtig zu beachten war, dass man den Sinusknoten, der sich im rechten Vorhof befindet, nicht schädigt, da dieser für den weiteren Versuch essentiell war. Anschließend wurden an beiden Enden des abgetrennten Vorhofs Silberdrahtklättchen fixiert. Zur Befestigung der Klättchen wurde ein dünner Faden verwendet. Der präparierte Vorhof wurde in einem Becherglas mit frischer Elektrolytlösung eingelegt und so schnell wie möglich in die dafür abgesehene Apparatur eingehängt, da das Atrium einerseits durch eine mögliche Verletzung der Sinusknoten, und der damit verbundenen Beeinträchtigung der Fähigkeit zur spontanen Erregungsbildung, absterben kann, und das Atrium andererseits unter veränderten Bedingungen sehr sensibel reagiert.

3.4.2 Präparation von Musculus papillaris (Papillarmuskel)

In der rechten Herzkammer gibt es drei und in der linken nur zwei Papillarmuskeln. Nach dem Entfernen des rechten Vorhofs präparierte man weiter an dem Herzen, um die Papillarmuskeln aus dem Endokard abzutrennen. Um es freizulegen, musste man das Herz öffnen, indem der rechte Ventrikel entlang des Septums von der Pulmonalarterie bis zur Herzbasis geschnitten, aufgeklappt und mit Hilfe von Präpariernadeln am Kork fixiert wurde. Ein mehrmaliger Austausch der Nährstofflösung in der Petrischale war nötig, um das überschüssige Blut zu entfernen. Hierbei war es wichtig den Papillarmuskel von den Purkinje-Fasern abzutrennen, weil sie eine Herzschrittmacheraktivität ausweisen und somit einen negativen Einfluß auf die Versuche haben könnten.

Am Ansatz jedes Papillarmuskels wurde ein Silberdrahthäkchen mittels Faden angebracht und der Muskel mit einem Schnitt vom Endokard entfernt und in eine begaste Elektrolytlösung gelegt. Es wurden pro Herz, abhängig von Länge und Durchmesser des Papillarmuskels, 4-5 Präparate isoliert.



Abb. 7: Papillarmuskel mit Häkchen

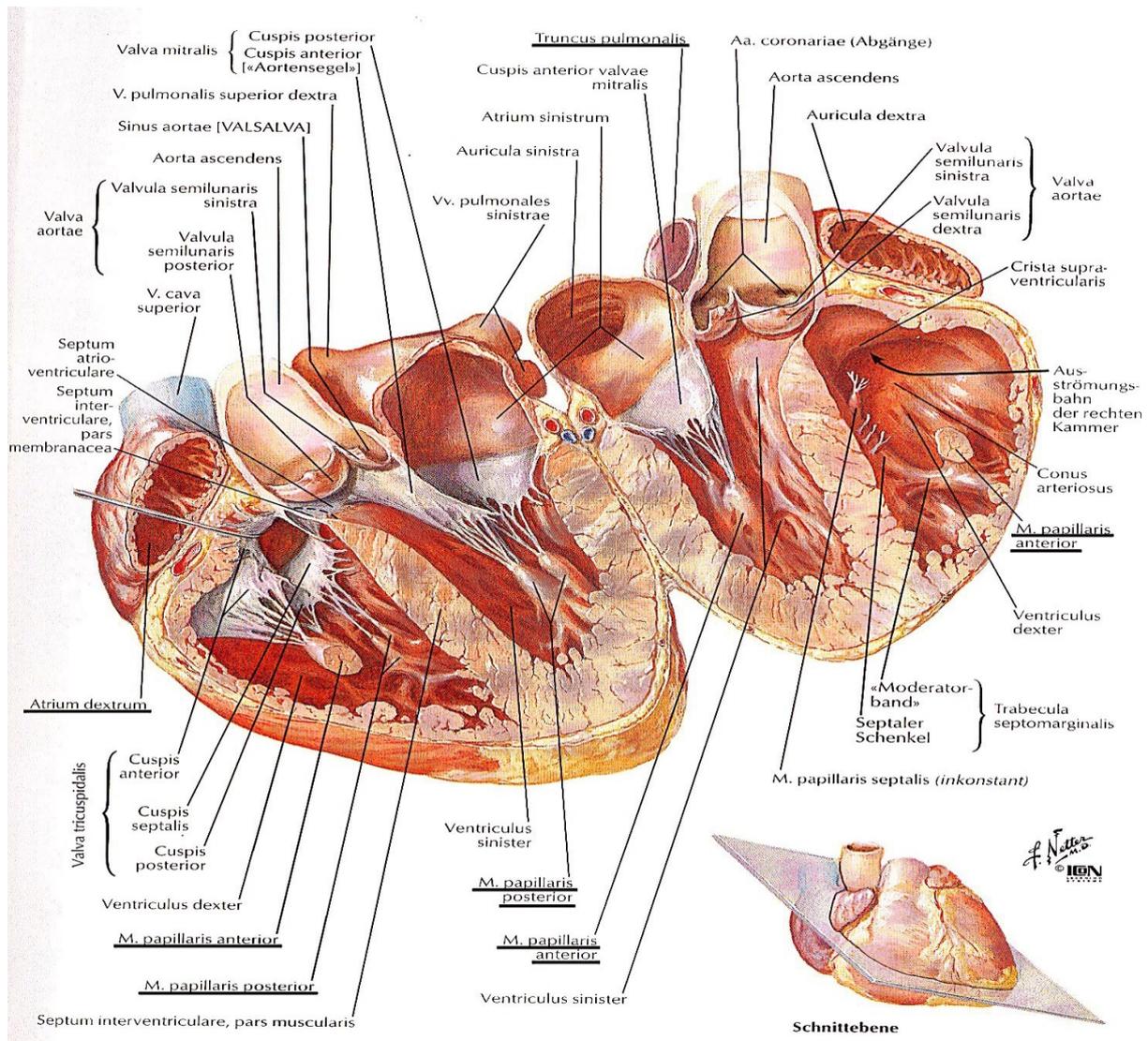


Abb. 9: Schematische Abbildung des Herzens (Netter 2003)

3.4.3 Präparation terminales Ileum

Es wurde zuerst ein ca. 25 cm langes Stück vom Ileum terminales isoliert. Dieser Teil des Dünndarms befindet sich zwischen Jejunum (Leerdarm) und Caecum (Blinddarm). Damit man sich besser orientieren konnte, wurde das Jejunum gelegene Ende mit einem Faden abgebunden. Anschließend wurde das Organ bis zur weiteren Verwendung in Nährstofflösung eingetaucht und mit Carbogen begast.

Für die Versuche wurde ein ca. 1-1,5 cm langes Stück vom Dünndarm abgeschnitten. Der Schnitt erfolgte schräg, weil es so möglich war die spitzen Enden an den Häkchen anzubringen. In einer mit Korkring ausgelegten und mit Tyrode befüllten Petrischale wurde der Darmabschnitt mit einer Präpariernadel fixiert. An beiden Enden wurde das selbstgeformte Häkchen befestigt, was notwendig war, um das Präparat in die Apparatur einzubringen. Wichtig dabei war, dass man die Öffnung des Darmlumens nicht mit der Nadel verschließt und es auch nicht überdehnt, damit Testsubstanz, sowie Nährlösung zirkulieren konnten.

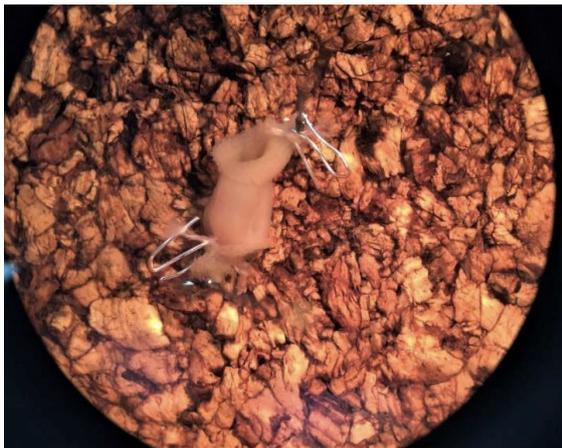


Abb. 10: Präparierter Darm unter der Lupe



Abb. 11: Präparierter Darm an die Apparatur angehängt

3.4.4 Präparation der Aorta descendens (absteigender Teil der Aorta)

Die Aorta wird aus dem thorakalen Bereich entlang der Wirbelsäule ausgeschnitten. Dieses absteigende Teil der Hauptschlagader war erst sichtbar, nachdem man die Lunge und das Herz vom Meerschweinchen entfernt hatte. Die Funktion der Aorta liegt darin, den Körper mit sauerstoffreichem Blut zu versorgen.

Die Isolierung erfolgte, indem man das obere Ende der Aorta descendens mit einer Pinzette in die Höhe hielt und mittels Spitzschere ein ca. 4 cm langes Stück entlang der Wirbelsäule herausschnitt und in die begaste Nährstofflösung einlegte. Das Gefäß durfte jedoch dabei nicht überdehnt werden, da es später bei den Versuchen einen negativen Effekt auf die vasokonstriktorische beziehungsweise vasodilatierende Aktivität haben konnte. Danach wurde die Aorta in eine Petrischale gelegt, mit zwei Präpariernadeln befestigt und mit der Säuberung unter dem Lichtmikroskop begonnen, d.h. die Aorta wurde von Fett-, Muskelgewebe und Blutgerinnsel befreit. Dieser Schritt erfolgte mit einer Federgriffschere. Ab dem Zeitpunkt, wo man in die Nähe der Adventitia kam, war es wichtig genau und vorsichtig zu arbeiten, da ein Schnitt in die Hauptschlagader diesen Bereich unbrauchbar für weitere Versuche gemacht hätte. Nachdem die Aorta in ca. vier breite Ringe geteilt wurde, spannte man sie in die Apparatur (mittels zwei dreieckigen Häckchen, an denen das Aorten-Stück aufgefädelt war) ein. Der Versuch wurde durchgeführt, indem zuerst das Gefäß mit einer hohen Dosis an Kaliumchlorid kontrahiert und danach die Testsubstanz eingespritzt wurde. Dadurch wurde überprüft, ob es bei diesem Vorgang zu einer Dilatation kommt.



Abb. 12: Geteilte Aorta descendens

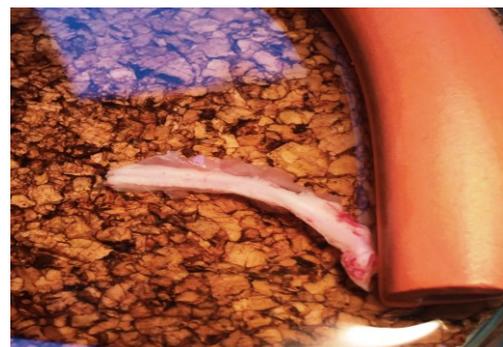


Abb. 13: Aorta mit Fett-, und Muskelgewebe

3.4.5. Präparation Arteria pulmonalis (Pulmonalarterie)

Das entnommene Herz diente sowohl der Isolierung der Papillarmuskeln, als auch für die Isolierung der Pulmonalarterie, um genauer zu sein der truncus pulmonalis, der aus der rechten Herzkammer entspringt. Es handelt sich um das kurze Stück der Pulmonalarterie, das vom rechten Ventrikel ausgeht, bis zur Verzweigung zwischen der rechten und linken Lungenarterie. An der Arteria pulmonalis wurde ebenfalls eine Reinigung durch Trennung von Überresten der Lunge und Fettgewebe vorgenommen, wobei darauf geachtet wurde, dass diese möglichst herznah abgetrennt werden. Schließlich wurde das fertig präparierte Gefäß in 2 mm breite Ringe geschnitten und in einem (mit Nährlösung befüllten) Becherglas aufbewahrt. Dabei war es nur möglich 1 bis maximal 3 Pulmonalis-Stücke pro Versuchstier zu präparieren, da der Lungenstamm sehr kurz war. Wie bei der Aorta wurden die Pulmonalis-Stücke mittels zwei Haken in die Apparatur eingehängt und anschließend mit einer Kaliumchloridlösung kontrahiert und die Testsubstanz in verschiedene Konzentrationen eingespritzt, um zu beobachten, ob vasodilatierende Wirkungen warzunehmen sind.



Abb. 14: Arteria pulmonalis



Abb.15: Pulmonalarterie, eingespannt im Organbad

3.5 Lösungen für die Versuche

3.5.1 Physiologische Elektrolytlösung (Tyrode)

Die Physiologische Elektrolytlösung, auch Tyrode-Lösung (nach dem Pharmakologen Maurice Vejux Tyrode) genannt, stellt ein physiologisches Nährstoffmilieu für die Organe dar. Dadurch war es möglich, die isolierten Organe während der Präparation und Versuchsdurchführungen am Leben zu erhalten und aufzubewahren.

Diese Lösung ist eine Krebs-Henseleit-Lösung. Zu Beginn der Arbeit wurde die Tyrode jeden Tag frisch nach der Vorschrift von Reiter (Reiter 1967) hergestellt, die aus einer Mischung aus bidestilliertem Wasser und einer Stammlösung besteht. Die Stammlösung setzte sich aus unterschiedlichen Ionenkonzentrationen zusammen, die sich der folgenden Tabelle entnehmen lassen.

Substanz	Stammlösung	ml Stammlösung/ 1L Tyrode	Konzentration in mmol/l
NaCl	1000,25 g/5l	33,60	115,01
KCl	50,33 g/5l	35,00	4,73
NaHCO ₃	125,00g/5l	83,70	24,91
MgSO ₄	147,02 g/5l	1,18	0,29
KH ₂ PO ₄	62,00 g/0,25l	1,18	2,15
CaCl ₂	34,00 g/0,25l	3,20	3,92
Glucose	Reinsubstanz	1,98	-

Tabelle 6: Zusammensetzung der Tyrode

Substanz	Volumen bzw. Mengen
NaCl	67,20 ml
KCl	70,00 ml
NaHCO ₃	167,40 ml
MgSO ₄	2,36 ml
KH ₂ PO ₄	2,36 ml
CaCl ₂	6,40 ml
Glucose	3,96 g

Tabelle 7: Zusammensetzung für 2 Liter Tyrode

Da mehrere Studenten an einem Tag gleichzeitig arbeiteten, wurde eine größere Menge (2 Liter) Tyrode in einem Messkolben hergestellt. Als erstes wurde die Glucose in einer Oberschalenwaage eingewogen und in den Messkolben übergeführt. Anschließend wurden über eine Bürette Natriumchlorid (NaCl), Kaliumchlorid (KCl), Natriumhydrogencarbonat (NaHCO₃), mittels einer Kolbenhubpipette Magnesiumsulfat (MgSO₄) und Kaliumhydrogenphosphat (KH₂PO₄) in den Kolben hinzugefügt. Danach wurde der Kolben ungefähr bis knapp unter dem Kolbenhals mit Aqua bidestillata aufgefüllt. Folglich wurde die Öffnung geschlossen und geschüttelt, um die Auflösung der Glucose zu beschleunigen.

