



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

„Pharmakologische Wirkung von zwei potentiellen H<sub>2</sub>S-Liberatoren (SWS 62 HCl und SWS 81 HCl) auf isolierte Organe von Meerschweinchen“

Verfasserin

Anna Antosz

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Pharmazie

Betreuer:

Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei Herrn Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Christian Studenik bedanken, der mich während der Diplomarbeit betreute und eine äußerst angenehme Arbeitsatmosphäre während des gesamten praktischen Teils ermöglichte.

Ein herzliches Dankeschön geht auch an meiner besten Freundin Claudia Köberl, für die alltägliche Unterstützung und Hilfe in der gesamten Studienzeit .

Auch ein Dankeschön an die Ina Kserovic, die immer ein offenes Ohr für mich hatte und für die aufmunternde Worte in der schwierigen Studienzeit.

Besonders bedanken möchte ich mich noch bei meiner allerliebsten Mama, die immer für mich da ist und mich immer unterstützt. Ohne Sie wäre das Studium niemals möglich gewesen.

Vielen Dank auch an meinen Stiefvater, der mir bei der Anfertigung der Diplomarbeit zur Seite stand.

Abschließend möchte ich mich noch bei meinem Ehemann bedanken, der alle meine Launen und Stimmungen, vor allem vor den Prüfungen ertragen musste und mich während des gesamten Studiums unterstützte.

# Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG .....	1
2. ZIEL MEINER ARBEIT .....	5
3. MATERIAL UND METHODIK.....	6
3.1. Testsubstanzen: SWS 62Cl und SWS 81 HCl.....	6
3.1.1. SWS 62 HCl .....	6
3.1.2. SWS 81HCl .....	7
3.1.3. Anfertigung der Testlösung .....	8
3.2. Verwendete Lösungen für die Versuche .....	10
3.2.1. Tyrode.....	10
3.2.2. Kaliumchloridlösung .....	11
3.2.2.1. Kaliumchloridlösung für dieUntersuchung an der Aorta descendes und Arteria pulmonalis .....	12
3.2.2.2. Kaliumchloridlösung für die Untersuchung am Ileum terminalis.....	12
3.3. Versuchstiere.....	12
3.4. Isolierung und Präparierung der Organe von Meerschweinchen .....	13
3.4.1. Isolierung der Tierorgane.....	13
3.4.2. Präparation der einzelnen Tierorgane.....	15
3.4.2.1. Präparation des Atrium cordis dextrum(rechter Vorhof) .....	16
3.4.2.2. Präparation der Arteria pulmonalis (Lungenarterie).....	17
3.4.2.3. Präparation des Musculus papillaris( Papillarmuskel) .....	17
3.4.2.4. Präparation der Aorta descendes(Aorta) .....	18
3.4.2.5. Präparation des Darms Ileum terminalis( Darm).....	20
3.5. Verwendete Versuchsapparaturen .....	21
3.5.1. Apparatur A .....	22
3.5.2. Apparatur B .....	24
3.5.3. Kraftwandler, Verstärker und Schreiber .....	26
3.6. Der Versuchsablauf .....	28
3.6.1. Versuchsorgan Illeum terminalis.....	29
3.6.2.Versuchsorgan Arteria pulmonalis.....	29
3.6.3.Versuchsorgan Aorta descendes .....	30
3.6.4.Versuchsorgan Musculus papillaris .....	31
3.6.5.Versuchsorgan Atrium dexter .....	31
3.7. Auswertung der Daten und Statistik .....	33
3.7.1. Auswertung vom Aorta descendes, Arteria pulmonalis, Terminales Ileum.....	33
3.7.2. Auswertung vom Musculus papillaris .....	33

3.7.3. Auswertung vom Atrium cordis dextrum.....	34
3.7.4. Statistik... ..	34
4. ERGEBNISSE .....	35
4.1. Ergebnisse der Testsubstanz SWS 62 HCL.....	35
4.1.1. Wirkung von SWS 62 HCL auf Atrium cordis dextrum .....	35
4.1.2. Wirkung von SWS 62 HCL auf Arteria pulmonalis .....	38
4.1.3. Wirkung von SWS 62 HCL auf Musculus papillaris .....	41
4.1.4. Wirkung von SWS 62 HCL auf Aorta descendes .....	44
4.1.5. Wirkung von SWS 62 HCL auf Ileum terminalis.....	47
4.2. Ergebnisse der Testsubstanz SWS 81 HCL.....	50
4.2.1. Wirkung von SWS 81 HCL auf Atrium dextrum .....	50
4.2.2. Wirkung von SWS 81 HCL auf Arteria pulmonalis .....	53
4.2.3. Wirkung von SWS 81 HCL auf. Musculus papillaris.....	56
4.2.4. Wirkung von SWS 81 HCL auf Aorta descendes .....	59
4.2.5. Wirkung von SWS 81 HCL auf Ileum terminalis.....	62
5. DISKUSSION .....	65
5.1 Wirkung von SWS 62 HCL .....	65
5.1.1. Wirkung von SWS 62 HCL auf die Aorta .....	66
5.1.2. Wirkung von SWS 62 HCL auf die Lungenarterie .....	66
5.1.3. Wirkung von SWS 62 HCL auf den Darm.....	67
5.1.4. Wirkung von SWS 62 HCL am rechten Vorhof.....	67
5.1.5 Wirkung von SWS 62 HCL am Papillarmuskel.....	67
5.2. Wirkung von SWS 81 HCL.....	68
5.2.1. Wirkung von SWS 81 HCL auf die Aorta.....	68
5.2.2. Wirkung von SWS 81 HCL auf die Lungenarterie.....	68
5.2.3. Wirkung von SWS 81 HCL auf den Darm.....	68
5.2.4. Wirkung von SWS 81 HCL am rechten Vorhof.....	69
5.2.5. Wirkung von SWS 81 HCL am Papillarmuskel.....	69
6. Zusammenfassung.....	70
7. Literaturverzeichnis.....	71
8. Lebenslauf.....	74

## **1.EINLEITUNG**

Schwefelwasserstoff, mit der chemischen Bezeichnung H<sub>2</sub>S ist farblos und brennbar. Sein Geruch erinnert stark an den Geruch von faulenden Eiern.

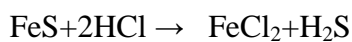
H<sub>2</sub>S ist neben Ozon, Schwefeldioxid und Kohlenmonoxid ein Bestandteil von chemischen Noxen. Noxen haben eine schädigende Wirkung und können endogen und exogen in den Körper gelangen (Mutschler 1999).

Eine wichtige Funktion bei der Entstehung von H<sub>2</sub>S, die endogen im Körper erfolgt, haben zwei Enzyme, sowohl das Cystathion beta- Synthase (CBS) als auch Cystathion-gamma-Lyase (CSE) (Hosoki et al. 1997, Stipanuk & Beck, 1982; Griffith 1987).

Das CBS- Enzym ist im Gehirn und im Nervensystem lokalisiert, das CSE-Enzym befindet sich sowohl im kardiovaskulären System, als auch in der Leber (Szabo 2007, Abe und Kimura 1996).

NO und CO können die Aktivität von Cystathion beta-Synthase (CBS) direkt hemmen (Puranik et al. 2006). Es wurde nämlich festgestellt, dass Endotoxine die Aktivität von Cystathion-gamma-Lyase (CSE) erhöhen (Ishii et al. 2004).

Die Herstellung des stark riechenden Gas erfolgt in einem chemischen Labor unter Verwendung von Salzsäure und Eisen(II)- sulfid. Man lässt die Salzsäure auf Eisen(II)-sulfid tropfen.



Das giftige Gas ist eine schwache Säure, die sich schlecht in Wasser aber besser in Alkohol auflösen lässt.

H<sub>2</sub>S wird nämlich zu Sulfat oxidiert und dann als Sulfat von Organismus ausgeschieden (Mutschler et al. 2008).

Der typische Geruch von H<sub>2</sub>S kann in niedrigen Konzentrationen nur leicht wahrgenommen werden, in höheren Konzentrationen riecht das giftige Gas dafür süßlich. Es besteht die Gefahr eines Gewöhnungseffektes und in weiterer Folge können sogar die Geruchsrezeptoren blockiert werden (Aktories 2009).

Das anorganische Molekül hat einen MAK-Wert von 15 mg/m. Dieser Wert sagt uns, dass es ein sehr giftiges Gas ist. Der Mak-Wert ist nämlich die Konzentration, die keinen negativen Einfluss auf die Gesundheit hat, auch dann nicht, wenn der Mensch acht Stunden täglich oder vierzig Arbeitsstunden wöchentlich mit dem Stoff in Kontakt bleibt (Hunnius 1997, Mutschler et al. 2001).

Bei Arbeiten in Abwasserkanälen sowie chemischen Labors besteht eine erhöhte Gefahr an einer Schwefelwasserstoffvergiftung zu erleiden (Aktories 2009).

Eine Vergiftung mit Schwefelwasserstoff kann zu einer Schädigung des erythroetischen Systems führen und schlussendlich dann zu einer giftigen Hämolyse (Mutschler 1999).

Wird das Gas in geringen Mengen eingeatmet, können folgende Symptome auftreten: Schwäche, Übelkeit, sowohl Reizung der Atemwege als auch Augen, Erbrechen, Krämpfe.

Eine akute Vergiftung äußert sich vor allem durch die zentrale Atemlähmung. Man glaubt, dass H<sub>2</sub>S für die Hemmung der Fe-haltigen Atmungsenzyme verantwortlich ist. Der genauere Wirkmechanismus konnte aber bis jetzt nicht geklärt werden (Mutschler et al. 2005).

Die Therapie beinhaltet eine künstliche Beatmung. Sehr ratsam ist noch die zusätzliche Applikation von Diethylaminophenol (4-DMAP) (Oberdisse et al. 2001). Diese Verbindung besitzt nämlich eine höhere Anziehungskraft zur Cytochromoxidase als Schwefelwasserstoff und deswegen ist eine oftmalige Zugabe sehr empfehlenswert (Mutschler et al. 2008).

Schwefelwasserstoff wird für die Therapie der akuten Bauchspeicheldrüse verwendet (Bhatia et al. 2005 a), bei septischen Schockzuständen (Li et al. 2005) sowie bei Trisomie 21 (Kammoun 2001).

Es wird auch behauptet, dass Schwefelwasserstoff einen neuroprotektiven Einfluss auf die Morbus Parkinson Erkrankung hat (Lu et al. 2009).

Die Gabe von einem Hemmstoff der Schwefelwasserstoffsynthese (PAG) kann die Verschlechterung der Symptome, die bei einem septischen Schock auftreten, lindern (Collin et al. 2005).

H<sub>2</sub>S hat nicht nur die toxische Wirkung, sondern besitzt ebenso physiologische Wirkungen (Wang et al. 2002).

Studien, die in mehreren Prüfzentren durchgeführt werden zeigten, dass Schwefelwasserstoff einen Einfluss im kardiovaskulären Bereich hat, genauso wie NO und CO. Der Stickstoffmonoxid und Kohlendioxid aktivieren das zelluläre cyclische Guanosinmonophosphat (cGMP) und leiten somit die Gefäßrelaxation ein (Zhao et al 2001).

Zhao behauptet, dass die vasodilatierende Wirkung von H<sub>2</sub>S über eine Öffnung der Adenosintriphosphat-abhängigen k-Kanälen, vor allem an der glatten Muskulatur erfolgt. Die Öffnung der Kaliumkanäle bewirkt eine Hyperpolarisation der Membran, infolgedessen kommt es zu einer Erschlaffung der glatten Muskulatur (Zhao et al. 2001).

Die ATP-abhängigen K-Kanäle stellen einen Heterooctamer dar und sind jeweils aus 4 Untereinheiten aufgebaut. Die erste vierer-Untereinheit trägt den Namen Sulfonylharnstoff-Rezeptor (SUR), die zweite vierer-Untereinheit wird Killer cell immunoglobulin like Rezeptor (KIR) genannt. Die Entdeckung des ATP-abhängigen K-Kanal erfolgte im Herzen (Holzwarth 2004, Seino und Miki 2003).

Das anorganische Molekül hat ebenso auf Entzündungsprozesse einen positiven Einfluss. Es führt sowohl zur Apoptoseinduktion von neutrophilen weißen Blutkörperchen als auch zur Blockade der Expression von entzündlichen Leukozyten und Adhäsionsmolekülen (Zanardo et al. 2006).

Die Linderung der künstlich hervorgerufenen pulmonalen arteriellen Hypertonie (PAH) erfolgte durch Einsatz von NaHS (Huang et al.2008). PAH gehört nämlich zu den Orphan – Krankheiten. Die Chancen geheilt zu werden sind sehr gering.

Aufgrund der Gefäßerweiternden Wirkung wird Schwefelwasserstoff in der Therapie der Hypertonie verwendet (Yan et at.2004).

Es gibt 5 verschiedene Substanzklassen, die für die Behandlung des erhöhten Blutdrucks dienen.

Zum einen gibt es die ACE-Hemmer (Angiotensin- Converting- Enzym), auch sogenannte“Prile“ wie zum Beispiel Fosinopril, Lisinopril, Ramipril.

Zum anderen gibt es die Calciumantagonisten, zu diesen zählen Nitrendipin, Felodipin.

Die nächste Gruppe sind die Beta-Blocker wie Propranolol, Sotalol, Nebivolol.

Sann gibt es noch Sartane (AT1-Rezeptor-Antagonisten) wie Valsartan, Telmisartan.

Zu der letzten Wirkstoffklasse gehören die Diuretika, wie zum Beispiel Torasemid, Amilorid und Eplerenon.

Neben diesen fünf genannten Wirkstoffklassen, gibt es noch drei weitere die auch zur Behandlung der Hypertonie eingesetzt werden können.

Dazu gehören:

1. Kaliumkanalöffner, wie Minoxidil und Diazoxid
2. Vasopeptidasehemmer, wie Omapatrilat
3. Alpha-1-Rezeptorenblocker, wie Doxazosin



## **2. ZIEL MEINER ARBEIT**

Das Ziel der Diplomarbeit war, die Wirkungen der beiden Substanzen SWS 62 HCl und SWS 81 HCl an isolierten Meerschweinchenorganen zu untersuchen.

Die beiden Testsubstanzen wurden für die Untersuchung an den Organen der glatten Muskulatur der Arteria pulmonalis und der Aorta descendes, herangezogen. Bei diesen Versuchen erwartete man eine vasodilatierende Wirkung.

Bei den Untersuchungen am isolierten Ileum terminalis erhoffte man sich einen spasmolytischen Effekt.

Am Atrium cordis dextrum war es wichtig, eine Änderung der Chronotropie festzustellen.

Bei Musculus papillaris wurde der Einfluss auf die Inotropie durch die Zugabe der beiden SWS-Testsubstanzen erforscht.

Mit Hilfe der ermittelten Werte, war es möglich eine Dosis-Wirkungskurve zu erstellen. Ein  $EC_{50}$ -Wert von unter  $30\mu\text{mol/l}$  deutete auf eine Wirkung hin.

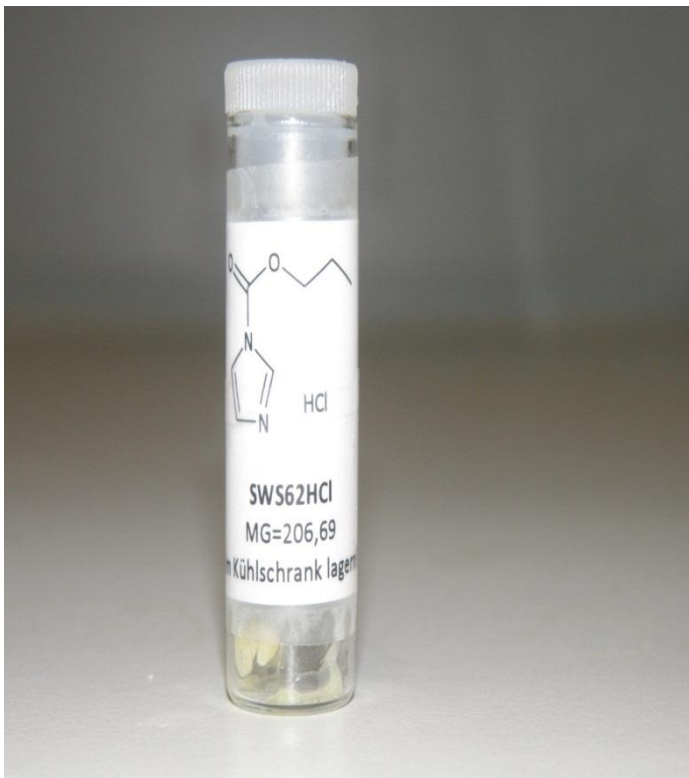
## **3.MATERIAL UND METHODIK**

### **3.1 Testsubstanzen: SWS 62 HCl und SWS 81 HCl**

Am Department der Pharmazeutischen/Medizinischen Chemie wurden die beiden Wirkstoff-Substanzen SWS 62 HCl und SWS 81 HCl unter der Leitung von AO. Univ. Prof. Dr. Thomas Erker synthetisiert, um die Untersuchung der Wirkung an Organen von Meerschweinchen zu ermöglichen.

#### **3.1.1. SWS 62 HCl**

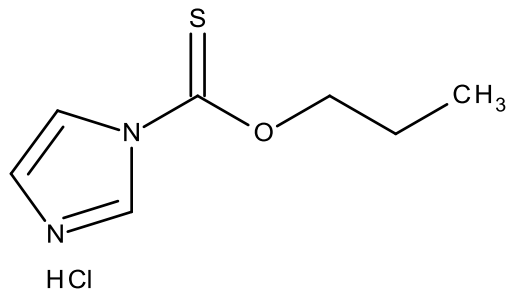
Abbildung 1 : 1- Testsubstanz SWS 62 HCl



Testsubstanzcode: SWS 62 HCL

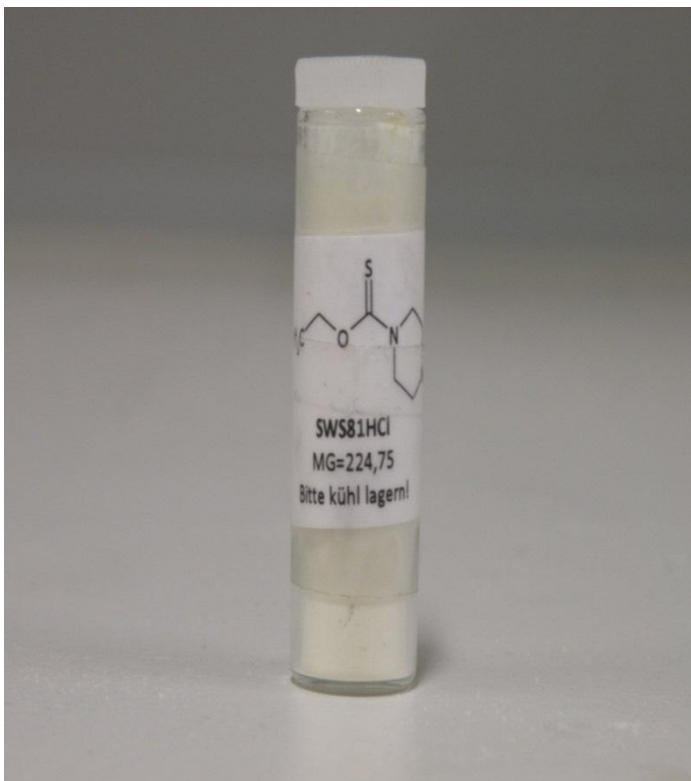
Nomenklatur : 1-Propoxythiocarbonylimidazol-Hydrochlorid

Abbildung 2 : Strukturformel von SWS 62 HCl



### 3.1.2. SWS 81 HCl

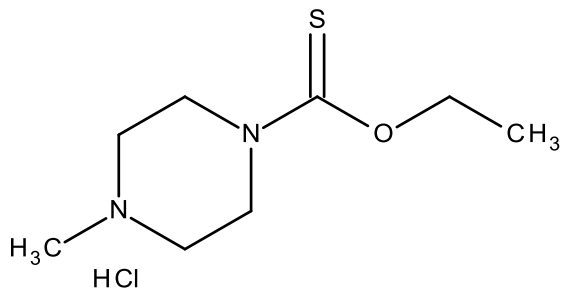
Abbildung 3 : 2-Testsubstanz SWS 81 HCl



Testsubstanzcode: SWS 81 HCl

Nomenklatur: Ethyl-4- Methyl-1- piperazinthiocarboxylat- Hydrochlorid

Abbildung 4 : Strukturformel von SWS 81 HCl



### 3.1.3. Anfertigung der Testlösung

Da es sich bei SWS 62 HCl und SWS 81 HCl um pulvrige Substanzen handelte, mussten sie, bevor man mit den Versuchen anfangen konnte mit einem bestimmten Lösungsmittel aufgelöst werden.

Die benötigte Wirkstoffmenge wurde mithilfe von Molekulargewicht ermittelt, und da die beiden Testsubstanzen hydrophile Substanzen waren, hatte man sie jeweils mit 100µl Aqua bidestillata gelöst.

Die Testlösung der beiden SWS-Substanzen musste jeden Tag frisch hergestellt werden, und danach im Kühlschrank gelagert, um korrekte Ergebnisse erzielen zu können.

