

## 3.2 Ergebnisse

### 3.2.1 Katalepsie-Versuche an Maus und Ratte

Ziel der Versuche war die Überprüfung einer antikataleptischen Wirksamkeit der eingesetzten Substanzen in der Haloperidol-induzierten Katalepsie. Zudem sollten die wirksamen Dosen der untersuchten Adenosinrezeptor-Antagonisten identifiziert werden, um für die beiden nachfolgend durchgeführten Depressionsmodelle Anhaltspunkte für die Dosiswahl zu erzielen. Eine besondere Bedeutung erlangte dies für die Olfaktorische Bulbektomie, da in diesem aufwändigen Tiermodell pro Durchlauf nur jeweils eine Dosierung getestet werden konnte.

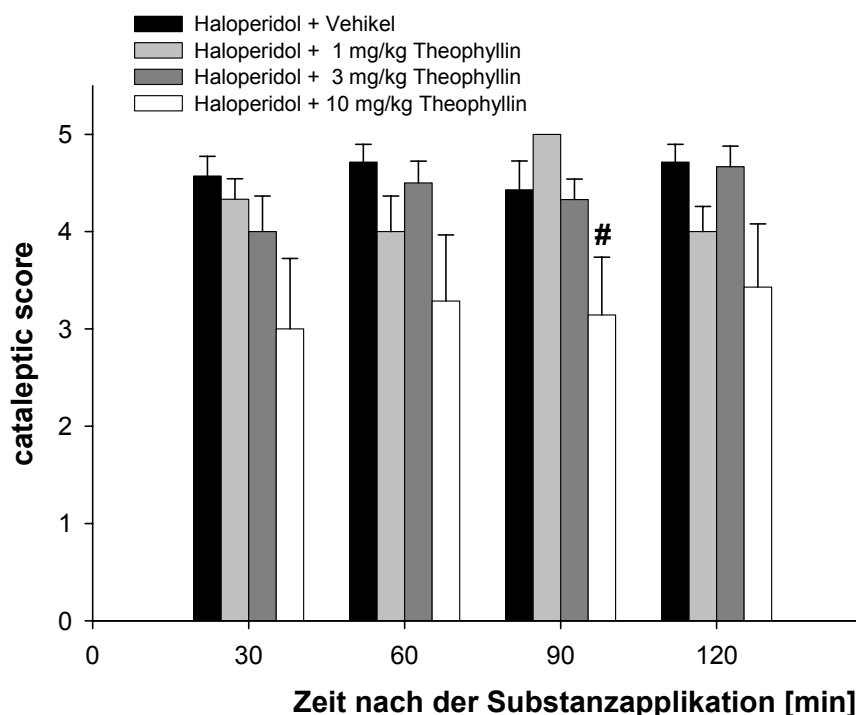
Die Ergebnisse der Katalepsie-Versuche sind als *cataleptic score* graphisch dargestellt (siehe Abb. 13-18). Signifikante Unterschiede zur Kontrolle und signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Dosierungsgruppen sind in den graphischen Darstellungen mit entsprechenden Symbolen gekennzeichnet.

#### 3.2.1.1 Wirkung von Adenosinrezeptor-Antagonisten auf die Haloperidol-induzierte Katalepsie an Maus und Ratte

##### Wirkung von Theophyllin im Katalepsie-Test an der Maus

Der unselektive Adenosinrezeptor-Antagonist Theophyllin wurde bei der Maus auf eine antikataleptische Wirkung hin untersucht. Durch die Applikation von Haloperidol (Dosierung: 1,2 mg/kg KGW i.p.) 60 min vor Beginn der Testung wurde ein kataleptischer Zustand induziert. Theophyllin wurde den Tieren 30 min vor der ersten Testung in drei Dosierungen (1, 3 und 10 mg/kg KGW, p.o.) appliziert. Die Kontrollgruppe wurde nach der Haloperidol-Injektion mit dem Vehikel (HEC) behandelt. Weitere Testungen erfolgten 60, 90 und 120 min nach der Substanzgabe.

Theophyllin zeigte nur in der höchsten hier eingesetzten Dosierung (10 mg/kg KGW p.o.) eine antikataleptische Wirkung, die bei 90 min signifikant unterschiedlich zu der niedrigen Dosierung (1 mg/kg KGW p.o.) war. Der *cataleptic score* der hohen Dosierung lag zu diesem Zeitpunkt bei  $3,1 \pm 0,6$ . Bei 10 mg/kg war der *cataleptic score* über den gesamten Messzeitraum gleichstark reduziert (score Werte von  $3,0 \pm 0,7$  bis  $3,4 \pm 0,7$ ). Die niedrige Dosierung lag mit einem *cataleptic score* von  $5,0 \pm 0,0$  bei 90 min über der vehikelbehandelten Kontrollgruppe ( $4,4 \pm 0,3$ ). Die niedrige und mittlere Dosierung (1 und 3 mg/kg KGW p.o.) zeigten zu keinem Messzeitpunkt eine signifikante antikataleptische Wirkung (siehe Abb. 13).



**Abb. 13:** Antikataleptische Wirkung von Theophyllin bei 1,2 mg/kg Haloperidol-induzierter Katalepsie an der Maus

Es wurden drei Dosierungen Theophyllin eingesetzt (1, 3 und 10 mg/kg KGW p.o.; n=6-7). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=7) behandelt. Die erste Testung auf eine antikataleptische Wirkung der Substanz fand 30 min nach der Substanzgabe statt.