Damit die Lösung dem zellulären Milieu der isolierten Organe entspricht, wurde der PH-Wert der Lösung zwischen 7,2 und 7,4 eingestellt, indem der Kolbeninhalt 20 Minuten lang mit Carbogen (auch Oxymix genannt), begast wurde. Oxymix setzt sich aus 95% O₂ und 5% CO₂ zusammen und diente der Aufrechterhaltung der Organe und des PH-Werts im Laufe der Versuche.

Nach 20 Minuten wurde die Calciumchlorid Stammlösung, die im Kühlschrank gelagert wurde, langsam hinzupipettiert. Die Zugabe musste tropfenweise und langsam erfolgen, da sich sonst schwerlösliche Calciumsalze gebildet hätten, die zur Trübung der Tyrode und auch zur Unterversorgung der Organe mit Calcium geführt hätten.

Schließlich wurde der Messkolben nochmals mit bidestilliertem Wasser bis zur Eichmarke gefüllt, durch Schütteln gut durchgemischt, mit einem Stopfen verschlossen und bei Raumtemperatur gelagert.

Die Tyrode enthält die notwendigen Elektrolyte, Ionen, Sauerstoff und Kohlendioxid. Somit konnten die Versuche durchgeführt werden.

3.5.2 Kaliumchlorid Lösung

Die glattmuskulären Präparate der Aorta descendens, Arteria pulmonalis und Ileum terminale wurden zuerst maximal kontrahiert, damit es überhaupt möglich war eine potentielle vasodilatierende Wirkung der Testsubstanz zu untersuchen. Um diese Vorkontraktion zu erreichen, wurde die KCl-Lösung dazugegeben. Durch das überschüssige Kalium wurde die Repolarisation der Zelle gehemmt, wodurch es zu einer maximalen und irreversiblen Kontraktion der glatten Muskulatur kam.

Die Zugabe einer Kaliumchloridlösung war bei den anderen zwei Organen (Papillarmuskel und Vorhof) nicht vorgesehen, da die Kontraktion der Papillarmuskeln durch elektrische Reize und des Vorhofs durch den Sinusknoten erfolgte. Dabei stellte man zwei Lösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen her. Eine für die Vorkontraktion der Blutgefäße mit einer 90 mmolaren Kaliumchloridlösung, und die andere für den Dünndarm mit einer 60 mmolaren Lösung.

Bei der Herstellung wurde auf einer Waage KCl eingewogen und in einen 100ml Messkolben überführt. Der Kolben wurde bis zur Markierung mit Tyrode aufgefüllt.

Organpräparat	KCl in g	Tyrode-Lösung in ml
Arteria pulmonalis	0,67	100
Aorta descendens	0,67	100
Ileum terminale	0,67	100

Tabelle 8: Zusammensetzung der KCl Lsg. für jedes Organpräparat

3.5.3 Lösungsmittel

Da die zu testende Substanz (Vanillin) nicht wasserlöslich ist, musste sie vor der Zugabe löslich gemacht werden, um damit arbeiten zu können.

Dimethylsulfoxid (DMSO) wurde als Lösungsmittel verwendet. Dies ist ein organisches, lipophiles Lösungsmittel und wird in der Pharmazie wegen des leichten Eindringens in die Haut und in Zellmembrane oft als Penetrationsförderer bei Arzneimitteln verwendet.

Die Erhöhung von cAMP im Zusammenhang mit der Freisetzung von endotheliale NO oder die Verringerung der Ca^{2+} -Sensitivität des kontraktilen Elements sind die Ursache für die Relaxation der Gefäße, das durch DMSO verursacht wird.

(Kaneda et al 2016)

Aus diesem Grund muss man nach Beendigung der Versuche bei der Auswertung der Ergebnisse darauf achten, diese mit einem Korrekturfaktor zu multiplizieren, um lediglich die Wirkung der Testsubstanz zu untersuchen.

Täglich wurde eine frisch zubereitete Stammlösung für die Testsubstanz hergestellt. Dabei waren verschiedene Einwaagen nötig, abhängig davon welches Organbad genutzt wurde.

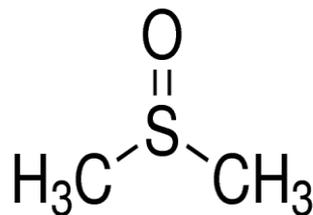


Abb. 16: Strukturformel von DMSO

3.6 Apparaturen

Für die Durchführung der Versuche standen 3 verschiedene Apparaturen zur Verfügung, die vom Funktionsprinzip sehr ähnlich waren, sich aber durch ihren Aufbau und durch das Fixierungsschema unterschieden.

Die Apparatur 1 diente zur Untersuchung der inotropen Aktivitätsänderung vom eingespannten Papillarmuskel. An Apparaturen 2 und 3 wurden Versuche an der Pulmonalarterie, dem rechten Vorhof, dem terminalen Ileum und am absteigenden Teil der Aorta durchgeführt.

Um die Reproduzierbarkeit sowie die Vergleichbarkeit der Versuchsergebnisse zu garantieren, waren die Konstanthaltung aller Versuchsparameter, wie Empfindlichkeit, Sauberkeit der Geräte, richtiges Einspannen, Temperatur, Gaszufuhr, PH-Wert und frische Herstellung der Nährstofflösung, sehr entscheidend.

3.6.1 Apparatur 1

Diese Apparatur diente zur Messung der Inotropie der Testsubstanz auf den Papillarmuskel und war aus einem Wasserbad (1) aufgebaut, um eine konstante Temperatur gewährleisten zu können. Das Wasserbad wurde mit destilliertem Wasser aufgefüllt und mittels einer Heizspirale auf $35 \pm 1^\circ\text{C}$ erwärmt. Ein Organbad aus Glas oder Kunststoff mit einem Fassungsvermögen von 25 ml wurde direkt in das Wasserbad montiert. Die Organhalterung (2) wurde darin eingetaucht.

Zu Beginn wurde das Organbad mit Aqua bidestillata und Nährstofflösung gereinigt. Anschließend wurde es mit 25 ml frisch hergestelltem Tyrode gefüllt und abgewartet, bis die Temperatur der Lösung 35°C erreichte.

Der Papillarmuskel wurde mit dem am Haken angebrachten Ende, mittels Silberdraht am Kraftwandler (4) befestigt. Zwischen einer Platinelektrode und einer Plexiglasscheibe (5) wurde das andere Ende fixiert.

Der Muskel wurde mittels eines Feintriebs (6) gespannt, und hingte senkrecht entlang der Organhalterung, das anschließend unter Dehnung des Grobtriebs vom Stativ (3)

in das Organbad eingetaucht wurde, bis der Muskel ganz von der Tyrode überdeckt war. Schließlich wurde das Organ mittels Feintrieb vorgespannt.

Es war sehr wichtig, dass der Prozess schnell stattfindet, da sich sonst die Qualität des Organs durch die Umgebungsluft und durch Nährstoffmangel verschlechtert hätte.

Der Papillarmuskel ist von selbst nicht aktiv, weshalb er durch einen Accupulser A310 Stimulator in unterschiedlichen Hz-Stärken gereizt wurde, bis es zu einer Erregung des Muskels kam. Dessen Aktivität wurde vom Kraftwandler registriert, über einen Verstärker weitergeleitet und letztendlich auf Millimeterpapier mittels eines Schreibers übersetzt und aufgezeichnet.

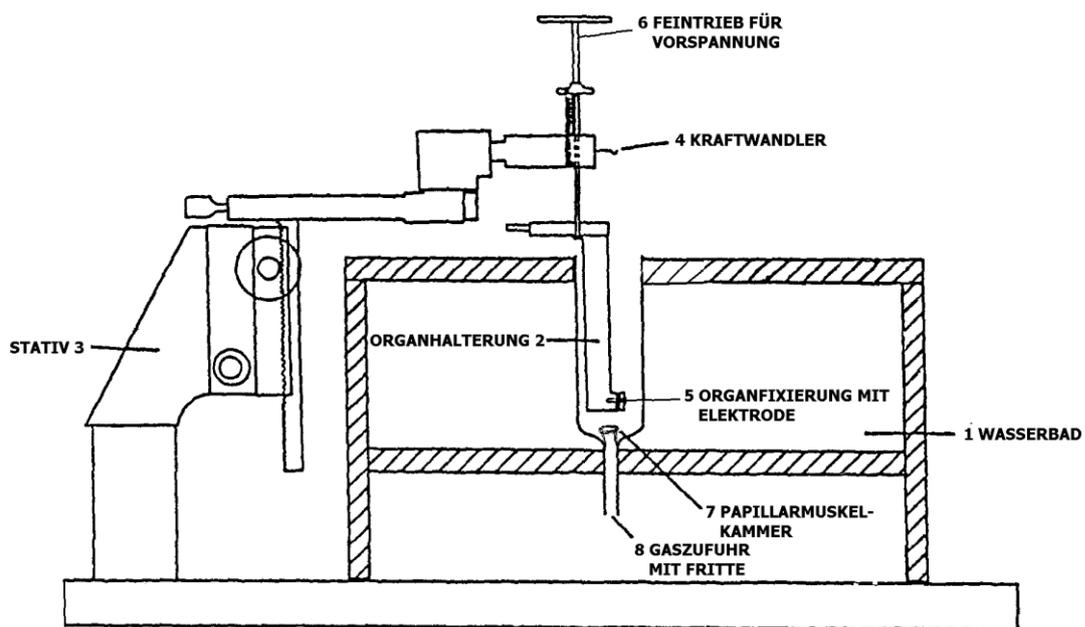


Abb. 17: Schematische Darstellung der Apparatur 1



Abb. 18: Stimulator, Verstärker, Schreiber

3.6.2 Apparatur 2

Für die restlichen isolierten Organe wurde die Versuchssapparatur 2 verwendet. Die Organbäder, die aus einem doppelwandigen Glas bestehen, wurden durch die Heizspirale, die sich im Wasserbad befand, auf ungefähr 37°C temperiert. Eine Fritte versorgte das Organbad mit Sauerstoff. Im Unterschied zur Apparatur 1 floss hierbei das aufgewärmte Wasser mit einem Schlauch über einen Wasserzulauf durch das doppelwandige Präparatbad. Darum musste das Organbad nicht im Wasserbad eingetaucht werden. Am Boden des Organbads befand sich ein Ablauf, das zur Entfernung des Inhalts diente.

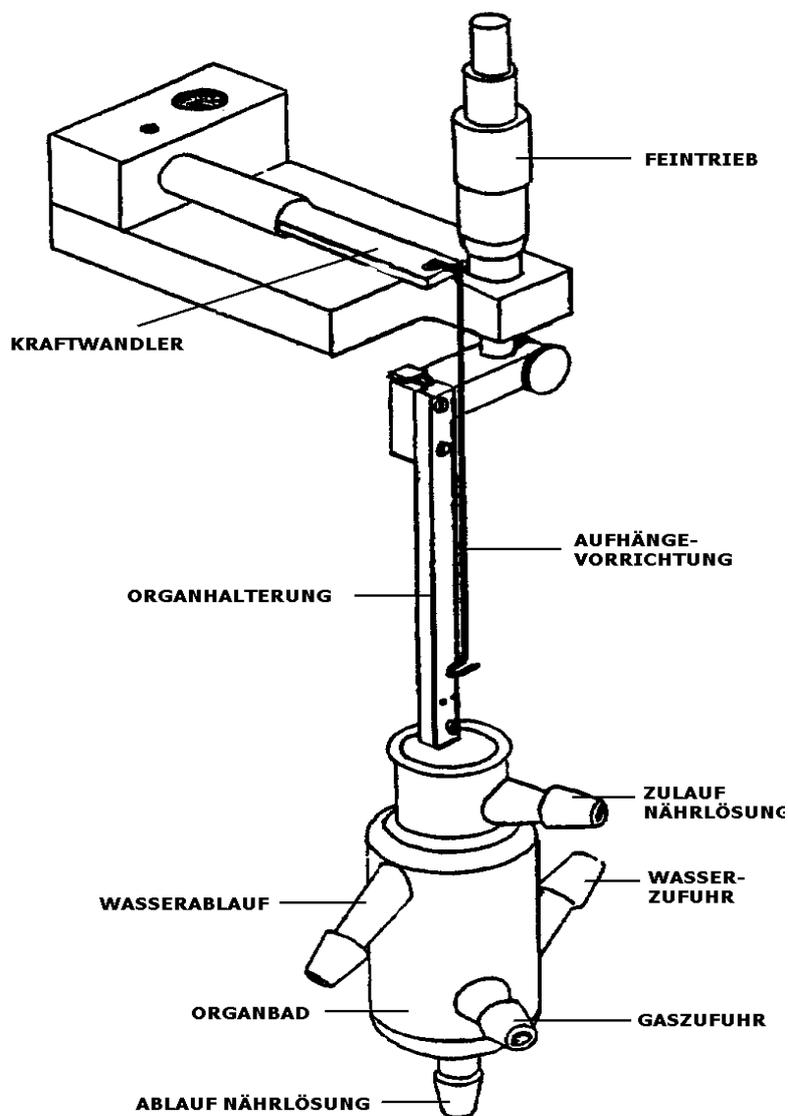


Abb. 19: Schematische Darstellung der Apparatur 2

Vor Beginn der Versuche wurde die Präparatkammer mit verdünnter HCl-Lösung, danach mit bidestilliertem Wasser gereinigt. Anschließend wurde sie mit 25 ml Elektrolytlösung aufgefüllt. Darm und Vorhof wurden mit dem Silberhäkchen an dem Silberdraht, das direkt mit dem Kraftwandler verbunden war, an die Organhalterung befestigt und in die Elektrolytlösung eingetaucht. Jedoch wurden bei der Aorta und der Lungenarterie zwei Dreiecke aus Metall zur Befestigung verwendet. Auch hier musste man das Einspannen möglichst schnell und unter Vermeidung der Ausdehnung der Organe durchführen.