Im Laboratorium waren Organbäder mit unterschiedlicher Aufnahmefähigkeit von 8 ml und 25 ml vorhanden, und auch das musste man in die Berechnung der Substanzmenge mit einbeziehen, wie auf der Tabelle 1 zu sehen ist.

Tabelle 1 : Einwaage der Testsubstanzen SWS 61 HCl und SWS 81 HCl

Testsubstanz	Organbadvolumen (ml)	Molekulargewicht	Einwaage der Testsubstanz (mg)
SWS 62 HCl	8	206,69	0,17
	25		0,52
SWS 81HCl	8	224,75	0,18
	25		0,56

Bevor man die Testlösung in das Organbad einspritzen dürfte, musste eine Kontrollphase von 45 Minuten erfolgen. Nachdem sich die Kontraktionskurve richtig eingestellt hat, indem sie konstant blieb, konnte die erste Konzentration der Testlösung non 1µl mittels einer Finnmikropipette eingespritzt werden. Die Zeitpunkte der Injektion erfolgten in einem 45-Minutenintervallen. Um die Endkonzentration von 100µmol/l zu erzielen, erfolgten weitere Konzentrations-Zugaben und zwar von 2µl, 7µl,20µl und 70µl.

Tabelle 2 : Pipettierschema

Volumen der Testsubstanz in $\mu\text{l}$ , die zugegeben wurde	Organbadkonzentration in $\mu\text{mol/l}$
1	1
2	3
7	10
20	30
70	100

## 3.2. Verwendete Lösungen für die Versuche

### 3.2.1. Tyrode

Jeden Tag, kurz vor Arbeitsbeginn musste die Tyrode, anders ausgedrückt eine physiologische Nährstofflösung frisch zubereitet werden. Das Ziel der Tyrode war, die isolierten Organe des Meerschweinchens bestmöglich mit den Elektrolyten zu versorgen. Die Tabelle 3 veranschaulicht Substanzen, die miteinander vermischt wurden.

Tabelle 3: Bestandteile der Tyrodelösung

Substanz	Molare Masse (g/mol)	Stocklösung	Menge für 1 Liter Tyrode	Mmol/l
NaCl	58,44	1000,25g/5l	33,6	115,01
KCl	74,55	50,33g/5l	35,0	4,73
NaHCO <sub>3</sub>	84,01	125,00g/5l	83,7	24,91
MgSO <sub>4</sub>	120,37	147,02g/5l	1,18	0,29
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	62,00g/250ml	1,18	2,15
CaCl <sub>2</sub>	110,98	34,00g/250ml	3,2	3,92
Glucose	180,16	Reinsubstanz	1,98	

Zu Beginn befühlte man den 2 Liter Messkolben mit schon fertigbereiteten Lösung von Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Magnesiumsulfat, Natriumhydrogencarbonat und Kaliumhydrogenphosphat. Danach gab man die pulverisierte Glucose dazu und füllte den Kolben bis mehr als die Hälfte mit Aqua bidestillata auf. Um die Festsubstanz Glucose vollständig aufzulösen wurde das Gefäß kräftig geschüttelt. Gleich danach wurde das Gemisch 20 Minuten lang mit Oxymix begast. Carbogen beziehungsweise Oxymix besteht aus einer Mischung von 95% Kohlenstoffdioxid und 5 % Sauerstoff. Nach der 20 minutigen Begasung dürfte die letzte Komponente der Tyrode, das Calciumchlorid mit Vorsicht und tropfenweise in den Kolben pipettiert werden. Man wollte durch die langsame Zugabe von Calciumchlorid einen Niederschlag oder Ausfällung der schwerlöslichen Calciumsalzen vermeiden. Wäre dies der Fall musste man die ganze Tyrode verwerfen, weil sie für die Versuche nicht mehr zu verwenden ist. Verbleibt die Lösung klar, dürfte man den 2 Liter Kolben noch einmal mit Aqua bidestillata bis zur Markierung vervollständigen. Die fertige Tyrode sollte am Schluss etliche Male umgeschwenkt werden, um eine gute Mischung der vorkommenden Bestandteile zu erzielen. Die fertige physiologische Nährstofflösung darf jetzt für die Versuche verwendet werden.

### **3.2.2. Kaliumchloridlösung**

Für die Untersuchungen an Organen der glatten Muskulatur des Darms, der Aorta und der Lungenarterie wurde jeden Morgen neue Kaliumchloridlösung hergestellt. Diese Lösung ermöglichte eine Vorkontraktion der Präparate. Da bei dem Papillarmuskel die Reizung mit Hilfe von Elektrode erreicht wurde, war hier eine Kaliumchloridlösung nicht nötig. Bei den Untersuchungen am Aorta cordis dexter war die Schlagfähigkeit durch den Sinusknoten gewährt, somit war hier auch keine Kaliumchloridlösung von Nöten. Die Lösung wurde somit in zwei verschiedenen Konzentrationen hergestellt.

### **3.2.2.1. Kaliumchloridlösung für die Untersuchung an der Aorta descendes und Arteria pulmonalis**

Da auch hier eine Vorkontraktion der beiden Organe von Nöten war ,musste eine 90 mmolare Lösung hergestellt werden. Man benötigte hier 0,67g KCl, die man in einem Messkolben (100ml) einwog und auch da wiederum bis zur Markierung mit der selbsthergestellten Tyrode auffüllte.

### **3.2.2.2. Kaliumchloridlösung für die Untersuchung am Ileum terminalis**

Da die Vorkontraktion des Darms notwendig war, musste man eine 60 mmolare Lösung herstellen. Man benötigte dafür 0,45g KCl, die man in einem Messkolben (100ml) einwog und mit bereits hergestellten Tyrode bis zur Markierung auffüllte.

## **3.3. Versuchstiere**

Für die Versuche der beiden SWS-Substanzen, die jeden Morgen durchgeführt wurden, benötigte man sowohl weibliche als auch männliche Meerschweinchen, im Alter von 6-8 Wochen.

Bei diesen Tieren handelte es sich um TRIK Stämmen. Sie wiesen ein Gewicht von ungefähr 300 und 600g auf und wurden auch deshalb für die Versuche herangezogen, weil sie ähnliche Ionenkanäle wie wir Menschen besitzen.

Das Tier musste für die Versuche durch einen Genickschlag getötet werden. Da aber der Schlag gegen die Tischkante gezielt und schnell angesetzt war, dürfte das Tier nicht gelitten haben.





### **3.4. Isolierung und Präparierung der Organe von Meerschweinchen**

#### **3.4.1. Isolierung der Tierorgane**

Für die Isolierung der einzelnen Organe, wie Terminale Ileum, Aorta descendes, Aorta pulmonalis, Musculus papillaris und Atrium cordis dexter verwendete man ein Besteck namens Sezierbesteck, bestehend aus einem Plastikteller, Pinzette und Federschere wie auf der Abbildung zu sehen ist. Daneben standen noch Bechergläser mit gefüllten Tyrode und ein Faden zum binden der einzelnen Organe.

Abbildung 6 : Sezierbesteck



Nachdem das Meerschweinchen getötet wurde, erfolgte durch eine Schere die Öffnung des Thorax. Am Anfang wurde das Herz entfernt und in ein daneben liegendes Becherglas mit Tyrode hineingegeben und so schnell wie möglich zusätzlich begast. Eine rasche Begasung war wichtig, um die Mangelversorgung des Herzens zu verhindern. Gleich danach wurde ein langes Stück des terminalen Ileum entnommen, welches dann in kleinere Stücke geschnitten werden musste. Dann überführte man es wiederum in ein Becherglas mit befeuchteter Tyrode und versorgte mit Gas. Erst nach der Isolierung des Darms und des Herzens konnte die Aorta entfernt werden, da sie sich hinter dem Herzen befand. Auf Grund dessen musste der Thorax ein Stück weiter aufgeschnitten werden. Nun jetzt konnte die 2 bis 3 cm lange weiße Aorta, die stark angewachsen ist mit einer Schere vorsichtig isoliert werden. Dabei war es aufzupassen, dass man der Aorta keine Löcher hinzufügt, weil sonst musste man sie verwerfen, da sie für die Versuche nicht mehr geeignet wäre. Auch hier musste das weiße Stück in eine begaste physiologische Nährstofflösung überführt werden. Die Überreste des Meerschweinchens wurden in ein dafür vorgesehenes Behälter entsorgt. Ab jetzt dürfte mit der Präparation der Organe begonnen werden.

### 3.4.2. Präparation der einzelnen Tierorgane

Nach der Isolierung der einzelnen Organe erfolgte die Bearbeitung der Präparate. Die einzelnen Organe befanden sich in einer Petrischale mit einem Korkboden und Gummischlauch, die kurz zuvor mit der physiologischen Nährstofflösung befüllt und gleich danach zusätzlich mit Carbogen begast werden mussten. Die Präpariernadeln dienten dazu, das jeweilige Organ am Korkboden zu befestigen. Letztendlich erfolgte das Präparieren unter einem Lichtmikroskop.

Abbildung 7 : Lichtmikroskop und Präparierbesteck



### 3.4.2.1. Präparation des Atrium cordis dextrum ( rechter Vorhof)

Da sich der rechte Vorhof im Herzen befindet und um an den Vorhof näher heranzukommen, wurden unter dem Lichtmikroskop unnötige Fettgewebe sowie Lungenfragmente herausgeschnitten. Für diesen Zweck musste das Organ mit Präpariernadeln am Korkboden der Petrischale fixiert werden. Für die Versuche wurde deswegen der rechte Vorhof verwendet, weil sich dort der Sinusknoten befindet und dieser gilt als Impulsgeber des Herzens. Deswegen musste bei diesem Schritt äußerst vorsichtig gearbeitet werden. Schon eine kleine Verletzung des Vorhofes könnte die elektrische Impulsgebung unterbinden und somit die Schlagfähigkeit verhindern. Um das isolierte Organ in die dafür vorgesehene Apparatur einzuspannen zu können, mussten zuerst an beiden Seiten handgemachte Silberhacken angebracht werden. Diese Hacken wurden mittels eines Fadens an der Spitze und am Ende des Vorhofes befestigt. Um sicher zu gehen, dass es gut fixiert war, machte man an beiden Seiten einen Doppelknoten. Gleich danach versuchte man das schon fertig präparierte Organ in die Apparatur einzuspannen, wobei es wichtig war das kleine Organ nicht zu überdehnen, da es sonst nicht mehr zu Verwendung geeignet wäre.

Abbildung 8 : Präparierter und eingespannter Vorhof



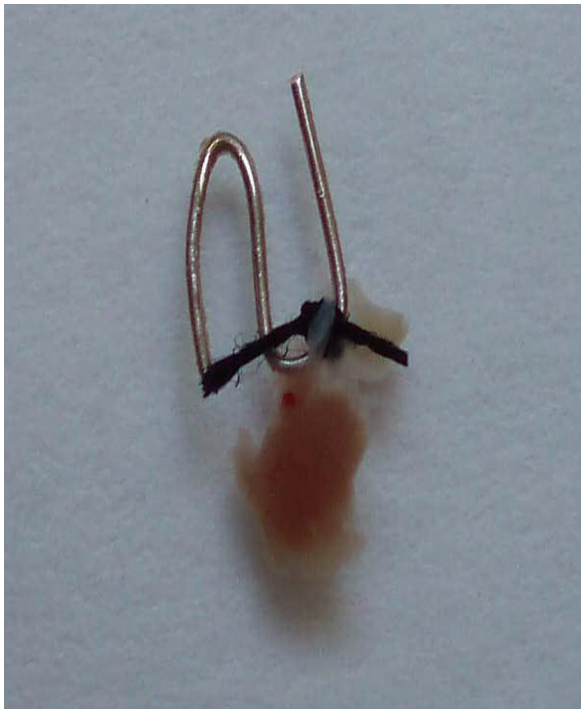
### **3.4.2.2. Präparation der Arteria pulmonalis (Lungenarterie)**

Als nächstes wurde die Arteria pulmonalis für die Versuche herangezogen. Die Lungenarterie befindet sich in rechten Herzkammer und wird auch Truncus pulmonalis genannt. Das kleine, elastische Arterienstück bringt das Blut vom Herzen zur Lunge und führt es dann zurück. Es wird zunächst ein ungefähr 1 cm langes Stück vom Herzen isoliert, das gleich danach in zwei oder drei kleinere Ringe geschnitten werden musste. Falls sich noch Überreste vom unnötigen Fettgewebe befanden, wurden sie vorsichtig mit einer Spitzschere abgetrennt. Bevor man die kleinen ringförmigen Teilstücke in die Apparatur einspannte, mussten sie in einem Becherglas, das mit Tyrode befüllt war, aufbewahrt und zusätzlich noch begast werden.

### **3.4.2.3. Präparation des Musculus papillaris (Papillarmuskel)**

Nach der Isolierung des rechten Vorhofs und der Pulmonalarterie war der Papillarmuskel das letzte Organ, um es aus dem Herzen zu entfernen. Der Musculus papillaris war sowohl in der rechten als auch in der linken Herzkammer zu finden. Man begann aber aus dem rechten Kammer den Muskel zu isolieren, indem man es durch vorsichtige Öffnung entlang des Septums herausschnitt. Gleich danach sollten die sogenannte Purkinje Fasern entfernt werden, da sie ein Teil des Erregungsleitungssystems sind und sie könnten durch ihre Spontanaktivität einen negativen Einfluss auf die Kontraktionskraft des Muskels haben. Der Papillarmuskel aus dem rechten Herzkammer hatte im Gegensatz zu linken einen Vorrang, weil er eine bessere Kontraktionskraft darstellte. Um den rechten Muskel von den linken zu unterscheiden, verwendete man an der Spitze des Papillarmuskels aus dem rechten Kammer einen roten Bindefaden und an der Basis des Papillarmuskels aus dem linkem Kammer einen blauen Faden. Hier war das Anbringen von nur einem Silberhacken erforderlich. Letztendlich wurde es in die Tyrode übergeführt, zusätzlich mit Oxymix begast und danach dürfte das Einspannen in die dafür vorgesehene Apparatur erfolgen.

Abbildung 9 : Präparierter Papillarmuskel



#### **3.4.2.4. Präparation der Aorta descendens ( Aorta)**

Nach der Isolierung des Darms und des Herzens konnte nun die Aorta entfernt werden. Da sie aber stark entlang der Wirbelsäule angewachsen ist, musste der Korpus noch mehr durchgebogen werden, um das Aortenstück mit einer Pinzette zu erreichen und mühelos herauszuschneiden. Zuerst wurde sie in eine begaste physiologische Nährstofflösung übergeführt, danach am Korkboden einer Petrischale mit zwei Präpariernadeln fixiert und falls noch Überreste von unnötigen Fettgewebe beziehungsweise Blutgerinnsel vorhanden waren, wurden sie sorgfältig mit einer Federschere abgetrennt. Bei diesem Schritt war es sehr wichtig, das Organ weder zu überdehnen, noch zu durchlöchern. War dies der Fall, konnte man das saubere Stück in mehrere Ringe schneiden. Danach erfolgten die Versuche der beiden SWS- Testsubstanzen.

Abbildung 10 : Aorta descendens mit Fettgewebe



Abbildung 11 : Präparierter Aorta

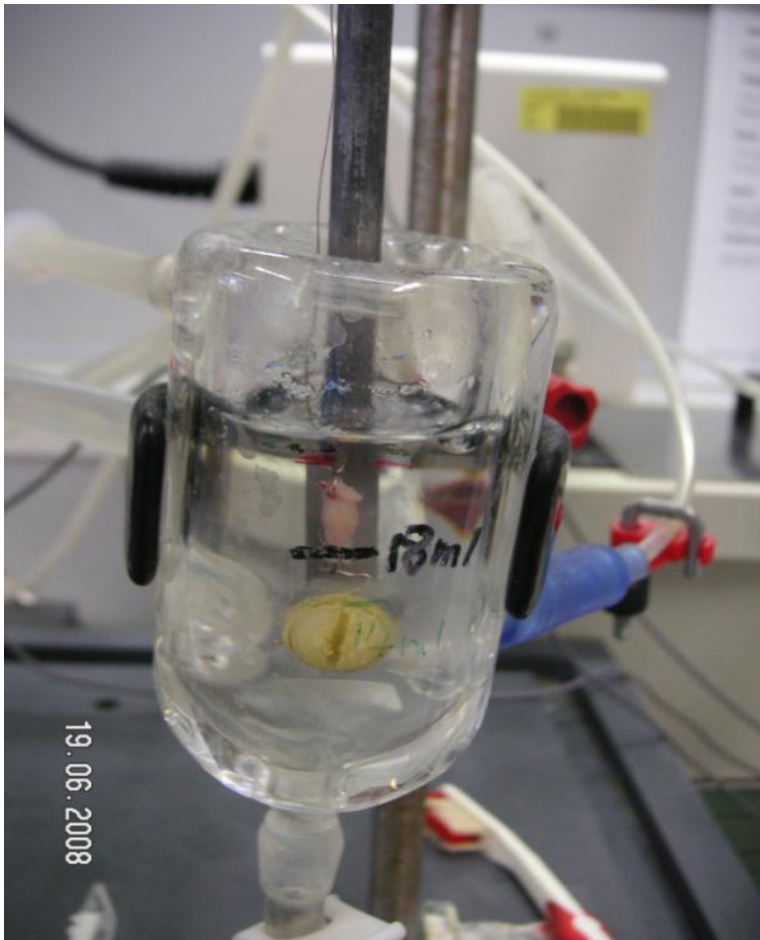


### **3.4.2.5. Präparation des Ileum terminalis (Darm)**

Als erstes Organ wurde das ca. 20 Zentimeter lange terminale Ileum aus dem Bauchraum isoliert. Danach, wie bei allen anderen Organen auch in eine begaste physiologische Nährstofflösung übergeführt. Es wurde kleiner Stücke daraus gemacht und auch hier wiederum am Korkboden der Petrischale mit zwei Präpariernadeln fixiert. Mittels einer Schere musste die Ober- und Unterseite des Darms schräg abgeschnitten werden. Zusätzlich wurde ein ungefähr ein Zentimeter langes Darmstück mittels einer Pasteurpipette gereinigt, um dann später einen besseren Durchfluss des Wirkstoffes durch den Darm zu ermöglichen. Gleich danach mussten an beiden Seiten mit einem Bindefaden handgemachte Silberhacken angebracht werden, wobei es wichtig war die beiden Enden des Darms weder zu verschließen noch zu durchlöchern. Letztendlich erfolgte die Einspannung des Darms in die davor vorgesehene Apparatur.



Abbildung 12 : Präpariertes Darmstück



### 3.5. Verwendete Versuchsapparaturen

Es wurden 2- Testapparaturen für die Versuche der beiden Testsubstanzen SWS 62 HCl und SWS 81 HCl bereitgestellt, wobei die Apparatur Nr.1 nur für den Versuch am Papillarmuskel geeignet war. Die Apparatur Nr. 2 stand für Aorta descendes, Atrium coedis dexter, Arteria pulmonalis und terminalen Ileum bereit.