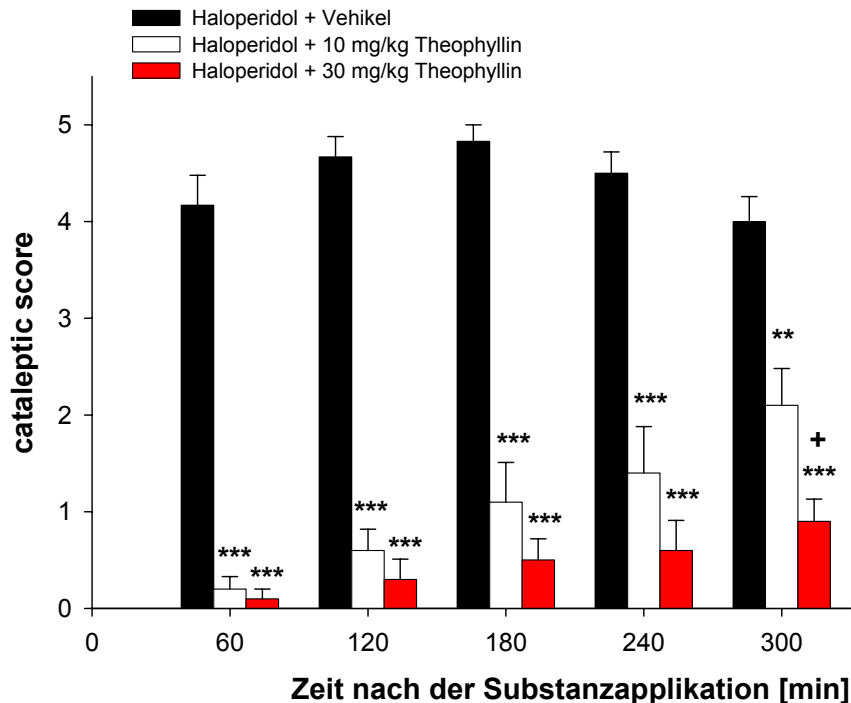
# :  $p < 0,05$  10 mg vs. 1 mg  
(One Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

#### Wirkung von Theophyllin im Katalepsie-Test an der Ratte

Neben der Wirkung an der Maus wurde Theophyllin auch bei der Ratte auf eine antikataleptische Wirkung hin untersucht. Mit Haloperidol vorbehandelte Ratten (Dosierung: 0,75 mg/kg KGW i.p., 90 min vor der ersten Testung) wurden mit Theophyllin (Dosierungen: 10 und 30 mg/kg KGW p.o.; n=10 je Dosierung) oder mit dem Vehikel (HEC; n=6) behandelt. Die erste Testung auf Katalepsie fand 60 min nach der Substanzgabe statt. Weitere Testungen erfolgten in einem stündlichen Abstand bis 300 min nach der Substanzgabe.

Über den gesamten Versuchszeitraum konnte eine signifikante dosisabhängige antikataleptische Wirkung von Theophyllin beobachtet werden. Das Wirkungsmaximum der Substanz wurde in beiden Dosierungen 60 min nach der Substanzgabe erreicht. Zu diesem Zeitpunkt lag der *cataleptic score* der hohen Dosierung bei  $0,1 \pm 0,1$  und der niedrigen Dosierung bei  $0,2 \pm 0,1$  (Kontrollgruppe  $4,2 \pm 0,3$ ). Theophyllin verlor über den Versuchszeitraum dosis- und zeitabhängig geringfügig an Wirkung. 300 min nach Substanzgabe war der *cataleptic score* durch 10 mg/kg Theophyllin im Vergleich zur Kontrollgruppe immer noch signifikant verringert. Die niedrige Dosierung unterschied

sich zu diesem Zeitpunkt allerdings signifikant von der hohen Dosierung (10 mg:  $2,1 \pm 0,4$  vs. 30 mg:  $0,9 \pm 0,2$ , Kontrolle:  $4,0 \pm 0,7$ ). Die hohe Dosierung zeigte über die gesamte Versuchsdauer im Vergleich zur Kontrolle eine hochsignifikante antikataleptische Wirkung (siehe Abb. 14).



**Abb. 14:** Antikataleptische Wirkung von Theophyllin bei 0,75 mg/kg induzierter Katalepsie an der Ratte

Es wurden zwei Dosierungen Theophyllin eingesetzt (10 und 30 mg/kg KGW p.o.; n=10). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=6) behandelt. Die erste Testung auf eine antikataleptische Wirkung der Substanz fand 60 min nach der Substanzgabe statt.

\*\* :  $p < 0,01$  \*\*\*:  $p < 0,001$  vs. Kontrolle  
 +:  $p < 0,05$  30 mg vs. 10 mg Theophyllin  
 (One Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

Aufgrund der antikataleptischen Wirkung von 10 mg/kg Theophyllin bei der Maus wurde diese Dosis und eine zweite Dosis (30 mg/kg) für den Schwimmtest ausgewählt. Für die Bulbektomie-Versuche an der Ratte wurde die langanhaltend signifikant antikataleptisch wirksame Dosis von 30 mg/kg ausgewählt.

#### Wirkung von elbion Substanz A im Katalepsie-Test an der Maus

Der moderat selektive Adenosin- $A_{2A}$  Rezeptor-Antagonist, elbion Substanz A, wurde bei der Maus auf eine antikataleptische Wirkung hin untersucht. Durch die Applikation von Haloperidol (Dosierung: 1,2 mg/kg KGW i.p.) 60 min vor Beginn der Testung wurde ein kataleptischer Zustand induziert. Die elbion Substanz A wurde 30 min vor der ersten

Testung in drei Dosierungen (1 , 3 und 10 mg/kg KGW, p.o.) jeweils n=10 Tieren verabreicht. In der Kontrollgruppe wurden n=6 Tiere verwendet. Die Kontrollgruppe wurde nach der Haloperidol-Injektion mit dem Vehikel (HEC) behandelt. Weitere Testungen erfolgten 60, 90, 120 und 180 min nach der Substanzgabe.