3.6.3 Apparatur 3

Bei dieser Apparatur wird das Signal digital über ein Computer-Program aufgezeichnet (im Gegensatz zu der Apparatur 2, wo das Signal des Kraftwerkes auf Millimeterpapaier über einen Schreiber dokumentiert wurde).

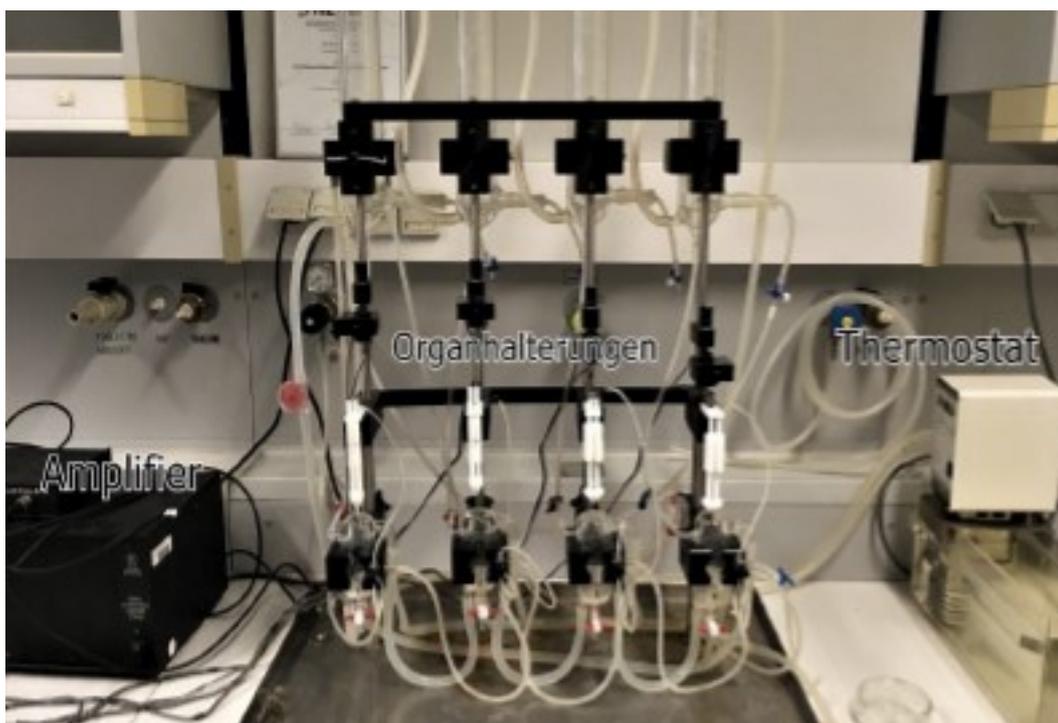


Abb. 20: Apparatur 3

3.6.4 Messprinzip

Der Kraftwandler, der aus Dehnungsstreifen aufgebaut ist, war nötig, um die Kontraktion bzw. Relaxation der getesteten Organe zu messen. Diese Streifen reagieren sehr empfindlich auf mechanische Auslenkungen, die durch die Organe ausgelöst werden. Dabei ändern sie ihren Widerstand. Wenn der Widerstand durch die Dehnung zunimmt, nimmt die Stromstärke ab. Der Kraftwandler leitet diese Veränderungen der Stromstärke in Form von elektrischen Impulsen an den Verstärker weiter, der die Intensität des Signals vervielfacht. Somit war es möglich das Signal auf Millimeterpapier, oder auch über Computer-Programm, als Kurve aufzuzeichnen.



Abb. 21: Schematische Darstellung der Impulsleitung

3.7 Durchführung der Versuche

Die Versuchsabläufe an den verschiedenen Organpräparaten erfolgte jeden Tag nach dem gleichen Schema.

Pro Organpräparat wurden mindestens 4 Versuche durchgeführt, um die Aussagekraft der jeweiligen Ergebnisse zu stärken, denn nur dann waren die Resümees aller Diplomanten miteinander vergleichbar.

Nachdem das Wasserbad die eingestellte Temperatur erreicht hatte, wurde das Organbad mit Aqua bidestillata und anschließend Tyrode gespült und die Kammer mit der nötigen Menge an Tyrode befüllt, um das Organ in die Apparatur einzubringen.

Nach Anlegen der Vorspannung und 20-min Abwarten, das nötig war, damit sich das Präparat an die neuen Bedingungen gewöhnen konnte, wurde zunächst die

Kontraktionskraft ohne (Kontrollzeit) und anschließend mit der Testsubstanz gemessen. Die Kontrollzeit betrug mindestens 45 min.

Pipettierschema:

Um die Testsubstanz Vanillin in DMSO zu lösen, wurde die Substanz eingewogen, das Gewicht notiert, mit 100 multipliziert und das Ergebnis durch das Molekulargewicht von Vanillin (0,38) dividiert. Dadurch erhielt man die Menge an DMSO, das hinzugefügt werden musste, um eine sinnvolle Konzentration für die Versuche zu erhalten.

Nach Erreichen der konstanten Kontrollphase, wurde die gelöste Substanz im Abstand von 45 min, in unterschiedlichen Konzentrationen, in die Apparatur gespritzt.

Die folgende Tabelle soll die injizierten Konzentrationen zum jeweiligen Zeitpunkt und die daraus resultierenden Konzentrationen im Organbad veranschaulichen.

Zeitpunkt	Volumen	Konzentration im Organbad
0 min	3 µL	3 µmol/l
45 min	7 µL	10 µmol/l
90 min	20 µL	30 µmol/l
135 min	70 µL	100 µmol/l
180 min	Ende	Ende

Tabelle 9 : Pipettierschema von Vanillin

3.7.1 Versuch an der Aorta descendens

Am isolierten Präparat der absteigenden Hauptschlagader wurde die vasodilatierende Wirkung von Vanillin auf der glatten Muskulatur untersucht. Die Aorta wurde in Ringe geschnitten und auf je zwei Dreieckshäkchen befestigt. Die in die Apparatur 3 eingespannte Aorta wurde in das mit Tyrode aufgefüllte (und auf 37°C temperierte) Organbad eingetaucht.

Mittels Feintrieb, der mit der Organhalterung verbunden war, wurde es auf 19,6 mN vorgespannt. Auch der Schreiber wurde auf 10mV mit einem Speed von 1 mm/min eingestellt.

Nach einer 20-minütigen Gewöhnungsphase wurde ein Wechsel von 10 auf 5 mV vollzogen und der Schreiber auf Null eingestellt. Die Tyrode wurde anschließend abgelassen und mit 25 ml einer 90 mmolaren KCL-Lösung ausgetauscht, um eine maximale und irreversible Kontraktion der Gefäße zu erhalten.

Nun erfolgte die Kontrollzeit. Dies bedeutet, dass man mindestens 45 min wartete, damit die aufgezeichnete Kurve über 5 cm aufsteigt und eine Konstanz von mindestens 10 min aufweist. Erst dann durfte man mit dem Einspritzen der Testsubstanz beginnen. Alle 45 min wurde die Testsubstanz (begonnen mit 3 µL bis zum Erreichen einer Substanzkonzentration von 100 µmol/l) in das Organbad zugespritzt (siehe Tabelle 9, Pipettierschema von Vanillin).

3.7.2 Versuch an der Arteria pulmonalis

Auch bei der Arteria pulmonalis wurde die Substanz auf eine vasodilatierende Wirkung geprüft.

Im Unterschied zur Aorta descendens wurde hier während des gesamten Versuchs mit 5 mV statt 10 mV gearbeitet. Die restliche Versuchsdurchführung entsprach exakt den gleichen Schritten, wie bei der oben beschriebenen Aorta descendens.

3.7.3 Versuch am Ileum terminalis

Am Dünndarm wurde der spasmolytische Effekt der Testsubstanz untersucht.

Nachdem Anbringen der beiden Enden des Darms am Silberhaken, wurden diese in die Organhalterung des Apparat 2 eingespannt und in das mit ca 37°C temperierte, mit Tyrode befüllte und begaste Organbad eingetaucht. Anschließend wurden der Schreiber sowie der Verstärker eingeschaltet.

Beim Ileum terminalis wurde der Schreiber auf 5 mV Stromstärke und der Speed auf 1 mm/min eingestellt. Mit Hilfe des Feintriebs wurde auf 5 cm vorgespannt. Wichtig hierbei war, dass die Vorspannung nicht zu schnell und zu stark angelegt wird, um eine Überdehnung oder sogar ein Reißen des Präparates zu verhindern.

Daraufhin folgte eine 20-minütiges Warten, damit sich das Präparat an die neuen Bedingungen anpassen konnte. Mittels Drehung des Regelrads wurde der Schreiber auf den Nullpunkt gebracht. Erneut wurde die Tyrode ausgelassen und mit einer dementsprechenden KCL-Lösung befüllt, um den Darm maximal zu kontrahieren. Nach einer 45 min Kontrollphase musste die aufgezeichnete Kurve mindestens über 5 cm steigen und konstant bleiben. Erst danach durfte man die Testsubstanz laut dem Pipettierschema zuspritzen (Tabelle 9).

3.7.4 Versuch am Atrium dextrum

Um die Chronotropie des Herzens am Vorhof zu untersuchen, wurde das Organ (nachdem Präparieren) mit Hilfe der zuvor angebrachten Hähchen in die Apparatur 2 eingespannt und vollständig in das mit 25 ml Tyrode gefüllte Organbad getaucht. Hier musste man möglichst schnell und vorsichtig vorgehen, um die Spontanaktivität und die Lebensauer nicht zu beeinträchtigen. Die Begasung durfte nicht zu stark sein, damit der Silberdraht nicht durch den starken Gaseinstrom bewegt wird und es dadurch zu Verfälschungen der Ergebnisse kommt.

Der Schreiber wurde nach dem Einschalten auf 5 mV Stromstärke und auf eine Aufzeichnungsgeschwindigkeit von 5mm/sec eingestellt und schließlich mittels Regelrad auf Null gestellt. Mittels Feintrieb, welcher mit der Organhalterung verbunden war, spannte man auf 10,4 cm vor.

Während der 45 minütigen Wartezeit wurde alle 5 min eine Aufzeichnung der Schlagfrequenz durchgeführt, um sicher zu gehen, dass sich das Organ an die Bedingungen gewöhnt hatte. Dabei wurde der Schreiber gesenkt und die Chronotropie für 12 Sekunden aufgezeichnet. Die Aufzeichnungsgeschwindigkeit von 5 mm/sec entsprach am Millimeterpapier 6 Kästchen. Sobald sich die letzten 3 Messungen um nur ± 1 Schlag voneinander unterschieden, wurde die Kontrollphase abgeschlossen. Währenddessen konnte man die Zeit nutzen, um die Testsubstanz einzuwiegen und in Lösung zu bringen. Danach begann man mit dem Einspritzen der Testsubstanz gemäss des Pipettierschemas (Tabelle 9).

3.7.5 Versuch am Musculus papillaris

Die Untersuchung am Musculus papillaris eröffnete die Möglichkeit, die Kontraktionskraft (Inotropie) festzustellen.

Der Papillarmuskel wurde, wie im Kapitel 3.4.2 beschrieben, präpariert und durch Haken an der Organhalterung fixiert. Das Organ wurde am Apparat 1 zwischen einer Elektrode und einem Plexiglasplättchen eingeklemmt und in das mit 25 ml Tyrode befüllte, auf 35°C temperierte, Organbad abgesenkt. Die Geräte, wie der Stimulator, Verstärker und der Schreiber, wurden eingeschaltet. Der Schreiber wurde auf 5 mV und der Aufzeichnungsgeschwindigkeit auf 5 mm/sec eingestellt. Daraufhin wurde das Organ mittels Feintrieb auf 3,92 mN vorgespannt (ca. 4 cm Millimeterpapier). Der Schreiber wurde nach dem Vorspannen auf den Nullpunkt gesetzt.

Da der Papillarmuskel von selbst nicht aktiv ist, wurde er durch einen Accupulser A310 Stimulator in unterschiedlichen Hz-Stärken gereizt, bis eine Erregung des Muskels erreicht wurde. Dessen Aktivität wurde vom Kraftwandler registriert, über einen Verstärker weitergeleitet und schließlich auf Millimeterpapier mittels eines Schreibers übersetzt.

Auch hier führte man eine Kontrollphase (Gewöhnungsphase) über mindestens 45 min durch. Es wurden alle 5 Minuten 6 Amplituden aufgezeichnet und deren Länge mittels Lineal gemessen. Wenn die Amplitude die 2 cm Marke nicht übertraf, wurde die Einstellung der Spannung auf 2 mV oder auf 1 mV geändert, um aussagekräftige

Resultate zu erhalten. Erreichte die Amplitude sogar bei so geringer Spannung nicht die 2 cm Marke, war das Präparat nicht mehr gebrauchsfähig. Wurde jedoch diese Voraussetzung erfüllt, begann man mit dem Zuspritzen der Testsubstanz in das Organbad (siehe Tabelle 9). Dabei wurde die Konzentration alle 45 Minuten erhöht, wobei 5 Amplituden im Abstand von 5 min aufgezeichnet wurden.

3.7.6 Untersuchung des Wirkmechanismus

Bei der Untersuchung sämtlicher Organe zeigte Vanillin die meiste Wirkung auf den terminale Ileum in Form einer Spasmolyse, auch wenn diese nur sehr schwach ausgeprägt war.

Durch die mittels Vanillin auftretende Spasmolyse am Darm, vermutet man, dass die Ursache dafür im Zusammenhang mit Stickstoffmonoxid (NO) vorliegt. Deshalb wurde weiter untersucht, um festzustellen, ob die Wirkung der Substanz durch Stimulierung der Endothelialen NO-Synthase ausgelöst wurde. Dieser Versuch wurde mit eNOS-Antagonisten durchgeführt, die die Wirkung von Vanillin hemmen sollten.

Um den Darm auf den Wirkmechanismus zu untersuchen, wurde dieser präpariert und mit Hilfe von selbstgeformten Metallhäkchen in die Apparatur 2 eingespannt. Die weitere Vorgehensweise wurde, bis zum Erreichen der Steady-State, analog zu Kapitel 3.7.3 durchgeführt.