### 3.5.1. Apparatur 1

Abbildung 13 : Originalbild der Apparatur 1

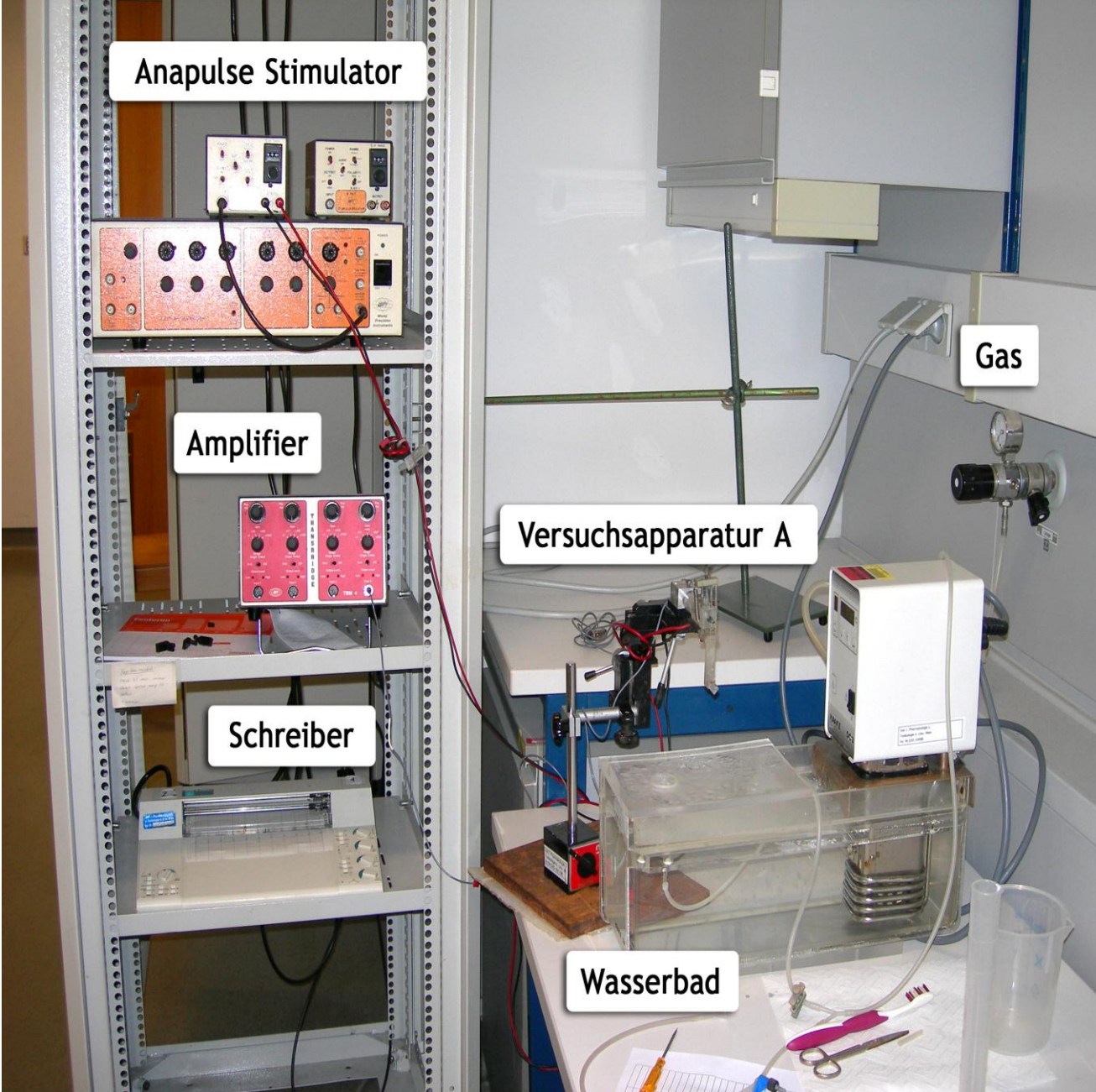
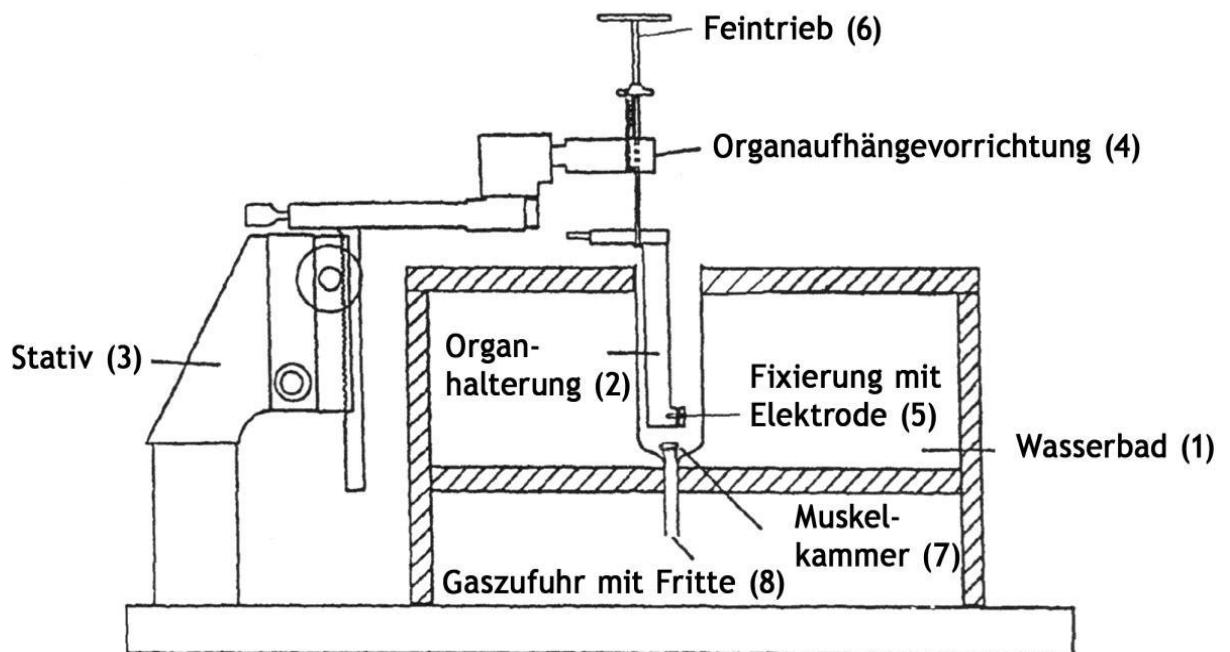
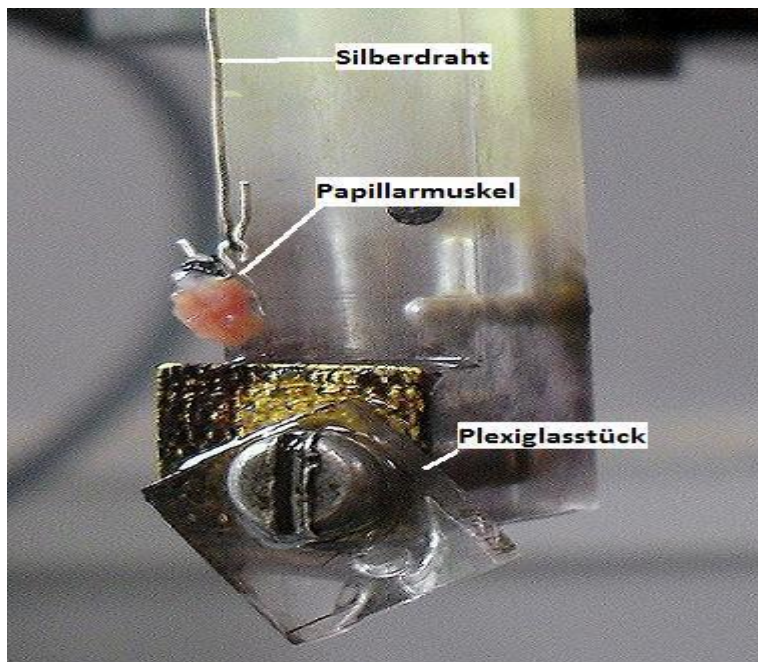


Abbildung 14 : Skizze der Apparatur 1



Die Abbildung Nr. 14 veranschaulicht den Aufbau der Apparatur 1, welche zur Bestimmung der Kontraktionskraft des Papillarmuskels von Nöten war. Wie auf der Abbildung zu erkennen ist, bestand die Apparatur 1 untereinander aus dem Wasserbad. Das Wasserbad musste eine Temperatur von 35° Celsius aufweisen und wurde dafür mittels einer Heizspirale aufgewärmt. In diesem Bad war eine Muskelkammer vorhanden, die einen Fassungsvermögen von circa 25 Milliliter betrug und mit Tyrodelösung gefüllt war. Um einen Sauerstoffmangel des Organs zu vermeiden, wurde am Ende der Kammer eine Glasfritte fixiert, die eine Zufuhr des Carbogengases in das Organbehälter ermöglichte. Das kleine Organ musste zwischen einer Elektrode und einer Glasscheibe, sogenannte Plexiglasscheibe angeschraubt werden. Ein Teil des Organs sollte aber herausragen. Ein Stativ diente dazu, das Organgefäß in das Muskelkammer abzusenken, bis sie komplett mit Tyrode bedeckt war. Der Papillarmuskel musste im Gegenteil zum Vorhof durch einen Accupulser Stimulator gereizt werden, weil er keine Spontanaktivität aufwies. Sowohl diese Apparatur als auch die andere besitzen einen Kraftwandler und Amplifier. Diese beiden Bestandteile der Apparatur setzen die Kontraktion des Papillarmuskels in Stromimpulse um.

Abbildung 15 : Papillarmuskel in Apparatur 1



### 3.5.2.Apparatur 2

Abbildung 16 : Originalbild der Apparatur 2

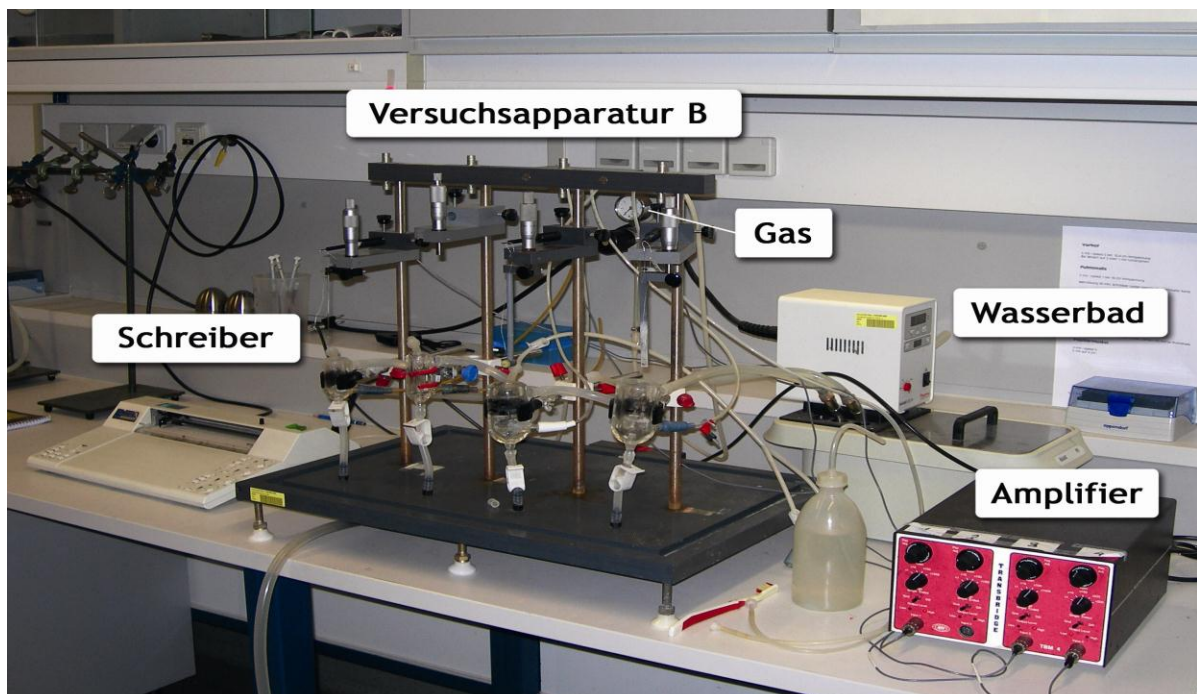
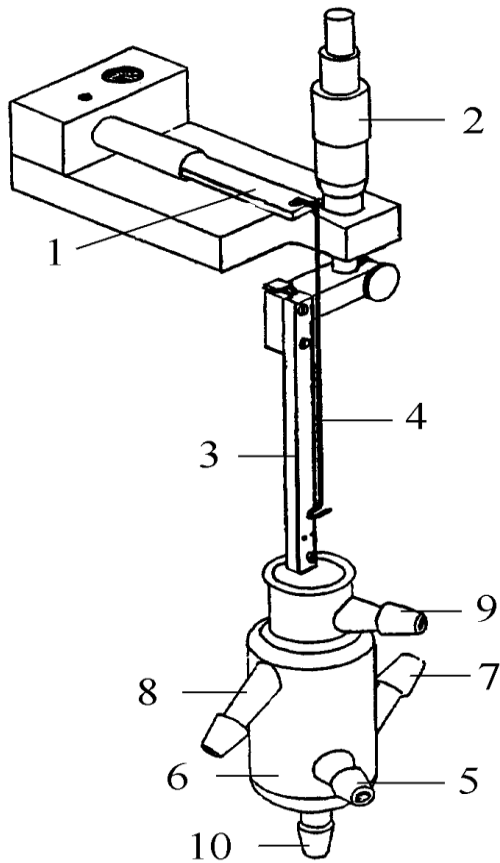


Abbildung 17 : Skizze der Apparatur 2



1. Kraftwandler
2. Mikrometerschraube
3. Organhalterung
4. Silberdraht
5. Begasung
6. Organbad
7. Wasserzufluss
8. Wasserabfluss
9. Nährlösungszufluss
10. Nährlösungsabfluss

Die Apparatur 2 diente für die Versuche an der Arteria pulmonalis, der Aorta descendes, am terminalen Ileum und am Atrium cordis dextrum. Aufgrund der ringförmigen Form der Aorta descendes und der Arteria pulmonalis konnte man sie direkt, ohne Anbringen von Silberhacken einspannen. Die restlichen isolierten Organe, wie der Darm und der rechte Vorhof mussten mittels zwei Silberhacken an beiden Seiten eingehängt werden. Nach erfolgreicher Fixierung der einzelnen Präparate konnte die Organhalterung mittels Stativ in die begaste Tyrode eingetaucht werden. Durch einen seitlich hängenden Schlauch erfolgte die Zufuhr von Sauerstoff und Kohlendioxid, welche mittels Glasfritten eingestellt werden konnte. Grundsätzlich standen für die Versuchsreihen zwei Organbäder bereit, das eine mit einem Volumen von 25ml, das andere mit einem Fassungsvermögen von 8ml. Die Temperatur der Wasserbäder hatte 37° Celsius zu betragen, welche mittels Thermostat reguliert werden konnte. Auch hier waren der Kraftwandler und der Amplifier Bestandteile der Apparatur, welche die Kontraktionen des jeweiligen Organs in elektrische Signale umsetzten. Ein Schreiber gab diese dann auf ein Millimeter-Papier wieder.

### **3.5.3. Kraftwandler, Verstärker und Schreiber**

Um die Ergebnisse von den Versuchsreihen an präparierten Organen erhalten zu können, war ein Kraftwandler unbedingt erforderlich. Er war ein Bestandteil beider Apparaturen. Ein Silberdraht ermöglichte nämlich die Verbindung vom präparierten Organteil zum Kraftwandler. Die Aufgabe des Kraftwandlers war die Kontraktionen des jeweiligen Organs in Stromimpulse umzusetzen. Diese Stromimpulse gelangten zuerst zum Amplifier und am Schluss zu einem Schreiber, der diese dann auf ein Millimeterpapier wiedergeben konnte. Ein wenig später wurden diese Aufzeichnungen sowohl ausgewertet als auch dokumentiert.

Abbildung 18 : Originalbilder der Signalübertragung

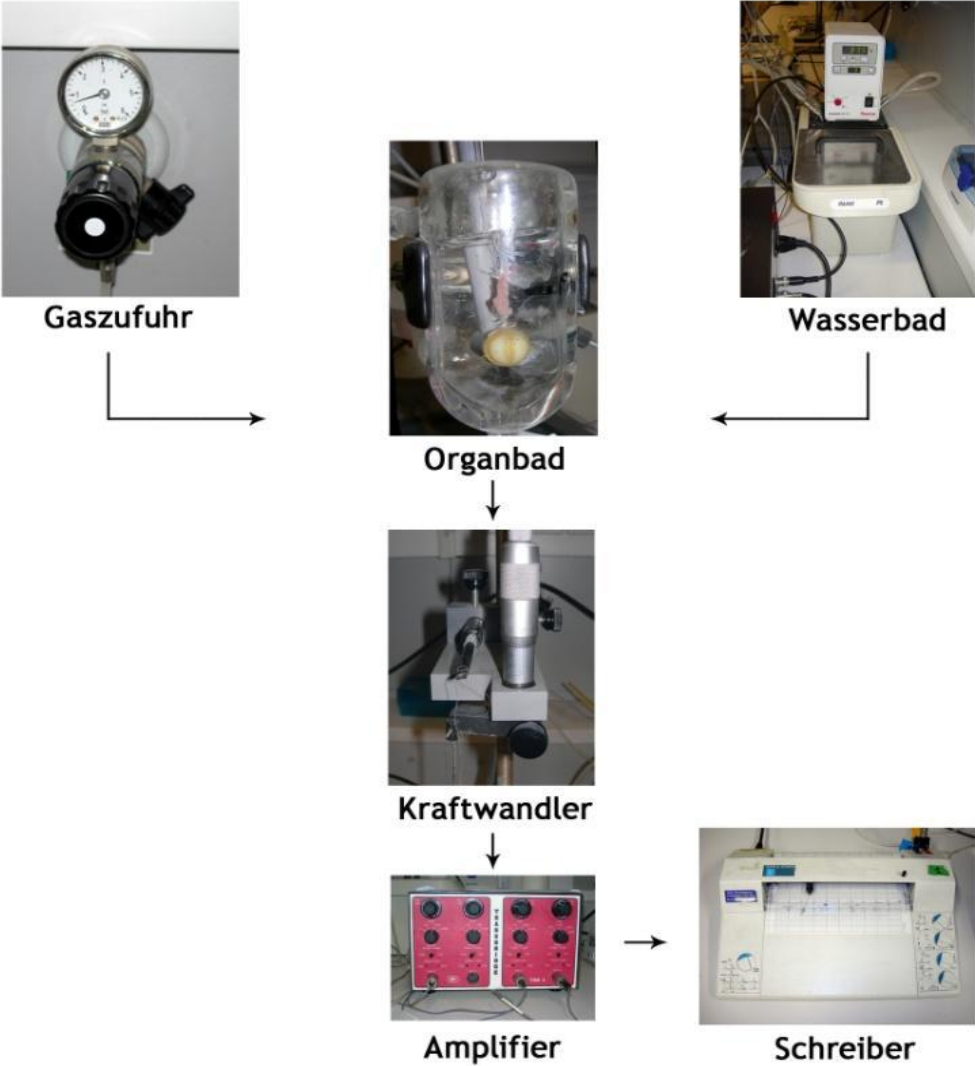
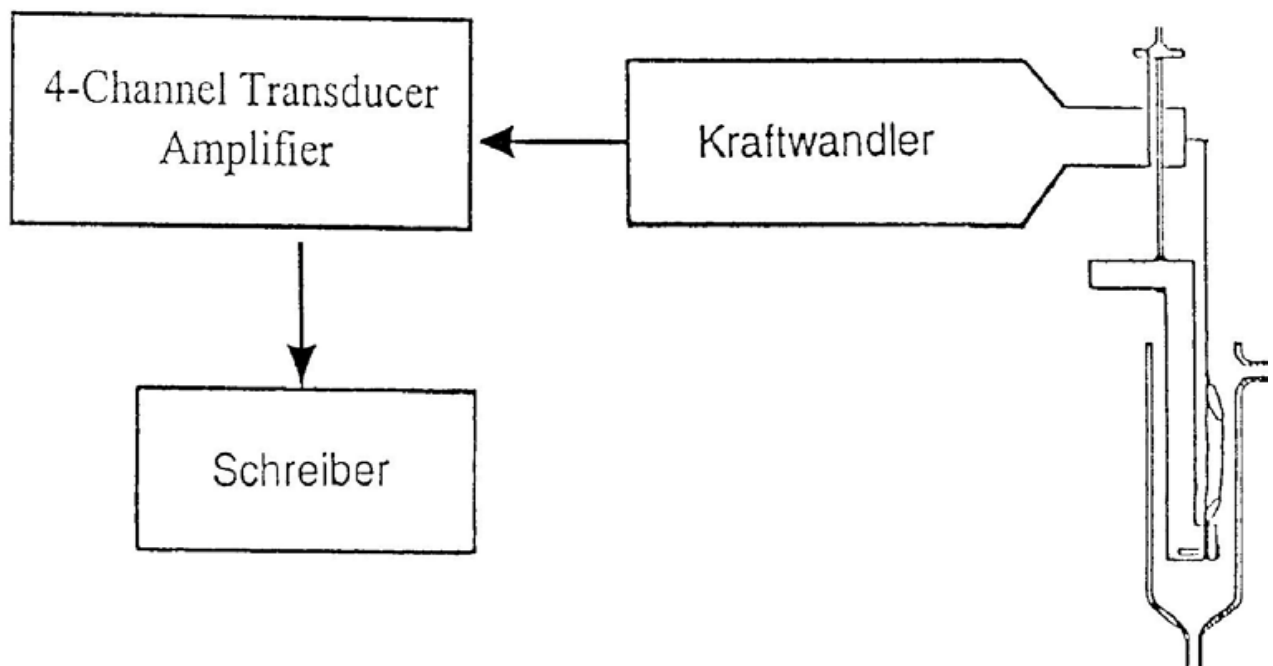


Abbildung 19 : Skizze der Signalübertragung



### 3.6. Der Versuchsablauf

Bevor man mit den Versuchen beginnen dürfte, sollte die Funktionstüchtigkeit der Geräte geprüft werden. Zunächst mussten die Organbäder mit destilliertem Wasser, die selbst herzustellen war gereinigt werden. Bei der ersten Apparatur, die sich nur für den Papillarmuskel eignete, benötigte man eine Plastikspritze, um das Wasser wieder abzapfen zu können. Bei der zweiten Apparatur, die für die restlichen Versuche zur Verfügung stand, war ein Schlauch für den Wasserausfluss schon eingebaut. Falls ein hartnäckiger Schmutz vorhanden war, benutzte man zusätzlich eine Zahnbürste. Gleich danach durchspülte man die Muskelkammer mit der von uns hergestellten physiologischen Nährstofflösung und befühlte sie damit. Nach diesem Schritt konnten die Organbäder eingeschaltet werden. Bevor man aber die präparierten Organteile in die Bäder eintauchte, sollte die Tyrode ihre gewünschte Temperatur erzielt haben. Die Wartezeit betrug ca. 10 bis 15 Minuten.