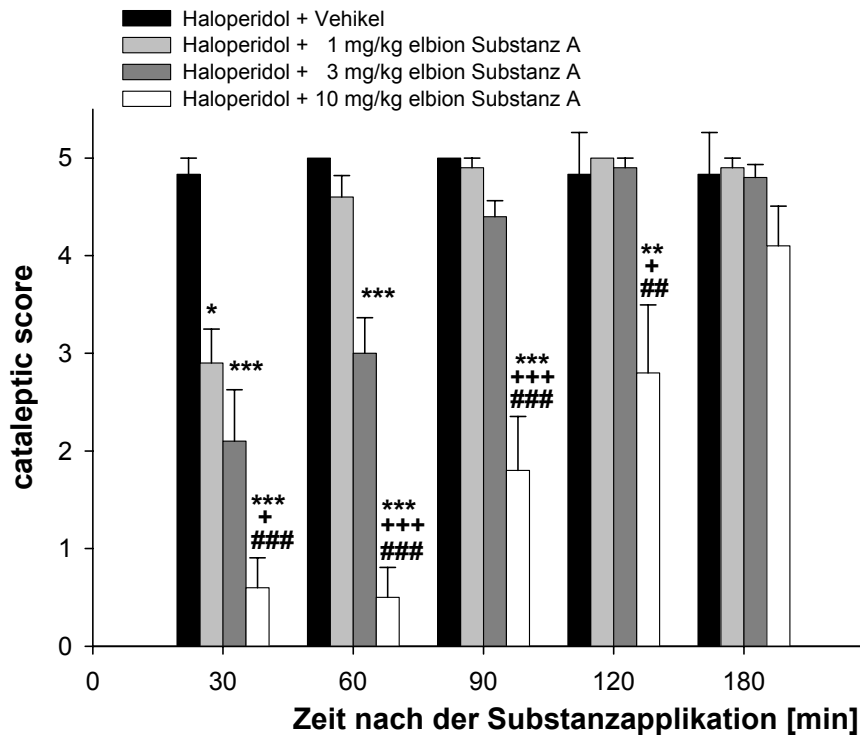
Die Ergebnisse zeigten eine signifikante und signifikant dosisabhängige antikataleptische Wirkung über einen Zeitraum von 120 min nach der Substanzapplikation. Bei der ersten Testung senkten die mittlere und die hohe Dosierung den *cataleptic score* hochsignifikant, die niedrige Dosierung signifikant gegenüber der Kontrolle. Die hohe Dosierung unterschied sich von der niedrigen Dosierung zu diesem Zeitpunkt hochsignifikant, die mittlere von der hohen Dosierung signifikant unterschiedlich.

Bei der zweiten Testung auf Katalepsie (60 min nach der Substanzgabe) wies die niedrigste Dosierung gegenüber der Kontrolle keinen signifikanten Unterschied und somit keine antikataleptische Wirkung mehr auf. Die mittlere und die hohe Dosierung unterschieden sich von der Kontrolle weiterhin hochsignifikant, wobei sich die beiden Gruppen untereinander ebenfalls hochsignifikant voneinander unterschieden. Die hohe Dosierung unterschied sich von der mittleren und der niedrigsten Dosierung hochsignifikant.

90 min nach der Substanzgabe unterschied sich lediglich die hohe Dosierung noch hochsignifikant gegenüber der Kontrolle. Die mittlere Dosierung zeigte wie die niedrige Dosierung ab diesem Zeitpunkt keinen signifikanten Unterschied mehr gegenüber der Kontrolle. Die hohe Dosierung unterschied sich von der mittleren und der niedrigen Dosierung weiterhin hochsignifikant.

120 min nach der Substanzgabe unterschied sich die hohe Dosierung noch signifikant gegenüber der Kontrolle und den beiden anderen Dosierungen.

180 min nach der Substanzgabe zeigte auch die hohe Dosierung keine antikataleptische Wirkung mehr (siehe Abb. 15).



**Abb. 15:** Antikataleptische Wirkung von elbion Substanz A bei 1,2 mg/kg Haloperidol-induzierter Katalepsie an der Maus

Es wurden drei Dosierungen der elbion Substanz A eingesetzt (1, 3 und 10 mg/kg KGW p.o.; n=10). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=6) behandelt. Die erste Testung auf eine antikataleptische Wirkung der Substanz fand 30 min nach der Substanzgabe bis zu einem Nachlassen der antikataleptischen Wirkung in der hohen Dosierungsgruppe statt (Zeit-/Wirkungsverlauf).