Die Nitro-L-Arginin-Lösung wurde hergestellt, indem man 0,548 mg Feststoff des Nitro-L-Arginin auf der Analysenwaage einwiegte und in eine 100 µl KCl-Lösung, mit Hilfe eines Ultraschallbades, auflöste.

Nachdem die Steady-State erreicht wurde, spritze man 100 µmol/l in das Organbad und wartete 45 Minuten. In weiterer Folge wurden 100 µmol/l Vanillin zugegeben. Nach weiteren 45 Minuten wurde der Versuch beendet.

Eine Freisetzung von NO war durch die Zugabe von Nitro-L-Arginin nicht mehr möglich, da es zur Blockade der eNOS kam. Falls Vanillin über NO eine

vasodilatierende Wirkung bewirken sollte, durfte sich nach Zugabe von Nitro-L-Arginin kein spasmolytischer Effekt mehr zeigen. Die Kontraktion musste konstant bleiben. Dies bedeutet, dass am Schreiber eine gerade Linie ersichtlich werden müsste.

3.7.6.1 Nitro-L-Arginin als Antagonist

Ein wichtiger Botenstoff mit einer vasodilatierenden Wirkung ist Stickstoffmonoxid, das im Gefäßendothel gebildet wird. Durch verschiedene Substanzen, wie z.B. durch Acetylcholin, Histamin, oder Bradykinin, wird NO freigesetzt, wandert in die benachbarten Gefäßmuskelzellen ein und ist für die Aktivierung der Guanylatcyclase zuständig. Daraufhin steigt der cGMP-Spiegel und es kommt zur Relaxation der Zelle. (Lüllmann H et al. 2016)

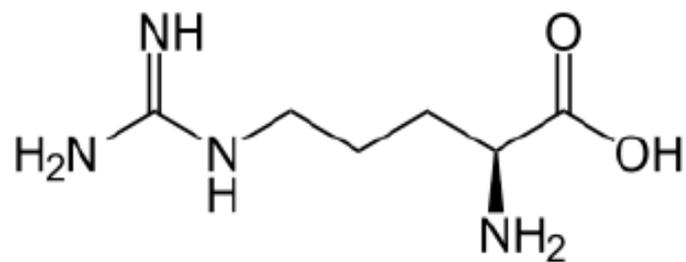


Abb.21: Struktur von Nitro-L-Arginin

4. Datenauswertung

4.1 Datenauswertung an der Aorta descendens, Arteria pulmonalis und am terminales Ileum

Zu den glatten Muskulatur zählen unter anderem Aorta descendens, Arteria pulmonalis und terminales Ileum, an denen die Auswirkung von Vanillin getestet wurde.

Am Darm wurden Untersuchungen hinsichtlich die spasmolytischen Wirkung durchgeführt, während bei den Gefäßen die vasodilatierende Wirkung im Vordergrund stand.

Um eine mögliche potentielle Relaxation zu untersuchen, wurde bei allen 3 Organen eine KCl-Lösung vor Zugabe von Vanillin hinzugefügt, um eine maximale Vorkontraktion der Organe zu erhalten. Die Zugabe der Testsubstanz nach dem bereits erwähnten Pipettierschema erfolgte nach dem Erreichen der Steady-State. Am Millimeterpapier wurde der Zeitpunkt der Substanzzugabe notiert. Die Strecke vom Nullpunkt bis zum Zeitpunkt der Zugabe der ersten Substanzkonzentration wurde als 100% angenommen und stellte die Kontrolle dar. Dadurch erhielt man bei anderen Messungen der jeweiligen Konzentration vergleichbare prozentuelle Ergebnisse. Die gemessenen Längen (cm) wurden abhängig von der verwendeten Spannung des Schreibers, mit einem Eichfaktor multipliziert, um sie in Kraft (mN) umrechnen zu können. Bei einer Spannung von 5mV wurde der Eichfaktor 0,98 herangezogen.

Spannung in mV	Eichfaktor
2	0,39
5	0,98
10	1,96

Tabelle 10: Eichfaktor

4.2 Datenauswertung am Atrium dextrum

Der rechte Vorhof gehört zu der quergestreiften Muskulatur und diente der Feststellung der Wirkung der Testsubstanz auf Veränderungen der Chronotropie.

In diesem Fall wurden die Schläge alle 5 Minuten für 12 Sekunden auf einem Millimeterpapier aufgezeichnet. Um die Anzahl der Schläge pro Minute zu berechnen, wurde die Anzahl der Schläge gezählt und mit 5 multipliziert.

Die letzten gezählten Schläge am Ende der Kontrollphase dienten als Kontrollwert und entsprachen 100%. Somit lassen sich die darauf folgenden Messungen mit der Testsubstanz prozentuell vergleichen.

Von einer positiven Chronotropie spricht man, wenn die Anzahl der Schläge steigt, von einer negativen Chronotropie, wenn die Anzahl der Schläge abnimmt. Bleibt die Anzahl der Schläge unverändert, bzw. verändert sie sich nur in geringem Maße (± 2 Schläge), hat man eine neutrale Chronotropie, bei der die Substanz keine Wirkung auf die Schlagfrequenz des Herzens aufweist.

4.3 Datenauswertung am Papillarmuskel

Wie beim rechten Vorhof gehört auch der Papillarmuskel zu der quergestreiften Muskulatur und wird zur Ermittlung der Inotropie (Kontraktionskraft) herangezogen. Die Inotropie wird zwar in mN angegeben, zur besseren Veranschaulichung wird sie jedoch in Prozent ausgedrückt.

Beim Papillarmuskel wurden zur Auswertung im 5-Minuten-Takt 6 Schläge auf dem Millimeterpapier aufgezeichnet und die Höhe jener Amplitude abgemessen, die 45 Minuten nach dem Einspritzen der Testsubstanz aufgezeichnet wurde (Angabe in cm).

5. Statistik

Mit Hilfe eines Korrekturfaktors wurde die spasmolytische Eigenwirkung von DMSO auf die glatte Muskulatur in den berechneten Mittelwert und SEM (Standard error of mean) miteinbezogen.

Das Programm "Sigma Plot 9.0" wurde zur Auswertung der gemessenen Ergebnisse verwendet und mit dessen Hilfe der Mittelwert und Standardfehler (SEM) berechnet. Anschließend wurden die Konzentration-Wirkungskurven erstellt. Dabei wurden die Änderungen der Inotropie oder Chronotropie in Prozent linear auf der y-Achse und die Konzentration von Vanillin in ($\mu\text{mol/l}$) logarithmisch auf der x-Achse aufgetragen.

„Student-t-Test“ diente der Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit. Werte kleiner als 5% ($P < 0,05$) und/bzw. 1% ($P < 0,01$) galten als signifikant, Werte kleiner als 0,1% ($P < 0,001$) hingegen wurden als hochsignifikant klassifiziert.

Für die graphische Darstellung der Wirkmechanismusergebnisse wurde nicht nur die Konzentrations-Wirkungskurve herangezogen, sondern auch ein Balkendiagramm erstellt.

6. Ergebnisse der Wirksamkeit von Vanillin

Die Wirkung von Vanillin auf die isolierten Organpräparate wird in diesem Kapitel behandelt.

Wie im Kapitel 5 erwähnt, wurde mit den Ergebnissen der Versuche eine Konzentrations-Wirkungskurve, eine Tabelle mit den Ergebnissen, sowie ein Balkendiagramm erstellt.

Es mussten mindestens 5 Versuche an den unterschiedlichen Organen durchgeführt werden, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten.

6.1 Ergebnisse an der Aorta descendens

Es wurden 5 Versuche hinsichtlich des vasodilatierenden Effekts von Vanillin nach der Isolierung des Aorta descendens (Kapitel 3.4.4) durchgeführt. Nachdem man mittels KCl-Lösung eine Vorkontraktion durchführte, wurde als Bezugspunkt die Breite der Kurve nach Erreichen des Steady-State als 100% angenommen. Jedoch war nach dem Einspritzen der unterschiedlichen Konzentrationen lediglich ein sehr geringer Effekt ersichtlich. Daher konnte mittels Vanillin keine besondere Wirkung hinsichtlich des vasodilatierenden Effekts an der Aorta nachgewiesen werden.

Vanillin $\mu\text{mol/l}$	$f \pm \text{SEM}$ (mN)	$f \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$10,68 \pm 1,95$	0 ± 0	5	--
3	$10,62 \pm 1,93$	$-0,12 \pm 2,38$	5	n.s.
10	$10,49 \pm 2,06$	$-2,12 \pm 3,15$	5	n.s.
30	$9,96 \pm 2,05$	$-6,95 \pm 4,31$	5	n.s.
100	$9,93 \pm 1,98$	$-6,95 \pm 4,03$	5	n.s.

Tabelle 11: Versuchsergebnisse von Vanillin an der Aorta

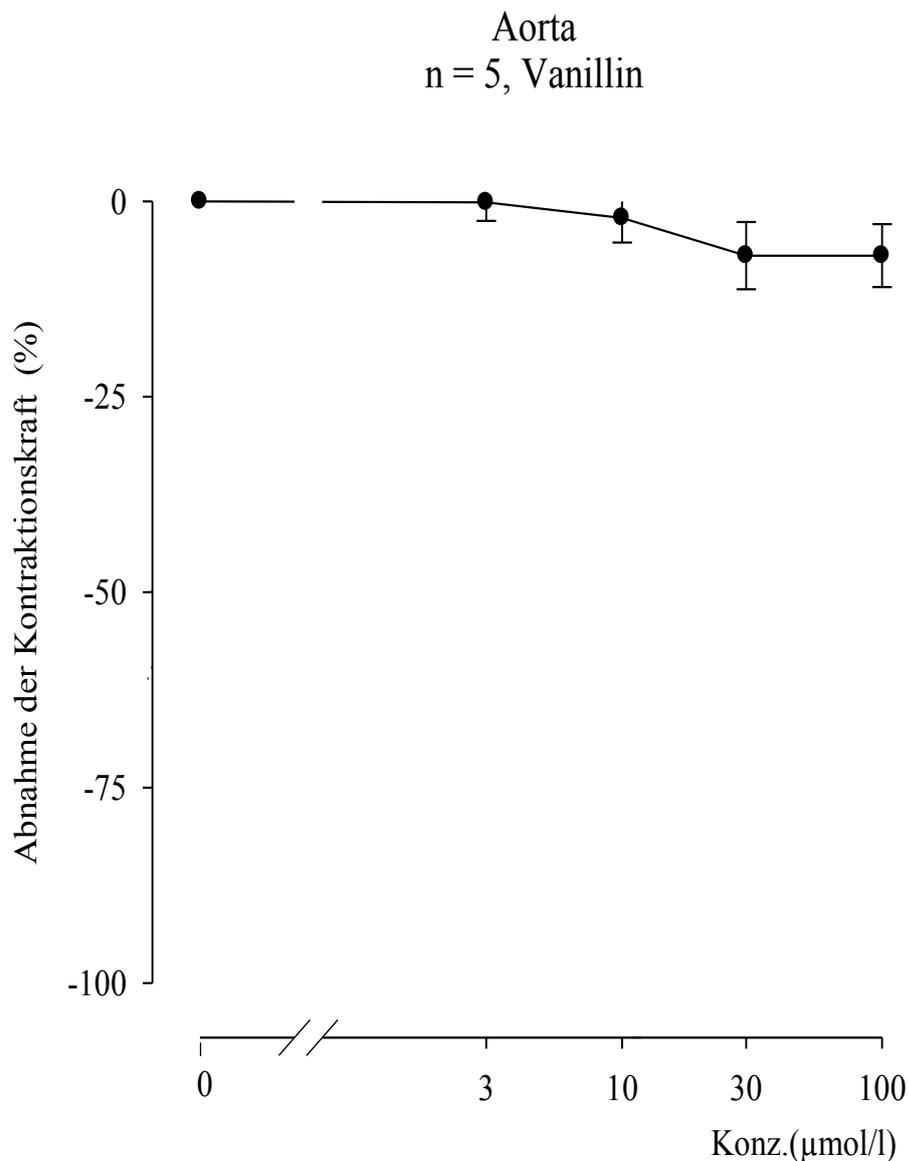


Diagramm 1: Konzentrations-Wirkungskurve von Vanillin an der Hauptschlagader

Die vasodilatierende Wirkung wird anhand der Konzentrations-Wirkungskurve dargestellt, wobei auf der x-Achse die steigende Substanzkonzentration und auf der y-Achse die Kontraktionskraft in Prozent ersichtlich ist. Die hervorgehobenen schwarzen Punkte auf der Kurve geben die Mittelwerte der jeweiligen Konzentrationen an und die Standardabweichung wird mittels Balken veranschaulicht.

Wie daraus ableitbar ist, liegen sehr geringe Veränderungen um die Nulllinie der x-Achse vor.

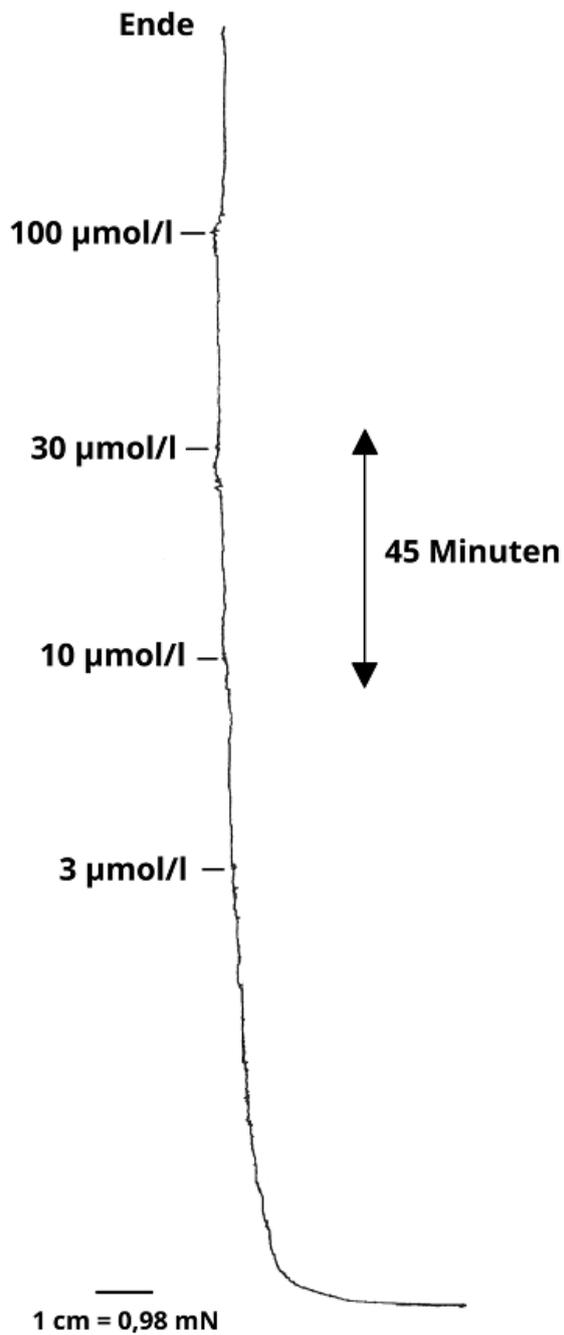


Abb.22: Originalaufzeichnung von Vanillin an der Hauptschlagader

Die Abbildung veranschaulicht die vasodilatierende Wirkung von Vanillin in Abhängigkeit der Konzentration.