### **3.6.1. Versuchsorgan Ileum terminalis**

Nachdem das terminale Ileum erfolgreich aus dem Bauchraum isoliert und präpariert wurde, fixierte man es in die Apparatur Nr.2. Dazu mussten an beiden Enden des Darms Silberhacken angebracht werden, die man dann wiederum an der Ober- und Unterseite des Drahtes festmachte. Der Organbehälter wurde vollständig in das Organbad getaucht und gleich danach, zuerst dem Amplifier und dann den Schreiber in Gang gesetzt. Eine Vorspannung auf 5 mV war unbedingt erforderlich, dies entsprach 4,92mN. Das Organstück benötigte ca. 20 Minuten, um sich an die Bedingungen in der Tyrode anpassen zu können. Nach diesen 20 Minuten wurde die Nährstofflösung aus dem Organkammer abgelassen und danach mit Kaliumchloridlösung aufgefüllt. Die Lösung hatte eine Konzentration von 60 mmol zu betragen. Die Konzentration der Kaliumchloridlösung, die aber für die Arteria pulmonalis und Aorta descendes verwendet wurde, wies eine andere mmolare-Einheit auf. Nachdem die Kontraktionskurve eine Weile konstant blieb, dürfte die zu untersuchende Testsubstanz mittels einer Pipette eingespritzt werden.

### **3.6.2. Versuchsorgan Arteria pulmonalis**

Als erstes mussten die elastischen, ringförmigen Lungenarterienstücke, wie in Kapitel 3.5.2 erläutert in die Apparatur Nr.2 fixiert werden. Dabei war es wichtig, dass Organ nicht zu überdehnen. Der Organbehälter wurde demnächst vollständig in das mit Tyrodelösung befülltes Organbad eingetaucht und zusätzlich noch mit Carbogen begast, danach konnte das Gerät in Betrieb genommen werden. Bei dieser Versuchsreihe war eine Vorspannung auf 5 mV(=9,81) erforderlich und der Schreiber musste auf speed 1 umgestellt werden. Nun benötigte das Organstück circa 20 Minuten, um sich an die neuen Bedingungen in der Tyrode anpassen zu können. War diese Zeit vorbei konnte die physiologische Nährstofflösung aus dem Organbad mittel Gummischlauch abgelassen werden und danach mit der frisch zubereiteten Kaliumchloridlösung (siehe Kapitel3.2.2.2) aufgefüllt werden, bis das Präparat vollständig bedeckt war. Die Kaliumchloridlösung bewirkte eine Kontraktion der Arteria pulmonalis die durch eine Wanderung der Linie von Null nach Links zu sehen war. Nun musste man eine Zeitspanne von ungefähr 45- Minuten abwarten, bis die Kontraktionskraft

ein konstantes Niveau erzielte. War das der Fall, dürfte die zu untersuchende Testsubstanz, angefangen von 1  $\mu\text{l}$  mittels einer Pipette eingespritzt werden. Anschließend erfolgten die weiteren Injektionen von 3 $\mu\text{l}$ , 10 $\mu\text{l}$ , 30 $\mu\text{l}$  und 100 $\mu\text{l}$  in einem 45- Minutenintervallen.

### **3.6.3. Versuchsorgan Aorta descendes**

Man erhielt aus der isolierten Aorta circa 6 kleine ringförmige Aortenstücke, die dann in die Apparatur Nr. 2 eingespannt wurden. Danach tauchte man den Organbehälter in die Tyrode hinein, begaste mit Carbogen und setzte den Amplifire und den Schreiber in Gang. Zuerst musste die Stellschraube auf 10 mV eingestellt werden. Nun benötigte das Organstück ca. 20 Minuten, um sich an die Bedingungen in der Tyrode anzupassen. Nach dieser Zeit konnte auf 5mV umgestellt, der Schreiber auf Null zurückgesetzt, die Nährstofflösung aus dem Organbad abgelassen und gleich danach mit frisch zubereiteten Kaliumchloridlösung aufgefüllt werden, welche eine Konzentration von 90mmol zu betragen hatte. Nach dem die Kontraktionskurve ein konstantes Niveau erzielte, dürfte die zu untersuchende Testsubstanz, angefangen mit 1 $\mu\text{l}$  mittels einer Pipette eingespritzt werden. Anschließend erfolgten die weiteren Injektionen in einem 45-Minutenintervallen.

### **3.6.4. Versuchsorgan Musculus papillaris**

Der Papillarmuskel konnte nur mit der Apparatur Nr.1 untersucht werden. Nach erfolgreicher Fixierung des Organstücks konnte der Organbehälter mittels Stativ in die physiologische Nährstofflösung eingetaucht werden, zusätzlich war natürlich eine Begasung des Muskels nötig. Bei diesem Versuch war eine Vorspannung von 3,92 mN erforderlich. Zugleich wurde der Accupilser A310 in Gang gesetzt. Der Papillarmuskel musste im Gegenteil zum Vorhof durch dieses Gerät gereizt werden, da es keine Spontanaktivität aufwies. Die Stimulation des Organs kam sowohl durch Rechteckimpulse als auch durch Frequenz von Herz zustande. Die Stromstärke musste so hoch eingestellt werden, bis der Organteil seine ersten Zuckungen aufwies, gleich danach wurde die Stärke noch um circa 10 Prozent erhöht, um konstante Kontraktionen zu erreichen. Wäre die Stärke zu hoch aufgedreht, hätte dies zu bedeuten, dass Noradrenalin und Adrenalin zu früh freigesetzt werden, was zu einer deutlichen Abnahme der Kontraktionsamplitude führen könnte. Letztendlich konnte der Schreiber in einem 5-Minutenintervallen circa sieben Amplituden aufzeichnen. Die letzten drei Kästchen von Amplituden mussten ca. ein Zentimeter lang sein und eine konstante Kontraktionskraft aufweisen, um dann das letzte Kästchen von sieben Impulsen mit Speed 20 auf ein Millimeterpapier aufzeichnen zu können. Danach erfolgten die Zeitpunkte der Injektion wie bei allen anderen Versuchsanordnungen.

### **3.6.5 Versuchsorgan Atrium dexter**

Nach erfolgreicher Entnahme und Präparation des rechten Vorhofs, konnte die Einspannung in die dafür vorgesehene Apparatur Nr.2 erfolgen. Bei der Fixierung des Organstücks musste man aufpassen, ob der Teil, wo noch etwas Fettgewebe zu sehen war, am oberen Teil der Organhalterung befestigt war. Wenn dies der Fall war, tauchte man den Organbehälter vollständig in das Organbad und begaste natürlich wiederum mit der Mischung aus 95% Kohlenstoffdioxid und 5 % Sauerstoff, deren Aufgabe war, die Schlagfähigkeit des Organs aufrecht zu erhalten.

Danach wurde das Gerät aktiviert und auf 5 mV eingestellt. Die Schreibgeschwindigkeit betrug 5mm/sec. Zusätzlich musste der Stift des Schreibers auf die Nulllinie zeigen. Gleich danach konnte der Amplifier in Gang gesetzt werden, welcher sehr oft die Lage des Schreibers veränderte. Infolgedessen musste der Stift des Schreibers mittels einer Stellschraube wiederum auf die Nullstelle gebracht werden. Bei dieser Versuchsanordnung erfolgte eine Vorspannung auf 10,4 mN, die mittels Feintrieb eingestellt werden konnte. Bei diesen Versuch war es auch wichtig, eine konstante Schlagfrequenz des Organs zu erreichen. Diese Frequenz musste circa 45- Minuten lang kontrolliert werden. Um die Herzschläge auf dem Millimeterpapier aufzeichnen zu können, musste man bei dem Gerät den Knopf „Pen down“ betätigen, um 6 Kästchen voller Herzschläge zu bekommen. Die Zeitspanne betrug circa 12 Sekunden und die Messung wurde alle 5 Minuten wiederholt.

Nachdem die Herzschläge gezählt wurden und über 3 Messungen konstant blieben, konnte die zu untersuchende Testsubstanz, angefangen mit 1µl eingespritzt werden. Die Zugabe der Substanz erfolgte, wie bei den anderen Versuchen auch, mittels einer Finnmikropipette. Bei der Untersuchung am Atrium dexter fanden die Messungen der Herzfrequenz alle 5 Minuten statt. War die Endkontrolle von 100µmol/l erzielt, so konnte der Versuch gestoppt werden.

## **3.7. Auswertung der Daten und Statistik**

### **3.7.1. Auswertung vom Aorta descendes, Arteria pulmonalis, Terminales Ileum**

An den Organen der glatten Muskulatur, wie der Arteria pulmonalis und der Aorta descendes war eine vasodilatierende Wirkung zu erwarten, bei Ileum terminalis erhoffte man sich einen spasmolytischen Effekt. Die präparierten Organe wurden mit der Kaliumchloridlösung kontrahiert, um eben diese Veränderungen feststellen zu können. Nachdem die Kurve ein konstantes Niveau erzielte, dürfte die zu untersuchende Substanz eingespritzt werden. Man fing mit 1µl an, nach einer Zeitspanne von 45 Minuten konnten die weiteren Injektionen pipettiert werden. Eine Änderung des Abstandes zwischen Kurve und Nulllinie deutete auf einen vasodilatierenden Effekt hin und konnte somit berechnet werden. Bei einer Einstellung auf 5mV musste der Abstand, der in Zentimeter anzugeben war mit Faktor 0,98 multipliziert werden. Stellte man das Gerät auf 2mV oder 10mV um, so multiplizierte man den Wert mit 0,2.

### **3.7.2. Auswertung vom Musculus papillaris**

Bei den Versuchsreihen am Musculus papillaris wurde der Einfluss auf die Inotropie (Kontraktionskraft) durch die Zugabe der beiden SWS-Testsubstanzen erforscht. Um das Ergebnis auswerten zu können, war ein Lineal von Nöten, mit dem man die Höhe der Amplituden abmessen konnte. Die Länge wurde in Zentimeter angegeben. War das Gerät auf 5mV eingestellt, so musste mit Faktor 0,98 multipliziert werden. Stellte man das Gerät auf 2mV um, so musste man mit 0,4 multiplizieren.

### **3.7.3. Auswertung vom Atrium cordis dextrum**

Das Ziel der Untersuchung am rechten Vorhof war eine Änderung der Chronotropie durch die beiden Testsubstanzen SWS 62 HCl und SWS 81 HCl festzustellen. Wie schon in Kapitel 3.6.1. erwähnt, wurden die Herzschläge auf sechs Kästchen aufgezeichnet. Die Zeitspanne betrug circa 12 Sekunden. Die Ausschläge der sechs Kästchen wurden zusammengezählt und dann mit 5 multipliziert. Das Ergebnis entsprach der Schlagfrequenz des Herzens pro 60 Sekunden.

Die Zugabe der zu untersuchenden Substanz konnte entweder eine Erhöhung oder eine Erniedrigung der Schlagfrequenz verursachen. War die Schlagfrequenz des Herzens erhöht, so sprach man von einer positiven Chronotropie, von einer negativen Chronotropie war dann die Rede, wenn die Schlagfrequenz erniedrigt war.

### **3.7.4. Statistik**

Nachdem alle Versuche durchgeführt wurden, konnten die Ergebnisse der beiden Testsubstanzen SWS 62 HCl und SWS 81 HCl in den Computer eingetragen werden. Man verwendete dazu das Sigma Plot 9.0 Programm. Mit diesem Programm war es möglich, den arithmetischen Mittelwert, Standardabweichung sowie den EC<sub>50</sub>- Wert zu ermitteln. Um eine Dosis-Wirkungskurve zu erreichen, wurde auf der X-Achse die Konzentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) eingetragen, die Y-Achse zeigt die Änderung der Schlagfrequenz oder der Kontraktionskraft. Ein EC<sub>50</sub>-Wert weist jene Konzentration in  $\mu\text{mol/l}$  auf, bei der die Kontraktionskraft auf die Hälfte des Kontrollwerts abgefallen ist.

Um noch am Schluss die Irrtumswahrscheinlichkeit ermitteln zu können, benötigte man ein Signifikanztest (Student-t-Test ). Betrug die Irrtumswahrscheinlichkeit weniger als 5 Prozent oder sogar 1 Prozent, so konnte man von signifikanten Ergebnissen sprechen. Hochsignifikante Messergebnisse mussten eine <0,1 prozentige Irrtumswahrscheinlichkeit aufweisen.

## **4. ERGEBNISSE**

Für die Versuche wurden 5 Organe der rechte Vorhof, die Aorta, die Lungenarterie, der Papillarmuskel und der Darm herangezogen und pro Organ und Testsubstanz ungefähr 5 Versuche durchgeführt.

In diesen Abschnitt werden die Ergebnisse meiner beiden Testsubstanzen SWS 62 HCl und SWS 81 HCl an den jeweiligen Organen beschrieben und erklärt.

### **4.1. Ergebnisse der Testsubstanz SWS 62 HCl**

#### **4.1.1. Wirkung von SWS 62 HCl auf Atrium cordis dexter**

Beim rechten Vorhof wünschte man sich eine negative chronotrope Wirkung durch Zugabe der Testsubstanz SWS 62 HCl. Dennoch blieb der Effekt aus und es konnte kein EC<sub>50</sub>-Wert festgestellt werden.

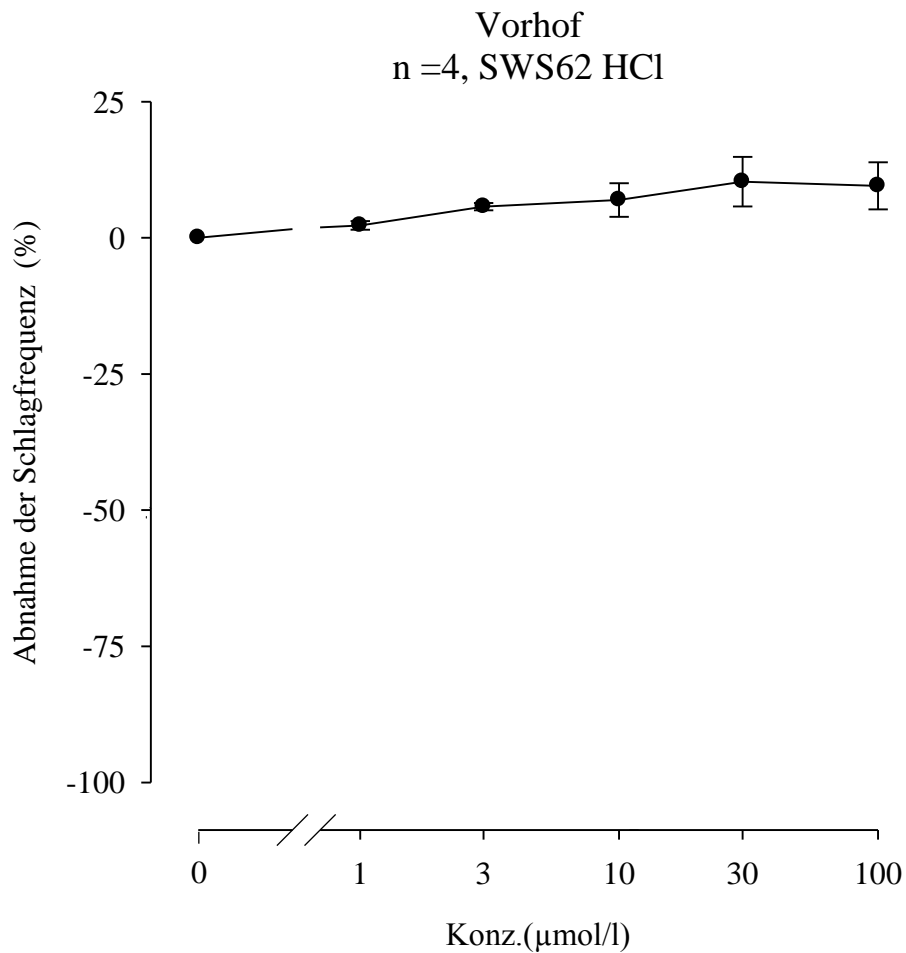
Tabelle 4: Die Ergebnisse von SWS 62 HCl auf den rechten Vorhof

SWS 62 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	f $\pm$ SEM (x/min)	f $\pm$ SEM (%)	Versuchszahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	182,50 $\pm$ 20,16	0 $\pm$ 0	4	-
1	186,25 $\pm$ 19,29	2,28 $\pm$ 0,80	4	n.s
3	192,50 $\pm$ 20,16	5,71 $\pm$ 0,66	4	n.s
10	193,75 $\pm$ 17,72	6,95 $\pm$ 3,08	4	n.s
30	198,75 $\pm$ 15,05	10,32 $\pm$ 4,55	4	n.s
100	197,50 $\pm$ 15,34	9,55 $\pm$ 4,33	4	n.s

f...Schlagfrequenz

SEM...Standardabweichung

Diagramm 1: Dosis-Wirkungskurve von SWS 62 HCl am rechten Vorhof

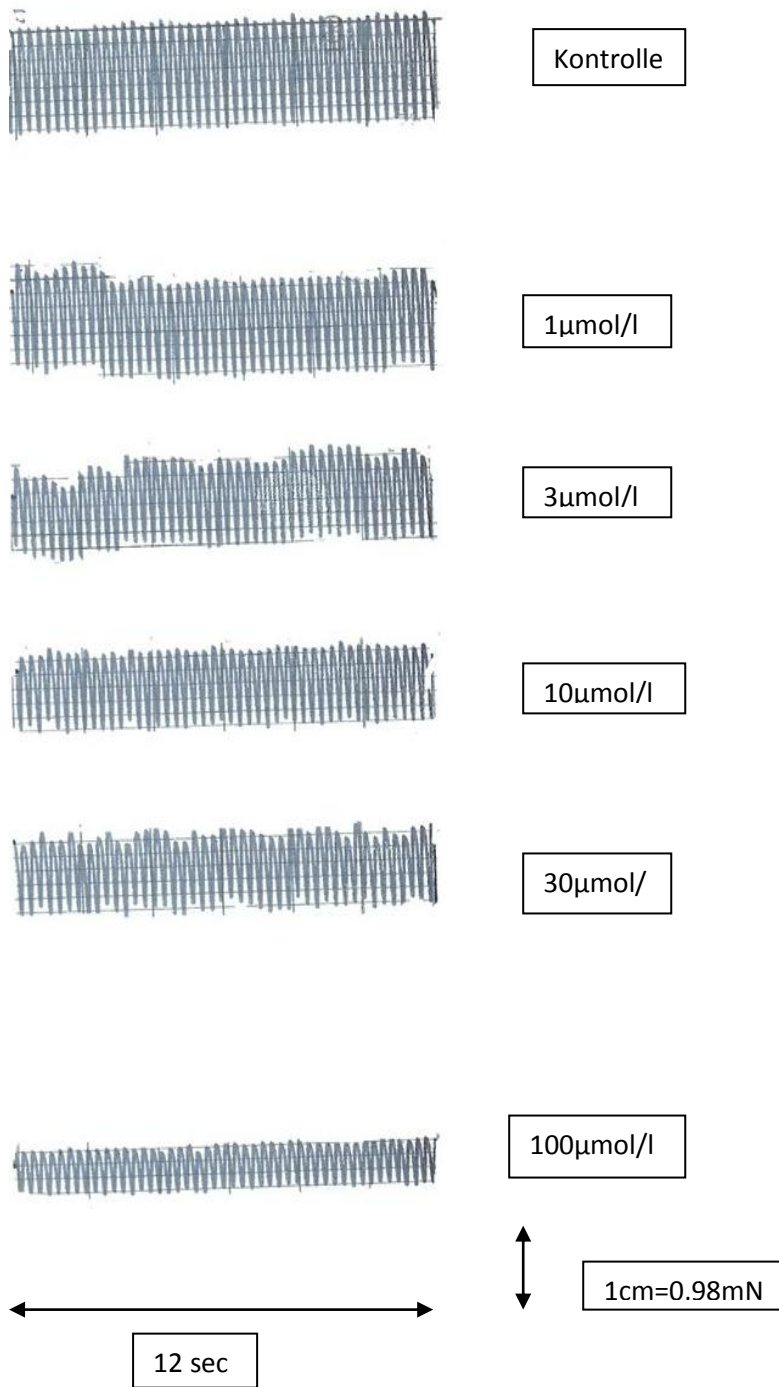


Die Wirkung von SWS 62 HCl ist von der x-und y-Achse ablesebar. Um diese Konzentrations-Wirkungskurve zu erreichen, habe ich auf der x-Achse die Konzentrationen eingetragen, die y-Achse zeigt die Änderung der Schlagfrequenz.

In diesen Fall ist eine sehr schwache positiv chronotrope Wirkung zu sehen.



Abbildung 20: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 62 HCl am rechten Vorhof



Legende zu Abbildung 20:

Bei der Originalaufzeichnung ist die Anzahl der Herzschläge (12sec.) zu sehen. Um die Schlagfrequenz pro Minute zu erhalten, hat man mit 5 multipliziert.

#### 4.1.2. Wirkung von SWS 62 HCl auf *Arteria pulmonalis*

Es wurden 4 Versuche am Organ der glatten Muskulatur durchgeführt und die Wirkung von SWS 62 HCl untersucht. Man erhoffte sich eine dilatierende Wirkung, die bei der Abbildung zu sehen ist, ebenso konnte der EC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden.