\*:  $p < 0,05$  \*\*:  $p < 0,01$  \*\*\*:  $p < 0,001$  vs. Kontrolle

+:  $p < 0,05$  +++:  $p < 0,001$  10 mg vs. 3 mg

##:  $p < 0,01$  ###:  $p < 0,001$  10 mg vs. 1 mg

°°:  $p < 0,01$  3 mg vs. 1 mg

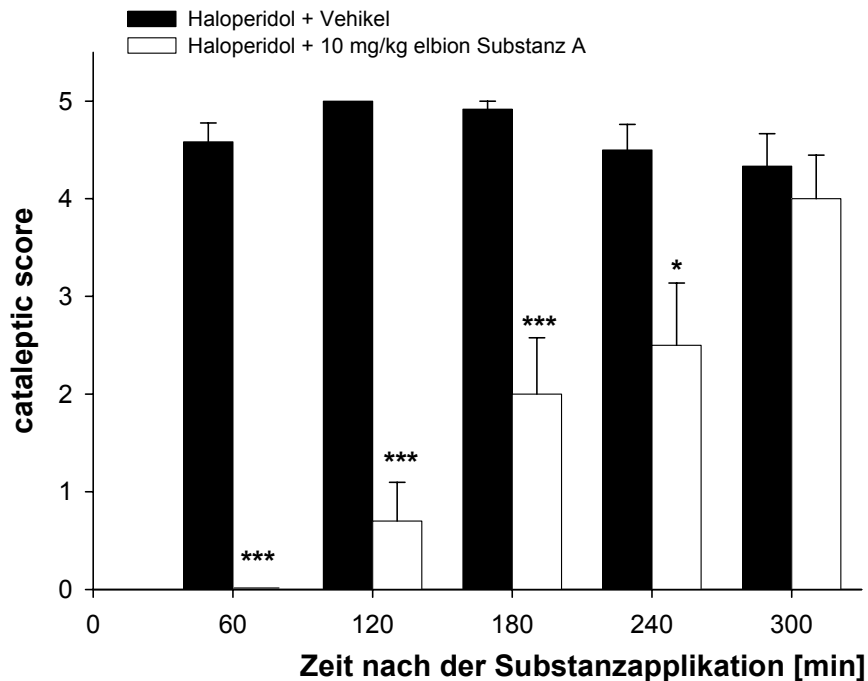
(One Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

#### Wirkung von elbion Substanz A im Katalepsie-Test an der Ratte

Die elbion Substanz A wurde neben der Maus auch bei der Ratte auf eine antikataleptische Wirkung hin untersucht. Mit Haloperidol vorbehandelte Ratten (Dosierung: 0,75 mg/kg KGW i.p., 90 min vor der ersten Testung) wurden entweder mit der elbion Substanz A (Dosierung: 10 mg/kg KGW p.o.; n=10) oder mit dem Vehikel (HEC; n=12) behandelt. Die erste Testung auf Katalepsie fand 60 min nach der Substanzgabe statt. Weitere Testungen erfolgten in einem stündlichen Abstand bis zu einem Nachlassen einer antikataleptischen Wirkung der Substanz.

Bis zwei Stunden nach der Substanzapplikation konnte eine hochsignifikante antikataleptische Wirkung der elbion Substanz A bei einer Dosierung von 10 mg/kg KGW beobachtet werden. Das Wirkungsmaximum war bei der ersten Testung zu beobachten. Hier lag der *cataleptic score* der Substanzgruppe bei  $0,0 \pm 0,0$ , der

*cataleptic score* der vehikelbehandelten Kontrollgruppe lag bei  $4,6 \pm 0,2$ . Bei den weiteren Testungen nahm die antikataleptische Wirkung der getesteten Substanz sukzessive ab. 180 min nach Substanzgabe konnte noch eine signifikante antikataleptische Wirkung beobachtet werden. 300 min nach der Substanzgabe war zwischen der Kontrollgruppe und der Substanzgruppe kein signifikanter Unterschied mehr feststellbar (siehe Abb. 16).



**Abb. 16:** Antikataleptische Wirkung von elbion Substanz A bei 0,75 mg/kg Haloperidol-induzierter Katalepsie an der Ratte

Es wurde eine Dosierung der elbion Substanz A eingesetzt (10 mg/kg KGW p.o.; n=10). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=12) behandelt. Die erste Testung auf eine antikataleptische Wirkung der Substanz fand 60 min nach der Substanzgabe bis zu einem Nachlassen der antikataleptischen Wirkung statt.

\*:  $p < 0,05$  \*\*\*:  $p < 0,001$  vs. Kontrolle  
(One Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

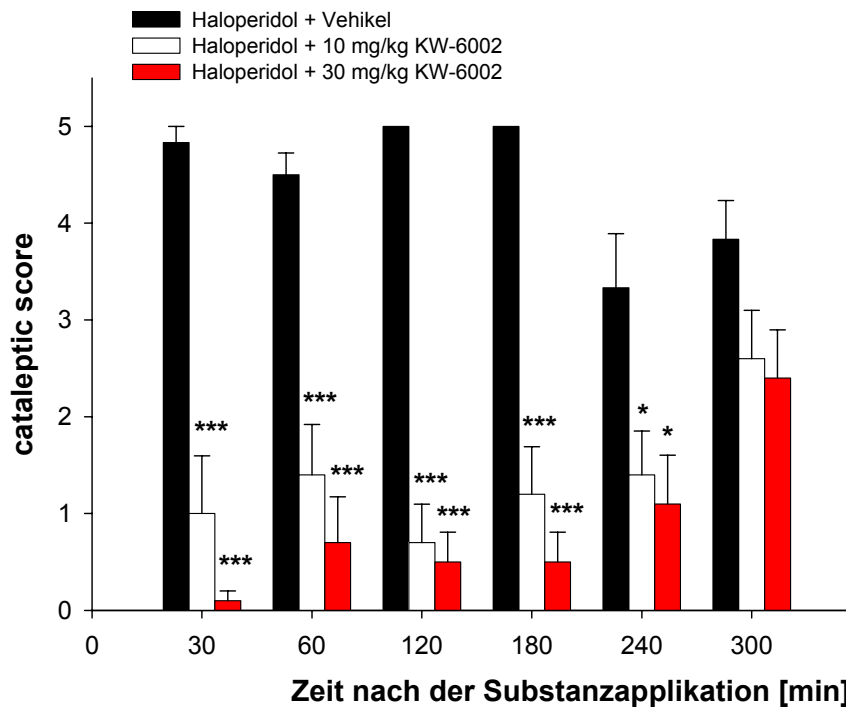
Aufgrund der Ergebnisse an der Maus wurde für den Schwimmtest die signifikant antikataleptisch wirksame Dosierung von 10 mg/kg ausgewählt. Darüber hinaus wurde im *Forced Swim Test* eine zweite Dosierung (30 mg/kg) eingesetzt. Für die Olfaktorische Bulbektomie an der Ratte wurde aufgrund der sich in diesen Versuchen andeutenden relativ kurzen Wirkungsdauer der elbion Substanz A die Dosis von 30 mg/kg ausgewählt. Um eine ausreichende Exposition der Ratten während der Behandlungsdauer zu gewährleisten, wurden die Tiere während der 15tägigen Behandlungsdauer zudem 2 x täglich mit der elbion Substanz A behandelt.

