



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Untersuchung der toxischen und spasmolytischen Wirkungen
von *Potentilla anserina* L.

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

| | |
|--|------------------------------------|
| Verfasserin / Verfasser: | Martina Schlager |
| Matrikel-Nummer: | 0204135 |
| Studienrichtung (lt. Studienblatt): | Ernährungswissenschaften |
| Betreuerin / Betreuer: | Ao. Univ.-Prof. Dr. Lemmens-Gruber |

Wien, September 2008

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Univ.-Prof. Dr. Lemmens-Gruber für die Bereitstellung dieses interessanten Diplomarbeitsthemas und die freundliche Betreuung.

Danken möchte ich auch Frau Dr. Sonja Prinz für die Hilfestellung bezüglich der Extrakte und für die Korrektur der Arbeit.

Frau Pakiza Rawnduzi danke ich herzlich für die Hilfe während des gesamten praktischen Teils der Diplomarbeit.

Weiters möchte ich Herrn Univ.-Prof. Dr. Studenik für das angenehme Arbeitsklima im Labor und Herrn Peter Höflich für die Hilfsbereitschaft in labortechnischen Fragen danken.

Außerdem danke ich meinen Eltern für die finanzielle und mentale Unterstützung.

Schließlich möchte ich auch allen Freunden und Studienkollegen danken, die mich während meiner Studienzeit immer unterstützt und motiviert haben.

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|--|----------|
| I. ABBILDUNGSVERZEICHNIS | III |
| II. TABELLENVERZEICHNIS..... | V |
| 1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG..... | 1 |
| 2. LITERATURÜBERSICHT | 3 |
| 2.1. Allgemeines zu <i>Potentilla anserina</i> L..... | 3 |
| 2.2. Inhaltsstoffe | 4 |
| 2.3. Anwendungsgebiete und Wirkungen..... | 5 |
| 2.4. Toxizität | 6 |
| 3. MATERIAL UND METHODEN | 7 |
| 3.1. Testextrakte..... | 7 |
| 3.2. Versuchstiere | 9 |
| 3.3. Isolierung der Versuchsorgane..... | 9 |
| 3.4. Präparation der Versuchsorgane..... | 9 |
| 3.4.1. Präparation des rechten Vorhofs | 10 |
| 3.4.2. Präparation der Papillarmuskeln..... | 10 |
| 3.4.3. Präparation der Arteria pulmonalis | 10 |
| 3.4.4. Präparation der Aorta | 10 |
| 3.4.5. Präparation des Uterus | 11 |
| 3.4.6. Präparation des terminalen Ileums..... | 11 |
| 3.5. Physiologische Nährlösungen | 12 |
| 3.5.1. Physiologische Nährlösung für die Organe rechter Vorhof, Papillarmuskel, thorakale Aorta, terminales Ileum und Arteria pulmonalis. | 12 |
| 3.5.2. Physiologische Nährlösung für den Uterus..... | 13 |
| 3.6. Nährlösung zur Vorkontraktion | 13 |
| 3.6.1. Nährlösung zur Vorkontraktion von terminalem Ileum | 13 |
| 3.6.2. Nährlösung zur Vorkontraktion von Aorta und Arteria pulmonalis | 13 |

| | |
|---|-----------|
| 3.7. Lösungsmittel | 14 |
| 3.8. Versuchsaapparatur | 15 |
| 3.9. Versuchsablauf..... | 20 |
| 3.10. Auswertung der Versuche | 23 |
| 3.11. Statistik..... | 24 |
| 4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION..... | 25 |
| 4.1. Lösungsmittel | 26 |
| 4.2. thorakale Aorta | 28 |
| 4.3. terminales Ileum | 32 |
| 4.4. Arteria pulmonalis..... | 36 |
| 4.5. Papillarmuskel | 40 |
| 4.6. Vorhof..... | 44 |
| 4.7. Uterus..... | 48 |
| 4.8. Aorta und Arteria pulmonalis ohne Vorkontraktion | 52 |
| 4.9. Diskussion | 53 |
| 5. SCHLUSSBETRACHTUNG | 55 |
| 6. ZUSAMMENFASSUNG | 57 |
| 7. SUMMARY | 58 |
| 8. LITERATURVERZEICHNIS | 59 |
| 9. LEBENSLAUF | 61 |

I. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Schematischer Aufbau der Versuchsanordnung..... | 15 |
| Abbildung 2: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung in der Seitenansicht | 16 |
| Abbildung 3: Originalabbildung eines Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel (Firma Kipp & Zonen, Niederlande) | 19 |
| Abbildung 4: Originalabbildungen der Versuchsanordnungen..... | 19 |
| Abbildung 5: Graphische Darstellung der Wirkung der H ₂ O-Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta..... | 29 |
| Abbildung 6: Graphische Darstellung der Wirkung der EtOH 70 %-Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta..... | 30 |
| Abbildung 7: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 H ₂ O auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta..... | 31 |
| Abbildung 8: Graphische Darstellung der Wirkung der Extrakte 1 H ₂ O und 1 EtOH 70 % aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums..... | 33 |
| Abbildung 9: Graphische Darstellung der Wirkung der Extrakte 2 H ₂ O und 2 EtOH 70 % aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums..... | 34 |
| Abbildung 10: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 H ₂ O auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums | 35 |
| Abbildung 11: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 1 H ₂ O und 1 EtOH 70 % aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis | 37 |
| Abbildung 12: Graphische Darstellung der Wirkung der Extrakte 2 H ₂ O und 2 EtOH 70 % aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis | 38 |

| | |
|--|----|
| Abbildung 13: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 2 EtOH 70 % auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis | 39 |
| Abbildung 14: Graphische Darstellung der Wirkung der H ₂ O-Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels..... | 41 |
| Abbildung 15: Graphische Darstellung der Wirkungen der EtOH 70 %-Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels | 42 |
| Abbildung 16: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 2 H ₂ O auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels | 43 |
| Abbildung 17: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 1 H ₂ O und 1 EtOH 70% aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs | 45 |
| Abbildung 18: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 2 H ₂ O und 2 EtOH 70 % aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs | 46 |
| Abbildung 19: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 EtOH 70 % auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs | 47 |
| Abbildung 20: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 1 H ₂ O und 1 EtOH 70% aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus..... | 49 |
| Abbildung 21: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 2 H ₂ O und 2 EtOH 70 % aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus..... | 50 |
| Abbildung 22: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 H ₂ O auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus..... | 51 |

II. TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Drogenherkunft, Bezeichnung der Extrakte, Droge-Extrakt-Verhältnis und Flavonoid-Gehalt der zu untersuchenden Drogenmuster..... | 7 |
| Tabelle 2: Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung für Vorhof, Papillarmuskel, Aorta, terminales Ileum und Arteria pulmonalis | 12 |
| Tabelle 3: Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung für Uterus | 13 |
| Tabelle 4: Empirisch ermittelte Werte für die Vorspannung | 18 |
| Tabelle 5: Menge und Konzentration für die kumulative Zugabe der gelösten Extrakte | 22 |
| Tabelle 6: Wirkungen des Lösungsmittels (Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1) auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Aorta | 26 |
| Tabelle 7: Wirkungen des Lösungsmittels (Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1) auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums..... | 27 |
| Tabelle 8: Wirkungen des Lösungsmittels (Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1) auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels | 27 |
| Tabelle 9: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta..... | 28 |
| Tabelle 10: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums..... | 32 |
| Tabelle 11: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis | 36 |
| Tabelle 12: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus <i>Potentilla anserina</i> L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels..... | 40 |

Tabelle 13: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs44

Tabelle 14: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus48

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Potentilla anserina L. stammt aus der Familie der Rosaceae und ist auch als Gänsefingerkraut, Gänserich, Ganskraut, Krampfkraut und Silberkraut bekannt. Die mehrjährige Pflanze kommt vor allem in den gemäßigten und kalten Zonen der gesamten Nordhemisphäre weit verbreitet vor [WICHTL, 2002].

Zu den Inhaltsstoffen zählen vor allem Gerbstoffe, zahlreiche Flavonoide, Phenolcarbonsäuren, Cumarine, Polyprenole, Fettsäuren und Sterole, Vitamine sowie die basischen Inhaltstoffe Glycin, Histidin und Cholin. Die Droge Anserinae herba wird durch Trocknen der Blätter und Blüten aus der Stammpflanze *Potentilla anserina* L. gewonnen [HÄNSEL et al., 1994].

Als Tee zubereitet wird Anserinae herba zur Unterstützung der Therapie akuter, unspezifischer Durchfallerkrankungen mit leichten, krampfartigen Magen-Darm-Beschwerden sowie bei leichten Entzündungen im Bereich der Mund- und Rachenschleimhaut angewandt. In der Volksheilkunde hatte das Kraut noch viele weitere Bedeutungen [WICHTL, 2002].

Die Pflanze wirkt aufgrund des Gerbstoffgehalts adstringierend und soll außerdem eine antivirale sowie eine antimutagene Wirkung besitzen. Über eine spasmolytische und tonussteigernde Wirkung liegen mehrere Arbeiten mit kontroversen Ergebnissen vor [WICHTL, 2002]. Angaben zur Toxizität der Droge nach peroraler Aufnahme fehlen. In lediglich einer älteren Arbeit wurde die cardiotoxische Wirkung von *Potentilla anserina* L. auf Meerschweinchen und Katzen beschrieben [RODEWALD, 1950]. Auch hier fehlen aktuelle Untersuchungen.

Am Department für Pharmakognosie der Universität Wien wurden von Dr. Sonja Prinz aus zwei Drogenmustern von Anserinae herba unterschiedlicher Herkunft jeweils ein H₂O-Extrakt und ein hydro-ethanolisches Extrakt hergestellt. Diese vier Extrakte wurden im Rahmen dieser Diplomarbeit an isolierten

Meerschweinchenorganen auf unerwünschte toxische und erwünschte spasmolytische Wirkung untersucht.

Zur Erforschung der Spasmolyse wurden isometrische Messungen der Kontraktionskraft der thorakalen Aorta, des terminalen Ileums, der Arteria pulmonalis, des Uterus, des Papillarmuskels aus dem rechten Ventrikel und des spontan schlagenden rechten Vorhofs vorgenommen.

In Bezug auf die toxischen Effekte wurde besonders auf spontane, hochfrequente Kontraktionen bei den glattmuskulären Organen und auf Arrhythmien bei den Herzpräparaten geachtet, da in Vorversuchen mit Potentilla-Fractionen, die die Wirkstoffe in höheren Konzentrationen beinhalteten, solche Wirkungen gefunden wurden. Durch Untersuchung der Extrakte sollte nun festgestellt werden, ob durch Teezubereitungen ähnliche Wirkungen erzielt werden können.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Allgemeines zu *Potentilla anserina* L.

Potentilla anserina L. ist unter den Synonymen Gänsefingerkraut, Gänserich, Ganskraut, Krampfkraut und Silberkraut bekannt und stammt aus der Familie der Rosaceae. Der Gattungsname *Potentilla* stammt vermutlich aus dem lateinischen *potens* (mächtig), Bezug nehmend auf die große Heilkraft, die man der Pflanze zumaß. Der Arname *anserina* leitet sich vom lateinischen *anser* (Gans) ab. Dies bezieht sich, wie auch die deutsche Bezeichnung Gänserich, auf die Verwendung des Krautes als Gänsefutter [HILLER und MELZIG, 2000; MADAUS, 1976].

Die Pflanze wächst meist auf Trittfuren und Wegen und kommt vor allem in den gemäßigten und kalten Zonen der gesamten Nordhemisphäre weit verbreitet vor. In Europa findet man *Potentilla anserina* L. südlich bis zu den Azoren, in Nordportugal, Mittelspanien, Südfrankreich und Oberitalien. Östlich dringt sie bis in den Kaukasus, Libanon und Himalaya vor. In Amerika wächst das Kraut südlich bis Nordkalifornien, Neu-Mexiko und Arizona. Außerdem kommt es auch im südlichen Australien vor [SCHÖNFELDER und SCHÖNFELDER, 2004; HÄNSEL et al., 1994].

Bei dem mehrjährigen, niedrigen Kraut handelt es sich botanisch um eine Staude mit kurzem, dickem, verzweigtem Rhizom. Die unterbrochen gefiederten Grundblätter, die bis zu 30 cm lang werden, bilden eine grundständige Rosette. Die sehr lang gestielten Blüten stehen einzeln und besitzen fünf Außenkelch-, fünf Kelch- und fünf goldgelbe Kronblätter sowie etwa 20 Staubblätter. In der Nacht schließen sie sich vollständig, doch bei schlechtem Wetter nur zur Hälfte. Die Blütezeit findet von Mai bis August und vereinzelt bis in den Spätherbst statt [WICHTL, 2002; MADAUS, 1976].

Um die Droge Anserinae herba zu erhalten, werden die Blätter und Blüten kurz vor oder während der Blüte gesammelt und getrocknet. Sie wird aus Polen, Ungarn und Kroatien importiert. Sie besitzt einen schwachen Geruch und einen sehr schwachen, kaum wahrnehmbar adstringierenden Geschmack [HÄNSEL et al., 1994; WICHTL, 2002].

2.2. Inhaltsstoffe

Kraut und Wurzelstock von *Potentilla anserina* L. enthalten vor allem Gerbstoffe, hauptsächlich Ellagitannine. Eine weitere Gruppe an Inhaltsstoffen wären die Flavonoide, wobei die Flavonole Kämpferol, Myricitin, Isorhamnetin, Quercetin und die Anthocyanidine Leucodelphinidin und Cyanidin im Blatthydrolysat nachgewiesen wurden. Im Kraut wurden außerdem die Flavonole Quercitrin, Isoquercitrin und Myricitrin isoliert. Auffällig ist das Vorkommen hochhydroxylierter Flavonoide die in der Gattung *Potentilla* ansonsten fehlen [HÄNSEL et al., 1994; KOMBAL und GLASL 1993].

Weiters wurden die Cumarine Scopoletin und Umbelliferon aus den oberirdischen Teilen der Pflanze isoliert. Im Kraut wurden Phenolcarbonsäuren wie *p*-Cumar-, Ferula-, Ellag-, und Kaffeesäure entdeckt. Polyprenole, Fettsäuren und Phytosterole, Vitamine, hauptsächlich Ascorbinsäure sowie die basischen Inhaltstoffe Glycin, Histidin und Cholin sind ebenso in der Pflanze enthalten [WICHTL, 2002; HÄNSEL et al., 1994].

2.3. Anwendungsgebiete und Wirkungen

Schon in den meisten Kräuterbüchern des Mittelalters wurden die heilenden Eigenschaften des Gänsefingerkrauts beschrieben. Die dicken Wurzelstöcke dienten früher in den nordischen Ländern gelegentlich als Nahrungsmittel und die jungen Sprossen wurden als Wildgemüse verzehrt oder als Tee-Ersatz verwendet. Volkstümlich fand das Kraut aufgrund seiner stopfenden, adstringierenden und schmerzstillenden Eigenschaften Anwendung gegen Ruhr, Durchfall, Fluor albus, Blutungen und äußerlich wurde es bei Entzündung und Flecken der Augen, Zahnschmerzen, Glieder- und Hüftschmerzen, Nasenbluten und als hautreinigendes Mittel verwendet. Außerdem sollte es helfen, schlecht heilende Wunden in der Abkochung zu baden. Kneipp empfahl das Kraut in Milch gesotten gegen Krämpfe aller Art [MADAUS, 1976]. In China wird *Potentilla anserina* L. schon seit Jahrtausenden zur Behandlung und Prävention von Hepatitis B eingesetzt. Als verantwortlich für diesen positiven Effekt wird laut neueren Ergebnissen unter anderem ein Triterpensaponin genannt [ZHAO et al., 2008].

Aktuell kann Anserinae herba zur Unterstützung der Therapie akuter, unspezifischer Durchfallerkrankungen mit leichten, krampfartigen Magen-Darm-Beschwerden bei Schulkindern und Erwachsenen sowie bei leichten Entzündungen im Bereich der Mund- und Rachenschleimhaut angewandt werden. Es wird empfohlen, mehrmals täglich eine Tasse frisch bereiteten Tee aus 2-4 g Droge zwischen den Mahlzeiten zu trinken bzw. mit dem lauwarmen Tee zu spülen oder zu gurgeln. Als Nebenwirkung wird die mögliche Verstärkung der Beschwerden bei Reizdarm angeführt [WICHTL, 2002; SCHÖNFELDER und SCHÖNFELDER, 2004].

Aufgrund ihres hohen Gerbstoffgehalts wirkt die Pflanze adstringierend. Auch eine antivirale Wirkung wurde beschrieben. Über spasmolytische Wirkungen liegen mehrere Arbeiten mit teils widersprüchlichen Ergebnissen vor [WICHTL, 2002]. Eine Untersuchung eines 10 %-igen wässrigen Dekoktes an isolierter

Rattenuterus- und Meerschweinchendünndarmmuskulatur aus dem Jahr 1955 zeigte keine Wirkung des isolierten Gerbstoffes auf Peristaltik und Tonus, jedoch einen lähmenden und tonussenkenden Effekt, der durch Ammoniumsalze hervorgerufen worden sein soll, sowie eine vom Cholin ausgehende Tonuserhöhung und Anregung der Bewegungsleistungen [TUNMANN und JANKA, 1955]. Aktuelle Untersuchungen zur spasmolytischen Wirkung am Menschen bei Dysmenorrhoe fehlen [HÄNSEL et al., 1994]. Die Tannine aus *Potentilla anserina* L. sollen zudem für eine antimutagene Wirkung verantwortlich sein [SCHIMMER und LINDENBAUM, 1995].

2.4. Toxizität

Es gibt derzeit keine Angaben zur Toxizität der Droge nach peroraler Aufnahme [HÄNSEL et al., 1994]. In nur einer älteren Arbeit wurde die cardiotoxische Wirkung am Meerschweinchen untersucht. Hier trat nach Infusion von 7-9 ml eines 2- 4 %-igen Extraktes nach 14 bis 18 Minuten der systolische Herztod ein. Auch an Ratten wurde in einzelnen Versuchsreihen das Extrakt geprüft und ebenso ein systolischer Herzstillstand erreicht. Bei Katzen führte erst die 3-4 fache Dosis zum Herzstillstand [RODEWALD, 1950].