Der Zeitpunkt der Zugabe der Testsubstanz wurde angeführt, wobei die Zugabe jeweils nach 45 min erfolgte.

6.2 Ergebnisse an der Arteria pulmonalis

Die Testsubstanz Vanillin wurde hinsichtlich des vasodilatierenden Effekts auf die Pulmonalarterie, die zur glatten Muskulatur zählt, durchgeführt. Nach dem Präparieren und Anhängen des Organs an das Präparat konnte man die Untersuchung mit den unterschiedlichen Konzentrationen der Testsubstanz durchführen.

Anhand der resultierenden Mittelwerte und der Standardabweichung konnte man eine sehr leichte vasodilatierende Wirkung mit zunehmender Konzentration ab 30 $\mu\text{mol/l}$ feststellen.

Vanillin $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahr- scheinlichkeit (P)
Kontrolle	12,80 \pm 1,15	0 \pm 0	8	--
3	12,67 \pm 1,19	-1,26 \pm 1,15	8	n.s.
10	13,10 \pm 1,26	1,95 \pm 2,65	8	n.s.
30	12,16 \pm 1,32	-5,39 \pm 3,83	8	n.s.
100	10,88 \pm 1,25	-14,79 \pm 4,98	8	0,05

Tabelle 12: Versuchsergebnisse von Vanillin an der Arteria pulmonalis

Die Tabelle enthält den berechneten Mittelwert (f) in mN inklusive Standardfehler (SEM). Die Ergebnisse sind auch zusätzlich in Prozent angegeben. Die Anzahl der Versuchsdurchführungen (n) und die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) werden ebenfalls angeführt.

Arteria pulmonalis
n = 7, Vanillin

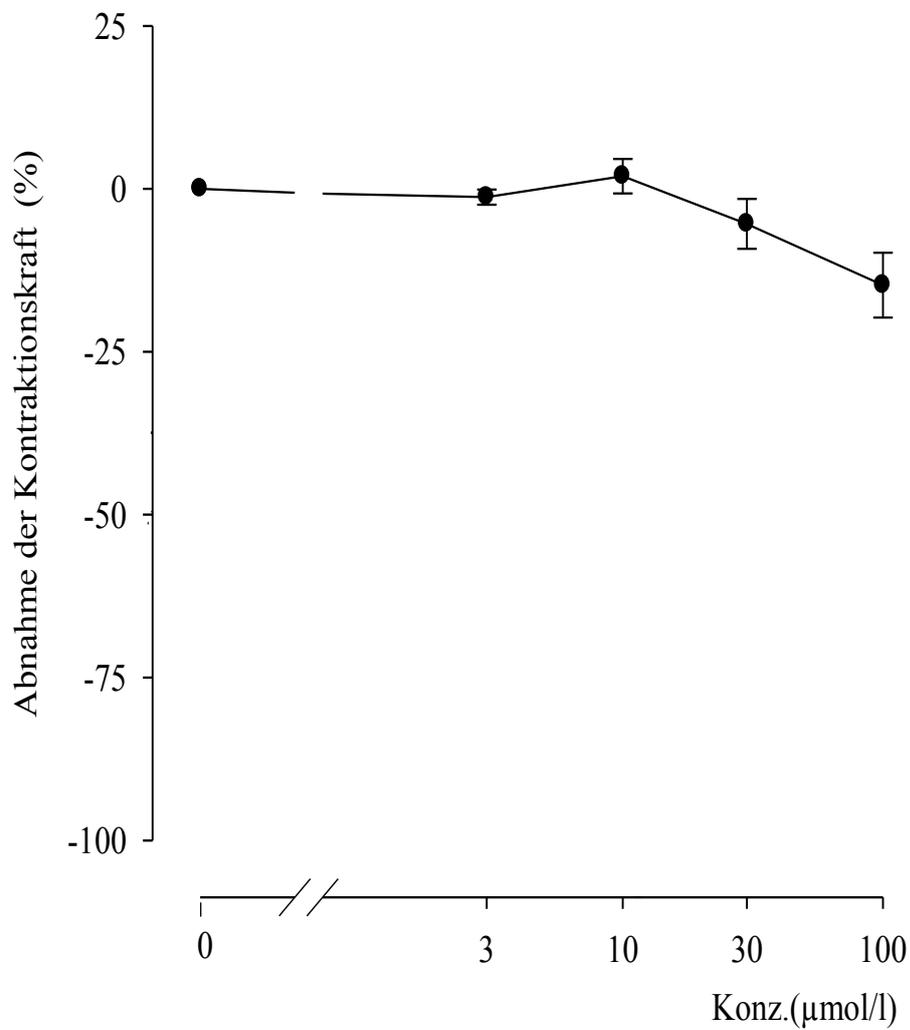


Diagramm 2: Konzentration- Wirkungskurve der Arteria pulmonalis

In diesem Diagramm ist die vasodilatierende Wirkung von Vanillin abgebildet. Auf der x-Achse ist die Konzentration von Vanillin in µmol/l angegeben, auf der y-Achse die Kontraktionskraft in Prozent.

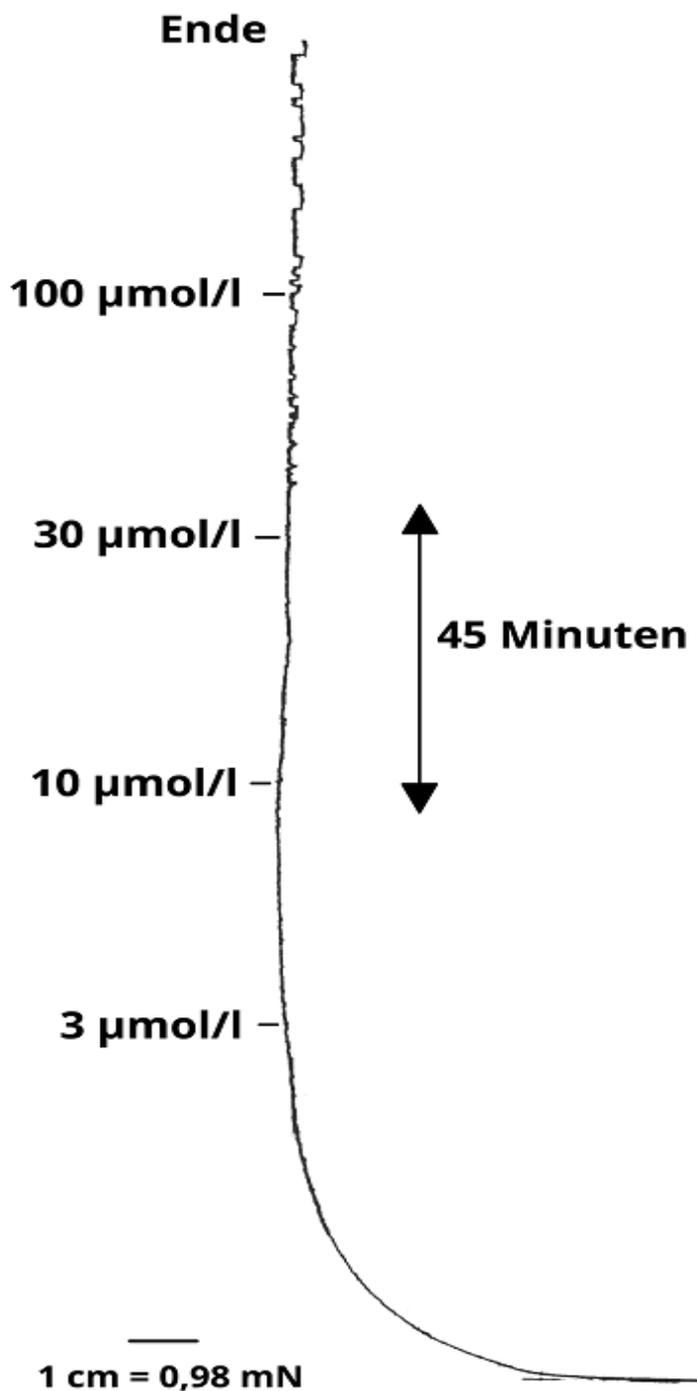


Abb.23: Originalaufzeichnung der Wirkung von Vanillin auf der Pulmonalarterie

Die dazugehörige Originalaufzeichnung zeigt, dass Vanillin eine sehr leichte vasodilatierende Wirkung auf die Pulmonalarterie hat. Die Zeit zwischen den Zugaben der unterschiedlichen Konzentrationen von Vanillin beträgt jeweils 45 Minuten.

6.3 Ergebnisse am terminalen Ileum

Die spasmolytische Wirkung von Vanillin wurde mittels 5 Versuche durchgeführt. Nach der im Kapitel 3.4.3 beschriebenen Präparation und der durchgeführten Versuche in Kapitel 3.7.3 wurde die konstant gebliebene maximale Kontraktion des Organs nach KCl-zugabe als 100% angenommen. In Relation zu dem wurde die spasmolytische Wirkung von Vanillin bei steigender Konzentration auch in Prozent berechnet. Da das Lösungsmittel DMSO selbst einen spasmolytischen Eigeneffekt besitzt, wurde dies bei der Auswertung der Ergebnisse mitberücksichtigt. Gemäß der folgenden Tabelle liegt beim terminalen Ileum eine leichte Spasmolyse von -13,57 %, bei einer Konzentration von 100 µmol/l, vor.

Vanillin µmol/l	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	10,02 ± 1,47	0 ± 0	5	--
3	9,62 ± 1,35	-3,45 ± 2,27	5	n.s.
10	9,18 ± 0,97	-5,76 ± 4,54	5	n.s.
30	8,81 ± 0,83	-8,57 ± 6,59	5	n.s.
100	8,30 ± 0,71	-13,57 ± 6,16	5	0,05

Tabelle 13: Versuchsergebnisse von Vanillin auf den Darm

Der Standardfehler (SEM), Mittelwert (f) in mN, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) jeder Versuchsreihe sind in der obigen Tabelle ersichtlich, wobei "P" ein Maß für die Aussagekraft der gewonnenen Daten ist.

Terminales Ileum
n = 5, Vanillin

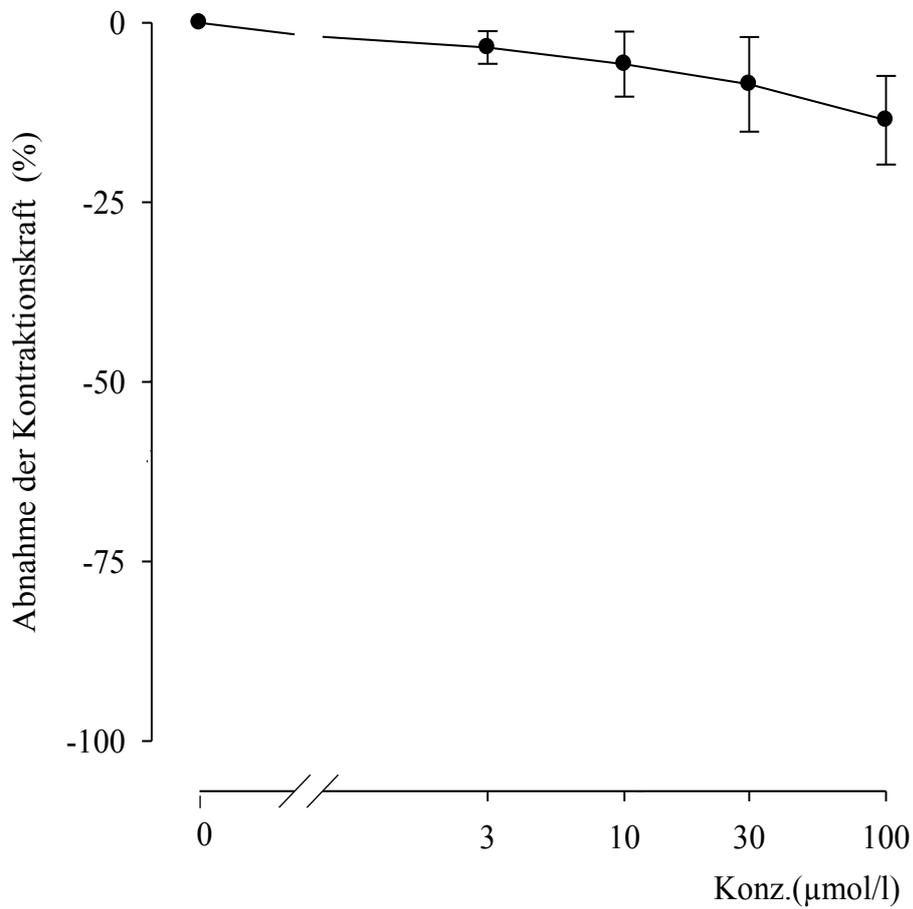


Diagramm 3: Konzentration- Wirkungskurve des terminalen Ileum

Das oben abgebildete Diagramm zeigt auf der y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent. Auf der x-Achse kann die Konzentration in µmol/l abgelesen werden.