Wirkung von KW-6002 im Katalepsie-Test an der Maus

Neben dem moderat selektiven Adenosin-A<sub>2A</sub> Rezeptor-Antagonist elbion Substanz A wurde ein selektiver Antagonist am Adenosin-A<sub>2A</sub>Rezeptor bei der Haloperidol-induzierten Katalepsie untersucht. Die Ergebnisse sind im Text erläutert und graphisch dargestellt.

Entsprechend dem Versuchsdesign bei der elbion Substanz A wurde nach Induktion einer Katalepsie (Haloperidol 1,2 mg/kg KGW i.p. 60 min vor der ersten Testung) die KW-6002 in zwei Dosierungen (10 und 30 mg/kg KGW p.o.) jeweils n=10 Tieren verabreicht. In der Kontrollgruppe wurden n=6 Tiere verwendet. Die Kontrollgruppe wurde nach der Haloperidol-Injektion mit dem Vehikel HEC behandelt. Die erste Testung auf eine Katalepsie fand 30 min nach der Substanzgabe statt. Weitere Testungen erfolgten 60 min nach der Substanzgabe und bis zu einem Nachlassen der antikataleptischen Wirkung in stündlichen Abständen.

Bis 240 min nach der Substanzgabe konnte eine signifikante antikataleptische Wirkung in beiden Dosierungsgruppen festgestellt werden. Dabei war die Aufhebung der kataleptogenen Haloperidol-Wirkung bei 180 min nach Substanzgabe in beiden Dosierungsgruppen hochsignifikant gegenüber der vehikelbehandelten Kontrollgruppe. 240 min nach der Substanzgabe war der antikataleptische Effekt in beiden Dosierungsgruppen noch schwach signifikant gegenüber der Kontrollgruppe ausgeprägt. Bei der letzten Testung 300 min nach der Substanzgabe war keine signifikante antikataleptische Wirkung bei 10 resp. 30 mg KW-6002 zu beobachten. Das Wirkungsmaximum der niedrigen Dosierung konnte 120 min nach der Substanzgabe beobachtet werden. Hier lag der *cataleptic score* bei  $0,7 \pm 0,4$  während der *cataleptic score* der Kontrollgruppe bei  $5,0 \pm 0,0$  lag. Das Wirkungsmaximum der hohen Dosierung wurde bereits 30 min nach der Substanzgabe erreicht. Hier lag der *cataleptic score* bei  $0,1 \pm 0,1$  (Kontrollgruppe:  $4,8 \pm 0,2$ ). Innerhalb des Versuchszeitraumes war zu den jeweiligen Testzeitpunkten kein signifikanter Unterschied zwischen der niedrigen und der hohen Dosierung feststellbar (siehe Abb. 17).



**Abb. 17:** Antikataleptische Wirkung von KW-6002 bei 1,2 mg/kg Haloperidol-induzierter Katalepsie an der Maus

Es wurden zwei Dosierungen der KW-6002 eingesetzt (10 und 30 mg/kg KGW p.o.; n=10). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=6) behandelt. Die erste Testung auf eine antikataleptische Wirkung der Substanz fand 30 min nach der Substanzgabe bis zu einem Nachlassen der antikataleptischen Wirkung statt (Zeit-/Wirkungsverlauf).

\*:  $p < 0,05$  \*\*\*:  $p < 0,001$  vs. Kontrolle  
(One Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

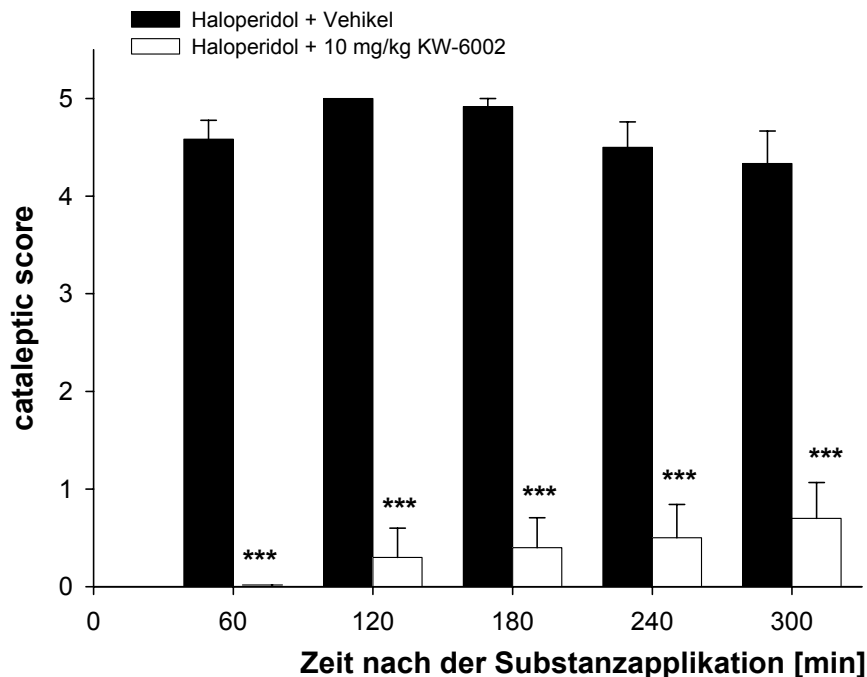
#### Wirkung von KW-6002 im Katalepsie-Test an der Ratte

Die KW-6002 wurde neben der Maus auch bei der Ratte auf eine antikataleptische Wirkung hin untersucht. Dabei wurden dieselben Dosen wie bei elbion Substanz A eingesetzt. Mit Haloperidol vorbehandelte Ratten (Dosierung: 0,75 mg/kg KGW i.p., 90 min vor der ersten Testung) wurden entweder mit KW-6002 (Dosierung: 10 mg/kg KGW p.o.; n=10) oder mit dem Vehikel (HEC; n=12) behandelt. Die erste Testung auf Katalepsie fand 60 min nach der Substanzgabe statt. Weitere Testungen erfolgten in einem stündlichen Abstand bis 300 min nach der Substanzgabe.