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Testextrakte

Die zwei Muster der zu testenden Droge *Potentilla anserina* L. waren unterschiedlicher Herkunft (Tab. 1). Am Department für Pharmakognosie an der Universität Wien wurden von Dr. Sonja Prinz aus diesen Mustern jeweils ein H₂O-Extrakt und ein EtOH 70 %-Extrakt hergestellt.

| | Drogenherkunft | Extrakt- bezeichnung | Droge- Extrakt- Verhältnis | Flavonoid- Gehalt |
|------------------------------|--|-------------------------|----------------------------------|----------------------|
| Anserinae herba 1 | Herba Anserinae DAC Mag. Kottas Heilkräuter (1230 Wien) KLA00546, A106023-001 | 1 H₂O | 5,3 : 1 | 0,69 % |
| | | 1 EtOH 70 % | 9,4 : 1 | 1,56 % |
| Anserinae herba 2 | Herba Anserinae DAC Richter (6330 Kufstein) KL-418515/05, CH: P 102702 | 2 H₂O | 4,7 : 1 | 0,24 % |
| | | 2 EtOH 70 % | 6,0 : 1 | 1,16 % |

Tabelle 1: Drogenherkunft, Bezeichnung der Extrakte, Droge-Extrakt-Verhältnis und Flavonoid-Gehalt der zu untersuchenden Drogenmuster

Um das H₂O-Extrakt zu erhalten, wurden 50 g Droge mit 500 ml Wasser 30 Minuten unter Rückfluss am Wasserbad erhitzt und nach Filtration lyophilisiert. Im Unterschied dazu wurde zur Herstellung des hydro-ethanolischen Extrakts 50 g Droge mit 500 ml Ethanol 70 % 30 Minuten unter Rückfluss am

Wasserbad erhitzt, nach Filtration zur Entfernung des Ethanol unter vermindertem Druck eingengt und danach lyophilisiert. Außerdem wurde hier das Rohextrakt in Wasser suspendiert, zur Entfernung des Chlorophylls mit Petrolether ausgeschüttelt und die Wasserphase lyophilisiert.

Die vier Extrakte wiesen ein unterschiedliches Droge-Extrakt-Verhältnis auf. Zusätzlich wurde der Flavonoidgehalt der Extrakte analog der Methode der Gehaltsbestimmung für Birkenblätter (*Betulae folium*) nach dem Europäischen Arzneibuch bestimmt. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurden die Extrakte des ersten Drogenmusters als 1 H₂O und 1 EtOH 70 % und die Extrakte des zweiten Drogenmusters als 2 H₂O und 2 EtOH 70 % bezeichnet (Tab. 1).

3.2. Versuchstiere

Die Versuchsreihen dieser Diplomarbeit wurden an isolierten Organen männlicher und weiblicher Meerschweinchen durchgeführt, wobei rechter Vorhof, Papillarmuskel, terminales Ileum, thorakale Aorta, Uterus und Arteria pulmonalis verwendet wurden. Die Versuchstiere stammten aus dem Forschungsinstitut für Versuchstierzucht und -haltung und ihr Körpergewicht betrug durchschnittlich 300-600 g. Die Meerschweinchen wurden am Vortag der Versuchsdurchführung, wenn möglich, nüchtern gehalten, um einen konstanten Tonus der glatten Muskulatur am terminalen Ileum im Ruhezustand zu erzielen. Die Meerschweinchen wurden mittels Genickschlag, welcher einen schnellen und schmerzlosen Tod herbeiführt, getötet.

3.3. Isolierung der Versuchsorgane

Unmittelbar nach der Tötung wurde der Bauchraum geöffnet und das Herz rasch entnommen. Im Anschluss wurde der Bauchraum weiter geöffnet und, im Falle eines weiblichen Meerschweinchens, die Uterushörner des y-förmigen Uterus herausgeschnitten. Als Nächstes wurde ein Teil des terminalen Ileums entnommen, wobei das dem Jejunum zugewandte Ende mit einem Bindfaden markiert wurde, um eine Verwechslung der beiden Enden auszuschließen. Zuletzt wurde die thorakale Aorta mittels Schere und Pinzette entlang des Rückgrates entnommen. Alle Organe wurden unmittelbar nach der Entnahme in eine physiologische Nährlösung, die mit Oxymix (95 % O₂, 5 % CO₂) perfundiert wurde, überführt.

3.4. Präparation der Versuchsorgane

Die Meerschweinchenorgane wurden nach der Entnahme in einer mit perfundierter Nährlösung gefüllten Petrischale, die mit Kork ausgelegt war, unter einem Lichtmikroskop (Nikon SMZ-10A Japan) präpariert. Die fertigen

Präparate wurden bis zu Beginn der Versuche in physiologischer Nährlösung aufbewahrt.

3.4.1. Präparation des rechten Vorhofs

Nach Entfernung des Perikards, der anhaftenden Lungenteile und des Fettgewebes wurde der rechte Vorhof von den Ventrikeln abgetrennt. Dabei durfte der Sinusknoten nicht verletzt werden. Danach wurde das Präparat mit zwei Stecknadeln fixiert. Um das Einspannen in die Apparatur zu ermöglichen, wurde jeweils ein Drahhäkchen am weißen Fettgewebe und am gegenüberliegenden rechten Herzohr angebracht und mit einem Faden befestigt.

3.4.2. Präparation der Papillarmuskeln

Um die Papillarmuskeln zu erreichen, musste der rechte Ventrikel von der Arteria pulmonalis entlang des Septums bis zur Herzspitze geöffnet werden. Danach wurden die Purkinjefasern entfernt, da diese durch Spontanaktivität den Versuch negativ beeinflussen könnten. Danach wurde am Papillarmuskel jeweils ein Häkchen angebracht und mit einem Faden befestigt. Dann wurde die Sehne durchtrennt und der Muskel in die Nährlösung überführt.

3.4.3. Präparation der Arteria pulmonalis

Es wurde das vom Herzen wegführende Stück der Pulmonalarterie verwendet, wobei dieses so nahe wie möglich am Herzen abgetrennt wurde. Das Präparat wurde anschließend von Fett- und Muskelgewebe befreit und es wurden 2-3 mm große ringförmige Stücke abgeschnitten, die so später für den Versuch in die Apparatur eingespannt werden konnten.

3.4.4. Präparation der Aorta

Zunächst wurde die Aorta in der mit Nährlösung gefüllten und mit Kork ausgelegten Petrischale mit zwei Stecknadeln fixiert. Dann wurde sie unter dem Mikroskop mittels Federschere von Muskel- und Fettgewebe befreit. Schließlich wurden auch hier 2-3 mm große ringförmige Stücke abgeschnitten, die so später in die Apparatur eingehängt werden konnten.

3.4.5. Präparation des Uterus

Von dem y-förmigen Uterus wurden nur die Uterushörner herausgeschnitten und unter einem Lichtmikroskop weiter präpariert. Zunächst wurde ein zirka 1 cm großes Stück leicht schräg abgeschnitten und mit Stecknadeln fixiert. Die Drahthäkchen wurden anschließend, aufgrund der starken Eigenkontraktion, an beiden Enden durch das Organ durchgestochen und mit einem Faden befestigt. Die Uterusröhre durfte dabei allerdings nicht zugebunden werden, damit das Organ für die Extrakte durchlässig blieb.

3.4.6. Präparation des terminalen Ileums

Zunächst wurde vom Ende des Darms ein etwa 1-2 cm großes Stück leicht schräg abgeschnitten und mit zwei Stecknadeln fixiert. Danach musste das Darmstück mit Nährlösung mittels Pasteurpipette durchgespült werden, um dieses von möglicherweise vorhandenem Chymus zu reinigen, wobei darauf geachtet werden musste, das Präparat nicht zu dehnen oder zu verletzen. Außerdem wurde überschüssiges Fettgewebe mit einer Federschere weggeschnitten. Im Anschluss wurde an den Enden jeweils ein Häkchen mit Hilfe eines Fadens befestigt. Am oberen Ende wurde ein roter und am unteren Ende ein schwarzer Faden verwendet, um eine Verwechslung der beiden Enden später beim Einspannen des Präparats in die Apparatur zu verhindern. Für die Durchlässigkeit der Extrakte musste wieder darauf geachtet werden, die Darmenden offen zu halten.

3.5. Physiologische Nährlösungen

Die physiologische Nährlösung entspricht einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung und wurde täglich nach der in Tabelle 2 angeführten Vorschrift von Reiter (1976) hergestellt.

3.5.1. Physiologische Nährlösung für die Organe rechter Vorhof, Papillarmuskel, thorakale Aorta, terminales Ileum und Arteria pulmonalis

Die physiologische Nährlösung für die oben erwähnten Organe wurde täglich nach dem in Tabelle 2 angeführten Schema hergestellt. Die entsprechenden Mengen der Stocklösungen, abgesehen von CaCl_2 , wurden dafür in einen Messkolben gefüllt und mit Aqua bidestillata auf etwa $\frac{3}{4}$ des gewünschten Volumens aufgefüllt. Vor Zugabe des CaCl_2 wurde die Lösung mit Oxymix, einer Mischung aus 95 % O_2 und 5 % CO_2 , 20 Minuten begast. Dann erfolgte die Zugabe der CaCl_2 -Lösung, die tropfenweise erfolgen musste, um eine Ausfällung des Calciumsalzes zu verhindern. Im Anschluss wurde mit Aqua bidestillata auf das gewünschte Volumen aufgefüllt.

| Komponenten | Stocklösung | ml Stocklösung / l Nährlösung | mmol/l |
|--------------------------|------------------|-------------------------------|--------|
| NaCl | 1000,25 g / 5l | 33,60 | 114,90 |
| KCl | 50,33 g / 5l | 35 | 4,73 |
| NaHCO_3 | 125,00 g / 5l | 83,70 | 24,90 |
| CaCl_2 | 147,02 g / 5l | 3,20 | 3,29 |
| MgSO_4 | 62,00 g / 250 ml | 1,18 | 1,18 |
| KH_2PO_4 | 34,00 g / 250 ml | 1,18 | 1,18 |
| Glucose | Reinsubstanz | 1,98 g | 10,00 |

Tabelle 2: Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung für Vorhof, Papillarmuskel, Aorta, terminales Ileum und Arteria pulmonalis

3.5.2. Physiologische Nährlösung für den Uterus

Die Nährlösung für den Uterus unterschied sich in der Zusammensetzung von der Nährlösung der anderen Organe. Sie wurde nach dem in Tabelle 3 angeführten Schema, wie in Kapitel 3.4.1. beschrieben, hergestellt. Hier war eine Begasung mit Oxymix von etwa fünf Minuten ausreichend.

| Komponenten | Stocklösung | ml Stocklösung / l Nährlösung | mmol/l |
|--------------------|----------------|-------------------------------|--------|
| NaCl | 1000,25 g / 5l | 45,03 | 154 |
| KCl | 50,33 g / 5l | 41,44 | 5,60 |
| NaHCO ₃ | 125,00 g / 5l | 3,36 | 5,95 |
| CaCl ₂ | 147,02 g / 5l | 0,4 | 2,50 |
| Glucose | Reinsubstanz | 0,5 g | 0,40 |

Tabelle 3: Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung für Uterus

3.6. Nährlösung zur Vorkontraktion

3.6.1. Nährlösung zur Vorkontraktion von terminalem Ileum

Es wurde, wenn benötigt, täglich eine 60 mmolare kaliumchloridhaltige Nährlösung frisch hergestellt. Hierfür wurden zunächst 0,45 g KCl in einen 100 ml Messkolben eingewogen, mit der physiologischen Nährlösung für terminales Ileum bis zur Marke aufgefüllt und geschüttelt.

3.6.2. Nährlösung zur Vorkontraktion von Aorta und Arteria pulmonalis

Für Aorta und Arteria pulmonalis wurde für die Vorkontraktion eine 90 mmolare kaliumchloridhaltige Nährlösung benötigt, die ebenfalls täglich frisch zubereitet wurde. Es wurden 0,67 g KCl in einen 100 ml Messkolben eingewogen, mit der physiologischen Nährlösung für Aorta und Arteria pulmonalis aufgefüllt und geschüttelt.

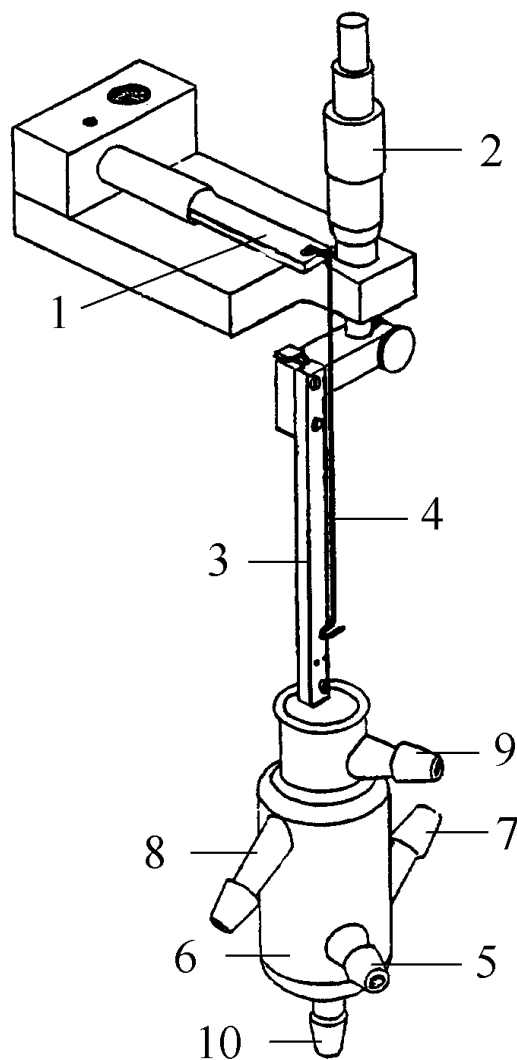
3.7. Lösungsmittel

Die H₂O-Extrakte konnten in Wasser und physiologischer Nährlösung gelöst werden, doch für die hydro-ethanolischen Extrakte wurden vor Durchführung der Versuche Lösungsmittel verwendet. Dazu wurde eine Mischung aus Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1 hergestellt. Tween wird eine Handelsmarke der ICI America, Inc, genannt, wobei Tween 80 für Polyethoxysorbitanoleat steht. Diese ölige Flüssigkeit besitzt sehr gute physiologische und toxikologische Eigenschaften und ist aufgrund ihrer hohen Hydrophilie in Wasser löslich bzw. dispergierbar [FALBE und REGITZ, 1999].

Da Lösungsmittel, insbesondere Methanol, die Versuche beeinflussen könnte, wurde die Wirkung in separaten Versuchen getestet. Entsprechend der Versuchsreihen mit den EtOH 70 %-Extrakten wurden für einen Versuch 90 µl Lösungsmittel verwendet. Die Ergebnisse der Lösungsmittelversuche wurden später in der Auswertung berücksichtigt.

3.8. Versuchsaapparatur

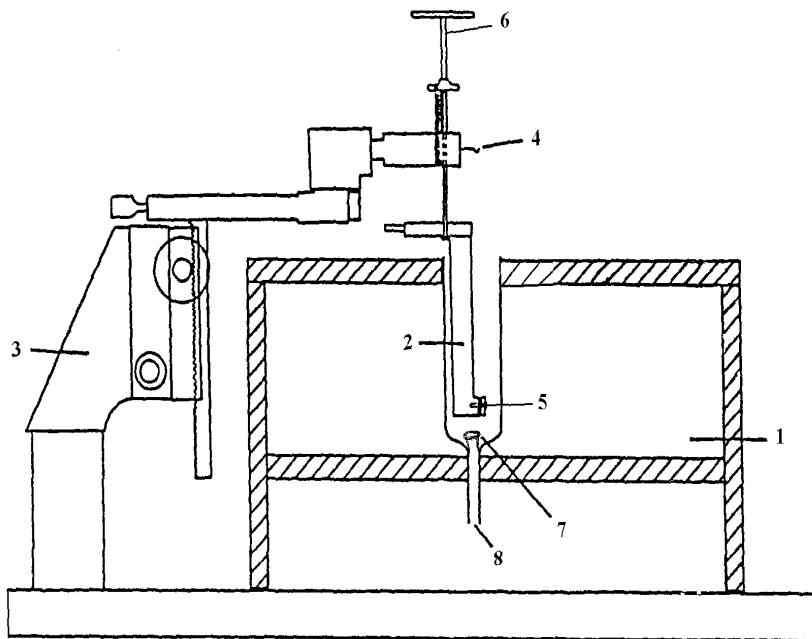
Im Anschluss folgt eine Erklärung der Versuchsaapparatur, mit der die Versuchsreihen für diese Diplomarbeit durchgeführt wurden. Zum besseren Verständnis folgen zwei Abbildungen des schematischen Aufbaus zweier Apparaturen, die sich geringfügig voneinander unterscheiden.



Legende zu Abbildung 1:

1. Kraftwandler
2. Mikrometer
3. Organhalterung
4. Aufhängevorrichtung
5. Gaszufuhr
6. Organbad
7. Zulauf Wasserbad
8. Ablauf Wasserbad
9. Zulauf Nährlösung
10. Ablauf Nährlösung

Abbildung 1: Schematischer Aufbau der Versuchsaapparatur



Legende zu Abbildung 2:

1. Wasserbad
2. Organhalterung
3. Stativ
4. Aufhängevorrichtung Organ
5. Fixierung mit Elektrode
6. Feintrieb für Vorspannung
7. Muskelkammer
8. Gaszufuhr mit Fritte und Abfluss

Abbildung 2: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung in der Seitenansicht

Die Versuchsapparaturen, die in den Abbildungen 1 und 2 schematisch dargestellt sind, dienten der Messung der Kontraktionskraft elektrisch gereizter Papillarmuskeln (ausschließlich Abb. 2) und der Frequenz spontan schlagender rechter Vorhöfe sowie der Messung der Kontraktionskraft isolierter Stücke der Organe terminales Ileum, Aorta und Arteria pulmonalis.