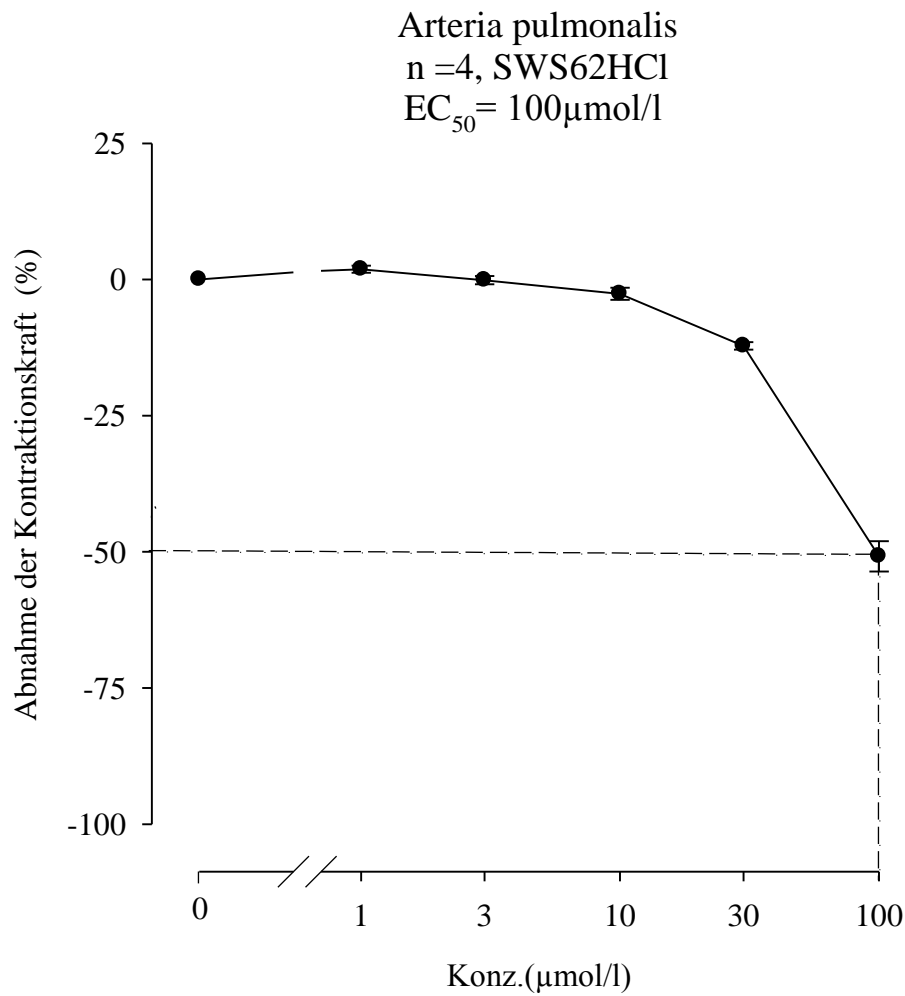
Tabelle5: Die Ergebnisse von SWS 62 HCl an der *Arteria pulmonalis*

SWS 62 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	$f_c \pm \text{SEM}$ (m/N)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuchszahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	10,07 $\pm$ 0,91	0 $\pm$ 0	4	-
1	10,26 $\pm$ 0,94	1,89 $\pm$ 0,66	4	n.s
3	10,07 $\pm$ 0,97	-0,12 $\pm$ 0,74	4	n.s
10	9,83 $\pm$ 0,99	-2,63 $\pm$ 1,09	4	n.s
30	8,84 $\pm$ 0,82	-12,19 $\pm$ 0,69	4	n.s
100	4,90 $\pm$ 0,29	-50,83 $\pm$ 2,78	4	n.s

$f_c$ ...Kontraktionskraft

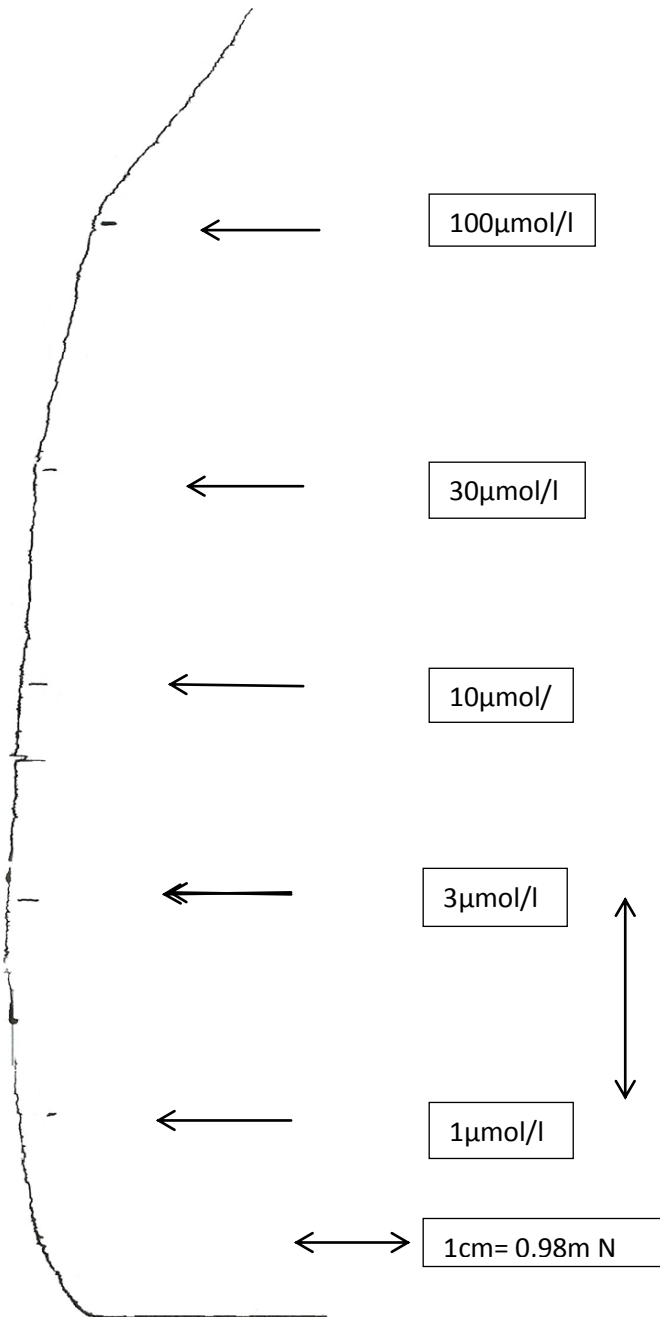
SEM...Standardabweichung

Diagramm 2: Dosis-Wirkungskurve von SWS 62 HCl an der Arteria pulmonalis



Die Wirkung von SWS 62 HCl ist von der x- und y-Achse ablesbar. Die x-Achse gibt die Konzentration in µmol/l wieder, die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft. Der EC<sub>50</sub> -Wert konnte durch die strichlierten Linien ermittelt werden.

Abbildung 21: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 62 HCl auf die Arteria pulmonalis



Legende zu Abbildung 20:

Die vasodilatierende Wirkung meiner Substanz SWS 62 HCl ist durch ein Ausschwenken der Linie nach rechts feststellbar, bei der Zugabe von 30 µmol/l. Die Zeitpunkte der Injektion erfolgten in einem 45-Minutenintervallen, die durch Pfeile gekennzeichnet sind.

### 4.1.3. Wirkung von SWS 62 HCl auf Musculus papillaris

Am Papillarmuskel wurden 4 Versuche durchgeführt, der Kontrollwert betrug  $2,32 \pm 0,59$ . Die einzelnen Einspritzungen erfolgten wiederum alle 45 Minuten. Das Ziel der Untersuchung war, eine Veränderung der Ionotropie durch die Zugabe von SWS 62 HCl zu erreichen. Der  $EC_{50}$  konnte in dem Fall nicht ermittelt werden.

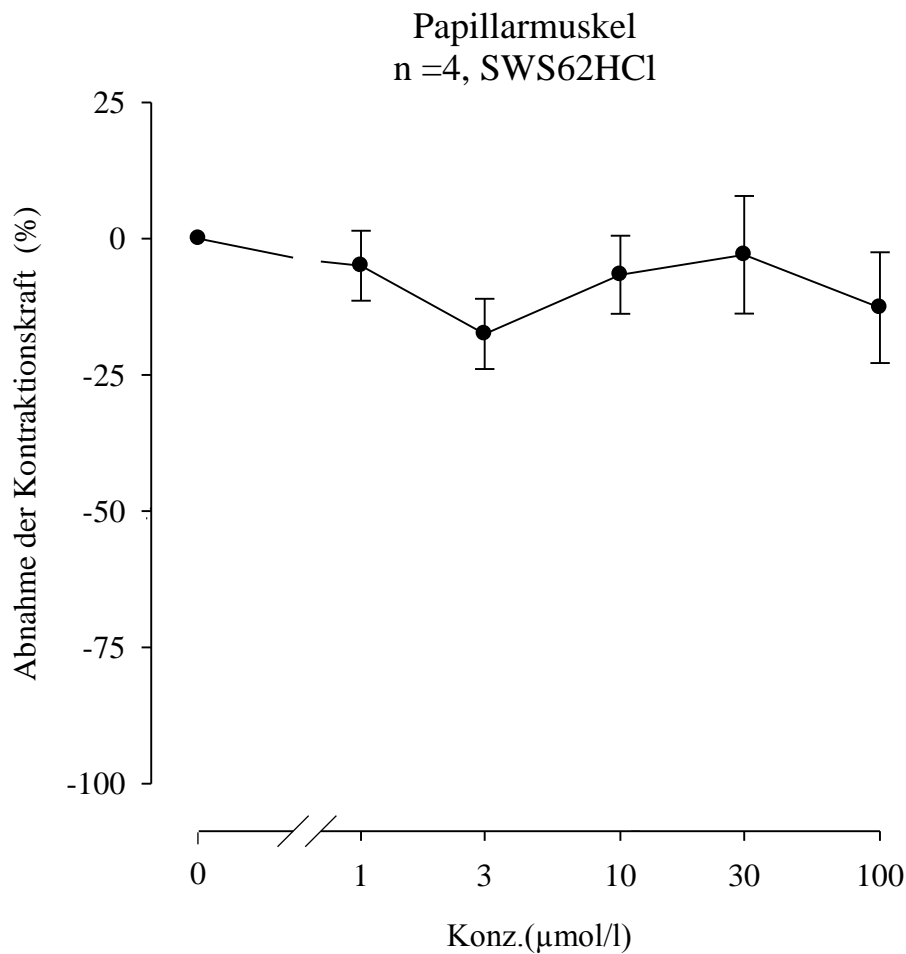
Tabelle 6: Die Ergebnisse von SWS 62 HCl auf den Papillarmuskel

SWS 62 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuchsanzahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$2,32 \pm 0,59$	$0 \pm 0$	4	-
1	$2,19 \pm 0,61$	$-4,97 \pm 6,41$	4	n.s
3	$1,91 \pm 0,54$	$-17,48 \pm 6,44$	4	n.s
10	$2,12 \pm 0,46$	$-6,64 \pm 7,16$	4	n.s
30	$2,13 \pm 0,39$	$-2,96 \pm 10,81$	4	n.s
100	$1,96 \pm 0,45$	$-12,65 \pm 10,16$	4	n.s

$f_c$ ...Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

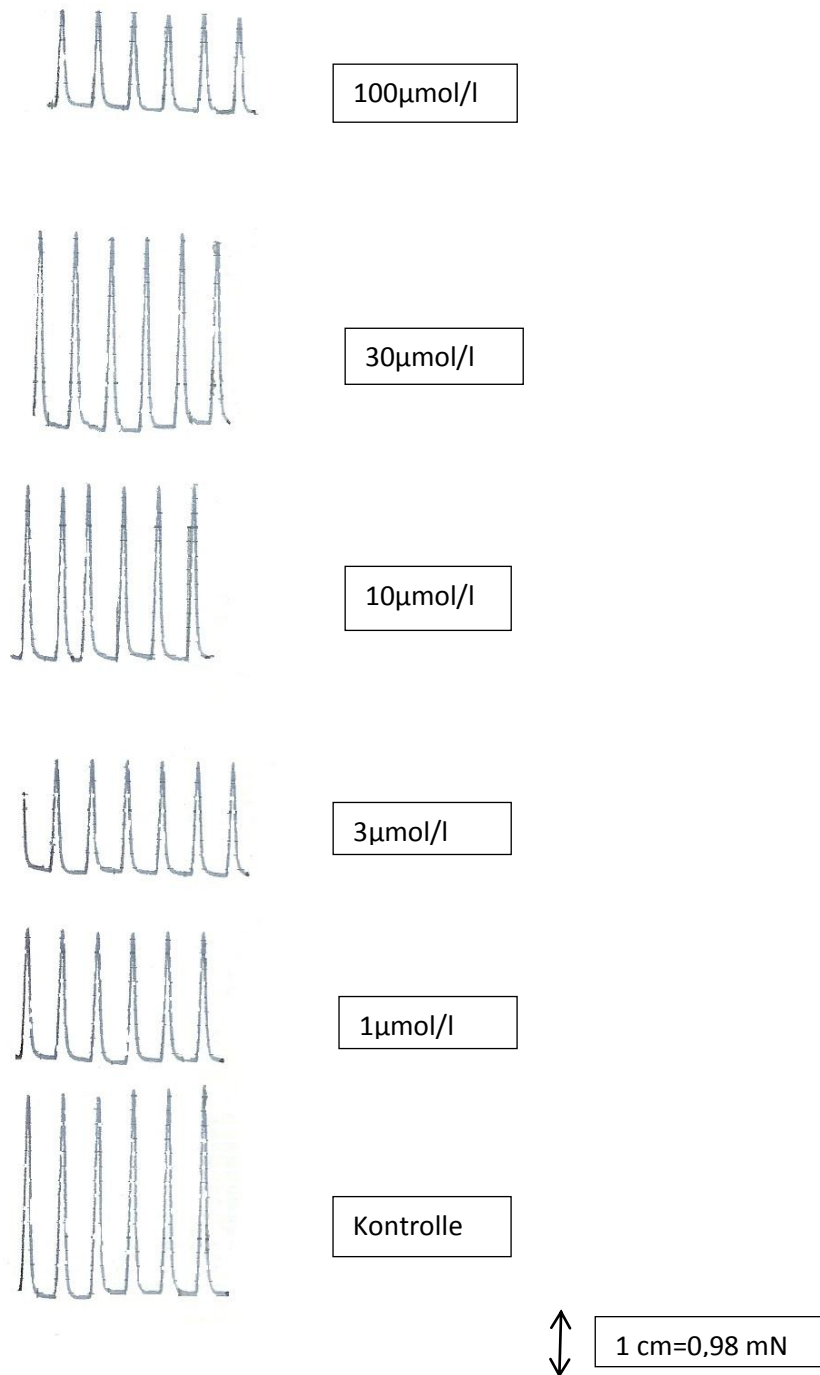
Diagramm 3: Dosis-Wirkungskurve von SWS 62 HCl auf den Papillarmuskel



Die Wirkung von SWS 62 HCl ist von der x- und y-Achse ablesbar. Auf der x-Achse wurden die Konzentrationen in µmol/l eingetragen, die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %.

Die Graphik zeigt uns, dass es am Anfang zu einer leichten negativen Inotropie kommt. Durch die Wirkstoffkonzentrations-Zugabe von 3 µmol steigt die Kontraktionskraft, bleibt konstant und bei 30 µmol fällt es leicht wieder ab.

Abbildung 22: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 62 HCl auf den Papillarmuskel



Legende zu Abbildung 22:

Die Amplituden des Papillarmuskels wurden mit Hilfe eines Lineals gemessen, um eine Veränderung der Ionotropie durch die Substanzzugabe bewerten zu können.

#### 4.1.4. Wirkung von SWS 62 HCl auf Aorta descendes

Das Ziel der Untersuchung am Aorta descendes war eine dilatierende Wirkung durch die Testsubstanz SWS 62 HCl zu ermitteln. Es wurde 5 Versuche herangezogen, der errechnete Kontrollwert betrug  $6,93 \pm 1,27$ .

Meine Substanz zeigte eine dilatierende Wirkung auf die Gefäße und es konnte somit ein  $EC_{50}$ - Wert von  $27,00 \mu\text{mol/l}$  erreicht werden.

Tabelle 7: Die Ergebnisse von SWS 62 HCl an der Aorta

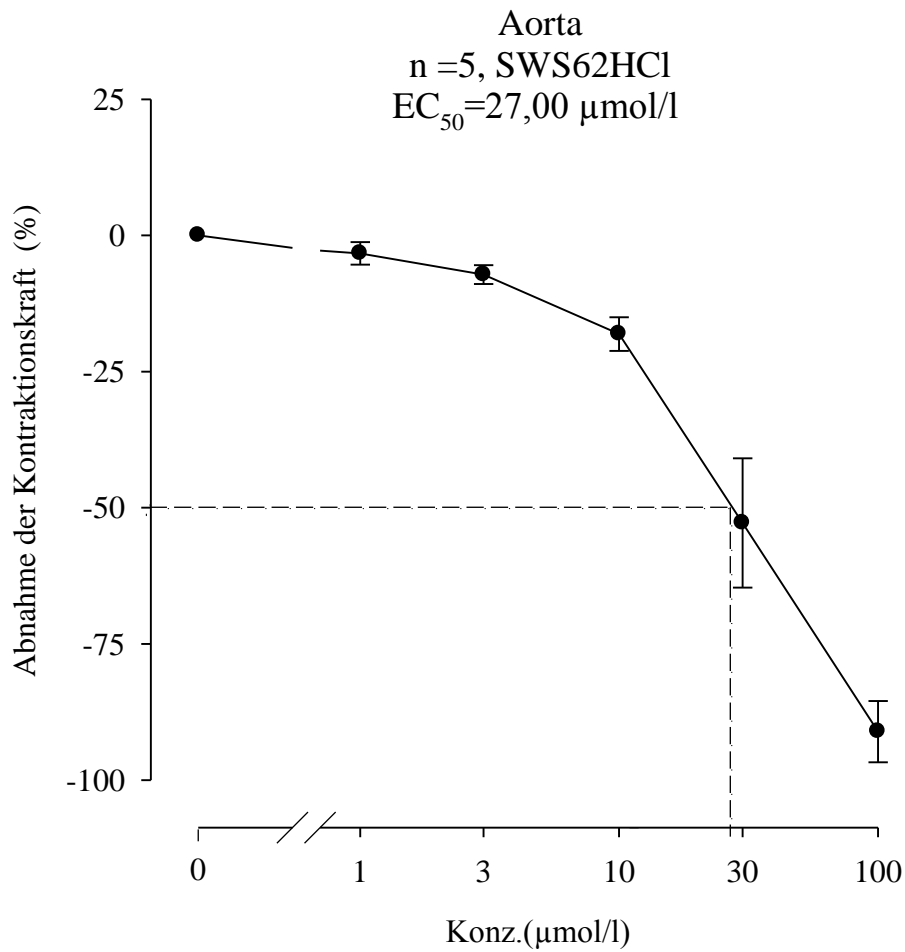
SWS62 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	$f_c \pm \text{SEM}$ (m/N)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuchszahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$6,93 \pm 1,27$	$0 \pm 0$	5	-
1	$6,44 \pm 0,92$	$-3,3 \pm 2,05$	5	n.s
3	$6,21 \pm 0,97$	$-7,19 \pm 1,73$	5	0,05
10	$5,53 \pm 0,96$	$-18,11 \pm 3,09$	5	0,05
30	$3,33 \pm 1,00$	$-52,8 \pm 11,88$	5	0,01
100	$0,64 \pm 0,36$	$-91,09 \pm 5,63$	5	0,01

$f_c$ ...Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

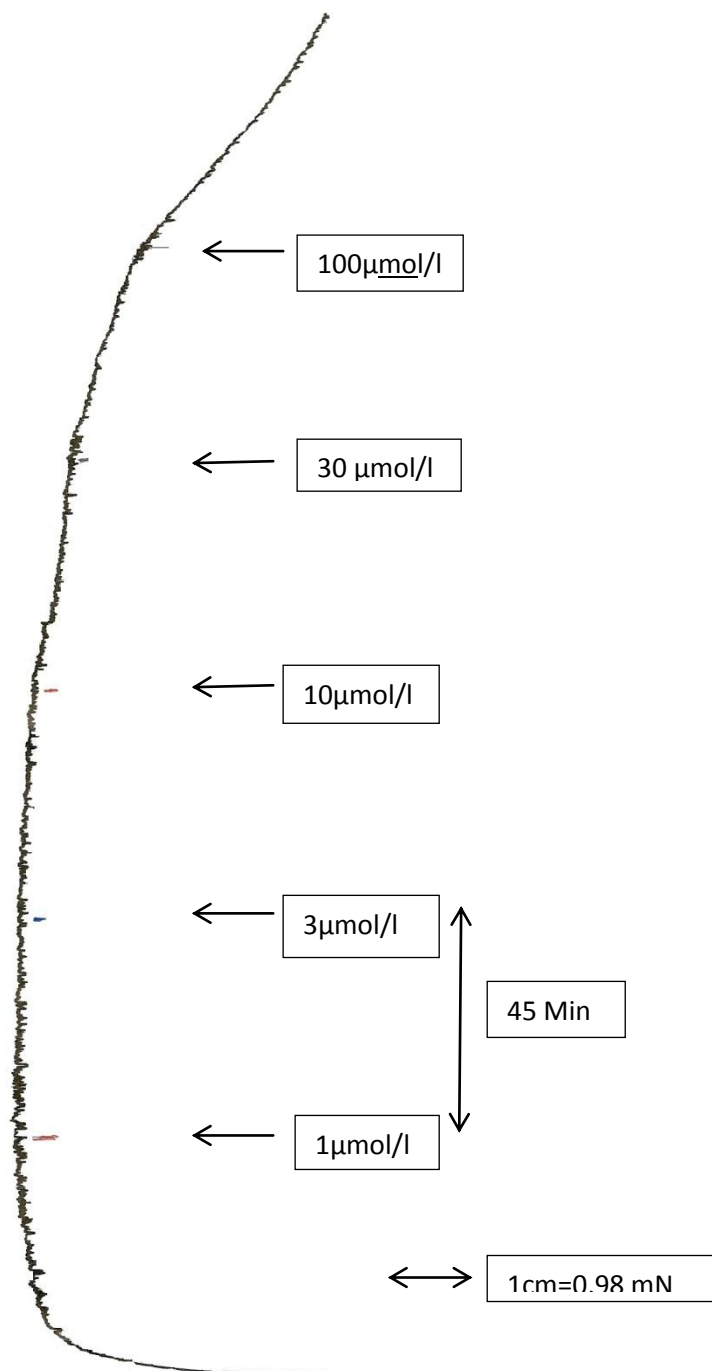


Diagramm 4: Dosis-Wirkungskurve von SWS 62 HCl an der Aorta



Das Diagramm widerspiegelt eine starke Dilatation der Testsubstanz SWS 62 HCl auf die Aorta descendes. Durch zunehmende Konzentrationszugabe ist eine deutliche Abnahme der Kontraktionskraft zu erkennen. Der EC<sub>50</sub>-Wert ist anhand der strichlierte Linie erkennbar.