Über den gesamten Versuchszeitraum konnte eine statistisch hochsignifikante antikataleptische Wirkung der Substanz beobachtet werden. Das Wirkungsmaximum der Substanz wurde 60 min nach der Substanzgabe erreicht. Zu diesem Zeitpunkt lag der *cataleptic score* der Substanzgruppe bei  $0,0 \pm 0,0$  (Kontrollgruppe  $4,6 \pm 0,2$ ). Über den gesamten Versuchszeitraum verlor die Substanz nur geringfügig an antikataleptischer Wirkung. Der *cataleptic score* unterschied sich auch 300 min nach der Substanzgabe



noch hochsignifikant von dem der vehikelbehandelten Kontrollgruppe (siehe Abb. 18).



**Abb. 18:** Antikataleptische Wirkung von KW-6002 bei 0,75 mg/kg Haloperidol-induzierter Katalepsie an der Ratte

Es wurde eine Dosierung der KW-6002 eingesetzt (10 mg/kg KGW p.o.; n=10). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=12) behandelt. Die erste Testung auf eine antikataleptische Wirkung der Substanz fand 60 min nach der Substanzgabe statt (Zeit-/Wirkungsverlauf)

\*\*\*:  $p < 0,001$  vs. Kontrolle  
(One Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die signifikant antikataleptisch wirksame Dosis von 10 mg/kg KW-6002 für den Schwimmtest an der Maus ausgewählt. Im *Forced Swim Test* wurde darüber hinaus noch eine zweite, niedrigere Dosis eingesetzt (3 mg/kg), um so den unteren Wirkungsbereich abzugrenzen. In den Bulbektomie-Versuchen an der Ratte wurde die signifikant antikataleptisch wirksame Dosis 10 mg/kg eingesetzt.

### 3.2.2 Forced Swim Test an der Maus

Ziel der Versuche war es, einen Hinweis auf eine mögliche antidepressive Aktivität der antikataleptisch wirksamen Adenosinrezeptor-Antagonisten zu finden. Dazu wurde die Wirkung der eingesetzten Substanzen auf die Immobilitätszeit von Mäusen im *Forced Swim Test* überprüft. Eine Reduktion der Immobilitätszeit wird in diesem Modell mit einer antidepressiven Wirkung von Substanzen korreliert.

Imipramin und Amitriptylin, zwei therapeutisch genutzte trizyklische Antidepressiva wurden dabei als Standardsubstanzen ausgewählt, die in diesem Modell einen

eindeutigen antidepressiven Effekt erzielen. Die in unserer Arbeit in diesem Modell eingesetzten Dosierungen dieser beiden Referenzsubstanzen orientierten sich dabei an den in der Literatur angegebenen Dosierungen (BORSINI und MELI 1988; PORSOLT et al. 1977a; PORSOLT et al. 1977b).

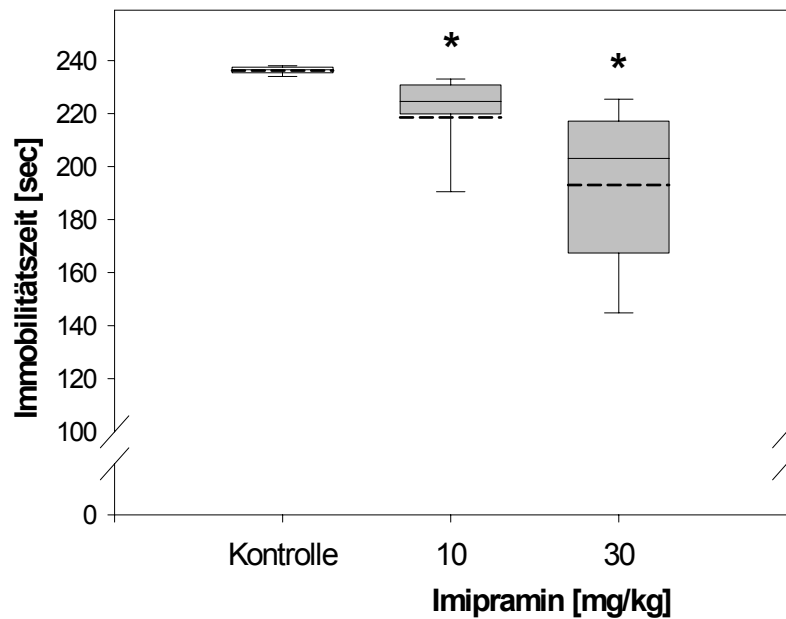
Im weiteren Verlauf wurden drei Adenosinrezeptor-Antagonisten auf eine potenzielle antidepressive Wirkung in diesem Tiermodell der Depression hin überprüft. Dazu wurden bei den Adenosinrezeptor-Antagonisten Dosierungen ausgewählt, die einen deutlichen Effekt in den zuvor dargestellten Katalepsie-Versuchen zeigten. Der durch die Adenosinrezeptor-Antagonisten in diesem Modell erzielte Einfluss auf die Immobilitätszeit wurde mit dem der beiden Standardsubstanzen verglichen.