Um die physiologischen Bedingungen zu imitieren, beinhaltete die Apparatur ein Wasserbad (Abb. 2 (1)), mit dem die Temperaturen mittels Thermostats konstant auf $35 \pm 1^\circ\text{C}$ bei den Herzpräparaten und auf $37 \pm 1^\circ\text{C}$ bei den anderen Organen gehalten wurden. Bei der Art der Apparatur, die für die Herzorgane verwendet wurde, wurde das mit 25 ml physiologischer Nährlösung befüllte runde Gefäß, das als Organbad (Abb. 2 (7)) diente, in das beheizte Wasserbad getaucht. Bei der in Abbildung 1 abgebildeten Apparatur wurde das erwärmte Wasser über einen Zulauf (Abb. 1 (7)) in die Gefäßwand des Organbades (Abb. 1 (6)) eingeleitet und nicht direkt in das Wasserbad getaucht. Auch hier wurde das Organbad wieder mit Nährlösung befüllt, wobei die Volumina je nach Größe des Gefäßes 25 bzw. 8 ml betragen.

Um den physiologischen pH-Wert aufrecht zu erhalten und um die Sauerstoffversorgung zu gewährleisten, wurde die physiologische Nährlösung im Organbad während des gesamten Versuches über eine Gaszufuhr durch eine Fritte (Abb. 1 (5), Abb. 2 (8)) mit Oxymix durchperlt.

Ein Silberdraht (Abb. 1 (4)), an dem die Präparate Vorhof, Ileum und Uterus mit dem bei der Präparation angebrachten Häkchen befestigt wurden, diente als Verbindung zum Kraftwandler (Abb. 1 (1)). Das untere Ende des Organs wurde mit dem zweiten Häkchen in einen an der Organhalterung (Abb. 1 (3)) befestigten Draht eingehängt. Die Organe Aorta und Arteria pulmonalis wurden direkt zwischen zwei Silberdrähten eingespannt. Der Papillarmuskel wurde bloß an der Oberseite mit dem Häkchen am Draht befestigt und mit dem unteren freien Ende zwischen zwei Plexiglasstücken in die Organhalterung

eingeklemmt, um auf einer Platin-Kathode aufzuliegen. Bei allen Organen musste darauf geachtet werden, dass es zu keiner Überdehnung kam.

Nach Befestigung des Präparates, welche rasch erfolgen musste, um keine Mangelversorgung der Organe zu riskieren, wurde die Organhalterung in das Organbad abgesenkt, bis das gesamte Präparat vollständig von Nährlösung bedeckt war.

Zur Entwicklung der maximalen Kontraktionskraft wurde mit Hilfe des Feintriebess (Abb. 1 (2), Abb. 2 (6)) die nötige Vorspannung geregelt, um eine optimale Kraftentwicklung zu gewährleisten. Die Werte für diese Vorspannung waren für jedes Organ empirisch festgelegt worden (Tab. 4).

| Organ | Vorspannung (mN) |
|------------------|------------------|
| rechter Vorhof | 10,4 |
| Papillarmuskel | 3,9 |
| thorakale Aorta | 19,6 |
| Pulmonalis | 9,81 |
| terminales Ileum | 4,9 |
| Uterus | 4,9 |

Tabelle 4: Empirisch ermittelte Werte für die Vorspannung

Das Prinzip dieser Versuche beruht auf der Umwandlung der Kontraktionskraft, welche einen mechanischen Vorgang darstellt, in eine elektrische Größe mit Hilfe eines Kraftwandlers oder „Transducers“. Ein Kraftwandler und ein Verstärker Transbridge TM 4-Channel Transducer Amplifier (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) wurden zur Messung der isometrischen Kontraktion eingesetzt. Die Ergebnisse wurden mit einem Schreiber Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel (Firma Kipp & Zonen, Niederlande) (Abb. 3) aufgezeichnet.

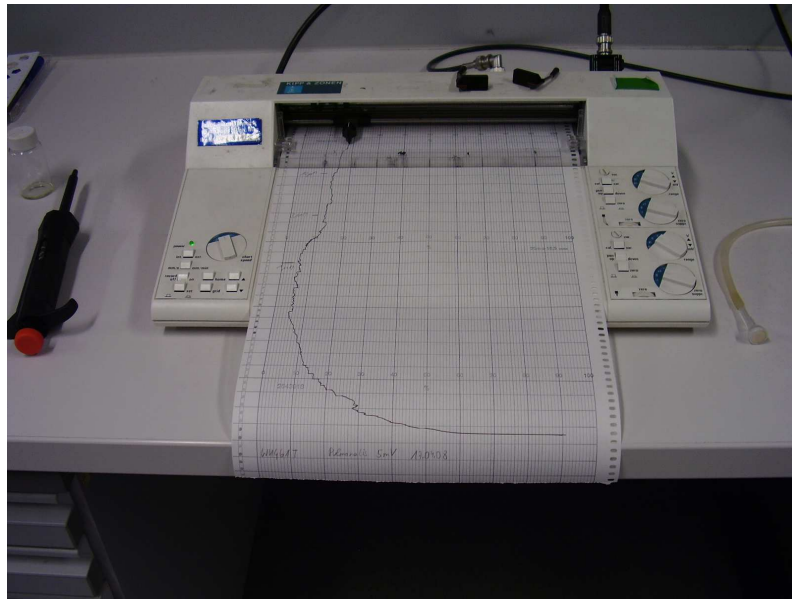


Abbildung 3: Originalabbildung eines Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel (Firma Kipp & Zonen, Niederlande)

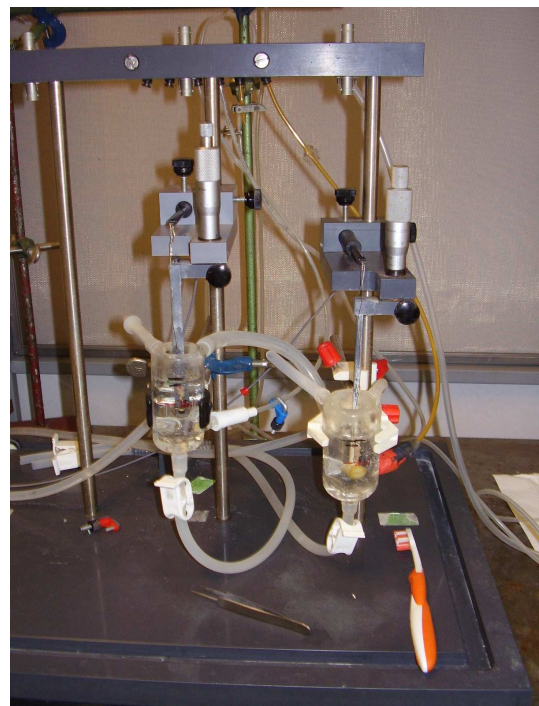
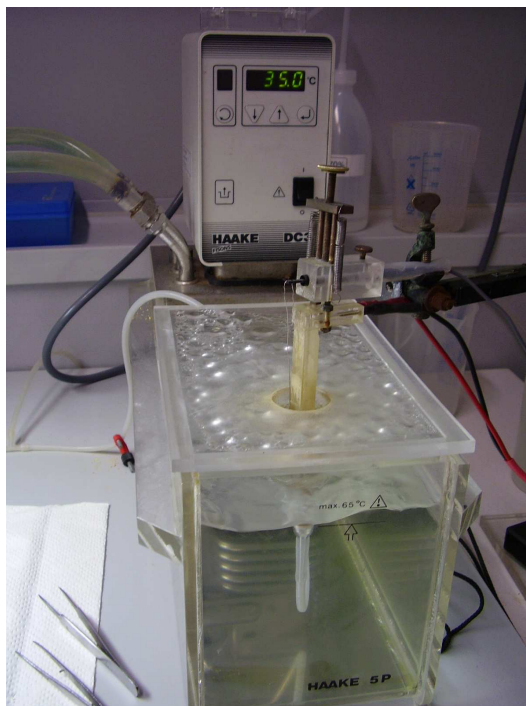


Abbildung 4: Originalabbildungen der Versuchsaapparaturen

3.9. Versuchsablauf

Nach Isolierung und Präparation wurden die Organe wie oben beschrieben in die Versuchsapparatur eingespannt und in das mit Nährlösung befüllte und mit Oxymix perfundierte Organbad eingesenkt, sodass das Präparat vollständig mit der Lösung bedeckt war. Mittels Feintrieb wurde je nach Versuchspräparat eine Vorspannung nach den in Tabelle 4 aufgezeigten Werten angelegt.

Bei terminalem Ileum, Aorta und Arteria pulmonalis wurde während einer 20 minütigen Anpassungsphase mit Hilfe des Feintriebs immer wieder auf die definierte Nulllinie nachjustiert. Nach Ablauf dieser Zeit wurde mit der Aufzeichnung der Nulllinie begonnen und gegebenenfalls nachgespannt. Im Anschluss wurde mit einer in Kapitel 3.5. beschriebenen 60 bzw. 90 mmolaren kaliumchloridhaltigen Nährlösung vorkontrahiert, indem die im Organbad befindliche Nährlösung durch einen Schlauch abgelassen wurde und dieselbe Menge an 60 bzw. 90 mmolarer kaliumchloridhaltiger Nährlösung hinzugefügt wurde. Nach etwa 40 bis 90 Minuten wurde ein Plateau erreicht, welches der maximalen Kontraktion von 100 % entsprach. Dieser Wert wurde später in der Auswertung als Kontrollwert herangezogen.

Mit den Organen Aorta und Arteria pulmonalis wurden außerdem Versuche ohne Vorkontraktion durchgeführt. Hier wurde nach einer Anpassungsphase von 20 Minuten auf die definierte Nulllinie nachjustiert, aufgezeichnet und direkt im Anschluss mit der Extraktzugabe begonnen.

Beim spontan schlagenden rechten Vorhof wurden nach einer Anpassungsphase von etwa 20 Minuten Kontrollwerte aufgezeichnet, indem alle 5 Minuten die Schlagfrequenz gemessen wurde, bis eine Konstanz erreicht wurde, welche meist nach 45 Minuten eintraf. Um die Vorspannung konstant zu halten, wurde während des Versuches mittels Feintrieb nachreguliert.

Der Papillarmuskel schlug nicht, wie der Vorhof, spontan, sondern wurde durch elektrische Reizung kontrahiert. Dies erfolgte mit Hilfe des Reizgerätes Accupulser A310- Akkumulator Stimulus Isolator A360 (World Precision Instruments, Hamden, FL, USA) über Silber-Silberchloridelektroden. Während des Versuchs wurde wiederholt nachjustiert, um eine Abnahme der Kontraktionskraft durch Verringerung der Ausgangsspannung zu verhindern. Nach einer Anpassungszeit von ca. 10 Minuten wurde mit Rechteckimpulsen von 3 ms Dauer gereizt. Die Frequenz lag bei 1 Hz, wobei die Reizstromstärke bei 10 % über der muskelabhängigen Reizschwelle liegen sollte, denn darüber hätte möglicherweise eine Entleerung der Katecholaminspeicher stattgefunden. Die Reizstromstärke sollte allerdings auch nicht zu knapp über der Reizschwelle liegen, da jede Sekunde eine Kontraktion ausgelöst werden sollte. Die Reizschwelle sollte während der gesamten Versuchsdauer überprüft werden, um gegebenenfalls die Reizstromstärke anzupassen. Während einer 45-minütigen Kontrollphase wurden alle 5 Minuten 4 bis 5 Amplituden der Kontraktion aufgezeichnet und abgemessen, bis eine konstante Amplitudenhöhe erreicht wurde.

Beim Uterus wurde die Aufzeichnung der Kontrolle nach einer Anpassungsphase von 45 Minuten, in der wieder auf die Nulllinie nachgespannt wurde, begonnen. Die Kontrollphase dauerte jeweils 30 Minuten, wobei sich hier Spontankontraktionen zeigen mussten.

Nach der jeweiligen Anpassungs- und Kontrollphase konnte mit der kumulativen Zugabe der Extrakte nach dem in Tabelle 5 angeführten Schema begonnen werden. Für einen Versuch mit einem 25 ml Organbad wurden 1,3 mg Extrakt eingewogen und in insgesamt 300 µl Flüssigkeit gelöst, wobei für die H₂O-Extrakte jeweils 100 µl Aqua bidestillata und 200 µl Nährlösung und für die EtOH 70 %-Extrakte 90 µl Lösungsmittel und 210 µl Nährlösung verwendet wurden. Daraus ergaben sich die entsprechenden Konzentrationen, die in der Auswertung in mg Extrakt/l Nährlösung angegeben werden.

| Menge der gelösten Extrakte | Konzentration der gelösten Extrakte |
|-----------------------------|-------------------------------------|
| 3 μ l | 0,52 mg/l |
| 6 μ l | 1,56 mg/l |
| 21 μ l | 5,2 mg/l |
| 60 μ l | 15,6 mg/l |
| 210 μ l | 52 mg/l |

Tabelle 5: Menge und Konzentration für die kumulative Zugabe der gelösten Extrakte

Die Zugabe der gelösten Extrakte erfolgte mit Hilfe einer Kolbenhubpipette wobei mit der kleinsten Konzentration begonnen wurde, die im Abstand von 45 Minuten erhöht wurde. Für die Auswertung der Versuche war es nötig, die Zugabe der entsprechenden Konzentration auf der Aufzeichnung unmittelbar neben der Kontraktionskurve zu markieren.

3.10. Auswertung der Versuche

Bei Aorta, terminalem Ileum und Arteria pulmonalis wurde die Auswertung wie folgt vorgenommen. Mit einem Lineal wurde zuerst der Abstand zwischen definierter Nulllinie und Plateau der maximalen Konzentration, welches dem Kontrollwert entsprach, in cm gemessen. Anschließend wurden alle Abstände zwischen Nulllinie und markierten Punkten, an denen die Extraktzugabe erfolgte, ebenfalls abgemessen. Um die Werte in mN zu erhalten, wurden die gemessenen cm mit 0,98, dem Faktor, der bei der Kalibration des Kraftwandlers erhoben wurde, multipliziert.

Bei den Versuchen mit dem Papillarmuskel wurde die Kontraktionskraft ermittelt. Die aufgezeichnete Amplitude wurde in cm abgemessen und wieder in mN umgerechnet, indem mit dem Kalibrationsfaktor multipliziert wurde.

Um bei dem rechten Vorhof die Spontanfrequenz zu ermitteln, wurden mit dem Schreiber die Schläge während eines Zeitraums von 12 Sekunden aufgezeichnet. Um die Anzahl der Schläge pro Minute zu erhalten, wurden die abgezählten Impulse mit dem Faktor 5 multipliziert.

Bei der Auswertung der Versuche des Uterus wurde jeder Peak, von der definierten Nulllinie ausgehend, in cm gemessen und mit dem Kalibrationsfaktor 0,98 multipliziert, um das Ergebnis in mN zu erhalten. Die prozentuelle Zu- oder Abnahme der Kontraktionskraft wurde berechnet, indem die Messdaten auf einen Kontrollwert bezogen wurden. Als Kontrollwert wurde der Mittelwert der Werte, die in der Kontrollphase ermittelt wurden, herangezogen.

Ausgehend vom Kontrollwert, der 100 % entsprach, wurden die Relationen der einzelnen Konzentrationen in Prozent ermittelt.

Die Wirkungen des verwendeten Lösungsmittels, die in separaten Versuchen ermittelt wurden, wurden nach Ermittlung der Messdaten ebenfalls miteinbezogen.

3.11. Statistik

Aus einer Anzahl von „n“ Versuchen wurden im Anschluss mit dem Programm SigmaPlot aus den Messdaten arithmetische Mittelwerte inklusive der jeweiligen Standardfehler (SEM) ermittelt. Mittels Paired t-Test wurde die Signifikanz der Ergebnisse jeder Konzentration geprüft, wobei die Messwerte in mN herangezogen wurden. Als signifikant wurden Messwerte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $< 5\%$ ($p < 0,05$) bzw. $< 1\%$ ($p < 0,01$) eingestuft und als hochsignifikant galten Werte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $< 0,1\%$ ($p < 0,001$). Danach wurden Diagramme im MS Excel 2003 erstellt.

4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Im Anschluss werden die Ergebnisse der Versuche an den isolierten, vorkontrahierten Meerschweinchenorganen beschrieben. Zu Beginn wird die Auswirkung des Lösungsmittels auf die Präparate gezeigt. Danach werden die Ergebnisse jedes Organs tabellarisch dargestellt. Hier wurden die arithmetischen Mittelwerte der gemessenen Kontraktionskraft (F_c) in mN bzw. beim rechten Vorhof die Schlagfrequenz (F) in Schläge/min sowie der prozentuelle Anteil des Kontrollwertes mit den jeweiligen Standardfehlern (SEM) angegeben. Ebenso in der Tabelle angeführt wurde die Anzahl der Versuche (n).

Danach werden anhand von Balkendiagrammen die Ergebnisse beschrieben, wobei jeweils zwei Extrakte miteinander verglichen werden. Auf die Ordinate wurde die Kontraktionskraft in mN bzw. die Schläge/min beim rechten Vorhof aufgetragen und auf der Abszisse wurden die Konzentrationen in mg Extrakt/l Nährlösung angegeben. Die Mittelwerte der gemessenen Kontraktionen bzw. die Schläge pro Minute beim spontan schlagenden Vorhof wurden als Balken und deren Standardfehler als strichförmige Verlängerung dargestellt. Signifikanz und Auffälligkeiten werden ebenso erwähnt.