Abbildung 23: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 62 HCl auf die Aorta.



Legende zu Abbildung 23:

Die dilatierende Wirkung meiner Substanz SWS 62 HCl ist durch ein Ausschwenken der Linie nach rechts feststellbar. Die Zeitpunkte der Injektion erfolgten in einem 45-Minutenintervallen, die durch Pfeile gekennzeichnet sind.

#### 4.1.5 Wirkung von SWS 62 HCl auf Ileum terminalis

Das Ziel der Untersuchung am Ileum terminalis war eine spasmolytische Wirkung zu ermitteln. Es wurden 5 Versuche herangezogen. Meine Testsubstanz SWS 62 HCl zeigte eine signifikante Wirkung am Darm und es konnte ein  $EC_{50}$ - Wert von  $20,70\mu\text{mol/l}$  erreicht werden.

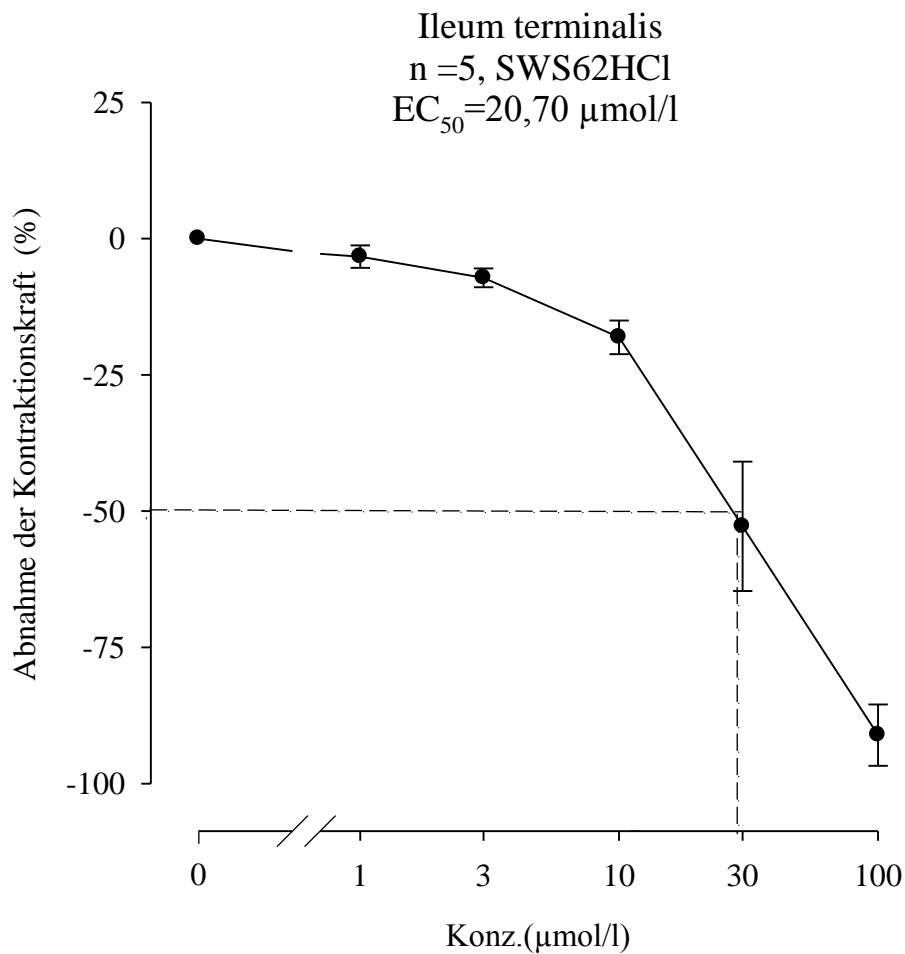
Tabelle 8: Die Ergebnisse von SWS 62 HCl am Darm

SWS 62 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	$f_c \pm \text{SEM}$ (m/N)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuchsanzahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$9,65 \pm 1,77$	$0 \pm 0$	5	-
1	$9,09 \pm 1,62$	$-5,054 \pm 1,00$	5	n.s
3	$8,17 \pm 1,66$	$-16,32 \pm 3,39$	5	0,05
10	$6,74 \pm 1,65$	$-30,94 \pm 6,38$	5	0,05
30	$4,93 \pm 1,37$	$-50,88 \pm 9,63$	5	0,02
100	$2,59 \pm 1,11$	$-75,27 \pm 8,88$	5	0,02

$f_c$ ...Kontraktionskraft

SEM... Standardabweichung

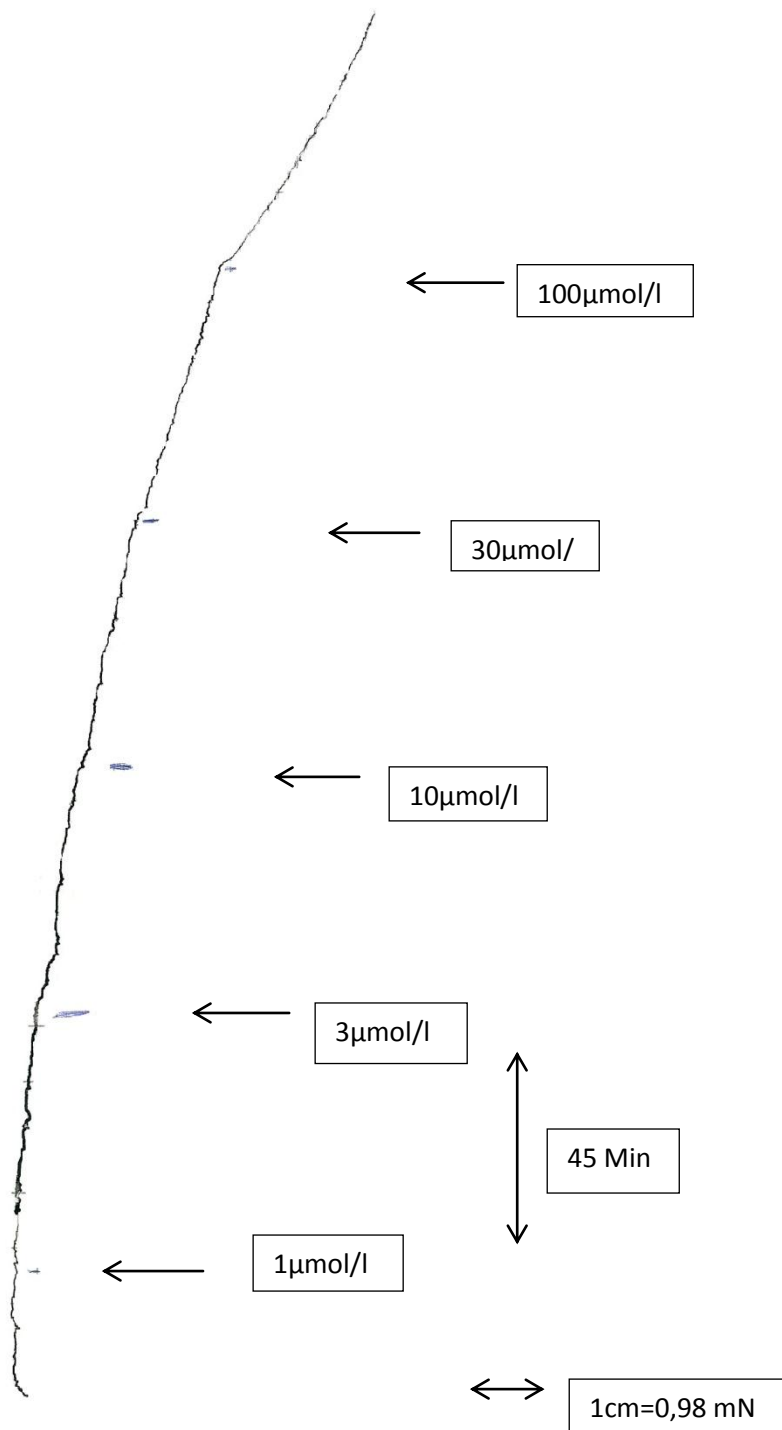
Diagramm 5: Dosis-Wirkungskurve von SWS 62 HCl am Darm



Die Wirkung von SWS 62 HCl ist von der x- und y-Achse ablesbar. Auf der x-Achse wurden die Konzentrationen in µmol/l eingetragen, die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %.

Die Graphik widerspiegelt eine zunehmende Spasmolyse.

Abbildung 24: Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 62 HCl auf den Darm



Legende zu Abbildung 24:

Durch die Zugabe meine Testsubstanz SWS 62 HCl konnte eine spasmolytische Wirkung beobachtet werden. Die Zeitpunkte der Injektion erfolgten wiederum in einem 45-Minutenintervallen, die durch Pfeile gekennzeichnet sind.

## 4.2. Ergebnisse der Testsubstanz SWS 81 HCl

### 4.2.1. Wirkung von SWS 81 HCl auf Atrium cordis dexter

Beim rechten Vorhof wünschte man sich eine negative chronotrope Wirkung durch die Zugabe der Testsubstanz SWS 81 HCL. Es wurden 4 Versuche herangezogen. Dennoch blieb der Effekt aus und es konnte kein EC<sub>50</sub>-Wert festgestellt werden.

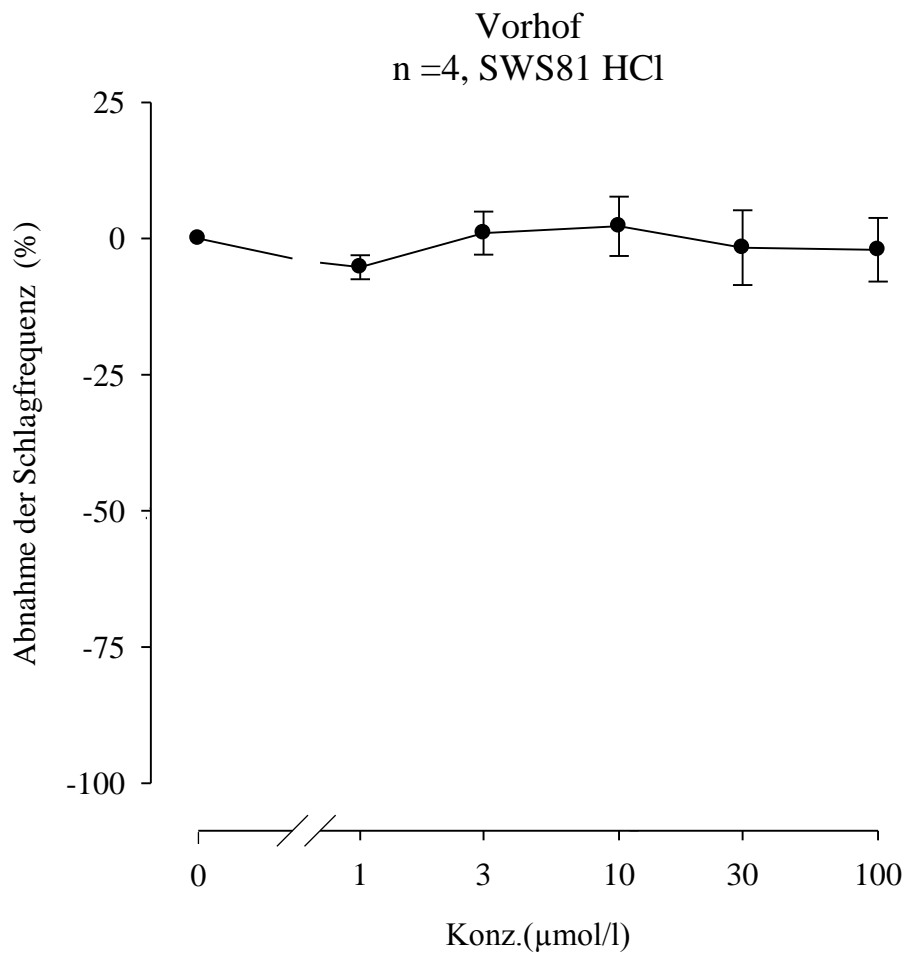
Tabelle 9 : Die Ergebnisse von SWS 81 HCl auf den rechten Vorhof

SWS 81 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	f $\pm$ SEM (x/min)	f $\pm$ SEM (%)	Versuchsanzahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	226,25 $\pm$ 12,81	0 $\pm$ 0	4	-
1	215 $\pm$ 15,94	-5,26 $\pm$ 2,21	4	n.s
3	227,50 $\pm$ 10,31	0,99 $\pm$ 3,95	4	n.s
10	230,00 $\pm$ 10,99	2,25 $\pm$ 5,45	4	n.s
30	220,00 $\pm$ 5,00	-1,69 $\pm$ 6,86	4	n.s
100	220,00 $\pm$ 10,41	-2,08 $\pm$ 5,84	4	n.s

f...Schlagfrequenz

SEM...Standardabweichung

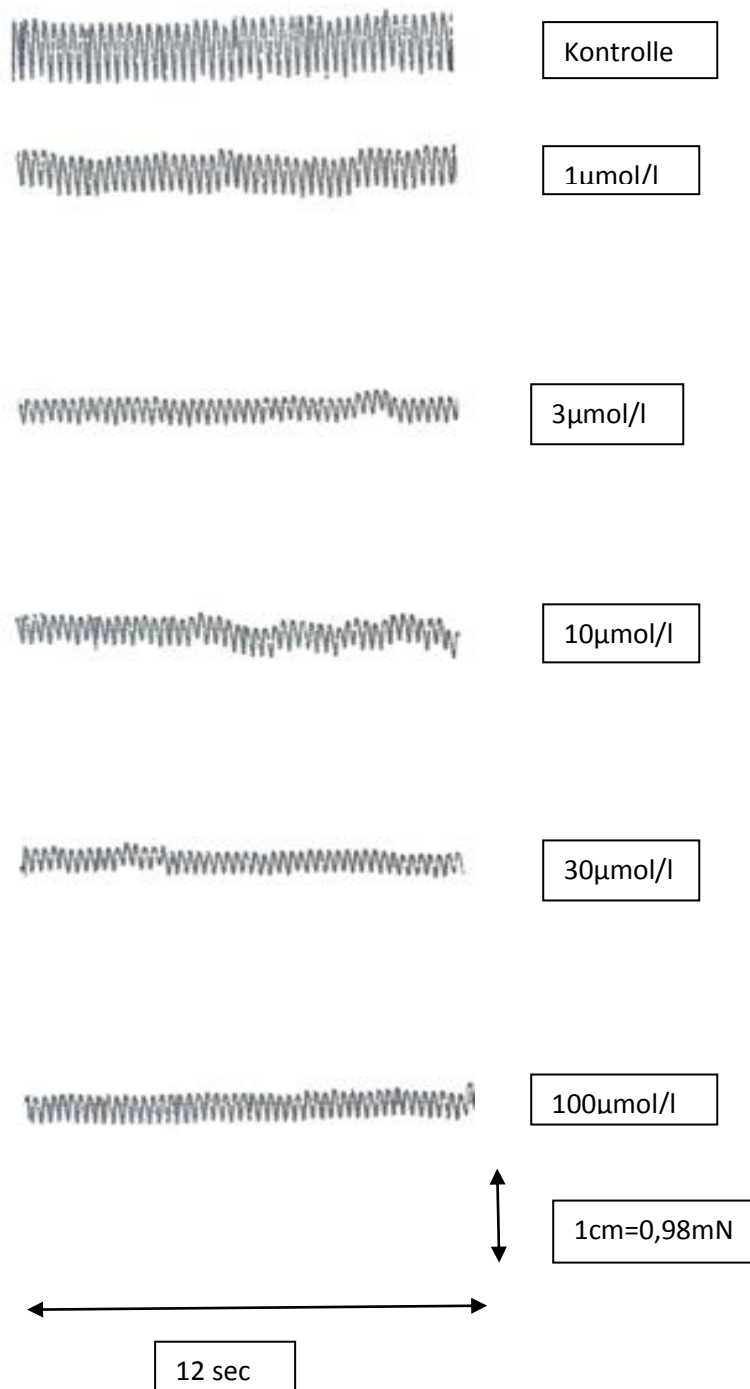
Diagramm 6: Dosis-Wirkungskurve von SWS 81 HCl am rechten Vorhof



Die Wirkung von SWS 81 HCl ist von der x-und y-Achse ablesebar. Um diese Konzentrations-Wirkungskurve zu erreichen, habe ich auf der x-Achse die Konzentrationen eingetragen, die y-Achse zeigt die Änderung der Schlagfrequenz .

In diesen Fall ist ganz leicht negative Chronotropie zu beobachten.

Abbildung 25 : Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 81 HCl am rechten Vorhof



Legende zu Abbildung 25:

Bei der Originalaufzeichnung ist die Anzahl der Herzschläge (12sec.) zu sehen. Um die Schlagfrequenz pro Minute zu erhalten, hat man mit 5 multipliziert.



#### 4.2.2. Wirkung von SWS 81 HCl auf *Arteria pulmonalis*

Es wurden 4 Versuche am Organ der glatten Muskulatur durchgeführt und die Wirkung von SWS 81 HCl untersucht. Man wollte eine dilatierende Wirkung erreichen, die im Gegensatz zu ersten Testsubstanz sehr schwach eintraff. Der EC<sub>50</sub>-Wert konnte somit hier nicht ermittelt werden.