Die Ergebnisse der Schwimmversuche sind als Immobilitätszeit [sec] (Median mit der 25. / 75. Perzentile) graphisch dargestellt (siehe Abb. 19-23). Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe bzw. innerhalb der eingesetzten Dosierungen sind mit entsprechenden Symbolen gekennzeichnet.

### *3.2.2.1 Wirkung von Standardsubstanzen im Forced Swim Test*

#### Wirkung von Imipramin im Forced Swim Test an der Maus

Die Immobilitätszeit [sec] wurde durch das trizyklische Antidepressivum Imipramin dosisabhängig und signifikant gegenüber der vehikelbehandelten Kontrollgruppe reduziert. Die mit Imipramin behandelten Mäuse (n=12 je Dosierungsgruppe) zeigten im Vergleich zu der Kontrollgruppe (n=12) eine Stunde nach Substanzapplikation sowohl in der hohen (30 mg/kg KGW i.p.) als auch in der niedrigen Dosierungsgruppe (10 mg/kg KGW i.p.) deutlich gesteigerte aktive Schwimmbewegungen. So lag die Immobilitätszeit in der Kontrollgruppe bei 236,6 [235,4 / 237,5] sec, während die Immobilitätszeit in der niedrigen Dosierung 224,6 [219,9 / 230,8] sec betrug und in der hohen Dosierung deutlich niedriger bei 203,1 [167,4 / 217,2] sec lag. Die Immobilitätszeit konnte durch Behandlung mit Imipramin im Vergleich zur Kontrollgruppe um 5,1 % in der niedrigen und 14,2 % in der hohen Dosierungsgruppe reduziert werden. Zwischen den beiden eingesetzten Dosierungen konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden.



**Abb. 19:** Wirkung von Imipramin auf die Immobilitätszeit im Schwimmtest Maus

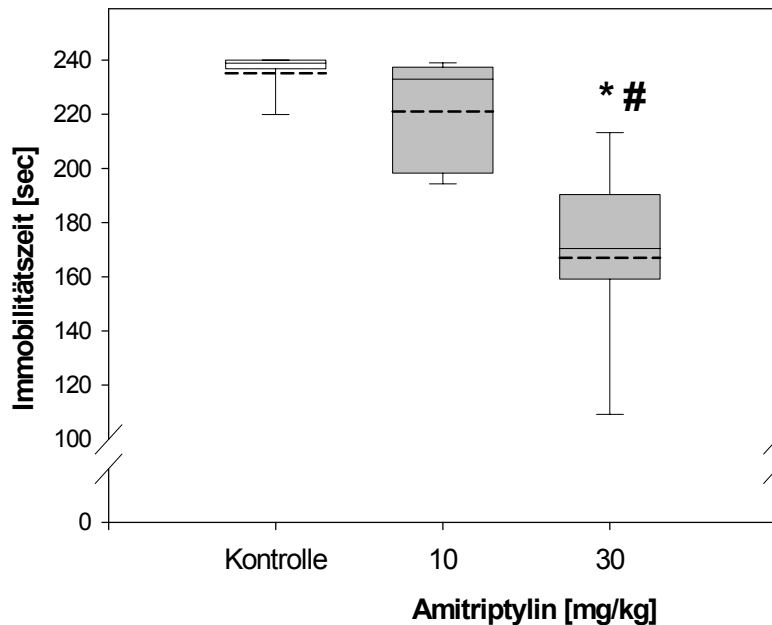
Es wurden zwei Dosierungen Imipramin eingesetzt (10 und 30 mg/kg KGW i.p. 60 min prä; n=12). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (0,9 % NaCl; n=12) behandelt. Die Versuchsdauer betrug insgesamt sechs Minuten, von denen die letzten vier Minuten aufgezeichnet und ausgewertet wurden. Die Werte sind als box plots mit dem Median und der 25./75. Perzentile dargestellt. Der Mittelwert ist zusätzlich als gestrichelte Linie dargestellt.

\*:  $p < 0,05$  vs. die Kontrollgruppe  
(One Way ANOVA on Ranks mit anschließendem Dunn's Test)

#### Wirkung von Amitriptylin im Forced Swim Test an der Maus

Wie Imipramin verringerte auch die zweite in diesem Modell eingesetzte Standardsubstanz, das trizyklische Amitriptylin, die Immobilitätszeit [sec] der Mäuse dosisabhängig. Signifikant gegenüber der vehikelbehandelten Kontrollgruppe wurde die Immobilitätszeit allerdings nur in der hohen Dosierung (30 mg/kg KGW i.p.) reduziert. Die mit Amitriptylin behandelten Mäuse zeigten im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine Stunde nach Substanzapplikation bei dieser Dosierung deutlich gesteigerte aktive Schwimmbewegungen. So lag die Immobilitätszeit in der Kontrollgruppe bei 238,9 [236,8 / 240,0] sec während die Immobilitätszeit der hohen Dosierung mit 170,5 [159,1 / 190,4] sec deutlich unter der Kontrollgruppe lag (Reduktion der Immobilitätszeit um 28,6 %). Die niedrige Dosierung (10 mg/kg KGW i.p.) wies mit einer Immobilitätszeit von 233,0 [198,3 / 237,4] sec einen im Vergleich zur Kontrollgruppe lediglich geringgradig reduzierten Wert auf. Die beiden eingesetzten Dosierungen unterschieden sich signifikant voneinander. Bevor die Tiere der hohen Dosierung in das Wasserglas eingesetzt wurden, zeigten 5 von 12 Tieren in ihrem Heimkäfig herabgesetzte Aktivität und teilweise Seitenlage. Diese Beobachtungen waren jedoch während des eigentlichen

Schwimmtests nicht mehr zu sehen.