Es wurde außerdem für jedes Präparat eine Originalaufzeichnung der Wirkung eines Extrakts hinzugefügt. Ein Pfeil markiert den Zeitpunkt der Extraktzugabe in der angegebenen Konzentration.

4.1. Lösungsmittel

Die H₂O-Extrakte wurden in 100 µl Aqua bidestillata und 200 µl physiologischer Nährlösung gelöst. Die hydro-ethanolischen Extrakte waren allerdings weder in Wasser noch in Nährlösung löslich. Daher wurde eine Mischung aus Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1 als Lösungsmittel eingesetzt. Die Wirkung dieses Lösungsmittels auf die Präparate wurde in separaten Versuchen ermittelt. Entsprechend der Versuchsreihen mit den EtOH 70 %-Extrakten wurden für einen Lösungsmittelversuch mit einem 25 ml Organbad 90 µl Lösungsmittel verwendet. Hieraus ergaben sich die Konzentrationen, die im Folgenden in µl Lösungsmittel/100 ml Nährlösung angegeben werden.

Diese Versuchsreihen zeigten an der Arteria pulmonalis, am rechten Vorhof sowie am Uterus keine Veränderung und wurden daher bei den späteren Berechnungen nicht berücksichtigt. Da die Lösungsmittelversuche bei den Organen terminales Ileum, thorakale Aorta und Papillarmuskel eine Abnahme der Kontraktionskraft zeigten, wurde der Mittelwert berechnet und bei der Auswertung der einzelnen Organe berücksichtigt (Tab. 6-8).

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-----------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| Kontrolle | 8,330 +/- 2,254 | 100,00 +/- 0 | 2 |
| 36,0 µl/100 ml | 8,379 +/- 2,303 | 100,47 +/- 0,47 | |
| 72,0 µl/100 ml | 8,036 +/- 2,254 | 96,19 +/- 1,03 | |
| 252,0 µl/100 ml | 7,742 +/- 2,352 | 92,04 +/- 3,33 | |

Tabelle 6: Wirkungen des Lösungsmittels (Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1) auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Aorta

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-----------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| Kontrolle | 9,833 +/- 1,915 | 100 +/- 0 | 3 |
| 36,0 µl/100 ml | 8,624 +/- 1,676 | 87,96 +/- 2,24 | |
| 72,0 µl/100 ml | 7,350 +/- 0,871 | 77,59 +/- 7,34 | |
| 252,0 µl/100 ml | 4,933 +/- 0,377 | 53,31 +/- 8,12 | |

Tabelle 7: Wirkungen des Lösungsmittels (Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1) auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-----------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| Kontrolle | 1,2544 +/- 0,4677 | 100 +/- 0 | 4 |
| 3,6 µl/100 ml | 1,0715 +/- 0,3552 | 88,81 +/- 5,6514 | |
| 7,2 µl/100 ml | 1,0192 +/- 0,3642 | 82,46 +/- 2,1163 | |
| 25,2 µl/100 ml | 0,8897 +/- 0,3035 | 73,71 +/- 6,5663 | |
| 72,0 µl/100 ml | 0,8624 +/- 0,3144 | 71,15 +/- 8,4219 | |
| 252,0 µl/100 ml | 0,7579 +/- 0,27 | 65,21 +/- 14,9571 | |

Tabelle 8: Wirkungen des Lösungsmittels (Methanol und Tween 80 im Verhältnis 2:1) auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels

Das Lösungsmittel bewirkte außerdem, speziell beim terminalen Ileum und bei der Aorta, verstärkte, spontane Kontraktionen und löste bei zwei von drei Versuchen mit dem Papillarmuskel leichte Arrhythmien aus. Auch diese Effekte wurden in der Auswertung berücksichtigt.

4.2. thorakale Aorta

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| 1 H₂O | | | |
| Kontrolle | 6,762 +/- 0,098 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 6,811 +/- 0,147 | 100,72 +/- 0,72 | |
| 1,56 mg/l | 6,664 +/- 0,980 | 98,55 +/- 0,02 | |
| 5,20 mg/l | 6,468 +/- 0,196 | 95,63 +/- 1,51 | |
| 15,60 mg/l | 6,223 +/- 0,147 | 92,02 +/- 0,84 | |
| 52,00 mg/l | 5,929 +/- 0,147 | 87,67 +/- 0,91 | |
| 1 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 12,814 +/- 0,098 | 100 +/- 0 | 4 |
| 0,52 mg/l | 13,059 +/- 0,147 | 100,97 +/- 0,72 | |
| 1,56 mg/l | 12,912 +/- 0,980 | 99,35 +/- 0,02 | |
| 5,20 mg/l | 13,046 +/- 0,196 | 99,45 +/- 1,51 | |
| 15,60 mg/l | 13,594 +/- 0,147 | 105,05 +/- 0,84 | |
| 52,00 mg/l | 14,005 +/- 0,147 | 107,34 +/- 0,91 | |
| 2 H₂O | | | |
| Kontrolle | 13,573 +/- 3,871 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 13,083 +/- 4,361 | 94,95 +/- 5,05 | |
| 1,56 mg/l | 12,887 +/- 4,949 | 92,04 +/- 10,22 | |
| 5,20 mg/l | 12,593 +/- 5,047 | 89,45 +/- 11,67 | |
| 15,60 mg/l | 12,250 +/- 4,998 | 86,82 +/- 12,07 | |
| 52,00 mg/l | 12,103 +/- 4,949 | 85,75 +/- 12,01 | |
| 2 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 10,094 +/- 0,588 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 10,633 +/- 0,147 | 105,62 +/- 4,70 | |
| 1,56 mg/l | 9,947 +/- 0,539 | 98,57 +/- 0,40 | |
| 5,20 mg/l | 9,553 +/- 0,689 | 94,57 +/- 1,32 | |
| 15,60 mg/l | 10,038 +/- 0,170 | 99,68 +/- 4,13 | |
| 52,00 mg/l | 9,918 +/- 0,537 | 98,28 +/- 0,41 | |

Tabelle 9: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta

Bei beiden H₂O-Extrakten war bei den Versuchen an der vorkontrahierten thorakalen Aorta eine leicht stärkere Abnahme der Kontraktionskraft sichtbar als bei den EtOH 70 %-Extrakten. Die Kontraktionskraft verringerte sich bei dem Extrakt 1 H₂O konstant und lag bei der höchsten Konzentration bei durchschnittlich 87,67 % des Kontrollwertes. Hier zeigte sich bei den Konzentrationen 1,56 mg/l und 5,2 mg/l statistische Signifikanz laut Paired t-Test. Die stärkere Wirkung wurde allerdings bei dem Extrakt 2 H₂O registriert. Hier wurde am Ende der Versuche eine durchschnittliche Abnahme von 14,26 % gemessen (Abb. 5).

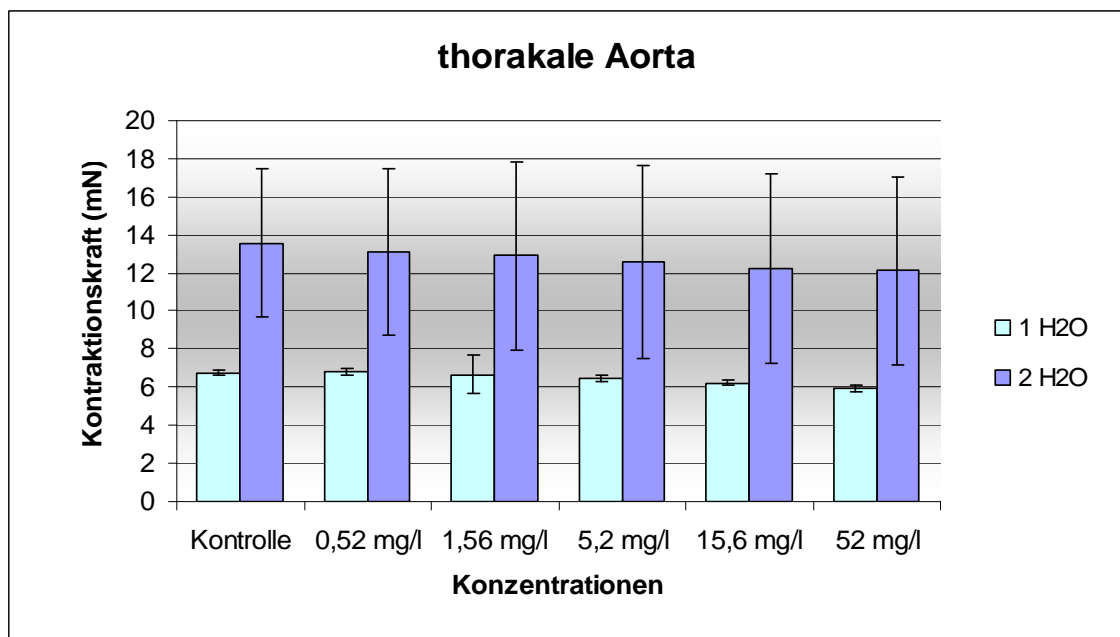


Abbildung 5: Graphische Darstellung der Wirkung der H₂O-Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta

Die beiden EtOH 70 %-Extrakte zeigten nach Berücksichtigung des verwendeten Lösungsmittels kaum Wirkung auf die Kontraktionskraft der Aorta. Die Lösungsmittelversuche wurden mit einer Konzentration von 36 μ l/100 ml begonnen. Dies entsprach bei den Versuchen mit den Extrakten einer Konzentration von 5,2 mg/l. Das könnte den leichten Anstieg der Kurve, die in den Ergebnissen ab dieser Konzentration ersichtlich war, erklären (Abb. 6). Außerdem wurden bei manchen Versuchen mit dem Extrakt 1 EtOH 70 % verstärkte spontane Kontraktionen gemessen. Allerdings wurde dies nicht bei allen Versuchen festgestellt und könnte auch durch das Lösungsmittel ausgelöst worden sein, da dieser Effekt auch bei einem Lösungsmittelversuch auftrat.

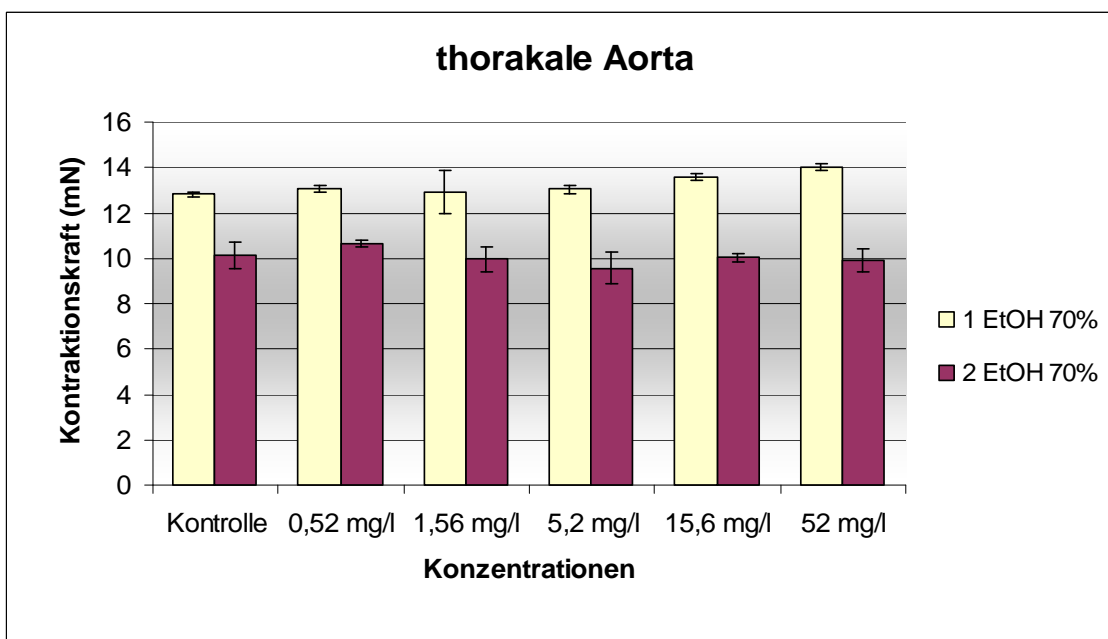


Abbildung 6: Graphische Darstellung der Wirkung der EtOH 70 %-Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta

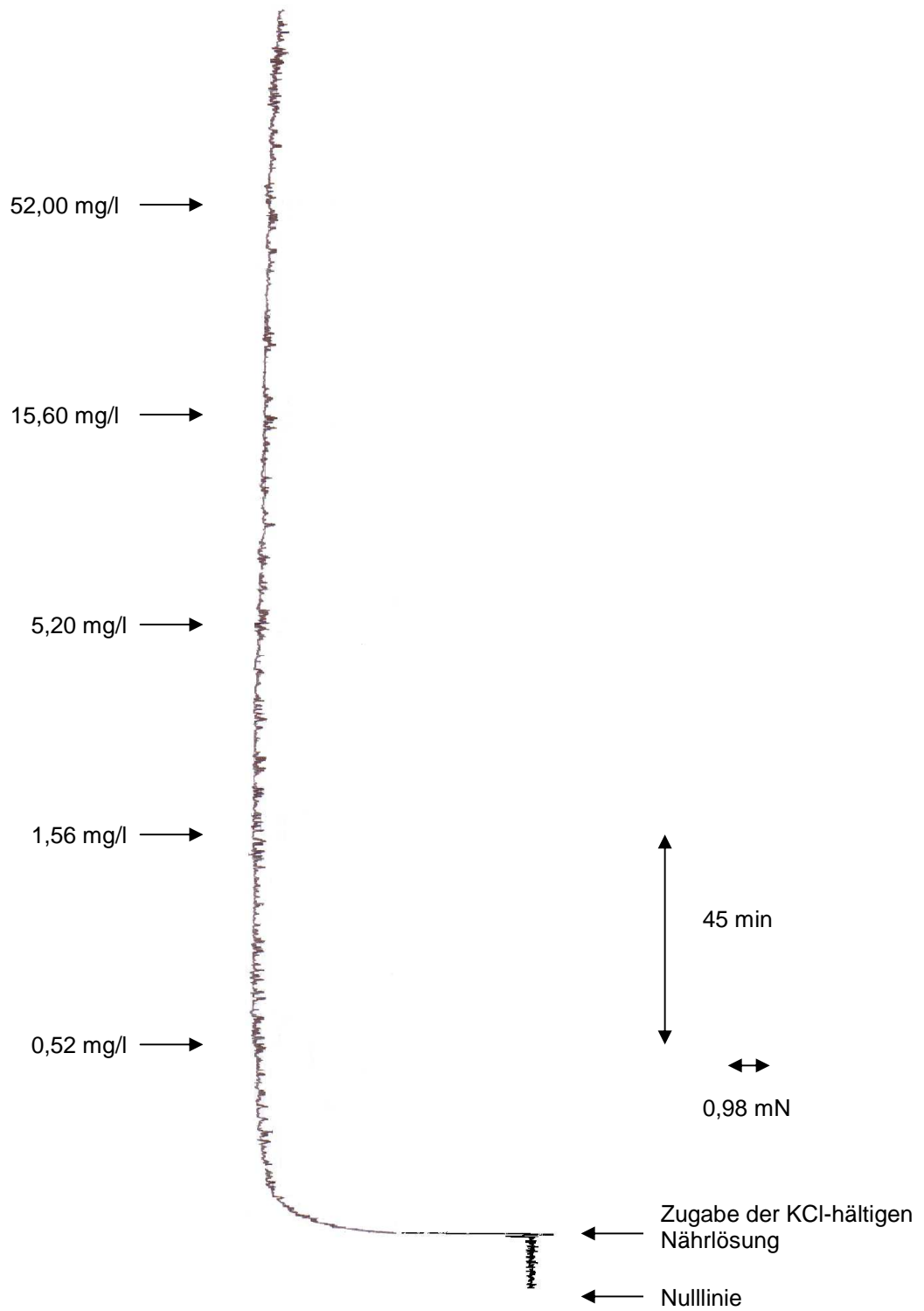


Abbildung 7: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 H₂O auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten thorakalen Aorta

4.3. terminales Ileum

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|
| 1 H₂O | | | |
| Kontrolle | 11,009 +/- 1,605 | 100 +/- 0 | 3 |
| 0,52 mg/l | 10,388 +/- 1,690 | 93,94 +/- 2,30 | |
| 1,56 mg/l | 9,9307 +/- 1,759 | 89,46 +/- 2,73 | |
| 5,20 mg/l | 9,506 +/- 1,700 | 85,61 +/- 3,52 | |
| 15,60 mg/l | 8,9833 +/- 1,586 | 80,97 +/- 3,79 | |
| 52,00 mg/l | 8,5587 +/- 1,514 | 77,16 +/- 4,01 | |
| 1 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 14,487 +/- 1,923 | 100 +/- 0 | 4 |
| 0,52 mg/l | 14,602 +/- 1,973 | 98,23 +/- 2,14 | |
| 1,56 mg/l | 13,426 +/- 2,161 | 89,34 +/- 4,19 | |
| 5,20 mg/l | 13,792 +/- 2,653 | 90,7 +/- 7,156 | |
| 15,60 mg/l | 12,7845 +/- 3,453 | 81,66 +/- 13,81 | |
| 52,00 mg/l | 12,9345 +/- 4,426 | 80,16 +/- 19,37 | |
| 2 H₂O | | | |
| Kontrolle | 15,582 +/- 3,234 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 14,406 +/- 2,646 | 92,94 +/- 2,31 | |
| 1,56 mg/l | 13,279 +/- 2,009 | 86,26 +/- 5,01 | |
| 5,20 mg/l | 12,054 +/- 1,666 | 78,53 +/- 5,61 | |
| 15,60 mg/l | 11,074 +/- 1,274 | 72,5 +/- 6,87 | |
| 52,00 mg/l | 9,898 +/- 0,882 | 65,155 +/- 7,87 | |
| 2 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 14,733 +/- 1,605 | 100 +/- 0 | 3 |
| 0,52 mg/l | 13,589 +/- 1,690 | 92,14 +/- 2,30 | |
| 1,56 mg/l | 12,348 +/- 1,759 | 83,48 +/- 2,73 | |
| 5,20 mg/l | 12,750 +/- 1,700 | 86,10 +/- 3,52 | |
| 15,60 mg/l | 13,333 +/- 1,586 | 90,08 +/- 3,79 | |
| 52,00 mg/l | 14,460 +/- 1,514 | 97,60 +/- 4,01 | |

Tabelle 10: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums

Wie auch bei der Aorta erreichten beide H₂O-Extrakte eine stärkere Abnahme der Kontraktionskraft des terminalen Ileums als die EtOH 70 %-Extrakte, wobei sich die Ergebnisse der beiden Extrakte des ersten Drogenmusters kaum unterschieden. Beide verzeichnen bei einer Konzentration von 52 mg/l eine Abnahme von rund 20 %. Nur die Ergebnisse des Extrakts 1 H₂O zeigen laut Paired t-Test ab einer Konzentration von 1,56 mg/l statistische Signifikanz. Die Irrtumswahrscheinlichkeit lag bei unter 5 % (Abb. 8).