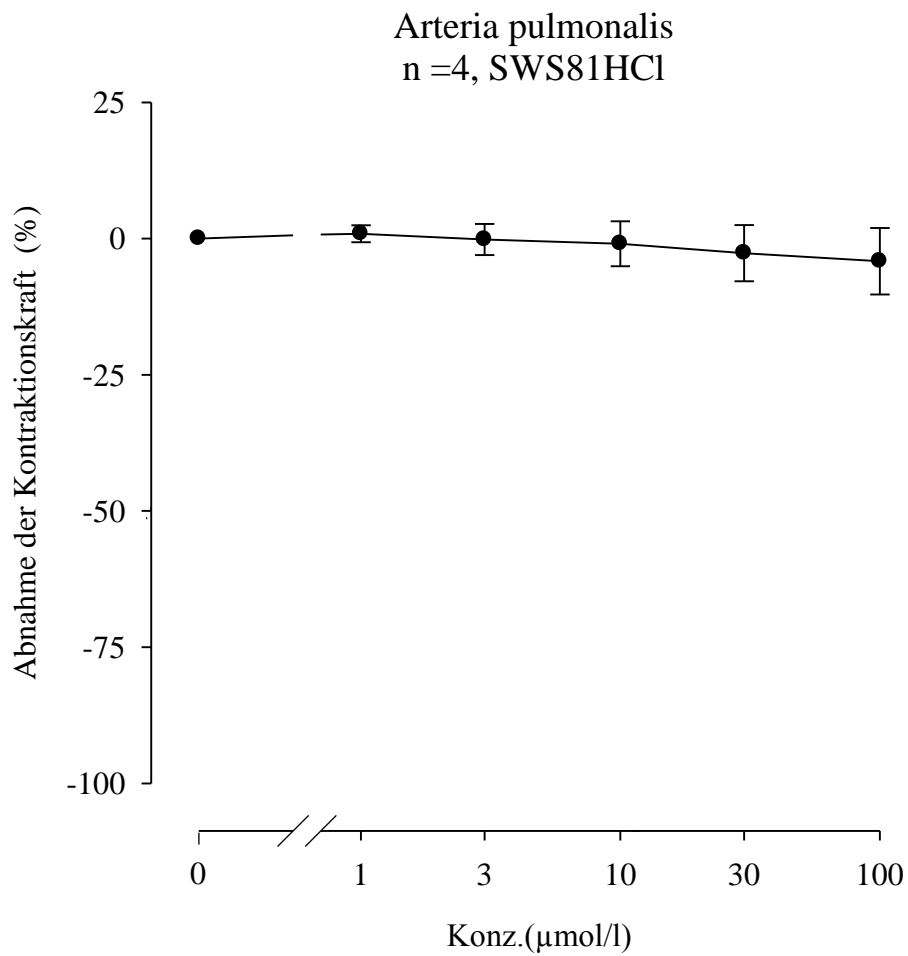
Tabelle 10 : Die Ergebnisse von SWS 81 HCl an der Arteria pulmonalis

SWS 81HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	$f_c \pm \text{SEM}$ (m/N)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuchsanzahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	14,73 $\pm$ 1,11	0 $\pm$ 0	4	-
1	14,82 $\pm$ 1,00	0,89 $\pm$ 1,55	4	n.s
3	14,63 $\pm$ 0,87	-0,18 $\pm$ 2,85	4	n.s
10	14,48 $\pm$ 0,77	-0,95 $\pm$ 4,13	4	n.s
30	14,19 $\pm$ 0,66	-2,69 $\pm$ 5,15	4	n.s
100	13,94 $\pm$ 0,61	-4,15 $\pm$ 6,09	4	n.s

$f_c$ ...Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

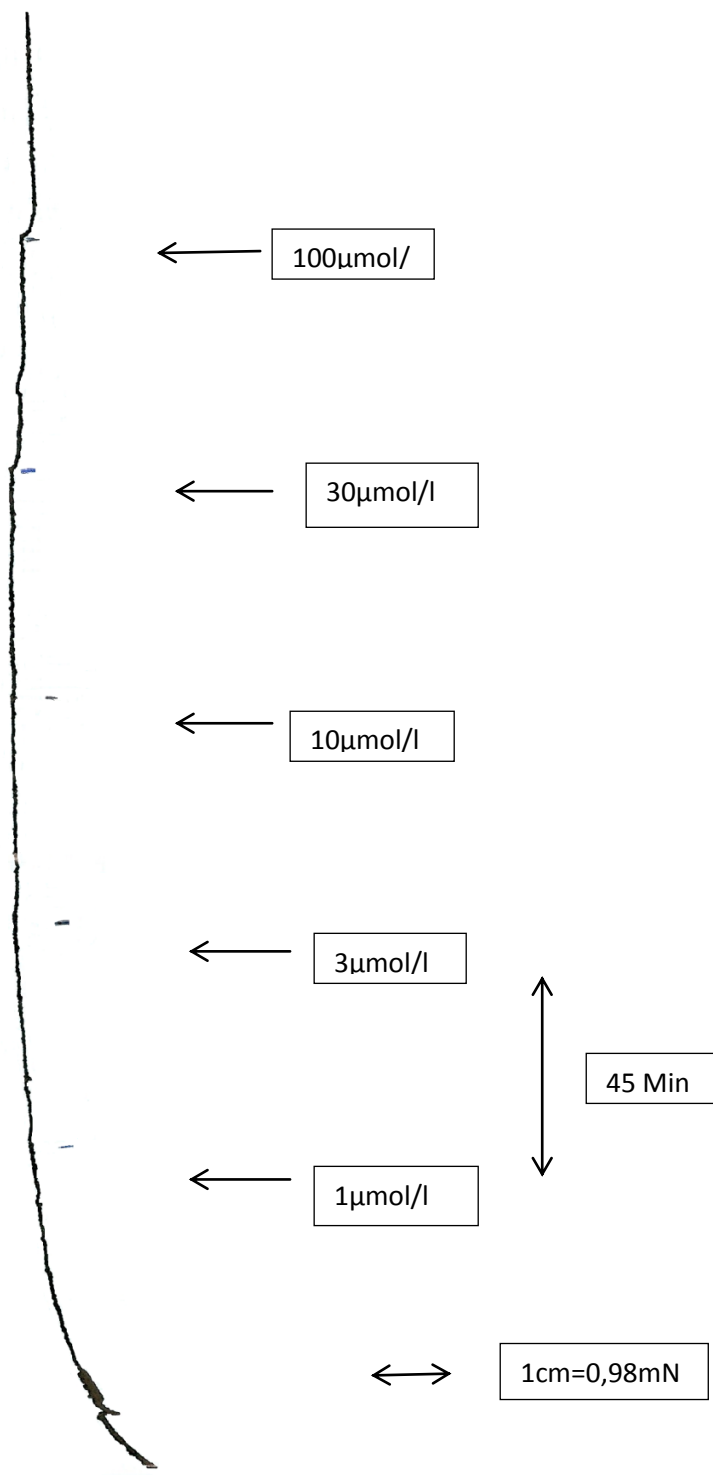
Diagramm 7 : Dosis-Wirkungskurve von SWS 81 HCl an der Arteria pulmonalis



Die Wirkung von SWS 81 HCl ist von der x- und y-Achse ablesbar. Die x-Achse gibt die Konzentration in µmol/l wieder, die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft.

In diesen Fall ist eine äußerst schwache Dilatation zu sehen.

Abbildung 26 : Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 81 HCl auf die Arteria pulmonalis



Legende zu Abbildung 26:

Die Zeitpunkte der Injektion erfolgten in einem 45-Minutenintervallen, die durch Pfeile gekennzeichnet sind.

### 4.2.3. Wirkung von SWS 81 HCl auf Musculus papillaris

Am Papillarmuskel wurden 4 Versuche durchgeführt, der Kontrollwert betrug  $2,54 \pm 0,30$ . Die einzelnen Einspritzungen erfolgten auch hier alle 45 Minuten. Das Ziel der Untersuchung war, eine Veränderung der Ionotropie durch die Zugabe von SWS 81 HCl zu erreichen. Der  $EC_{-50}$  konnte in dem Fall nicht ermittelt werden.

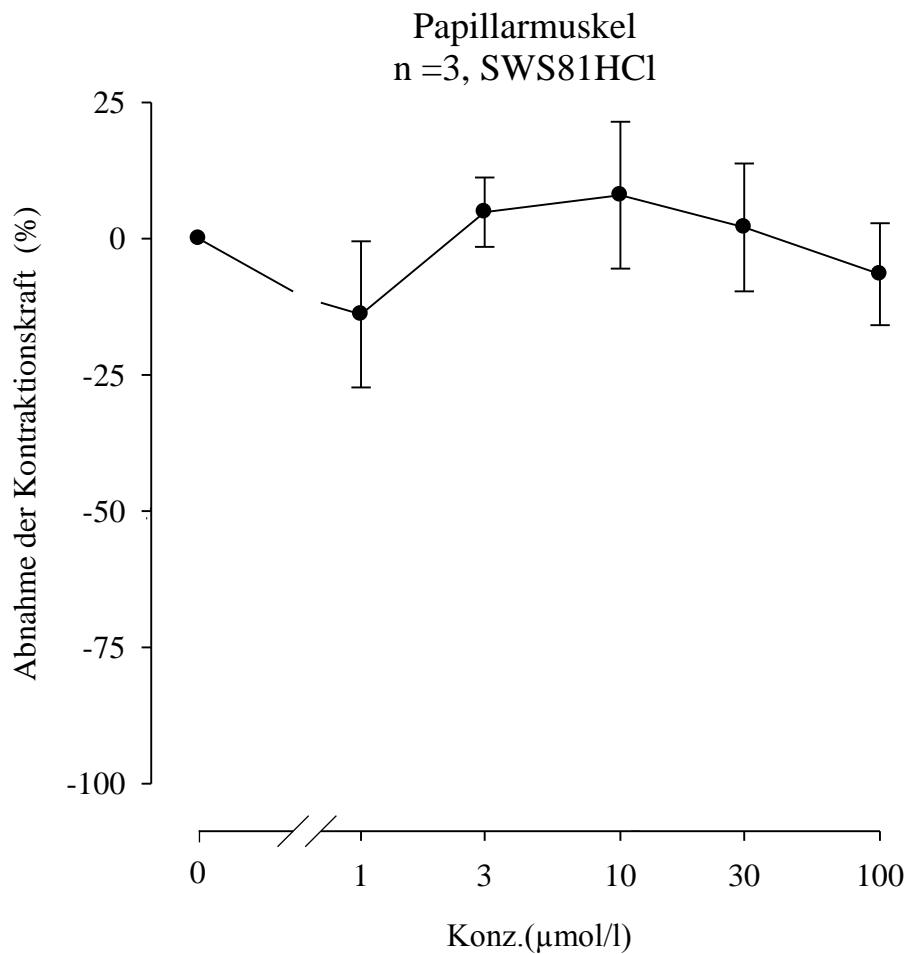
Tabelle 11 : Die Ergebnisse von SWS 81 HCl auf den Papillarmuskel

SWS 81 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuchsanzahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$2,54 \pm 0,30$	$0 \pm 0$	4	-
1	$1,98 \pm 0,28$	$-20,28 \pm 11,42$	4	n.s
3	$2,28 \pm 0,14$	$-6,20 \pm 11,95$	4	n.s
10	$2,48 \pm 0,19$	$0,68 \pm 12,00$	4	n.s
30	$2,25 \pm 0,18$	$7,54 \pm 12,69$	4	n.s
100	$1,84 \pm 0,31$	$-22,32 \pm 17,12$	4	n.s

$f_c$ ...Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

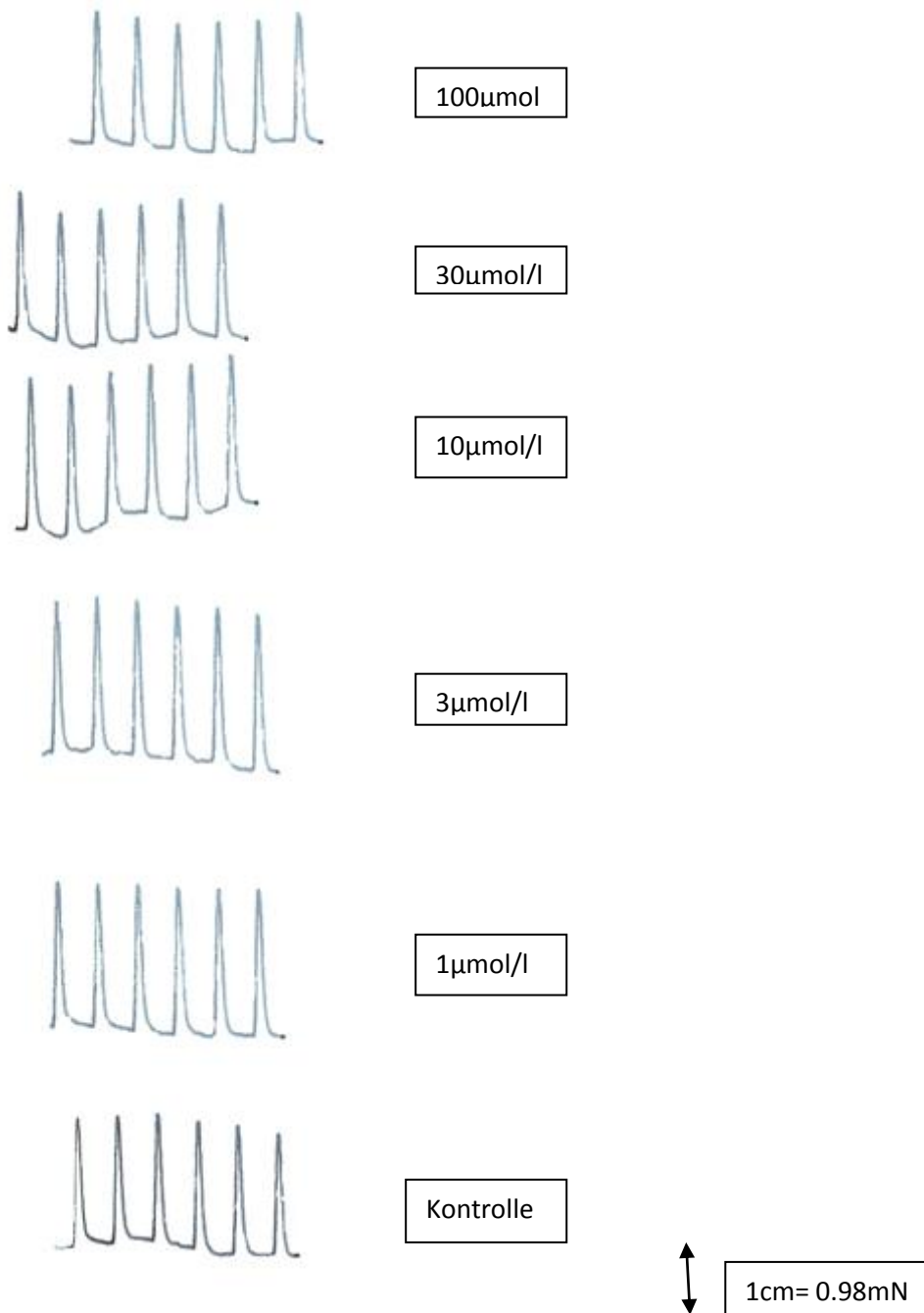
Diagramm 8 : Dosis-Wirkungskurve von SWS 81 HCl auf den Papillarmuskel



Die Wirkung von SWS 81 HCl ist von der x- und y-Achse ablesbar.

Die Graphik zeigt uns, dass es am Anfang zu einer leichten negativen Inotropie kommt. Durch die Zugabe von 1 µmol steigt die Kontraktionskraft, bleibt konstant und bei einer Wirkstoffkonzentration von 10 µmol/l fällt die Amplitude leicht wieder ab.

Abbildung 27 : Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 81 HCl auf den Papillarmuskel



Legende zu Abbildung 22:

Die Amplituden des Papillarmuskels wurden mit Hilfe eines Lineals gemessen, um eine Veränderung der Ionotropie durch die Substanzzugabe bewerten zu können.

#### 4.2.4. Wirkung von SWS 81 HCl auf Aorta descendes

Das Ziel der Untersuchung am Aorta descendes war eine dilatierende Wirkung durch die Testsubstanz SWS 81 HCl zu ermitteln. Es wurde 6 Versuche herangezogen. Meine Substanz zeigte ab einer Konzentrationszugabe von 10µmol eine sehr schwache vasodilatierende Wirkung. Der EC<sub>50</sub>-Wert konnte keinesfalls ermittelt werden.

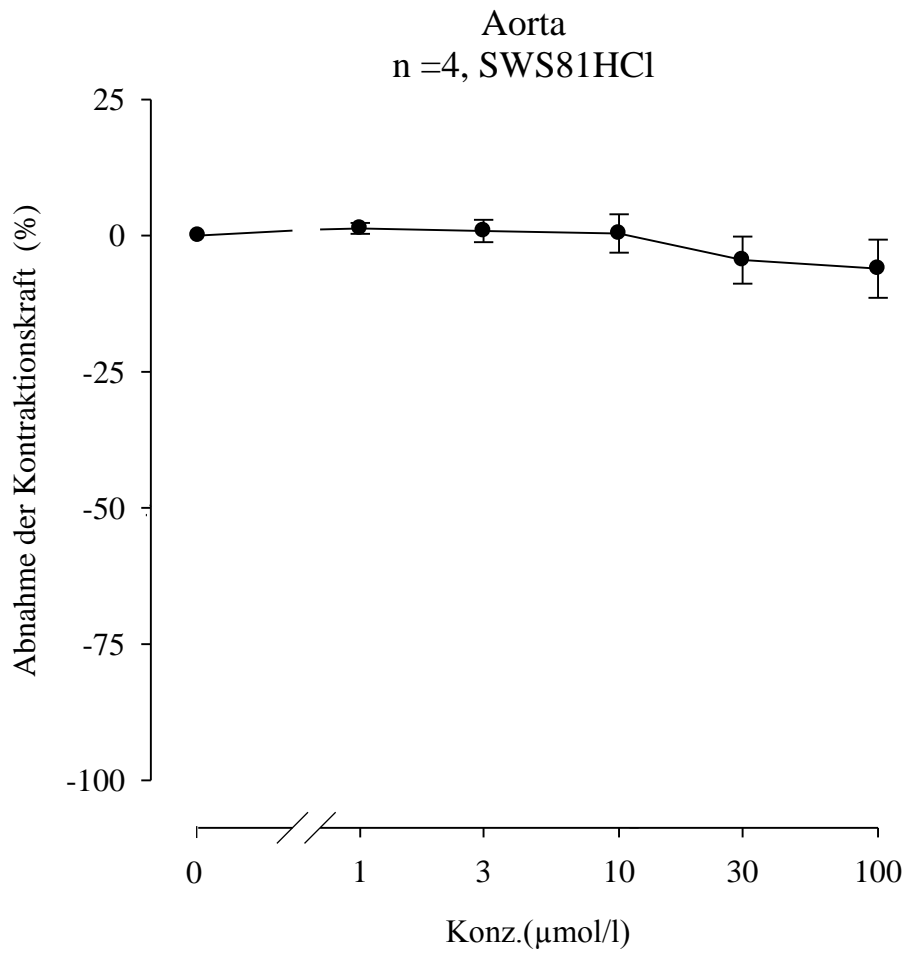
Tabelle 12: Die Ergebnisse von SWS 81 HCl an der Aorta

SWS81 HCl (µmol/l)	f <sub>c</sub> ± SEM (m/N)	f <sub>c</sub> ± SEM (%)	Versuchsanzahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	9,46 ±1,68	0 ± 0	6	-
1	9,58 ±1,69	1,32±1,00	6	n.s
3	9,50 ±1,62	0,85±2,06	6	n.s
10	9,53±1,75	0,39±3,52	6	n.s
30	9,16±1,87	-4,48±4,33	6	n.s
100	9,02 ±1,85	-6,08±5,33	6	n.s

f<sub>c</sub>...Kontraktionskraft

SEM...Standardabweichung

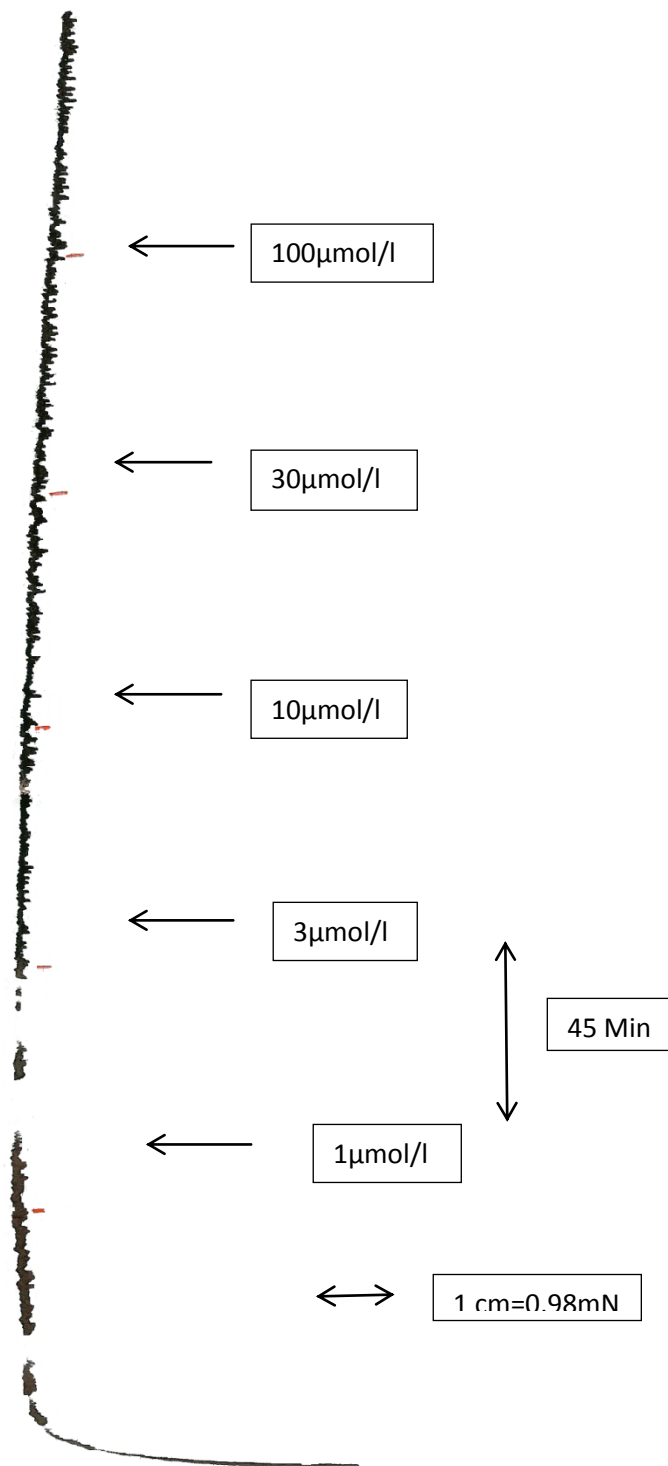
Diagramm 9 : Dosis-Wirkungskurve von SWS 81 HCl an der Aorta



Das Diagramm widerspiegelt im Gegenteil zu ersten Testsubstanz eine sehr schwache Dilatation der Gefäße.



Abbildung 28 : Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 81 HCl auf die Aorta



Legende zu Abbildung 28:

Die Zeitpunkte der Injektion erfolgten auch hier in einem 45-Minutenintervallen, die durch Pfeile gekennzeichnet sind.

#### 4.2.5. Wirkung von SWS 81 HCl auf Ileum terminalis

Das Ziel der Untersuchung am Ileum terminalis war eine spasmolytische Wirkung zu ermitteln. Es wurden 4 Versuche herangezogen. Meine Testsubstanz SWS 81 HCl zeigte im Gegensatz zu ersten Testsubstanz eine sehr geringe Spasmolyse. Der EC<sub>50</sub>-Wert konnte in diesen Fall keinesfalls ermittelt werden.