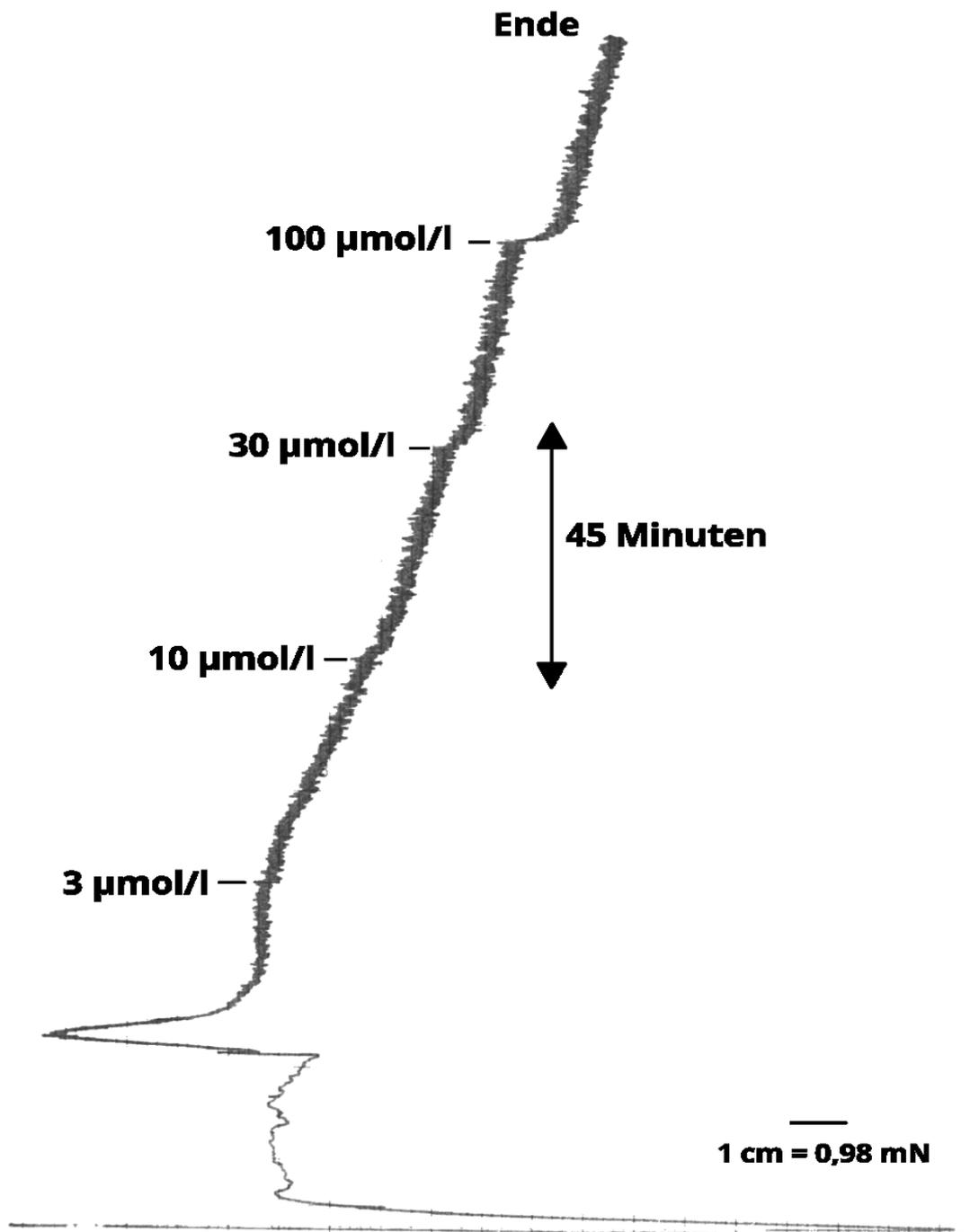


Abb.24: Originalaufzeichnung der Wirkung von Vanillin auf den Darm

Die Grafik zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft, also die spasmolytische Wirkung von Vanillin. Der Zeitpunkt der Zugabe der steigenden Substanzkonzentrationen ist gekennzeichnet.

6.4 Ergebnisse am Atrium dextrum

Hinsichtlich der Chronotropie (Schlagfrequenz) wurde der rechte Vorhof in vier Versuchen untersucht.

Der Sinusknoten ist für die Schlagfrequenz des Herzens zuständig. Nach Einspannen in die Organhalterung der Apparatur und 20-minütiger Gewöhnungsphase wurde bei Konstanz mit der Zugabe von Vanillin nach dem Pipettierschema begonnen. Es wurden 12 Sekunden lange Messungen durchgeführt und alle Spitzen gezählt. Eine Änderung der Schlagfrequenz ist durch die Zunahme und Abnahme der Spitzenzahl festzustellen.

Vanillin µmol/l	f ± SEM (x/min)	f ± SEM (%)	Versuche	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	226,25 ± 8,26	0 ± 0	4	--
3	228,75 ± 8,75	1,09 ± 0,63	4	n.s.
10	238,75 ± 10,08	5,47 ± 1,04	4	n.s.
30	247,50 ± 11,09	9,31 ± 1,54	4	0,05
100	252,50 ± 12,99	11,44 ± 2,25	4	0,05

Tabelle 14: Versuchsergebnisse von Vanillin am rechten Vorhof

Die Tabelle veranschaulicht den Mittelwert (f) und den Standardfehler (SEM) in Schlägen pro Minute (x/min). Wie bei den anderen Tabellen, wird auch hier die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) jeder Versuchsreihe und die Anzahl der Versuchsdurchführungen dargestellt.

Rechter Vorhof
n = 4, Vanillin

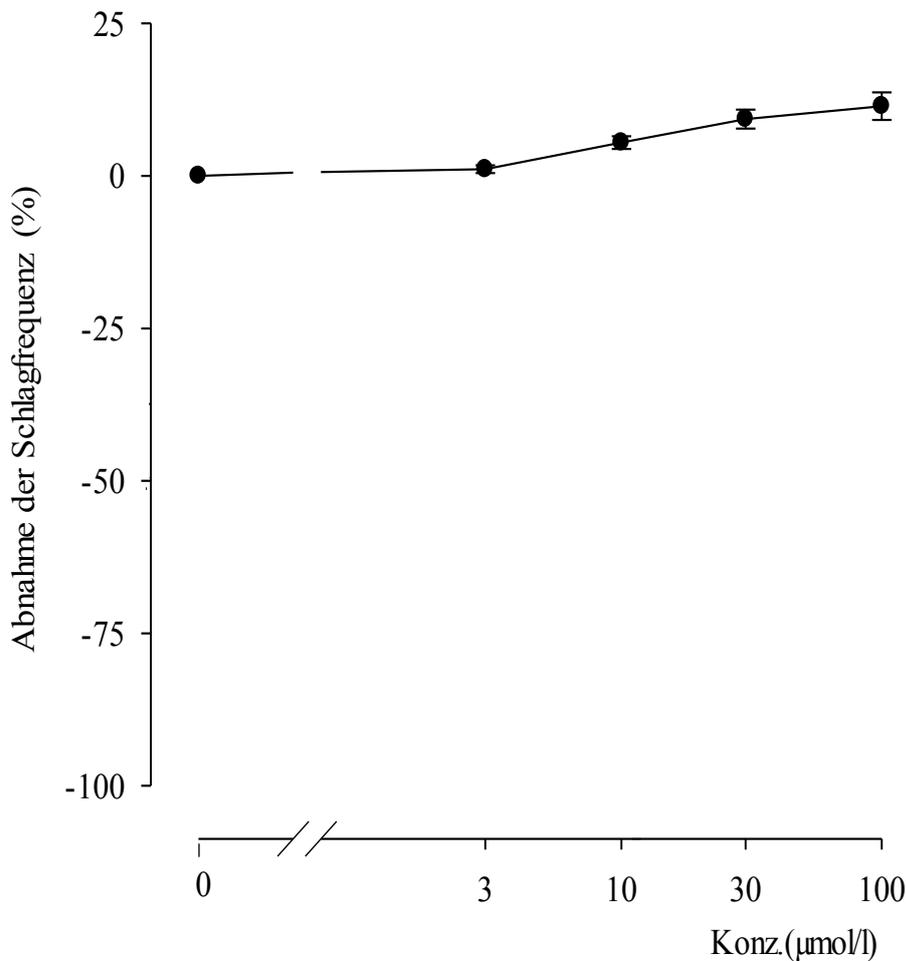


Diagramm 4: Konzentration- Wirkungskurve des Atrium dextrum

Das oben abgebildete Diagramm zeigt den Einfluss von Vanillin auf die Chronotropie des rechten Vorhofs.

Die hervorgehobenen Punkte entlang des Graphen zeigen den Mittelwert der Schlagfrequenz der durchgeführten Versuche bei Zugabe von Vanillin.

Eine leichte positive Chronotropie von Vanillin am rechten Vorhof lässt sich anhand des Graphen feststellen. Jedoch ist die Ausprägung so gering, dass der Wirkung keine weitere Bedeutung zugeschrieben wird.

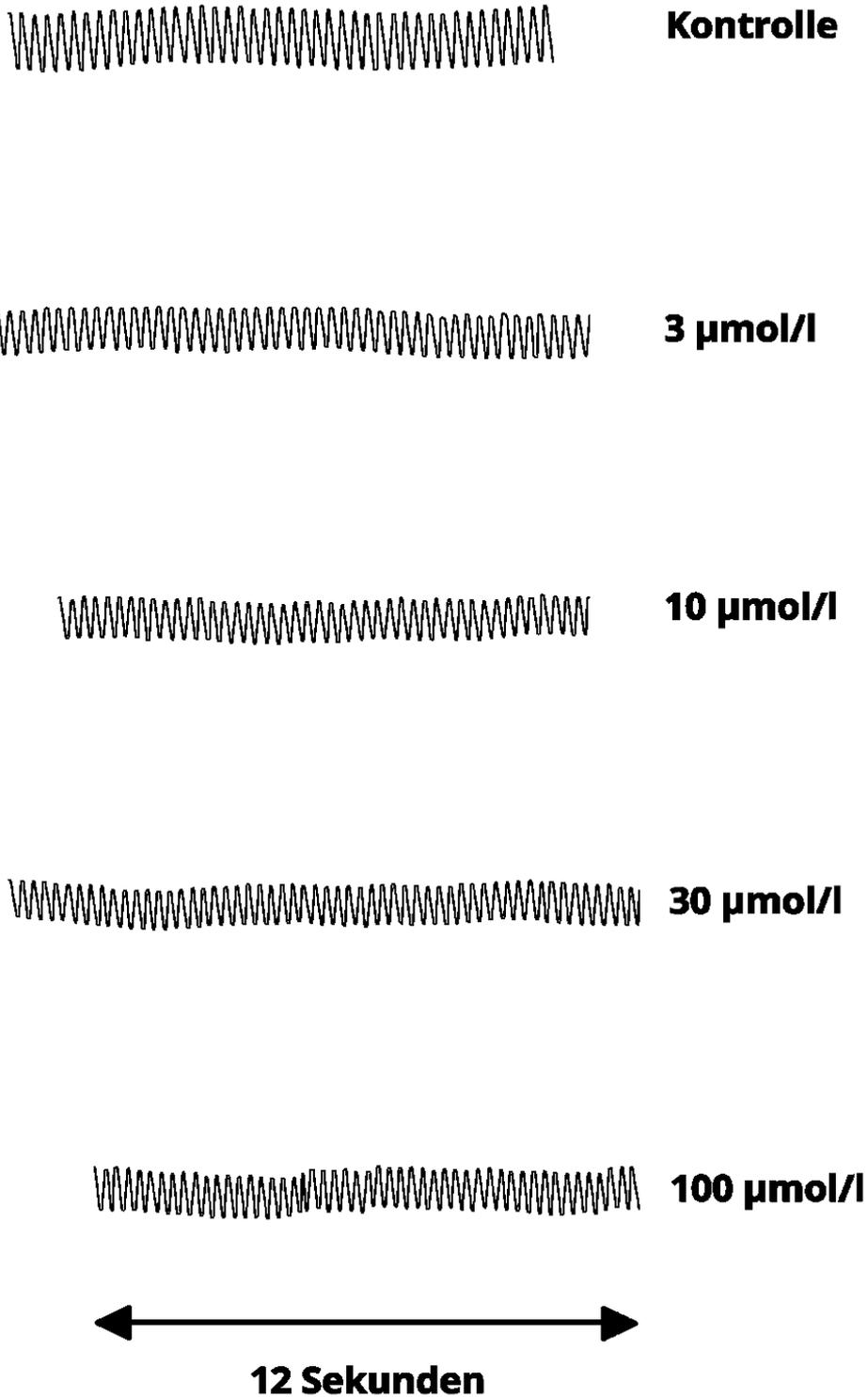


Abb. 25: Originalaufzeichnung der Wirkung von Vanillin auf den rechten Vorhof

Die Aufzeichnungsabschnitte sind 6 cm lang, was bei 5mV einer Zeitdauer von 12 Sekunden entspricht. Es ist, trotz der Zunahme der Konzentration, eine minimale Zunahme der Chronotropie zu erkennen.

6.5 Ergebnisse am Musculus papillaris

Die Aufzeichnungen am Papillarmuskel zeigen die Wirksamkeit von Vanillin in Bezug auf die Inotropie des Herzens. Dafür wurden vier Messungen an Apparatur 1, im 5-Minuten-Takt, 12 Sekunden lang durchgeführt. Anschließend wurde die Amplitude abgemessen, wobei zur Bestimmung lediglich jene Amplitude Verwendung fand, die 45 min. nach dem Einspritzen des Vanillins aufgezeichnet wurde.

Vanillin $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$1,97 \pm 0,52$	0 ± 0	3	--
3	$1,57 \pm 0,33$	$-17,20 \pm 6,06$	3	0,05
10	$1,84 \pm 0,41$	$-3,68 \pm 6,57$	3	n.s.
30	$2,00 \pm 0,48$	$3,44 \pm 5,39$	3	n.s.
100	$2,07 \pm 0,53$	$5,66 \pm 1,86$	3	n.s.

Tabelle 15: Versuchsergebnisse von Vanillin am Papillarmuskel

In der oben angeführten Tabelle sind die statistischen Daten der Versuche ersichtlich, wobei die Inotropieänderungen in Prozent und die Mittelwerte der Amplitudenlängen in mN angegeben werden. Dabei wurden die Standardfehler miteinbezogen.