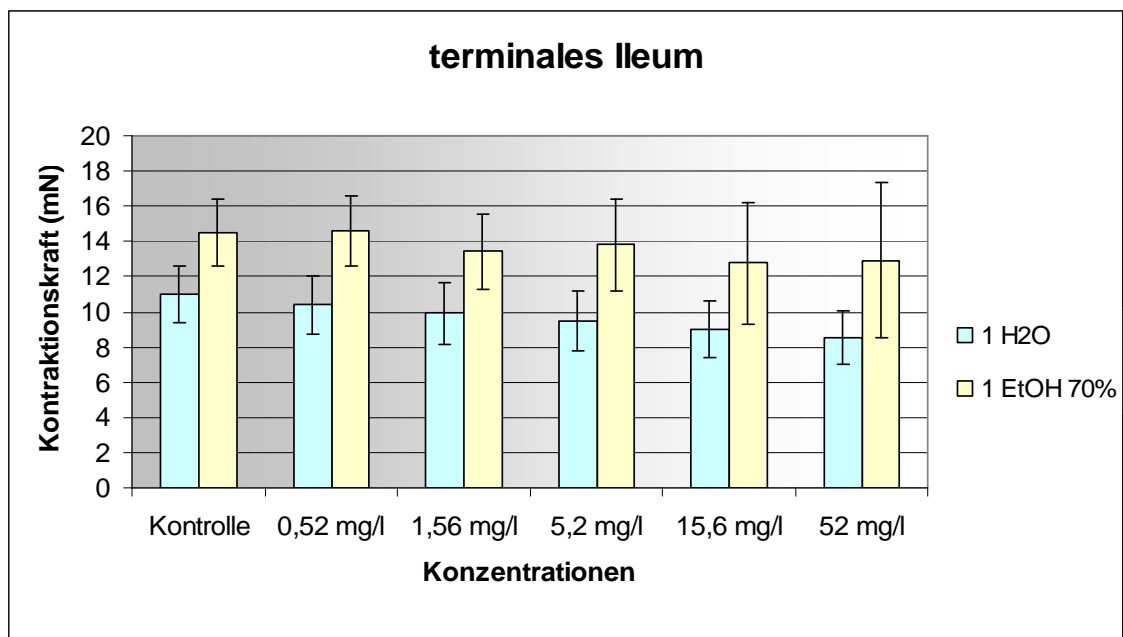


Abbildung 8: Graphische Darstellung der Wirkung der Extrakte 1 H₂O und 1 EtOH 70 % aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums

Der deutlichste Effekt auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileums wurde bei dem Extrakt 2 H₂O registriert. Hier nahm die Kontraktionskraft nach Zugabe der höchsten Konzentration in Relation zum Kontrollwert im Durchschnitt um 34,85 % ab. Im Vergleich dazu war der Effekt des EtOH 70 %-Extrakts sehr gering. Hier wurden bei der höchsten Konzentration, nach Berücksichtigung des Lösungsmittels, 97,6 % der Kontraktionskraft des Kontrollwertes gemessen. Auch hier ist ab einer Konzentration von 5,2 mg/l wieder ein Anstieg zu erkennen, welcher auf die Einbeziehung des Lösungsmittels ab dieser Konzentration zurückzuführen ist (Abb. 9). Bei beiden EtOH 70 %-Extrakten wurden außerdem in einigen Versuchen verstärkte Ausschläge gemessen. Diese wurden allerdings auch bei zwei von drei Lösungsmittelversuchen registriert.

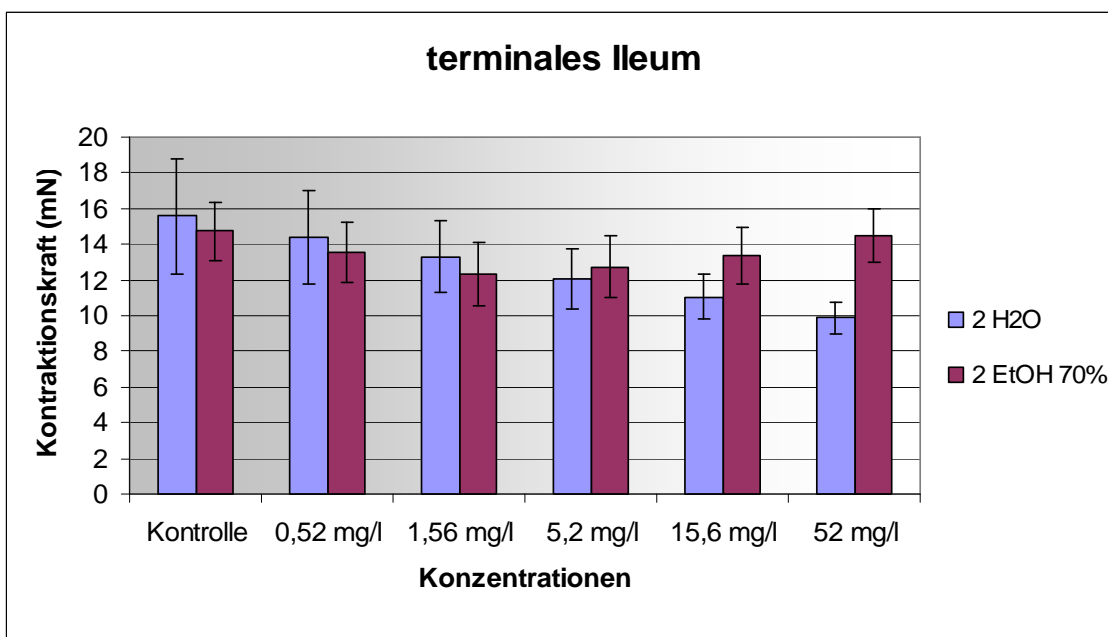


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Wirkung der Extrakte 2 H₂O und 2 EtOH 70 % aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums

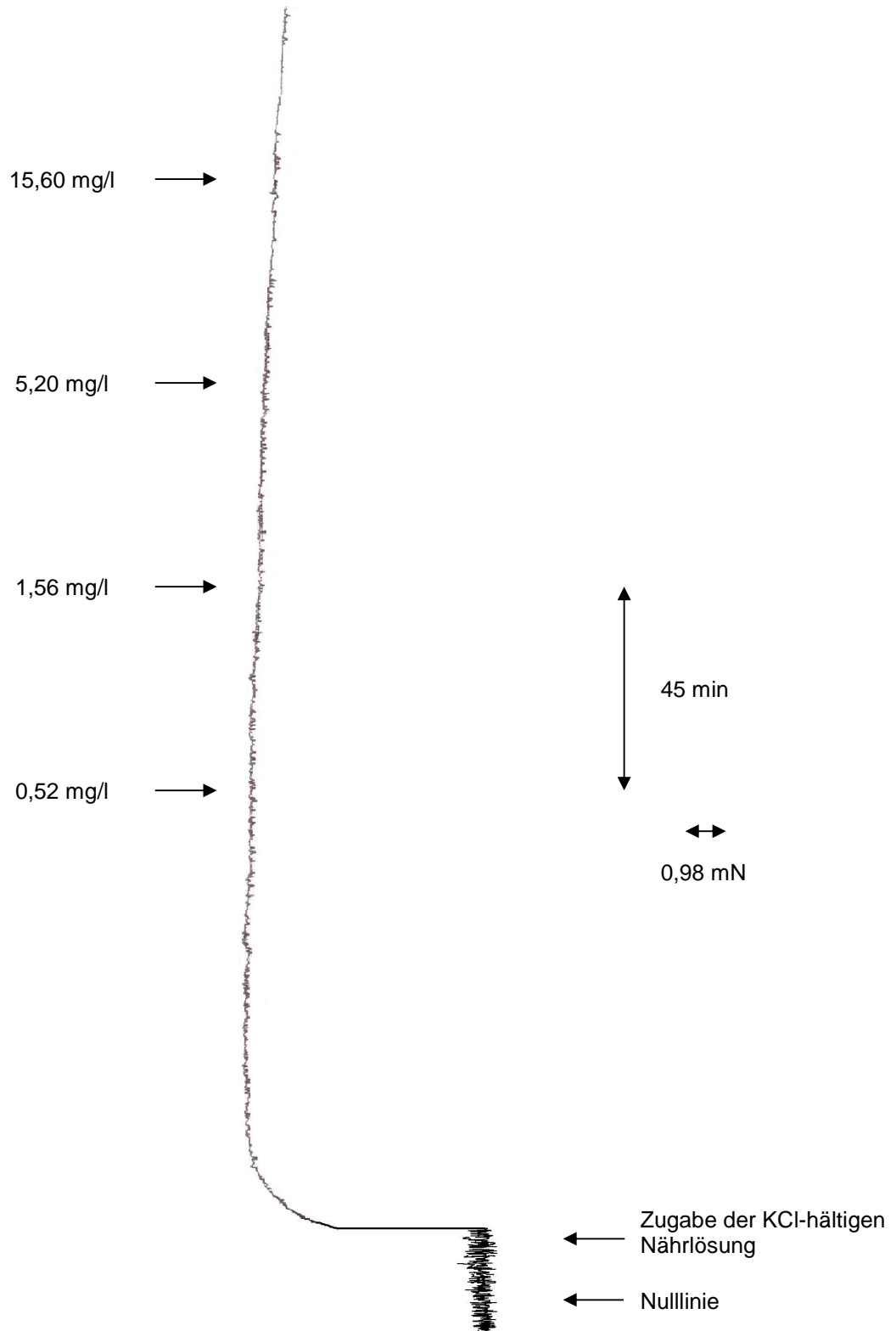


Abbildung 10: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 H₂O auf die Kontraktionskraft des isolierten und vorkontrahierten terminalen Ileums

4.4. Arteria pulmonalis

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|
| 1 H₂O | | | |
| Kontrolle | 12,511 +/- 2,159 | 100 +/- 0 | 3 |
| 0,52 mg/l | 12,740 +/- 2,449 | 102,26 +/- 1,44 | |
| 1,56 mg/l | 12,773 +/- 2,486 | 102,37 +/- 2,37 | |
| 5,20 mg/l | 12,871 +/- 2,470 | 103,34 +/- 3,55 | |
| 15,60 mg/l | 12,740 +/- 2,451 | 102,37 +/- 4,83 | |
| 52,00 mg/l | 12,773 +/- 2,370 | 103,02 +/- 5,12 | |
| 1 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 20,286 +/- 0,098 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 21,364 +/- 0,784 | 105,3 +/- 3,36 | |
| 1,56 mg/l | 21,756 +/- 0,784 | 107,29 +/- 3,35 | |
| 5,20 mg/l | 21,756 +/- 0,589 | 107,24 +/- 2,39 | |
| 15,60 mg/l | 20,286 +/- 0,490 | 99,99 +/- 1,93 | |
| 52,00 mg/l | 20,188 +/- 1,568 | 99,48 +/- 7,25 | |
| 2 H₂O | | | |
| Kontrolle | 15,797 +/- 1,059 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 15,435 +/- 1,421 | 97,55 +/- 2,46 | |
| 1,56 mg/l | 14,896 +/- 2,254 | 93,76 +/- 7,98 | |
| 5,20 mg/l | 14,259 +/- 2,205 | 89,73 +/- 7,94 | |
| 15,60 mg/l | 14,112 +/- 2,352 | 88,73 +/- 8,94 | |
| 52,00 mg/l | 13,622 +/- 2,450 | 85,58 +/- 9,78 | |
| 2 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 17,440 +/- 5,884 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 17,395 +/- 5,929 | 99,18 +/- 1,68 | |
| 1,56 mg/l | 17,689 +/- 5,439 | 102,09 +/- 2,09 | |
| 5,20 mg/l | 17,542 +/- 5,782 | 100,43 +/- 0,43 | |
| 15,60 mg/l | 16,366 +/- 5,194 | 94,11 +/- 0,89 | |
| 52,00 mg/l | 15,68 +/- 4,508 | 91,15 +/- 3,86 | |

Tabelle 11: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis

In den Versuchen an der vorkontrahierten Arteria pulmonalis bewirkten beide Extrakte des ersten Drogenmusters kaum Änderung der Kontraktionskraft. Bei einer Konzentration von 5,2 mg/l wurde bei 1 EtOH 70 % ein leichter Anstieg von 7 % gemessen, am Ende der Versuche sanken die Werte jedoch durchschnittlich wieder auf den Ausgangswert. Das Extrakt 1 H₂O lieferte durchgehend unveränderte Werte (Abb. 11).

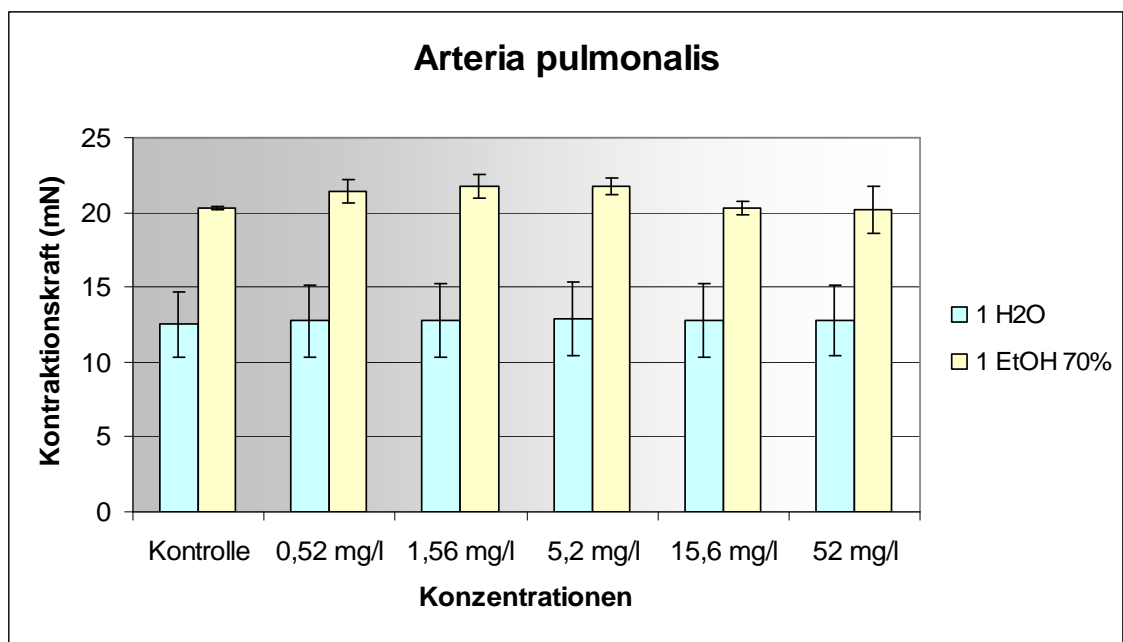


Abbildung 11: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 1 H₂O und 1 EtOH 70 % aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis

Im Gegensatz zu den Extrakten des ersten Drogenmusters nahm die Kontraktionskraft bei den Versuchen mit den Extrakten des zweiten Musters leicht ab. Bei dem H₂O-Extrakt wurden bei der höchsten Konzentration 85,58 % und bei dem EtOH 70 %-Extrakt 91,15 % des Kontrollwertes festgestellt (Abb. 12).