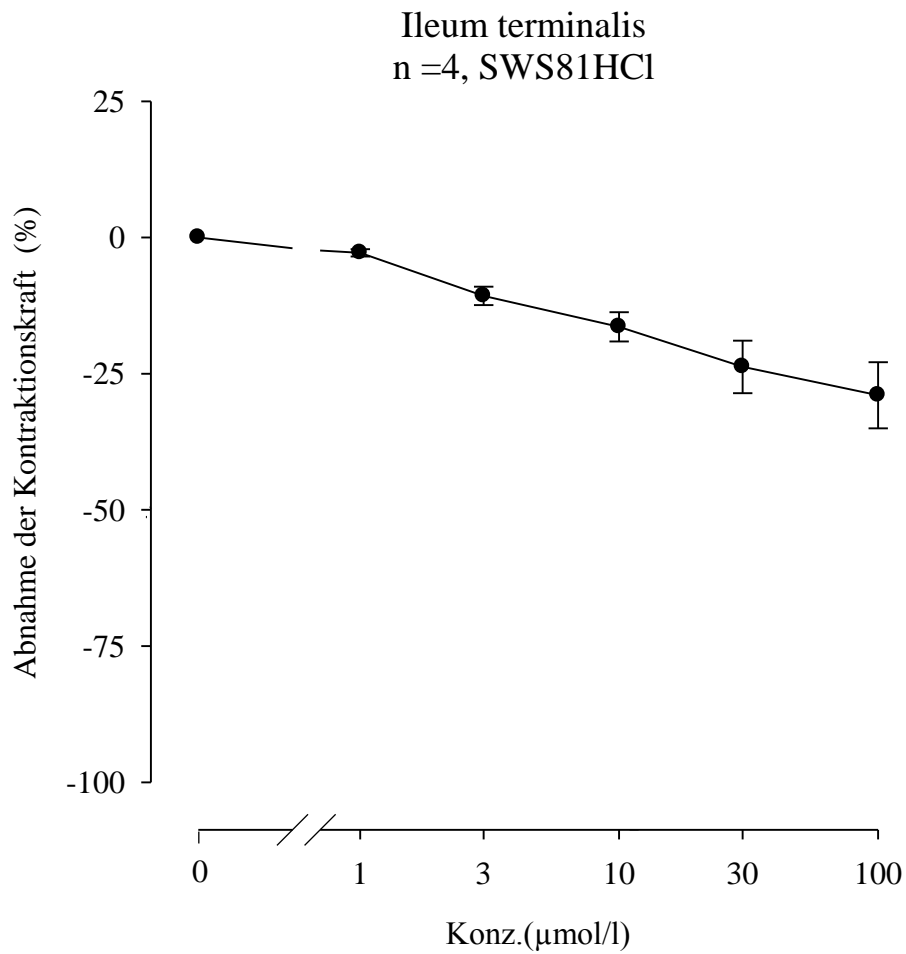
Tabelle 13: Die Ergebnisse von SWS 81 HCl am Darm

SWS 81 HCl ( $\mu\text{mol/l}$ )	$f_c \pm \text{SEM}$ (m/N)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuchsanzahl (n)	Irrtums- wahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	8,28 $\pm$ 0,89	0 $\pm$ 0	4	-
1	8,04 $\pm$ 0,86	-2,82 $\pm$ 0,67	4	n.s
3	7,43 $\pm$ 0,89	-10,71 $\pm$ 1,69	4	n.s
10	6,96 $\pm$ 0,88	-16,39 $\pm$ 2,68	4	n.s
30	6,39 $\pm$ 0,97	-23,76 $\pm$ 4,80	4	n.s
100	5,78 $\pm$ 0,99	-28,96 $\pm$ 6,08	4	n.s

$f_c$ ...Kontraktionskraft

SEM... Standardabweichung

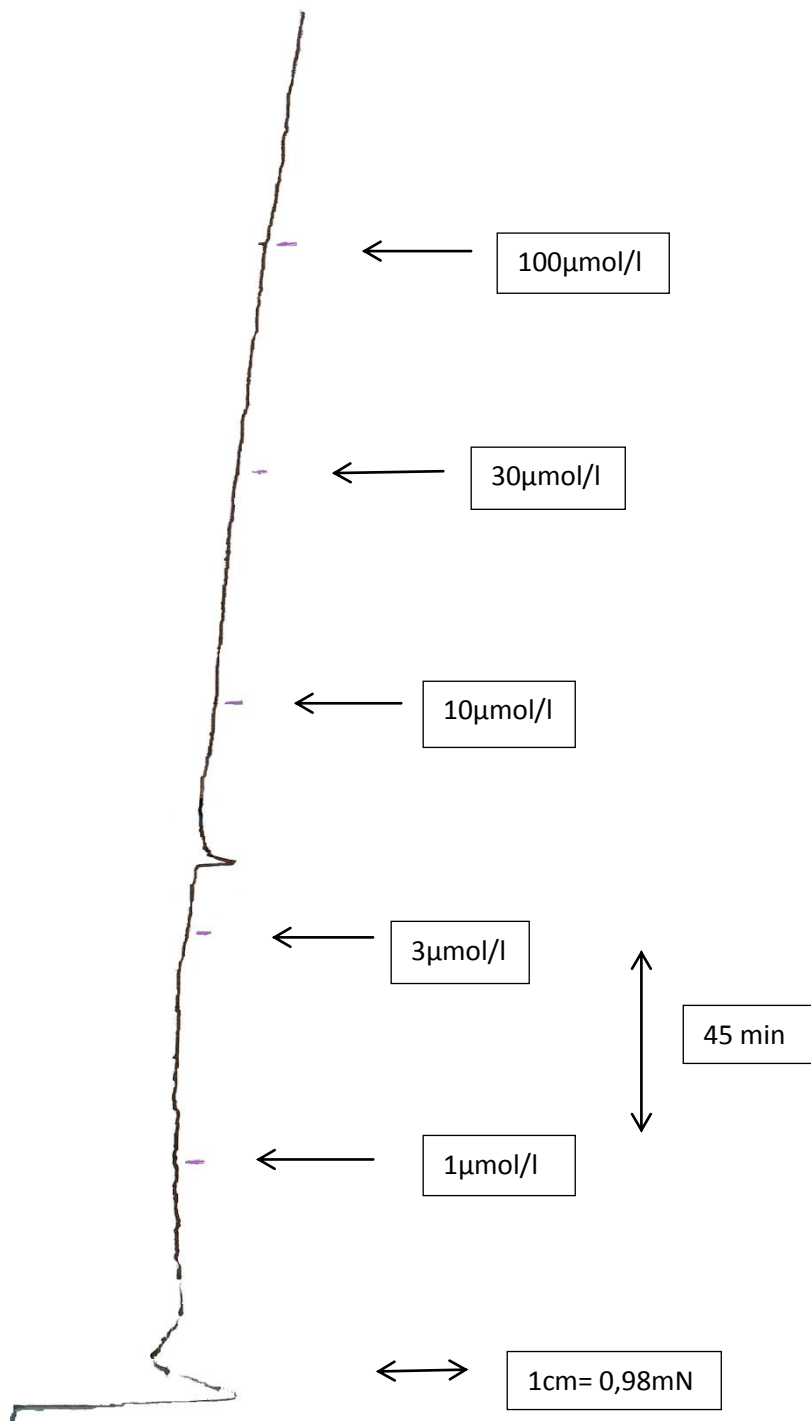
Diagramm 10 : Dosis-Wirkungskurve von SWS 81 HCl am Darm



Die Wirkung von SWS 81 HCl ist von der x-und y-Achse ablesbar. Auf der x-Achse wurden die Konzentrationen in µmol/l eingetragen, die y-Achse zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft in %.

Die Graphik widerspiegelt eine sehr geringe spasmolytische Aktivität.

Abbildung 29 : Originalaufzeichnung der Wirkung von SWS 81 HCl auf den Darm



Legende zu Abbildung 29:

Die Zeitpunkte der Injektion erfolgten wiederum in einem 45-Minutenintervallen, die durch Pfeile gekennzeichnet sind.

## **5. DISKUSSION**

Bei all diesen durchgeführten Versuchen ging es darum, die Wirkung der beiden Testsubstanzen SWS 62 HCL und SWS 81 HCl an isolierten Organen zu untersuchen.

Die Wirkung wurde einerseits an der glatten Muskulatur und andererseits an der quergestreiften Muskulatur durchgeführt.

In dem 5. Kapitel werden die Ergebnisse der einzelnen Versuche näher erläutert und diskutiert.

### **5.1. Wirkung von SWS 62 HCl**

Um die Ergebnisse der Substanz SWS 62 HCl besser zu verdeutlichen, wurde eine Tabelle erstellt, die einen Überblick über die Effekte wiedergibt.

Tabelle 14 : Die Wirkung der 1.Testsubstanz in Bezug auf EC<sub>50</sub>-Werte

<b>Organpräparate</b>	<b>EC-50 Werte(<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>
Aorta descendes	27,00
Arteria pulmonalis	100,00
Terminales Ileum	20,70
Atrium cordis dextrum	>100
Musculus papillaris	>100

Bei den 3 isolierten Organen konnte ein EC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden. Bei den restlichen 2 war jedoch eine schwache Wirkung zu sehen.

In den nächsten Kapiteln wird auf die Wirkung der Organteile näher eingegangen.

### 5.1.1. Wirkung von SWS 62 HCl auf die Aorta

Tabelle 15 : EC<sub>50</sub>-Wert (Aorta descendes)

Organpräparat	EC <sub>50</sub> - Wert(μmol/l)
Aorta descendes	27,00

Der ermittelte EC<sub>50</sub>-Wert beträgt 30μmol/l. Eine dilatierende Wirkung auf die Gefäße ist schon bei der ersten Injektion der Testsubstanz also bei 1μmol/l zu sehen. Die Abnahme der Kontraktionskraft beträgt  $3,3 \pm 2,05\%$  im Hinblick auf den Kontrollwert und durch die kontinuierliche Konzentrationszugabe nahm auch die vasodilatierende Wirkung zu. Es wurde ein Endwert von  $0,64 \pm 0,36\text{mN}$  erzielt, was eine Abnahme der Kontraktionskraft von  $91,09 \pm 6,3\%$  bedeutete.

### 5.1.2. Wirkung von SWS 62 HCl auf die Lungenarterie

Tabelle 16 : EC<sub>50</sub>- Wert (Arteria pulmonalis)

Organpräparat	EC <sub>50</sub> -Wert(μmol/l)
Arteria pulmonalis	100,00

Die erste SWS-Testsubstanz führte zu einem dilatierenden Effekt. Bei einer Wirkstoffzugabe von 1μmol/l war eine leichte Wirkung zu sehen. Ab 10μmol/l konnte eine signifikante Abnahme der Kontraktionskraft betrachtet werden. Bei der letzten Injektion, also bei 100μmol/l betrug der Wert  $-50,83 \pm 2,78$ .

### 5.1.3. Wirkung von SWS 62 HCl auf den Darm

Tabelle 17 : EC<sub>50</sub>-Wert ( Terminales Ileum)

Organpräparat	EC <sub>50</sub> -Wert(μmol/l)
Terminales Ileum	20,70

Auch das Terminale Ileum wies bei der ersten Testsubstanz SWS 62 HCl eine signifikante spasmolytische Aktivität auf. Der EC<sub>50</sub>-Wert betrug hier 20,70μmol/l. Gleich bei der ersten Zugabe der Testsubstanz konnte eine Dilatation des Organs festgestellt werden, die dann mit zunehmender Konzentration stärker wurde. Bei der Endkonzentration von 100μl kam es zu einer vollständigen Relaxation des Ileum terminalis.

### 5.1.4. Wirkung von SWS 62 HCl am rechten Vorhof

Bei Atrium cordis dextrum konnte durch die Zugabe der Testsubstanz SWS 62 HCl kein EC<sub>50</sub>-Wert erreicht werden. In diesen Fall war nämlich eine schwach positiv chronotrope Wirkung zu sehen, die durch Zugabe von höheren Dosen ein wenig stärker wurde.

### 5.1.5. Wirkung von SWS 62 HCl am Papillarmuskel

Der Papillarmuskel zeigte schon ab einer Einspritzung von 1μmol eine Abnahme der Kontraktionskraft. Bei der Wirkstoffzugabe von 3μmol steigt jedoch die Kontraktionskraft wieder an und fällt bei 30μmol leicht wieder ab. Dennoch konnte hier kein EC<sub>50</sub>-Wert ermittelt werden.

## **5.2. Wirkung von SWS 81 HCl**

Im diesen Kapitel wird die Wirkung der Testsubstanz SWS 81 HCl diskutiert. Die Wirkung der zweiten SWS- Substanz hatte im Gegensatz zur ersten Testsubstanz einen sehr geringen Einfluss auf die isolierten Organe und somit konnte hier der EC<sub>50</sub>-Wert bei keinem Organstück ermittelt werden.

### **5.2.1. Wirkung von SWS 81 HCl auf die Aorta**

Die Aorta descendes wies bei den jeweiligen Wirkstoffzugaben eine sehr geringe, oder besser gesagt fast keine Wirkung auf. Eine äußerst schwache Dilatation konnte bei der Zugabe von 10µl gesehen werden. Bei der letzten Injektion (100µmol/l) betrug der Wert 6,08±5,335.

### **5.2.2. Wirkung von SWS 81 HCl auf die Lungenarterie**

Die zweite SWS- Testsubstanz zeigte auf den isolierten Organteil eine sehr schwache Dilatation. Durch zunehmende Konzentration nahm diese jedoch zu, betrug aber bei der Endkonzentration von 100µmol/l nur 4,15±6,09%. Es konnte somit kein EC<sub>50</sub>-Wert erzielt werden.

### **5.2.3. Wirkung von SWS 81 HCl auf den Darm**

Den größten Einfluss hatte die zweite Testsubstanz auf das Terminale Ileum, im Vergleich zu den restlichen Präparaten. Durch zunehmende Wirkstoffzugabe kam es zu einer Steigerung des spasmolytischen Effekts und bei der Endkonzentration von 100µmol/l konnte ein Wert von 28,96±6,08% erreicht werden. Der EC<sub>50</sub>-Wert konnte hier auch nicht erzielt werden.



#### **5.2.4. Wirkung von SWS 81 HCl am rechten Vorhof**

Die zu untersuchende Testsubstanz zeigte am Atrium cordis dextrum eine leichte negative Chronotropie, die bei der Injektion von 10µmol erfolgte. Die Endkonzentration von 100µmol/l ergab einen Wert von  $2,08 \pm 5,84$ . Ein  $EC_{50}$ -Wert zu erreichen war keinesfalls möglich.

#### **5.2.5. Wirkung von SWS 81 HCl am Papillarmuskel**

Eine äußerst leichte negative Inotropie ist auch beim Musculus Papillaris zu sehen, die bei einer Konzentration von 10µmol/l auftritt. Hier war es natürlich auch nicht möglich, einen  $EC_{50}$ -Wert zu erreichen.

## **6. ZUSAMMENFASSUNG**

Die Aufgabe meiner Arbeit bestand darin, die Wirkung der Testsubstanz SWS 62 HCl und SWS 81 HCl an verschiedenen Organteilen des Meerschweinchens zu untersuchen.

Auf der einen Seite wurde die Wirkung an der glatten Muskulatur, dazu gehören: Aorta descendens, Arteria pulmonalis und das Terminale Ileum und auf der anderen Seite an der glatten Muskulatur wie am Musculus papillaris und Atrium cordis dexter durchgeführt.

Für die Versuchsanordnungen wurden Konzentrationen von  $1\mu\text{mol/l}$ , dann 3, 10, 30 und anschließend  $100\mu\text{mol/l}$  untersucht und danach ausgewertet.

Bei der ersten Testsubstanz SWS 62 HCl konnte bei 3 von 5 Versuchen ein  $\text{EC}_{50}$ -Wert erzielt werden. Eine deutliche Wirkung zeigte die erste Testsubstanz auf die Organe mit glatter Muskulatur.

Die Organe der quergestreiften Muskulatur wiesen eine schwache Wirkung auf, ein  $\text{EC}_{50}$ -Wert zu erreichen war deswegen hier nicht möglich.

Die zweite Testsubstanz SWS 81 HCl zeigte im Gegensatz zu ersten Substanz keine signifikante Wirkung. Die zu untersuchende Substanz hatte sowohl auf die Aorta descendes als auch auf die Arteria pulmonalis einen äußerst schwachen Einfluss auf die Vasodilatation. Bei Musculus papillaris hatte die Substanz auch einen sehr schwachen Einfluss, hier aber auf die Inotropie. Eine leichte negativ chronotrope Wirkung konnte auch am rechten Vorhof durch die Zugabe der Substanz festgestellt werden. Die stärkste Wirkung zeigte die zweite Substanz auf das Terminale Ileum. Die Abnahme der Kontraktionskraft wies bei der Konzentration von  $100\mu\text{mol/l}$  einen Wert von  $28,96\pm 6,08\%$  auf. Es kam bei allen Organen eine sehr schwache Wirkung zustande, bei keinem aber konnte ein  $\text{EC}_{50}$ -Wert erzielt werden.

Die Verbindung SWS 62 HCl verfügt im Gegensatz zu SWS 81 HCl über einen Imidazol Ring, dieser wird leicht hydrolysiert und deswegen hat die Verbindung eine wesentliche stärkere Wirkung auf die glatte Muskulatur als SWS 81 HCl. Die Verbindung 81 HCl besitzt dafür ein Piperazin Ring, dieser ist anscheinend stabiler und daher trat bei dieser Verbindung keine oder nur sehr geringe Wirkung auf.

## **7. LITERATURVERZEICHNIS**

Abe K, Kimura H (1996) The possible Role of Hydrogen Sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 16: 1066-1071

Aktories, Förstermann, Hofmann, Starke (2009) *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 10.Auflage, Elsevier München

Bhatia M, Sidhapuriwala J, Moochhala SM, Moore PK (2005a) Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hindpaw oedema in the rat. *Br J Pharmacol* 145: 141-144

Burger A, Wachter H (1997) *Hunnius - Pharmazeutisches Wörterbuch*, 8. Auflage

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

Griffith OW (1987) Mammalian sulphur amino acid metabolism. *Methods in enzymology* 143:366-376

Holzwarth MG (2004) E23K- Polymorphismus im Gen der KIR 6.2-Untereinheit des ATP-sensitiven Kaliumkanals- Auswirkungen auf Glukosetoleranz, Insulin- und Glukagonsekretion. Dissertation Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

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

Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS (2010) Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson`s disease rat models. *Aging Cell* 9:135-146

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

Ishii, I., Akahoshi, N., Yu, X.N., Kobayashi, Y., Namekata, K., Komaki, G., Kimura, H. (2004): Murine cystathione gamma-lyase: complete cDNA and genomic sequences, promoter activity, tissue distribution and developmental expression. *Biochemie J* 381: 113-23

Kamoun P (2001) Mental retardation in Down syndrome: a hydrogen sulphide hypothesis. *Medical Hypotheses* 57: 389-392

Li L, Bhatia M, Zhu YZ, Thu YC, Ramnath RD, Wang ZJ, Anuar FB, Whiteman M, Salto Tellez M, Moore PK(2005) Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. *The FASEBJ* 19:1196-1198

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M, (2001) *Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 9.Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart*

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P, Schäfer-Korting M (2005) *Arzneimittelwirkungen kompakt, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart*

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

Oberdisse E, Hackenthal E, Kuschinsky K (2001) *Pharmakologie und Toxikologie, 3.Auflage, Springer Berlin*

Puranik, M. Weeks, C.L. Lahaye, D. Kabil, O. Taoka, S. Nielsen, S.B. Groves, J.T. Banerjee, R. Spiro, T.G.(2006) Dynamics of carbon monoxide binding to cystathionine beta-synthase. *J Biol Chem* 281: 13433-13438

Szabo C (2007) Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature reviews* 6:917-935

Seino S, Miki T (2003) Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K<sup>\*</sup> channels, *Progress in Biophysics and molecular Biology* 81:133-176

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

Wang R (2002) Two`s company, Three`s a crowd: can H<sub>2</sub>S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J* 16:1792-1798

Zanardo RCO, Brancaleone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, and Wallace JL (2006) Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *FASEB J* 12:2118-2120

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

Yan H, Du J, Tang C (2004) The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochem and Biophys Research Commun* 313:22-27

## **8. LEBENSLAUF**

### **Persönliche Daten:**

Name: Anna Antosz

Wohnort: 1210 Wien

Nationalität: Polen

Geburtsdatum: 29.11.1983

Eltern: Barbara Zielinska

Krzysztof Poznanski

Geschwister: Kinga Bajor

### **Ausbildung:**

1990-1995: Volksschule im. K.K. Baczynskiego (Polen)

1995-1998: Hauptschule Jochbergengasse

1998-2003: Wirtschaftskundliches Realgymnasium Glasergasse

2003: Beginn des Diplomstudiums Pharmazie

2010: Beginn der Diplomarbeit im Fachbereich Pharmakologie und Toxikologie

### **Berufliche Erfahrung:**

2003: Meinungsforschungsinstitut Gallup

2003: International Gemological Institute

2006-2008: Wanek