Aus der Tabelle lässt sich erkennen, dass Vanillin bei einer Konzentration von $3 \mu\text{mol/l}$ eine leichte Minderung der Inotropie von $-17,20 \%$ aufweist, wobei die weitere Steigerung der Konzentration zu einer Erhöhung der Kontraktionskraft führt.

PAPILLARMUSKEL
n = 3, Vanillin

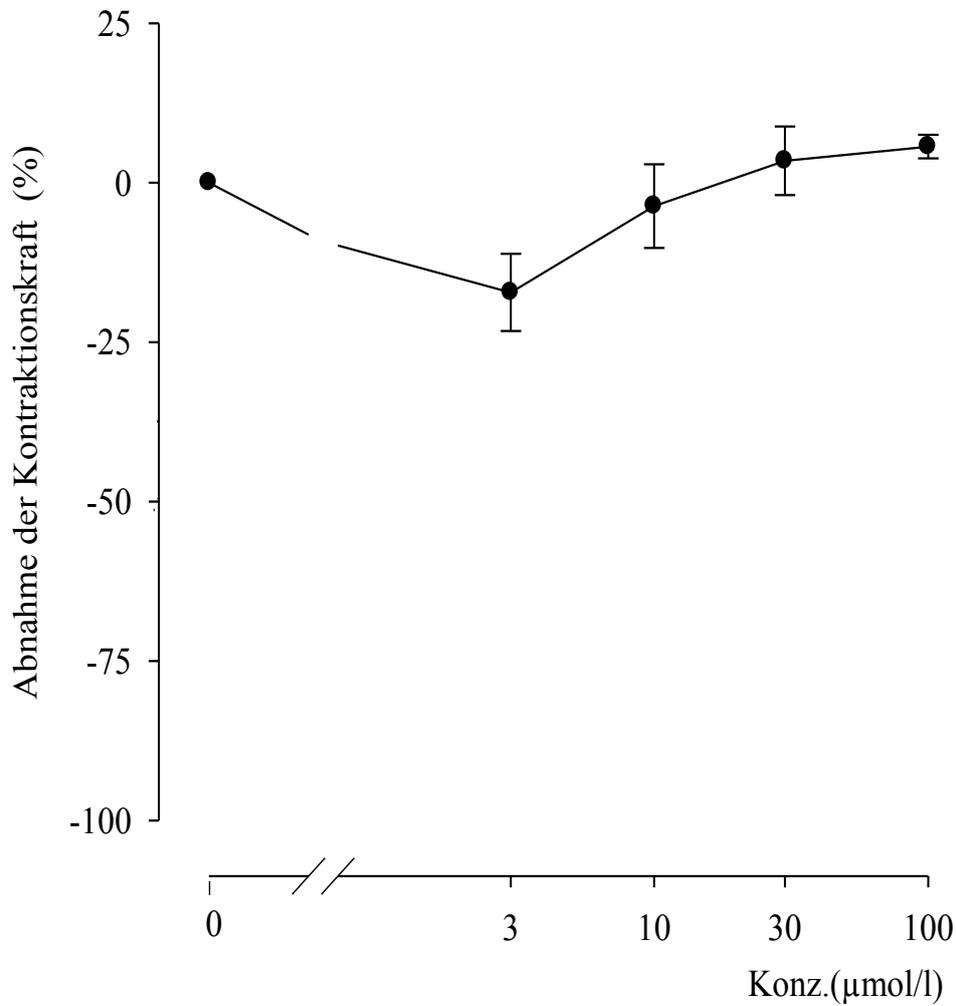


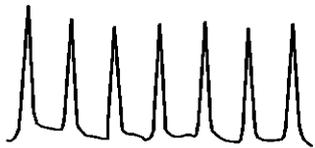
Diagramm 5: Konzentration-Wirkungskurve des *Musculus papillaris*

Auch das Diagramm illustriert die leichte Abnahme der Kontraktionskraft (y-Achse) bei einer Konzentration (x-Achse) von 3 µmol/l, wobei bei zunehmender Konzentration eine steigende Kontraktionskraft ersichtlich ist.

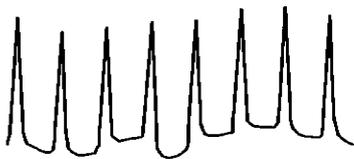
Dennoch ist die negative Inotropie nicht stark genug, um eine EC₅₀ zu berechnen.



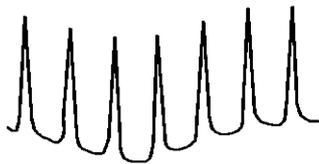
100 µmol/l



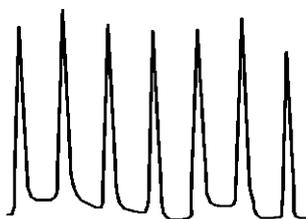
30 µmol/l



10 µmol/l



3 µmol/l



Kontrolle

Abb. 26: Originalaufzeichnung der Wirkung von Vanillin auf den Papillarmuskel

Die Größe der Amplitude sagt etwas über die Veränderung der Inotropie aus. Bei einer Konzentration von 3 µmol/l liegt eine leichte negative Inotropie vor, die mit steigender Konzentration wieder zunimmt.

6.6 Testung des Wirkmechanismus von Vanillin auf das Ileum terminale in Anwesenheit des Nitro-L-Arginin

Vanillin hatte im Vergleich zu den anderen getesteten Organe, trotz der schwachen Ausprägung, die stärkste Wirkung an der glatten Mukulatur des Ileum terminale. Dies zeigte sich durch den spasmolytischen Effekt von -13,57% bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$. Aus diesem Grund wurde der Wirkmechanismus am terminelen Ileum getestet. Auch hier wurden vier Versuche zur Bestimmung des Wirkmechanismus durchgeführt.

Der Grund für die Verwendung des Nitro-L-Arginin ist die Vermutung, dass Vanillin die Endotheliale NO Synthase stimulieren könnte und es dadurch zur Freisetzung des NO kommt, wodurch eine Spasmolyse ausgelöst wird. Durch Zugabe von Nitro-L-Arginin wird dieser eNOS blockiert

Bei der Durchführung des Versuches wurde zunächst mit einer KCL-Lösung eine maximale Vorkontraktion ausgelöst. Nach Erreichen der Plateauphase wurde das Organbad mit einer 100 $\mu\text{mol/l}$ Nitro-L-Arginin Lösung versetzt. Nach 45-minütiger Wartezeit wurde 100 $\mu\text{mol/l}$ Vanillin eingespritzt, um den Wirkmechanismus zu überprüfen.

Aus der unteren Tabelle können die Daten der durchgeführten Versuche zur Testung von Vanillin entnommen werden.

Konzentration $\mu\text{mol/l}$	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	Versuche	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	10,54 \pm 1,70	4	--
100 Nitro-L-Arginin	10,95 \pm 1,83	4	--
100 Vanillin	9,48 \pm 1,71	4	n.s.

Tabelle 16: Versuchsergebnis des Wirkmechanismus von Vanillin auf den Darm

**Terminales Ileum, Nitro-L-Arginin (100 μ M)
Vanillin, 100 μ mol/l
n=4**

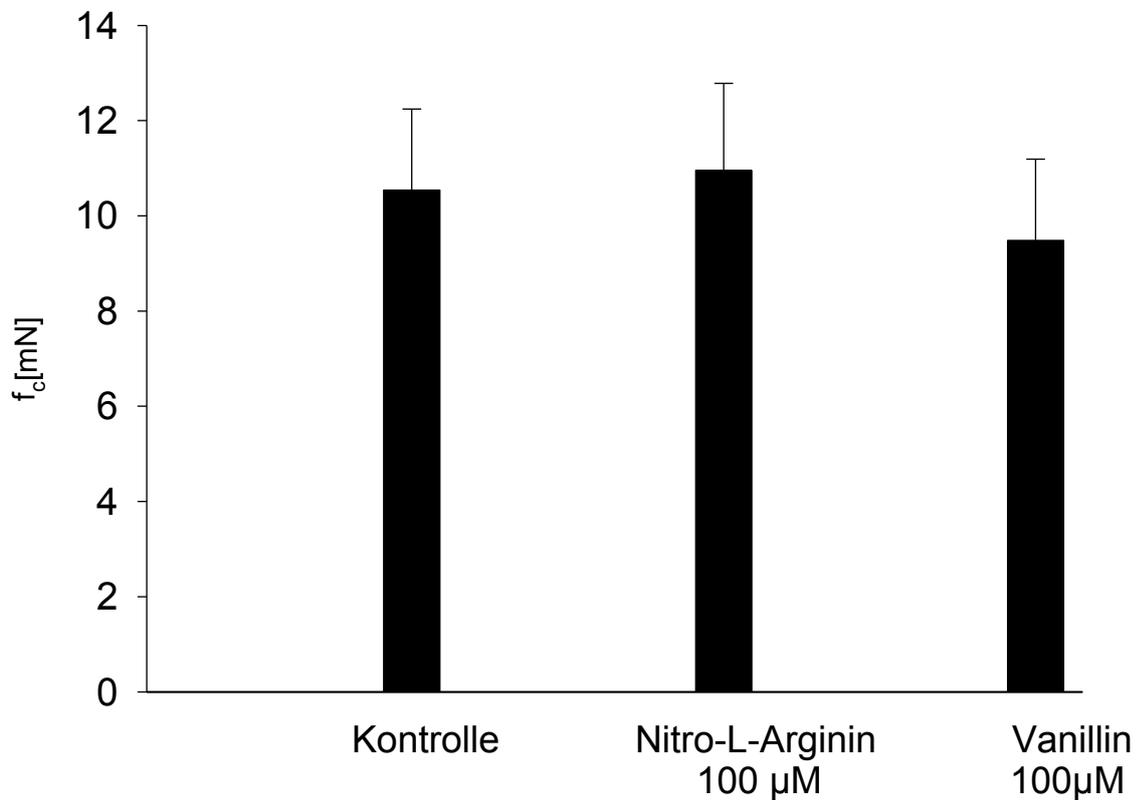


Diagramm 6: Grafik des Wirkmechanismus

Die drei abgebildete Balken stellen die unterschiedlichen Versuchsreihen dar. Auf der linken Seite ist die Kontrollphase, in der Mitte die zweite Versuchsphase mit Zugabe des Antagonisten Nitro-L-Arginin und auf dem rechten Balken die Zugabe von Vanillin ersichtlich.

Die schmalen Linien über den Balken zeigen die Standardfehler an.

Aus diesem Diagramm ergibt sich, dass Nitro-L-Arginin die spasmolytische Wirkung nicht antagonisieren konnte. Dies zeigt sich in der Kontraktionsabnahme des Präparats, trotz der Blockade der Endothelialen NO Synthase.

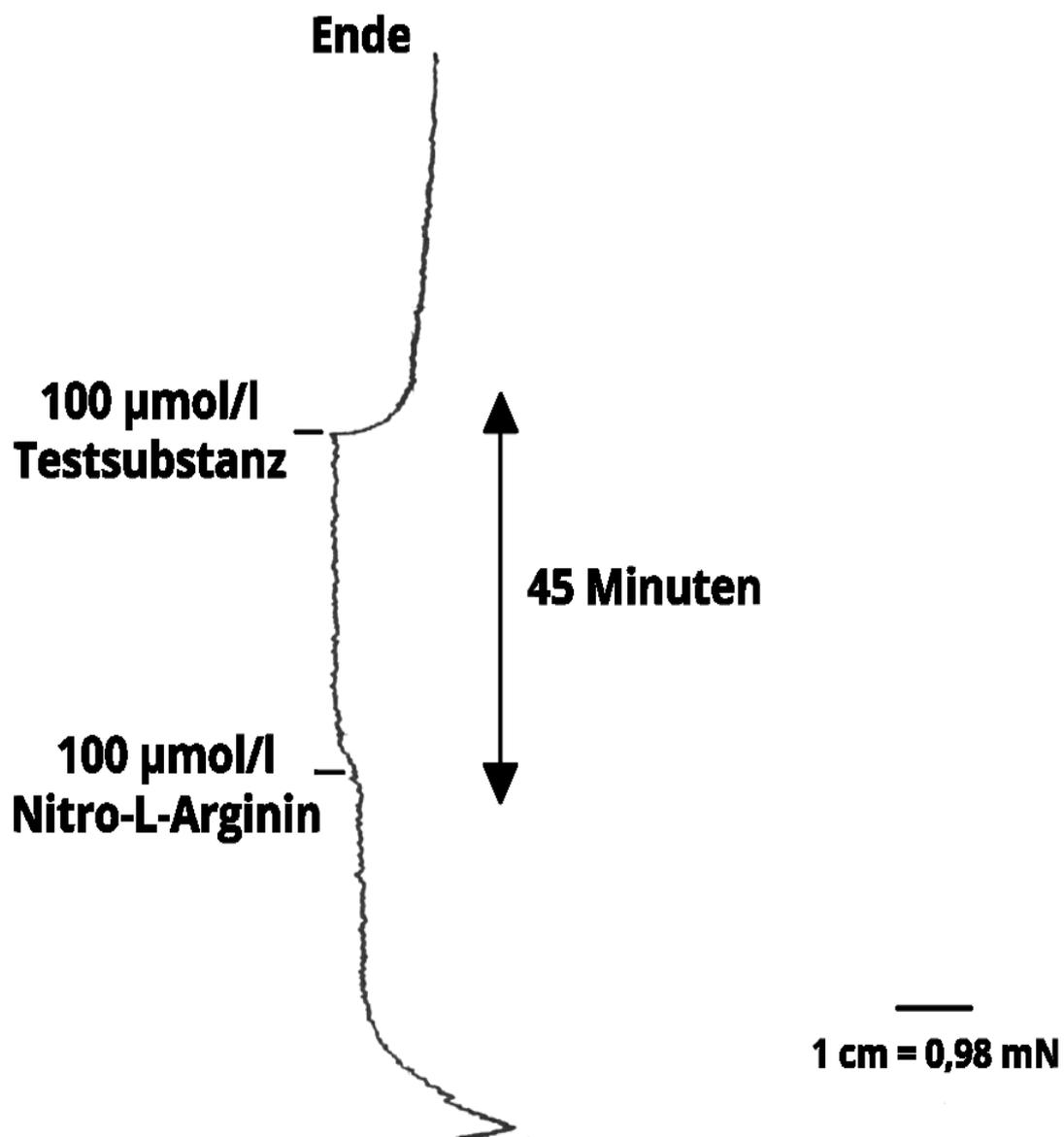


Abb. 27: Originalaufzeichnung des Wirkmechanismus

Anhand dieser Originalaufzeichnung ist deutlich zu erkennen, dass es, trotz des zuvor eingespritzten Nitro-L-Arginins, zu einer Relaxation der Darmmuskulatur kommt.