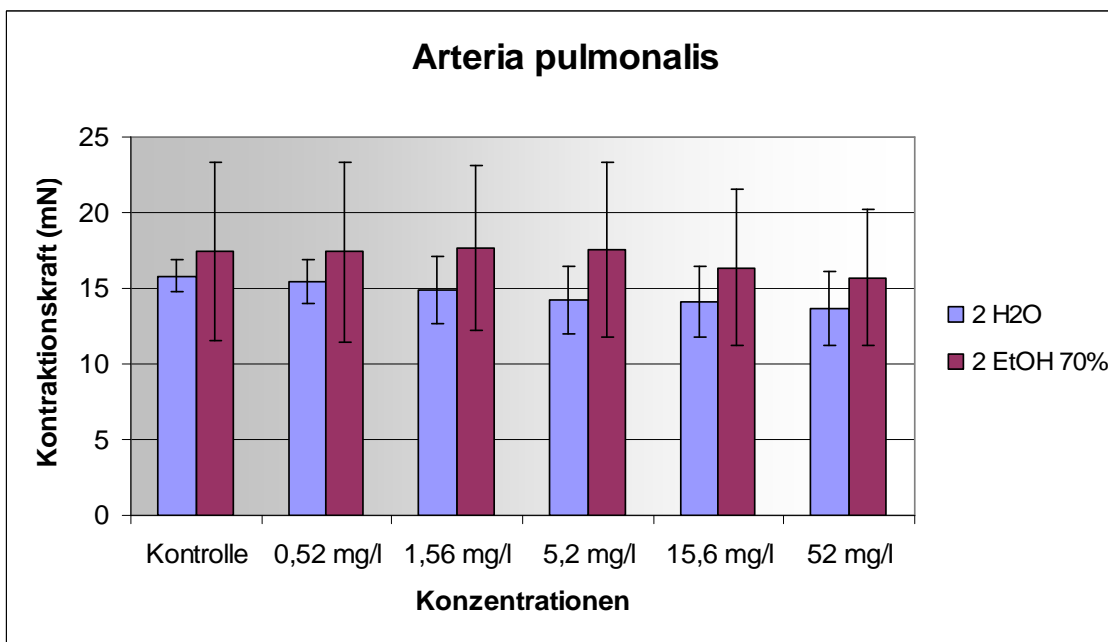


Abbildung 12: Graphische Darstellung der Wirkung der Extrakte 2 H₂O und 2 EtOH 70 % aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis

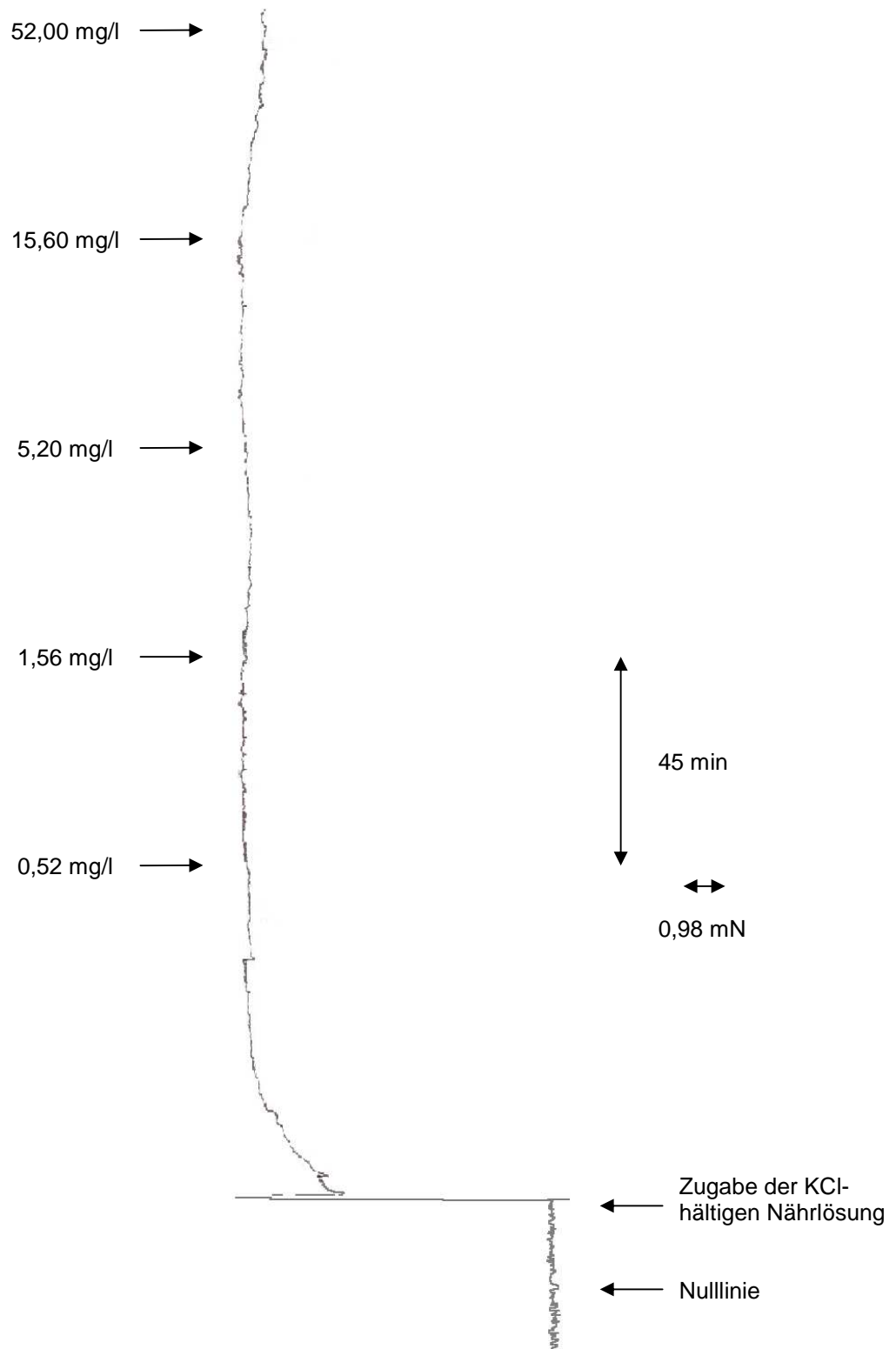


Abbildung 13: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 2 EtOH 70 % auf die Kontraktionskraft der isolierten und vorkontrahierten Arteria pulmonalis

4.5. Papillarmuskel

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|
| 1 H₂O | | | |
| Kontrolle | 0,945 +/- 0,218 | 100 +/- 0 | 3 |
| 0,52 mg/l | 0,993 +/- 0,262 | 95,89 +/- 9,47 | |
| 1,56 mg/l | 1,045 +/- 0,289 | 99,95 +/- 10,49 | |
| 5,20 mg/l | 1,085 +/- 0,291 | 104,81 +/- 12,01 | |
| 15,60 mg/l | 1,085 +/- 0,242 | 109,87 +/- 15,52 | |
| 52,00 mg/l | 1,307 +/- 0,287 | 130,11 +/- 9,53 | |
| 1 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 1,254 +/- 0,137 | 100 +/- 0 | 4 |
| 0,52 mg/l | 1,363 +/- 0,183 | 99,32 +/- 6,68 | |
| 1,56 mg/l | 1,357 +/- 0,148 | 109,07 +/- 8,17 | |
| 5,20 mg/l | 1,310 +/- 0,118 | 106,60 +/- 10,04 | |
| 15,60 mg/l | 1,208 +/- 0,156 | 99,62 +/- 16,76 | |
| 52,00 mg/l | 1,191 +/- 0,119 | 96,39 +/- 8,65 | |
| 2 H₂O | | | |
| Kontrolle | 0,993 +/- 0,193 | 100 +/- 0 | 3 |
| 0,52 mg/l | 0,797 +/- 0,138 | 80,82 +/- 2,82 | |
| 1,56 mg/l | 0,810 +/- 0,133 | 85,37 +/- 17,98 | |
| 5,20 mg/l | 0,758 +/- 0,164 | 79,87 +/- 21,27 | |
| 15,60 mg/l | 0,745 +/- 0,157 | 78,92 +/- 21,55 | |
| 52,00 mg/l | 0,680 +/- 0,151 | 70,39 +/- 15,92 | |
| 2 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 1,176 +/- 0,196 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 1,445 +/- 0,081 | 125,19 +/- 14,00 | |
| 1,56 mg/l | 1,402 +/- 0,211 | 119,54 +/- 2,00 | |
| 5,20 mg/l | 1,564 +/- 0,248 | 133,15 +/- 1,15 | |
| 15,60 mg/l | 1,359 +/- 0,449 | 112,28 +/- 19,43 | |
| 52,00 mg/l | 1,291 +/- 0,362 | 107,65 +/- 12,86 | |

Tabelle 12: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels

Um die Kontraktionskraft des Papillarmuskels zu ermitteln, wurde die aufgezeichnete Amplitude in cm abgemessen und in mN umgerechnet. Die beiden H₂O-Extrakte wirkten sehr unterschiedlich auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels. Während sich die Amplitude nach Zugabe des Extrakts 2 H₂O am Ende der Versuche um durchschnittlich 30 % verkleinert hatte, nahm sie bei dem Extrakt 1 H₂O im Schnitt um fast 30 % zu, hier war allerdings erst nach der letzten Extraktzugabe eine große Steigerung erkennbar. Nur die höchste Konzentration von 1 H₂O lieferte signifikante Ergebnisse (Abb. 14).

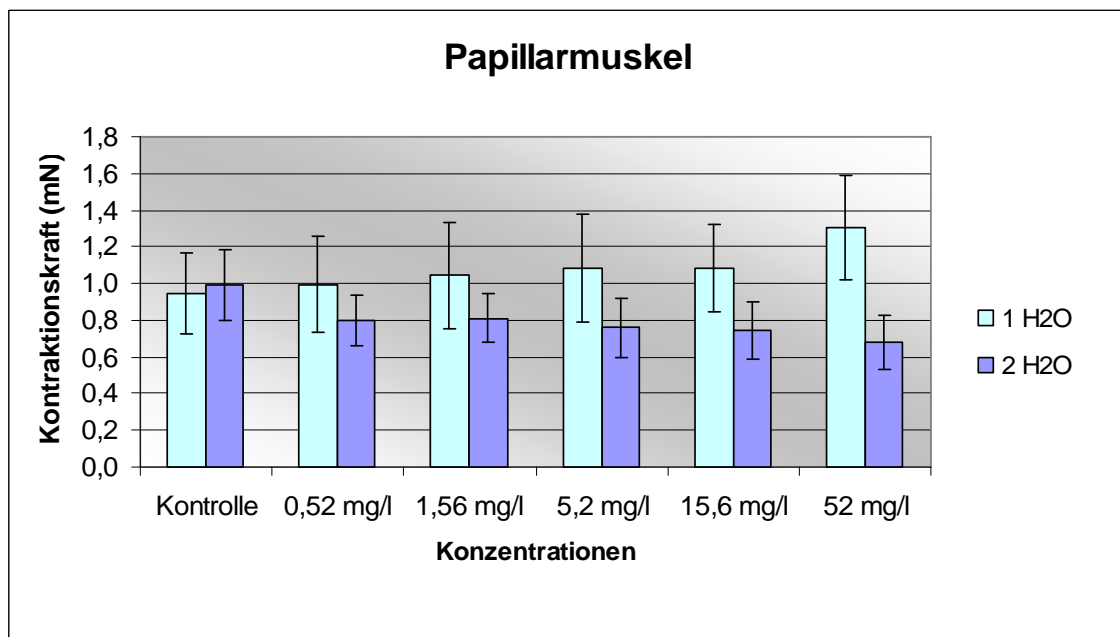


Abbildung 14: Graphische Darstellung der Wirkung der H₂O-Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels

Da Methanol aus dem Lösungsmittel selbst eine Verkleinerung der Amplitude des Papillarmuskels hervorgerufen hat, wurde dies in der Auswertung der Versuche mit den EtOH 70 %-Extrakten berücksichtigt. Danach war hier bei beiden Extrakten keine deutliche Wirkung sichtbar. Auffällig war bei beiden hydro-ethanolischen Extrakten die Zunahme der Amplitudengröße bei mittlerer Konzentration, besonders bei 2 EtOH 70 %. Allerdings wurden bei der höchsten Konzentration von 52 mg/l bei beiden Extrakten beinahe wieder die Ausgangswerte gemessen (Abb. 15). Außerdem wurden bei beiden Extrakten leichte Arrhythmien registriert. Bei dem Extrakt 2 EtOH 70 % konnte dies allerdings bei nur einem Versuch bei kleiner Konzentration festgestellt werden. Auch bei zwei Lösungsmittelversuchen zeigten sich leichte Arrhythmien.

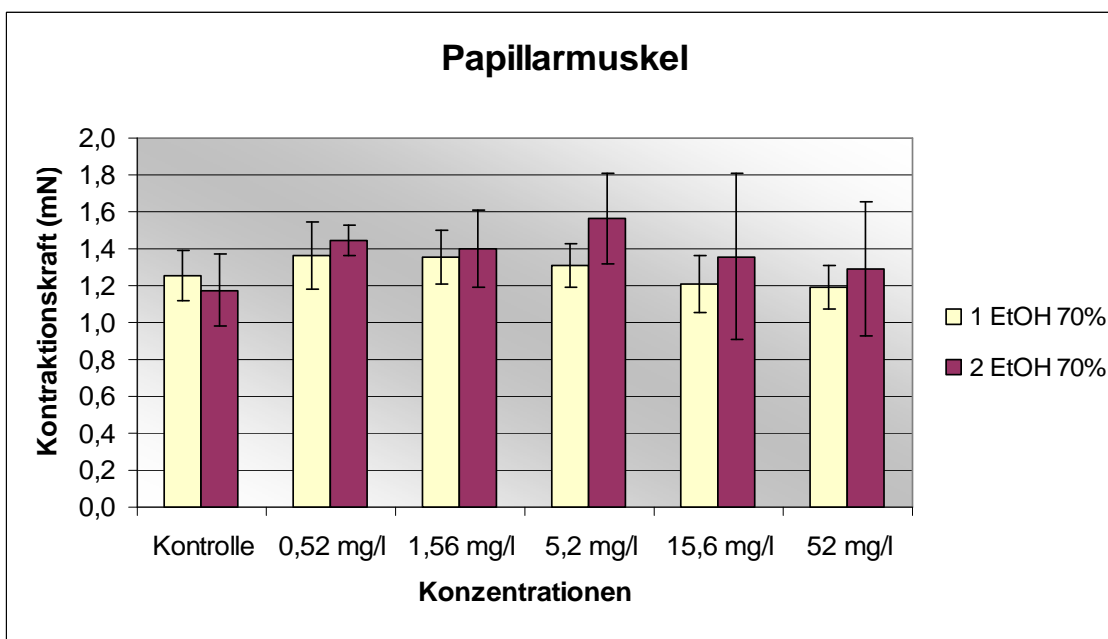


Abbildung 15: Graphische Darstellung der Wirkungen der EtOH 70 %-Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels

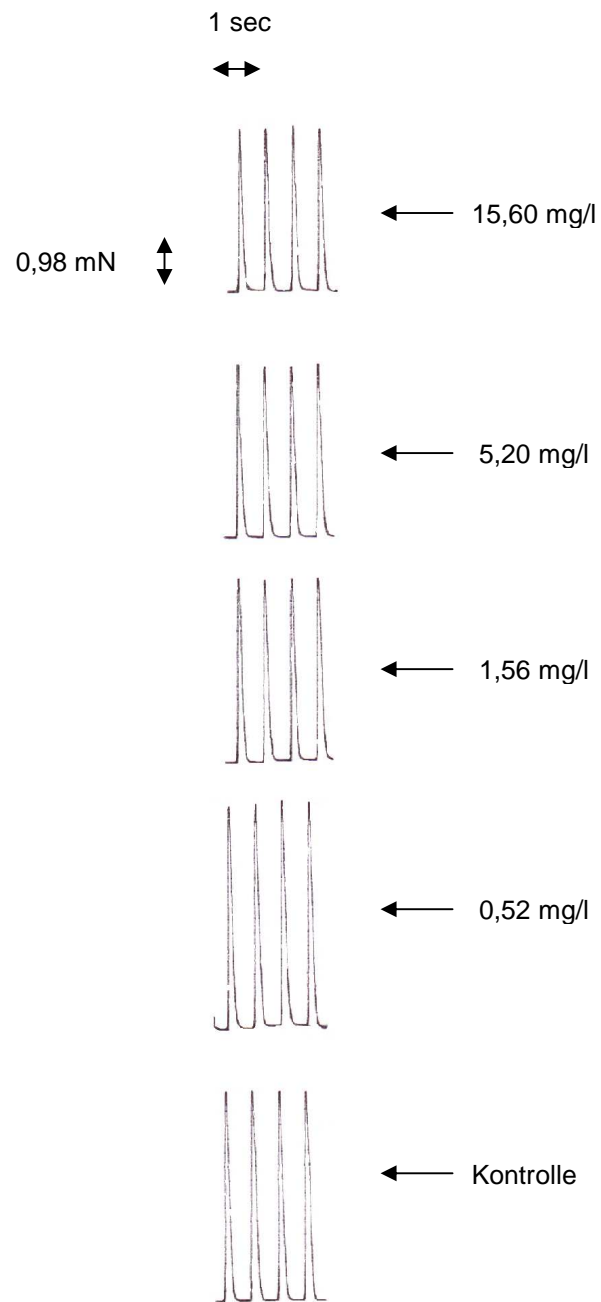


Abbildung 16: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 2 H₂O auf die Kontraktionskraft des isolierten Papillarmuskels

4.6. Vorhof

| Konzentration | F +/- SEM (Schläge/min) | F +/- SEM (%) | n |
|-------------------------|----------------------------|------------------|---|
| 1 H₂O | | | |
| Kontrolle | 185,0 +/- 0 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 187,5 +/- 2,5 | 101,35 +/- 1,35 | |
| 1,56 mg/l | 190,0 +/- 0 | 102,70 +/- 0 | |
| 5,20 mg/l | 190,0 +/- 0 | 102,70 +/- 0 | |
| 15,60 mg/l | 185,0 +/- 5,0 | 100,00 +/- 2,70 | |
| 52,00 mg/l | 197,5 +/- 2,5 | 106,76 +/- 1,35 | |
| 1 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 203,3 +/- 10,9 | 100 +/- 0 | 3 |
| 0,52 mg/l | 198,3 +/- 13,6 | 97,39 +/- 1,52 | |
| 1,56 mg/l | 201,7 +/- 14,2 | 99,03 +/- 2,18 | |
| 5,20 mg/l | 206,7 +/- 12,0 | 101,64 +/- 2,28 | |
| 15,60 mg/l | 205 +/- 12,6 | 100,76 +/- 1,67 | |
| 52,00 mg/l | 158,3 +/- 34,8 | 77,06 +/- 14,36 | |
| 2 H₂O | | | |
| Kontrolle | 212,5 +/- 10,9 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 210 +/- 13,6 | 98,75 +/- 1,52 | |
| 1,56 mg/l | 200 +/- 14,2 | 94,17 +/- 2,18 | |
| 5,20 mg/l | 175 +/- 12,0 | 83,20 +/- 2,28 | |
| 15,60 mg/l | 180 +/- 12,6 | 85,56 +/- 1,67 | |
| 52,00 mg/l | 175 +/- 14,4 | 83,20 +/- 14,36 | |
| 2 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 192,5 +/- 7,5 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 195 +/- 10,0 | 101,25 +/- 1,25 | |
| 1,56 mg/l | 187,5 +/- 2,5 | 97,5 +/- 2,50 | |
| 5,20 mg/l | 192,5 +/- 2,5 | 100,1 +/- 2,60 | |
| 15,60 mg/l | 195 +/- 5,0 | 101,35 +/- 1,35 | |
| 52,00 mg/l | 162,5 +/- 12,5 | 84,92 +/- 3,21 | |

Tabelle 13: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs

Die im Abstand von fünf Minuten aufgezeichneten spontanen Schläge des rechten Vorhofs wurden gezählt und mit dem Kontrollwert verglichen. Die beiden Extrakte des ersten Drogenmusters lieferten sehr unterschiedliche Ergebnisse. Bei dem Extrakt 1 H₂O änderte sich die Anzahl der Schläge während der gesamten Dauer der Versuche nur gering. Als statistisch signifikant wurden hier die Ergebnisse der niedrigen Konzentrationen 1,56 mg/l und 5,2 mg/l berechnet. Auch bei dem Extrakt 1 EtOH 70 % war bis vor Zugabe der letzten Konzentration keine Änderung verzeichnet. Erst am Ende des Versuchs verringerte sich die Schlagfrequenz durchschnittlich von 203,3 auf 185,3 Schläge/min (Abb. 17).

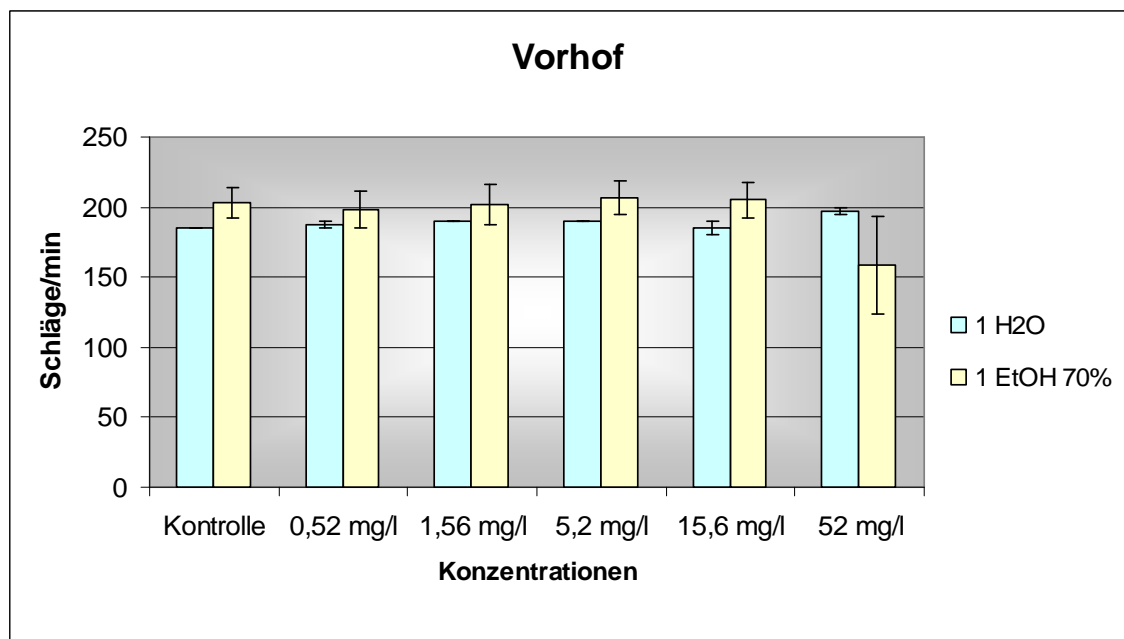


Abbildung 17: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 1 H₂O und 1 EtOH 70% aus *Potentilla anserina* L. auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs

Die Anzahl der spontanen Schläge des rechten Vorhofs blieb während der Versuche mit dem Extrakt 2 EtOH 70 % nahezu konstant. Erst nach Zugabe der höchsten Konzentration wurde eine Abnahme von 15 % ausgehend vom Kontrollwert gemessen. Im Gegensatz dazu verlangsamte sich die Schlagfrequenz bei dem 2 H₂O-Extrakt schon bei einer Konzentration von 5,2 mg/l, änderte sich danach jedoch nicht mehr wesentlich. Am Ende des Versuchs wurde auch hier eine ähnlich starke Abnahme ermittelt (Abb. 18).

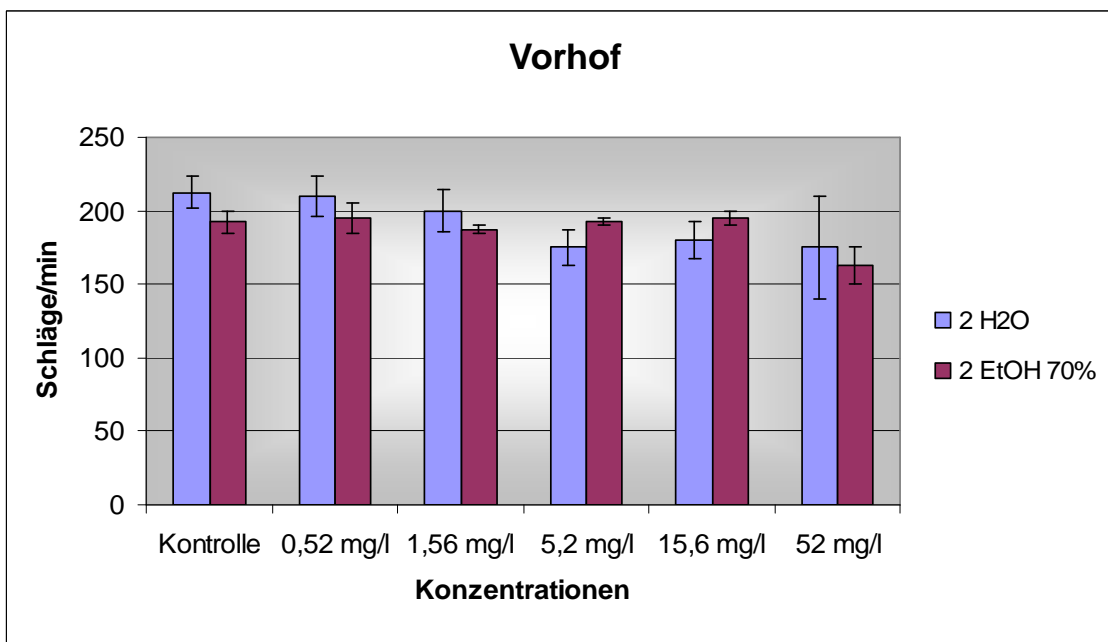


Abbildung 18: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 2 H₂O und 2 EtOH 70 % aus *Potentilla anserina* L. auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs

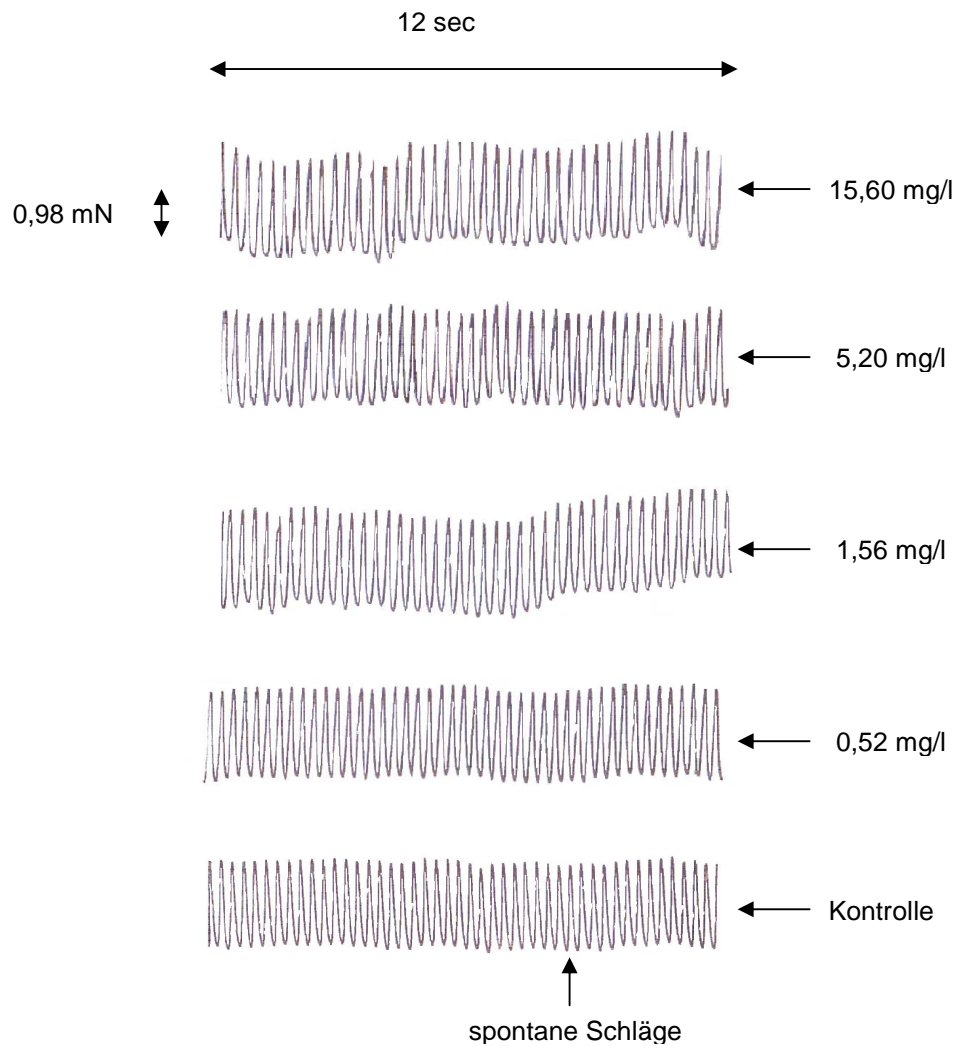


Abbildung 19: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 EtOH 70 % auf die Schlagfrequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhofs

4.7. Uterus

| Konzentration | F _c +/- SEM (mN) | F _c +/- SEM (%) | n |
|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|---|
| 1 H₂O | | | |
| Kontrolle | 13,034 +/- 5,656 | 100 +/- 0 | 3 |
| 0,52 mg/l | 14,145 +/- 6,499 | 106,46 +/- 3,24 | |
| 1,56 mg/l | 16,039 +/- 7,090 | 130,30 +/- 17,34 | |
| 5,20 mg/l | 18,195 +/- 8,368 | 145,43 +/- 18,93 | |
| 15,60 mg/l | 21,511 +/- 15,141 | 161,91 +/- 4,77 | |
| 1 EtOH 70% | | | |
| Kontrolle | 10,290 +/- 0,882 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 10,682 +/- 3,038 | 102,03 +/- 20,78 | |
| 1,56 mg/l | 11,172 +/- 4,900 | 105,27 +/- 38,60 | |
| 5,20 mg/l | 10,486 +/- 4,998 | 99,47 +/- 40,14 | |
| 15,60 mg/l | 8,134 +/- 4,018 | 76,26 +/- 32,51 | |
| 52,00 mg/l | 6,370 +/- 2,842 | 59,98 +/- 22,48 | |
| 2 H₂O | | | |
| Kontrolle | 11,956 +/- 1,764 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 11,172 +/- 2,940 | 91,82 +/- 11,05 | |
| 1,56 mg/l | 12,250 +/- 4,214 | 99,43 +/- 20,58 | |
| 5,20 mg/l | 13,622 +/- 4,802 | 110,42 +/- 23,88 | |
| 15,60 mg/l | 12,642 +/- 5,194 | 101,54 +/- 28,46 | |
| 52,00 mg/l | 12,054 +/- 5,390 | 96,26 +/- 30,88 | |
| 2 EtOH 70 % | | | |
| Kontrolle | 13,230 +/- 2,646 | 100 +/- 0 | 2 |
| 0,52 mg/l | 12,054 +/- 1,666 | 92,29 +/- 5,87 | |
| 1,56 mg/l | 13,426 +/- 1,862 | 102,78 +/- 6,48 | |
| 5,20 mg/l | 13,524 +/- 0,392 | 105,86 +/- 18,21 | |
| 15,60 mg/l | 13,916 +/- 0,980 | 111,11 +/- 29,63 | |
| 52,00 mg/l | 11,760 +/- 1,568 | 95,07 +/- 30,87 | |

Tabelle 14: Tabellarische Darstellung der Wirkungen aller Extrakte aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus

Um die Ergebnisse der Versuche mit dem isolierten Uterus auszuwerten, wurde jeder Peak von der definierten Nulllinie ausgehend gemessen und ein Mittelwert gebildet. Die einzelnen Extrakte zeigten sehr unterschiedliche Ergebnisse. Auch die verschiedenen Versuche des gleichen Extrakts lieferten konträre Werte, die sich auf die Standardfehler negativ auswirkten. Abbildung 20 verdeutlicht die Unterschiede innerhalb des ersten Drogenmusters. Während das Extrakt 1 H₂O konstant anstieg und bei höchste Konzentration über 160 % des Ausgangwertes lag, blieb die Kontraktionskraft bei 1 EtOH 70 % bis zu einer Konzentration von 5,2 mg/l nahezu unverändert und sank im Laufe der Versuche um durchschnittlich 40 %.

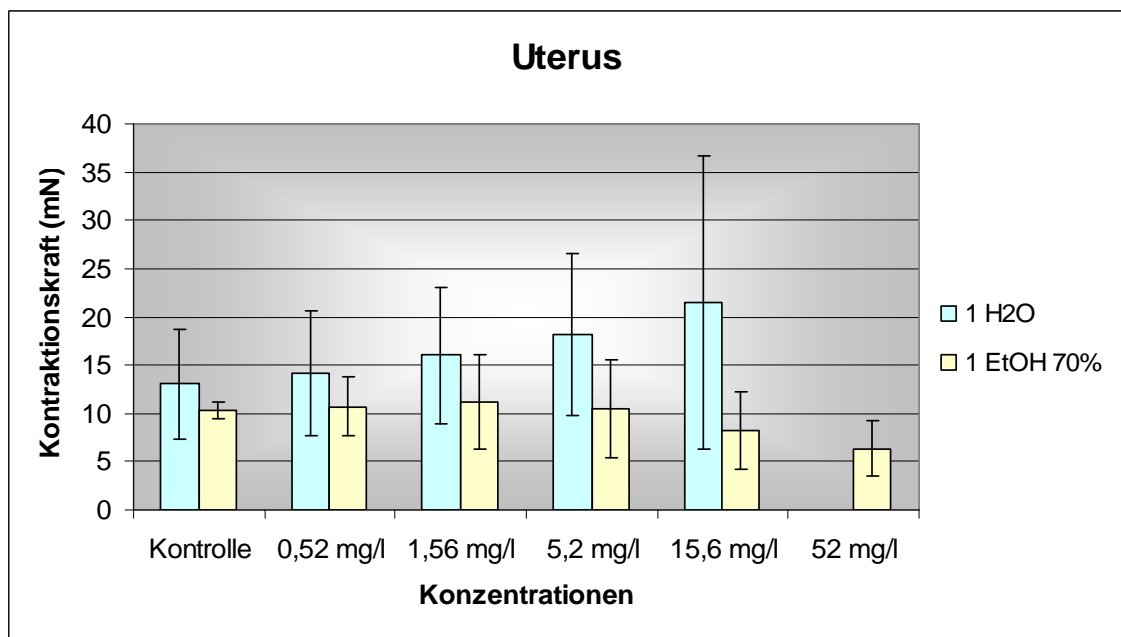


Abbildung 20: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 1 H₂O und 1 EtOH 70% aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus

Bei beiden Extrakten des zweiten Musters wurden je zwei Versuche durchgeführt, wobei die Kontraktionskraft jeweils bei einem Versuch anstieg und bei dem anderen sank. Die Mittelwerte aus diesen beiden Versuchsreihen deuten daher auf keine starken Änderungen. Bei beiden Extrakten wurde bei mittlerer Konzentration ein leichter Anstieg und bei höchster Konzentration ein Abfall sichtbar. Allerdings war hier kein eindeutiger Trend erkennbar (Abb. 21).