7. Diskussion

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden Versuche mit Vanillin an fünf unterschiedlichen Meerschweinchenorganen durchgeführt, um das Wirkprofil der Testsubstanz zu eruieren.

Dieser Abschnitt widmet sich den Ergebnissen der wissenschaftlichen Arbeit sowie der Erläuterung dessen.

7.1 Einfluss von Vanillin auf die glatte Muskulatur

Die glattmuskulären Gefäße der Aorta descendens und der Arteria pulmonalis dienten zur Untersuchung des vasodilatierenden Effekts von Vanillin, wobei an der terminale Ileum die spasmolytische Wirkung ermittelt wurde.

Um die Wirkung an diesen Organen messen zu können, musste zunächst mit einer Kaliumchlorid-Lösung maximal vorkontrahiert werden. Nur so war es möglich, durch Einspritzen der Testsubstanz, die Vasodilatation und die Spasmolyse durch verschiedenen Konzentrationen festzustellen.

Organ	f ± SEM (%) bei 100 µmol/l	EC ₅₀ (µmol/l)
Aorta descendens	-6,95 ± 4,03	> 100
Terminales Ileum	-13,57 ± 6,16	> 100
Arteria pulmonalis	-14,79 ± 4,98	> 100

Tabelle 17: Wirkung der Testsubstanz auf die glatte Muskulatur

In Tabelle 17 ist die Abnahme der Kontraktionskraft des angegebenen Organpräparates unter Einfluss von Vanillin in Prozent dargestellt.

Beim Vergleichen der oben genannten Organe kann festgestellt werden, dass die Arteria pulmonalis nach terminales Ileum die stärkste Abnahme der Kontraktionskraft aufweist. Bei der Aorta descendens weist Vanillin eine sehr schwache vasodilatierende Wirkung auf.

Keine dieser Wirkungen reichten aus, um den EC_{50} -Wert auszurechnen.

7.1. Einfluss von Vanillin auf die Aorta descendens

Insgesamt wurden 5 Versuche an der absteigenden Aorta durchgeführt, um den vasodilatierenden Effekt von Vanillin nachzuweisen. Die Ergebnisse zeigen, dass bei einer Konzentration von 3-30 $\mu\text{mol/l}$ der vasodilatierende Effekt minimal steigt, jedoch bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ die Vasodilatation gleich bleibt. Diese Effekte sind so schwach ausgeprägt, dass Vanillin keine besondere Bedeutung zugesprochen werden kann.

7.1.2 Einfluss von Vanillin auf die Arteria pulmonalis

Anhand von 7 Versuchen ergab sich für die Abnahme der Kontraktionskraft ein Mittelwert von $-14,79 \pm 4,98$ bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$. Somit weist die Arteria pulmonalis unter dem Einfluss von Vanillin die stärkste vasodilatierende Wirkung auf. Um eine EC_{50} auszurechnen, war dieser Wert jedoch viel zu gering.

7.1.3 Einfluss von Vanillin auf das terminale Ileum

Nach der Arteria pulmonalis konnte am Dünndarm nach fünf durchgeführten Versuchen die zweitstärkste spasmolytische Wirkung bzw. der zweitstärkste Abfall der Kontraktionskraft festgestellt werden. Der Mittelwert der Abnahme betrug $-13,57 \pm 6,16$ bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ Vanillinlösung, wobei auch hier keine Berechnung des EC_{50} möglich war.

7.2 Einfluss von Vanillin auf die quergestreifte Herzmuskulatur

Die Kontraktionskraft und Schlagfrequenz wurden mithilfe des Papillarmuskels und des Vorhofs untersucht. Jedoch benötigte der Papillarmuskel zum Schlagen, im Gegensatz zum Vorhof, einen externen elektrischen Impuls.

Organ	f ± SEM (%) bei 100 µmol/l	EC50 (µmol/l)
Atrium cordis dextrum	11,44 ± 2,25	> 100
Musculus papillaris	5,66 ± 1,86	> 100

Tabelle 18: Wirkung des Vanillins auf die Herzmuskulatur

Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, dass Vanillin sowohl eine geringe positive Chronotropie als auch eine geringe positive Inotropie aufweist. Vergleichsweise findet der größere Effekt am Papillarmuskel statt, aber auch hier wurde keine mittlere effektive Konzentration erreicht. Somit sind die Ergebnisse nicht als signifikant einzuordnen.

7.2.1 Einfluss von Vanillin auf den Atrium dextrum

Um die chronotrope Wirkung feststellen zu können, wurden am Vorhof insgesamt vier Versuche durchgeführt und die Schläge pro Minute gemessen. Die Berechnung des Mittelwerts ergab eine leichte Zunahme der Chronotropie von 11,44 ± 2,25 bei einer Substanzkonzentration von 100 µmol/l.

7.2.2 Einfluss von Vanillin auf den Musculus papillaris

Bei den durchgeführten Versuchen auf den Papillarmuskel wurde bei einer Konzentration von 3 $\mu\text{mol/l}$ ein negativ inotropes Verhalten mit einem Mittelwert von $-17,20 \pm 6,06$ beobachtet. Erst bei steigender Konzentration stellte sich eine positiv inotrope Wirkung heraus. Der höchste Mittelwert betrug bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ $5,66 \pm 1,86$.

7.3 Einfluss auf den Wirkmechanismus

Durch Zugabe des Antagonisten Nitro-L-Arginin wurde eNOS vor Hinzufügung des Vanillins im Dünndarm gehemmt. Dabei wurde beobachtet, dass die Kontraktionskraft des Organs von $10,95 \pm 1,83$ auf $9,48 \pm 1,71$ reduziert wurde. Durch diese Änderung kann festgehalten werden, dass die endotheliale NO-Synthase nicht an der spasmolytischen Wirkung des Dünndarms beteiligt ist, da diese bereits von einem Enzyminhibitor blockiert war.

8. Zusammenfassung

Ziel der Diplomarbeit war es an isolierten Meerschweinchenorganen Versuche durchzuführen, um die mögliche pharmakologische Wirksamkeit von Vanillin zu untersuchen.

Die Testsubstanz Vanillin (der Hauptwirkstoff der *Vanilla planifolia*) wird als antioxidativ wirksame Geruchs- und Geschmackskorrigens verwendet.

Als Organe der glatten Muskulatur wurden die absteigende Aorta, die Pulmonalarterie und der Dünndarm verwendet, an denen die relaxierende Wirkung des Vanillins getestet wurde. Der rechte Vorhof und der Papillarmuskel, die zur quergestreiften Muskulatur zählen, dienten zur Untersuchung der Chronotropie bzw. der Inotropie.

Auf die Arteria pulmonalis weiste Vanillin zwar die stärkste Abnahme der Kontraktionskraft auf, die jedoch mangels Erreichen des EC_{50} vernachlässigbar war. Nach der Arteria pulmonalis konnte am terminale Ileum die zweitstärkste spasmolytische Wirkung bzw. der zweitstärkste Abfall der Kontraktionskraft bestimmt werden, die aber dennoch so gering war, dass keine therapeutische Bedeutung vorliegt. Bei der Aorta descendens weiste Vanillin eine sehr schwache vasodilatierende Wirkung auf.

Zusätzlich stellte sich heraus, dass Vanillin eine geringe positive Chronotropenveränderung am Vorhof aufweist und eine positiv inotrope Wirkung auf den Papillarmuskel verfügt.

Im Zuge der Untersuchungen konnte der zu testenden Substanz (Vanillin) an keinem der untersuchten Organe eine therapeutisch relevante Wirkung nachgewiesen werden.

Da sich auch durch die Überprüfung des Wirmechanismus mit Hilfe des Nitro-L-Arginin herausstellte, dass die spasmolytische Wirkung nicht dem eNOS zuzuschreiben war, kann daraus geschlossen werden, dass bei Vanillin andere Wirkmechanismen für die Spasmolyse am Darm zuständig sind.

9. Literaturverzeichnis

Ammon HPT (2010) Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch, 10. Auflage, Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin / New York

Boericke W 2004 Handbuch der homöopathischen Materia medica, Karl F. Haug, 3. Auflage

Braun J, Dormann A. (2014) Klinikleitfaden Innere Medizin, 12. Auflage, Elsevier GmbH, München, Urban und Fischer Verlag

Brücher, H. (1977) Tropische Nutzpflanzen, Ursprung, Evolution und Domestikation, Berlin, Heidelberg, New York: Springer

Erdman E. (2011) Klinische Kardiologie, Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße, 8. Auflage, Verlag Springer

Hermann K. 1983: Exotische Lebensmittel, Berlin.Heidelberg, New York: Springer

Kaneda T, Sasaki N, Urakawa N, Shimizu K (2016) Endothelium-Dependent and Independent Vasodilator Effects of Dimethylsulfoxid in Rat Aorta

Karow T, Lang-Roth R (2016) Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 25. Auflage

Lieberei R, Reisdorff C. (2007) Nutzpflanzenkunde, 7. Auflage, Stuttgart: Ulmer

Lüllmann H, Mohr K, Lutz H (2016) Pharmakologie und Toxikologie, 18. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart-New York

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer H, Menzel S, Ruth P (2008) Mutschler
Arzneimittleinwirkungen Pharmakologie Klinische Pharmakologie Toxikologie,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 9. Auflage

Netter FH (2003) Atlas Anatomie des Menschen, 3. Auflage, George Thieme Verlag,
Stuttgart

Sticher O, Heilmann J, Zündorf I (2007) Hänsel / Sticher Pharmakognosie
Phytopharmazie, wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Springer, 8. Auflage

Teucher E, Melzig MF, Lindequist U (2004) Biogene Arzneimittel Lehrbuch der
Pharmazeutischen Biologie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 6.
Auflage

10. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Durch Einwirkung von Glycosidasen werden aus geruchlosen Vorstufen
Dufstoffe freigestzt.
- Abb. 2: Struktur von Vanillin
- Abb. 3: Präparierbesteck
- Abb. 4: Vorbereitungsgefäße
- Abb. 5: Organe des Meerschweinchens
- Abb. 6: Isolierter Darm
- Abb. 7: Präparierplatz
- Abb. 8: Papillarmuskel mit Häkchen
- Abb. 9: Schematische Abbildung des Herzens (Netter 2003)
- Abb. 10: Präparierter Darm unter der Lupe
- Abb. 11: Präparierter Darm an die Apparatur angehängt
- Abb. 12: Geteilte Aorta descendens
- Abb. 13: Aorta mit Fett-, Muskelgewebe
- Abb. 14: Arteria pulmonalis
- Abb. 15 : Pulmonalarterie, eingespannt im Organbad
- Abb. 16: Strukturformel von DMSO
- Abb. 17: Schematische Darstellung der Apparatur 1
- Abb. 18: Stimulator, Verstärker, Schreiber
- Abb. 19: Schematische Darstellung der Apparatur 2
- Abb. 20: Apparatur 3
- Abb. 21: Struktur von Nitro-L-Arginin
- Abb. 22: Originalaufzeichnung von Vanillin an der Hauptschlagader
- Abb. 23: Originalaufzeichnung der Wirkung von Vanillin auf der Pulmonalarterie
- Abb. 24: Originalaufzeichnung der Wirkung von Vanillin auf den Darm
- Abb. 25: Originalaufzeichnung der Wirkung von Vanillin auf den rechten Vorhof
- Abb. 26: Originalaufzeichnung der Wirkug von Vanillin auf den Papillarmuskel

11. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Glycoside und ihre Aglyka (Hänsel et al 2007)

Tabelle 2: Schweregrad des Herzinsuffizienz nach NYHA

Tabelle 3: Schweregradeinteilung nach CCS

Tabelle 4: Klassifikation von Blutdruckbereichen

Tabelle 5: gemessener Effekt auf die Organe

Tabelle 6: Zusammensetzung der Tyrode

Tabelle 7: Zusammensetzung für 2 Liter Tyrode

Tabelle 8: Zusammensetzung der KCl Lsg. für jedes Organpräparat

Tabelle 9 : Pipettierschema von Vanillin

Tabelle 10: Eichfaktor

Tabelle 11: Versuchsergebnisse von Vanillin an der Aorta

Tabelle 12: Versuchsergebnisse von Vanillin an der Arteria pulmonalis

Tabelle 13: Versuchsergebnisse von Vanillin auf den Darm

Tabelle 14: Versuchsergebnisse von Vanillin am rechten Vorhof

Tabelle 15: Versuchsergebnisse von Vanillin am Papillarmuskel

Tabelle 16: Versuchsergebnisse des Wirkmechanismus von Vanillin auf den Darm

12. Diagramme

Diagramm 1: Konzentration- Wirkungskurve von Vanillin an der Hauptschlagader

Diagramm 2: Konzentration- Wirkungskurve der Arteria pulmonalis

Diagramm 3: Konzentration- Wirkungskurve des terminalen Ileum

Diagramm 4: Konzentration- Wirkungskurve des Atrium dextrum

Diagramm 5: Konzentration- Wirkungskurve des Musculus papillaris

Diagramm 6: Grafik des Wirkmechanismus

13. Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin Converting Enzym
ÄÖ	Ätherisches Öl
ASS	Acetylsalicylsäure
CCD	Canadian Cardiovascular Society
DMSO	Dimethylsulfoxid
EC ₅₀	Mittlere Effektive Konzentration
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
F	Mittelwert von ...
HZV	Herz-Zeit Volumen
ISDN	Isosorbiddinitrat
KCL	Kaliumchlorid
KHK	Koronare Herzkrankheit
MG	Molekulargewicht
mN	Millinewton
ms ⁻¹	Millisekunde
mV	Millivolt
n	Anzahl
n.s	nicht signifikant
NO	Stickstoffmonoxid
NYHA	New York Heart Assoziation
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
PH	Pulmonale Hypertension
SEM	Standard Error of mean
SSRI	Selektive Serotonin Reuptake Inhibitor
TCA	Tricyclische Antidepressiva