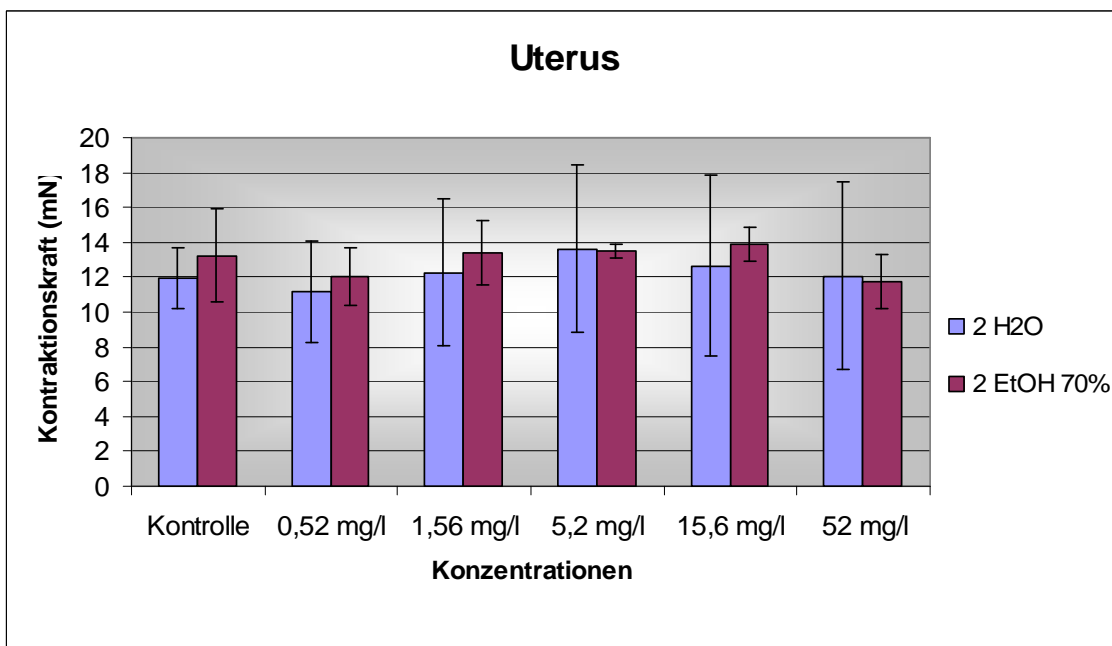


Abbildung 21: Graphische Darstellung der Wirkungen der Extrakte 2 H₂O und 2 EtOH 70 % aus *Potentilla anserina* L. auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus

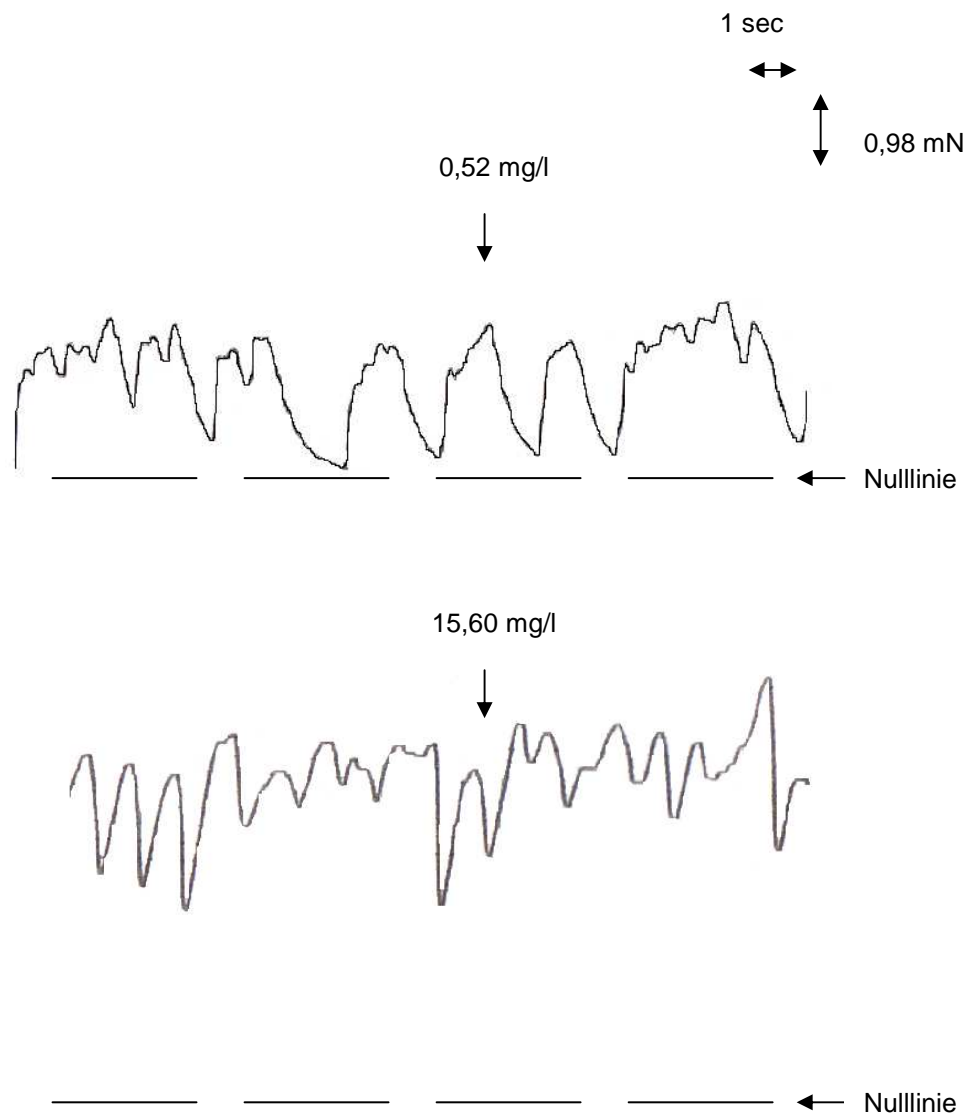


Abbildung 22: Originalaufzeichnung der Wirkung des Extrakts 1 H₂O auf die Kontraktionskraft des isolierten Uterus

4.8. Aorta und Arteria pulmonalis ohne Vorkontraktion

Es wurde mit jedem der Extrakte zusätzlich jeweils ein Versuch an der Aorta und der Arteria pulmonalis durchgeführt, ohne diese zuvor vorkontrahiert zu haben. Keines der Extrakte zeigte in diesen Versuchen Wirkung.

4.9. Diskussion

Die erwartete spasmolytische Wirkung der untersuchten Extrakte konnte in dieser Arbeit nur teilweise und in geringen Maßen beobachtet werden, dies allerdings nicht bei allen geprüften Extrakten und Präparaten. Kaum spasmolytische Effekte konnten bei den vorkontrahierten Organen thorakale Aorta und Arteria pulmonalis beobachtet werden. Keine Wirkung zeigten Versuche an diesen Organen, ohne vorher vorkontrahiert zu haben. Die einzelnen Extrakte lieferten in Versuchen mit Papillarmuskel und Uterus sehr konträre Ergebnisse. Am deutlichsten sichtbar wurde die Spasmolyse in Versuchen am terminalen Ileum. Allerdings war der Effekt auch hier nur bei dem Extrakt 1 H₂O signifikant.

Es konnte außerdem auf keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen Droge-Extrakt-Verhältnis bzw. Flavonoid-Gehalt der Extrakte und deren Wirkungen auf die Kontraktionskraft der Organe geschlossen werden. Überraschenderweise zeigte sogar das Extrakt 2 H₂O häufig die stärksten Wirkungen, obwohl es das geringste Droge-Extrakt-Verhältnis und den geringsten Flavonoid-Gehalt aufwies. Das bedeutet, dass die in dieser Arbeit entdeckten leichten spasmolytischen Effekte möglicherweise nicht den in *Anserinae herba* enthaltenen Flavonoiden, sondern möglicherweise einem anderen Wirkstoff zuzuschreiben wären.

Die in einer älteren Arbeit entdeckte cardiotoxische Wirkung von *Potentilla anserina* L. auf Meerschweinchenorgane [RODEWALD, 1950] wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht gefunden. Da in den Vorversuchen mit höher konzentrierten *Potentilla*-Fraktionen hochfrequente Kontraktionen bei den glattmuskulären Organen und Arrhythmien bei den Herzpräparaten aufgetreten sind, wurde bei den Versuchen mit den Extrakten besonders auf diese Effekte geachtet. Vereinzelt wurden verstärkte Kontraktionen und Arrhythmien registriert, allerdings konnten diese teils auch in Lösungsmittelversuchen beobachtet werden. Das könnte auf darin enthaltenes Methanol zurückzuführen

sein. Grund für Arrhythmien in Versuchen mit Papillarmuskeln könnten ebenso die nicht entsprechend entfernten Purkinjefasern gewesen sein.

5. SCHLUSSBETRACHTUNG

Ziel dieser Diplomarbeit war es, Extrakte aus der Droge *Anserinae herba* an isolierten Meerschweinchenorganen auf toxische und spasmolytische Wirkung zu untersuchen. Es konnten die in den Vorversuchen mit höher konzentrierten Potentilla-Fractionen gefundenen toxischen Effekte bei Untersuchung der Extrakte nicht und die spasmolytische Wirkung nur teilweise bestätigt werden. Zwischen den einzelnen Extrakten machten sich allerdings Unterschiede in den Wirkungen auf die Kontraktionskraft der Organe bemerkbar. Die bei manchen Versuchen ausgelösten spontanen Kontraktionen sowie die leichten Arrhythmien der Herzpräparate könnten auf das verwendete Lösungsmittel zurückzuführen sein. Die einzige signifikante Abnahme der Kontraktionskraft wurde bei den Versuchen mit dem Extrakt 1 H₂O auf das terminale Ileum registriert.

Bei den Versuchen mit den vorkontrahierten Organen Arteria pulmonalis und thorakale Aorta wurden bloß sehr geringe relaxierende Effekte registriert. Das H₂O-Extrakt des zweiten Drogenmusters bewirkte bei beiden Präparaten die größte Abnahme von jeweils 15 %. Die Versuche am terminalen Ileum zeigten deutlichere spasmolytische Wirkung. Auch hier wurde bei dem Extrakt 2 H₂O wieder die stärkste Abnahme der Kontraktionskraft gemessen.

Kein eindeutiger Trend ließ sich bei den Organen Papillarmuskel und Uterus erkennen. Die Kontraktionskraft des Papillarmuskels verringerte sich bei dem Extrakt 2 H₂O wieder. Das Extrakt 1 H₂O bewirkte allerdings sowohl beim Papillarmuskel als auch beim Uterus eine Zunahme der Kontraktionskraft. Im Gegensatz dazu wurde bei dem Extrakt 1 EtOH 70 % eine Abnahme registriert. Auch beim spontan schlagenden rechten Vorhof wurden nur geringe Effekte festgestellt. Die einzig konstante Abnahme der Schlagfrequenz bewirkte das Extrakt 2 H₂O.

Zwischen Droge-Extrakt-Verhältnis bzw. Flavonoid-Gehalt der Extrakte und deren Wirkungen auf die Kontraktionskraft der Organe wurde kein direkter Zusammenhang festgestellt. Da das Extrakt mit dem geringsten Droge-Extrakt-Verhältnis und dem geringsten Flavonoid-Gehalt die stärkste spasmolytische Wirkung zeigte, ist anzunehmen, dass für diese Wirkung nicht Flavonoide, sondern andere Wirkstoffe verantwortlich sind.

Bei den untersuchten Extrakten aus *Potentilla anserina* L. konnte keine toxische Wirkung festgestellt werden. Gefahr stellen also lediglich die *Potentilla*-Fraktionen mit höher konzentrierten Wirkstoffen und nicht die in dieser Arbeit untersuchten Teezubereitungen dar. Eine toxische Wirkung auf den Menschen bei anderen Zubereitungsarten und dadurch höher konzentrierten Inhaltsstoffen kann allerdings nicht ausgeschlossen werden. Deshalb wären weitere Untersuchungen zur endgültigen Aufklärung der Toxizität der Droge *Anserinae herba* wünschenswert.

Es konnten auch die gewünschten spasmolytischen Effekte nur in geringem Maße und nur bei wenigen Extrakten und Präparaten gefunden werden. Diesen Ergebnissen nach bestünde keine Berechtigung, Teezubereitungen aus *Anserinae herba* als Mittel gegen unspezifische Durchfallerkrankungen zu empfehlen. Auch bezüglich Spasmolyse in Hinsicht auf positive Wirkungen der Teezubereitung wären weitere Untersuchungen empfehlenswert.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Potentilla anserina L. stammt aus der Familie der Rosaceae und wächst vor allem in den gemäßigten und kalten Zonen der gesamten Nordhemisphäre. Die Inhaltsstoffe umfassen unter anderem Gerbstoffe, Flavonoide, Phenolcarbonsäuren, Cumarine, Fettsäuren, Vitamine und Cholin [WICHTL, 2002]. Anwendung findet die Droge Anserinae herba zur Unterstützung der Therapie akuter, unspezifischer Durchfallerkrankungen sowie bei leichten Entzündungen im Bereich der Mund- und Rachenschleimhaut. Der Pflanze werden außerdem adstringierende, antivirale, antimutagene sowie spasmolytische und tonussteigernde Wirkungen zugeschrieben. Aktuelle Untersuchungen und Angaben zur Toxizität der Droge nach peroraler Aufnahme fehlen [HÄNSEL et al., 1994]. Lediglich in einer älteren Arbeit wurde auf die cardiotoxische Wirkung des Krauts hingewiesen [RODEWALD, 1950].

Am Department für Pharmakognosie der Universität Wien wurden von Dr. Sonja Prinz jeweils ein H₂O-Extrakt und ein EtOH 70 %-Extrakt aus zwei verschiedenen Drogenmustern von Anserinae herba hergestellt. Diese Extrakte wurden im Rahmen dieser Diplomarbeit an isolierten Meerschweinchenorganen auf toxische und spasmolytische Wirkungen untersucht. Hierzu wurden isometrische Messungen der Kontraktionskraft vorgenommen und auf spontan auftretende hochfrequente Kontraktionen bei den glattmuskulären Organen und auf Arrhythmien bei den Herzpräparaten geachtet.

Die in dieser Arbeit untersuchte toxische Wirkung von *Potentilla anserina* L. konnte bei den *Potentilla*-Extrakten nicht gefunden werden. Die erwünschte spasmolytische Wirkung zeigte sich nur teilweise und bloß für manche Organe und Extrakte. Da eine toxische Wirkung auf den Menschen bei anderen Zubereitungsarten und dadurch höher konzentrierten Inhaltsstoffen nicht ausgeschlossen werden kann, wären weitere Untersuchungen zur endgültigen Aufklärung der Toxizität der Droge Anserinae herba wünschenswert.

7. SUMMARY

Potentilla anserina L. is a plant of the family Rosaceae and is distributed widely in the temperate and frigid zone of the whole northern hemisphere. Some compounds are tannins, flavonoids, phenol carboxylic acids, coumarins, fatty acids, vitamins and choline [WICHTL, 2002]. Anserinae herba is used to treat unspecific diarrhoea with slight gastrointestinal diseases and slight inflammations of the oral cavity. Further the plant is supposed to have adstringent, antiviral, antimutagenic and spasmolytic effects. Current investigations about toxic effects are missing [HÄNSEL et al., 1994]. Just in one older study the cardiotoxic effect of the plant is mentioned [RODEWALD, 1950].

At the Department of Pharmacognosy Vienna Dr. Sonja Prinz prepared an H₂O-extract and an EtOH 70 %-extract from two different samples of Anserinae herba. These extracts were tested on isolated organs of guinea pigs for toxic and spasmolytic effects. For this, the contraction was measured isometrically and attention was paid to high frequency contractions and arrhythmia in the heart compounds.

The researched toxic effects of *Potentilla anserina* L. were not found in the potentilla-extracts. The desired spasmolytic effects were shown just for some organs and extracts. Toxic effects on human beings could not be excluded for other ways of preparation and thereby higher concentrated ingredients. And that's why further investigation about the toxicity of the drug Anserinae herba would be desirable.

8. LITERATURVERZEICHNIS

FALBE J., REGITZ M. Rompp Lexikon Chemie. 10. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1999; 4714.

HÄNSEL P., KELLER K, RIMPER H., SCHNEIDER G. Potentilla. In: Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Band 6, 5. Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 1994; 254-258.

HILLER K., MELZIG M. F. Lexikon der Arzneipflanzen und Drogen. Band 2, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, 2000; 191

KOMBAL R., GLASL H. Flavan-3-ols and Flavonoids from *Potentilla anserina*. Planta medica 1995; 61: 484-485

LI Q.W., HUI J., SCHANG D.J., WU L.J., MA X.C. Investigation of the chemical constituents of the roots of *Potentilla anserina* L. in Tibet. Chinese Pharmaceutical Journal 2003; 55: 179-184

MADAUS G. Potentilla anserina. In: Lehrbuch der biologischen Heilmittel. Band 3, Georg Olms Verlag, Hildesheim, 1976; 2212-2215.

RODEWALD W. Über die Wirkung von Extrakten aus *Potentilla anserina* bei Infusionsversuchen am Meerschweinchen. Pharmazie 1950; 5: 538-541

SCHIMMER O., LINDENBAUM M. Tannins with antimutagenic properties in the herb of Alchemilla species and Potentilla anserina. Planta medica 1995; 61: 141-145

SCHÖNFELDER I., SCHÖNFELDER P. *Potentilla anserina* L. In: Das neue Handbuch der Heilpflanzen. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co KG, Stuttgart, 2004; 358-359

TUNMANN P., JANKA R. Chemie und Pharmakologie von *Potentilla anserina*.
Arzneimittelforschung 1955; 5: 20-24

WICHTL M. Anserinae herba. In: Teedrogen und Phytopharmaka. 4. Auflage,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2002; 48-50.

ZHAO Y.-L., CAI G.-M., HONG X., SHAN L.-M., XIAO X.-H. Anti-hepatitis B
virus activities of triterpenoid saponin compound from *Potentilla anserine* L.
Phytomedicine 2008, 15: 253-258

9. LEBENSLAUF

Persönliche Daten

Name: Martina Schlager
 Wohnort: 2722 Weikersdorf, Blätterstraße 60
 Telefon: 0699/10915129
 E-Mail: m.schlager@air-line.at
 Geburtsdatum: 11.01.1982
 Geburtsort: Wiener Neustadt
 Staatsbürgerschaft: Österreich
 Familienstand: ledig, keine Kinder

Schulbildung

1988 - 1992 Volksschule, Weikersdorf
 1992 - 1996 Hauptschule, Winzendorf
 1996 - 1997 Polytechnischer Lehrgang, Wiener Neustadt
 1997 - 2002 Bundeshandelsakademie, Wiener Neustadt, Matura
 seit Oktober 2002 Studium, Ernährungswissenschaften, Universität Wien

Fachpraktika

18.01. - 03.02.2006 Arbeitsgemeinschaft für klinische Ernährung, Projektmitarbeit „NutritionDay in European Hospitals“
 September 2006 Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH
 Juli 2007 Institut für Ernährungswissenschaften
 Mai 2007 - Februar 2008 Institut für Ernährungswissenschaften, Projektmitarbeit „Österreichischer Ernährungsbericht 2008“ im Umfang von 3 Wochen

Berufserfahrung

Juli 2001 Allianz Elementar, Ferialpraktikum
 Juli 2002 - Juni 2008 Backprofi VertriebsgmbH, freie Mitarbeiterin im Telefonmarketing
 seit Juli 2008 Fa. Merchandising, Institut für Verkaufsförderung GmbH, freie Mitarbeiterin

Martina Schlager