**Abb. 20:** Wirkung von Amitriptylin auf die Immobilitätszeit im Schwimmtest Maus

Es wurden zwei Dosierungen Amitriptylin eingesetzt (10 und 30 mg/kg KGW i.p. 60 min prä; n=12). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (0,9 % NaCl; n=12) behandelt. Die Versuchsdauer betrug insgesamt sechs Minuten, von denen die letzten vier Minuten aufgezeichnet und ausgewertet wurden.

Die Werte sind als box plots mit dem Median und der 25./75. Perzentile dargestellt. Der Mittelwert ist zusätzlich als gestrichelte Linie dargestellt.

\*:  $p < 0,05$  vs. Kontrollgruppe

#:  $p < 0,05$  30 mg vs. 10 mg

(One Way ANOVA on Ranks mit anschließendem Dunn's Test)

### 3.2.2.2 Wirkung von Adenosinrezeptor-Antagonisten im Forced Swim Test

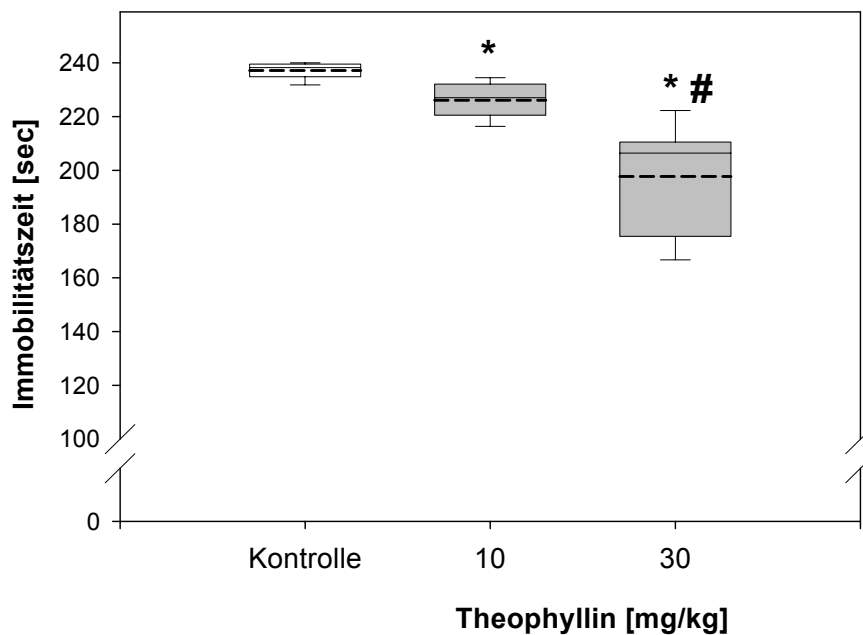
Der Parameter Immobilitätszeit, dessen Reduktion beim *Forced Swim Test* mit einem antidepressiven Effekt korreliert wird, ist neben eindeutig antidepressiven Effekten auch durch Veränderungen der lokomotorischen Aktivität zu beeinflussen. Um diesem Mangel an Sensitivität entgegenzuwirken und falsch positive Ergebnisse durch reine Steigerung der lokomotorischen Aktivität zu vermeiden, wurde vor der Durchführung der Schwimmtests in unserem Labor der Einfluss der KW-6002 und der elbion Substanz A auf die lokomotorische Aktivität bei Mäusen untersucht. Dazu wurden die Substanzen Mäusen in verschiedenen Dosierungen (Dosisbereich von 30-100 mg/kg KGW) appliziert und die lokomotorische Aktivität der Mäuse im *Open Field* (TSE Deutschland) über einen Zeitraum von 60 min beobachtet. Bei den im Schwimmtest eingesetzten Dosierungen dieser beiden Adenosin- $A_{2A}$  Rezeptor-Antagonisten ergab sich jedoch kein signifikanter Effekt im Hinblick auf eine Steigerung der lokomotorischen Aktivität (interne Berichte,

elbion AG; Ergebnisse nicht dargestellt).

Der Einfluss der in der Arbeit verwendeten Adenosinrezeptor-Antagonisten auf die Immobilitätszeit sollte mit dem eindeutig antidepressiven Effekt der zuvor eingesetzten Standardsubstanzen Imipramin und Amitriptylin verglichen werden.

#### Wirkung von Theophyllin im Forced Swim Test an der Maus

Theophyllin wurde in den Dosierungen 10 und 30 mg/kg KWG p.o. (Vehikel: HEC) eingesetzt. Die Prämedikationszeit betrug dabei 90 min. Die Immobilitätszeit [sec] der Mäuse wurde durch Theophyllin dosisabhängig und signifikant gegenüber der Kontrollgruppe reduziert. Die Kontrollgruppe wies eine Immobilitätszeit von 238,3 [234,9 / 239,5] sec auf, während die Immobilitätszeit in der niedrigen Dosierung (10 mg/kg KWG) 227,1 [220,6 / 232,1] sec und in der hohen Dosierung (30 mg/kg KWG) 206,5 [175,5 / 210,6] sec betrug. Damit unterschieden sich die beiden Dosierungen signifikant von der Kontrollgruppe. Durch die Behandlung mit Theophyllin wurde die Immobilitätszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe um 4,7 % in der niedrigen und 13,3 % in der hohen Dosierungsgruppe reduziert. Der Unterschied zwischen den beiden Dosierungsgruppen erwies sich ebenfalls als signifikant. Vereinzelt Tiere der hohen Dosierungsgruppen zeigten bereits vor dem Einsetzen in das Wasserglas im Heimkäfig eine erhöhte lokomotorische Aktivität. Diese Tiere liefen ab 60 min nach der Substanzapplikation im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe und der niedrigen Dosierungsgruppe vermehrt im Käfig umher und zeigten darüber hinaus eine geringgradig erhöhte Aggressivität untereinander.



**Abb. 21:** Wirkung von Theophyllin auf die Immobilitätszeit im Schwimmtest Maus

Es wurden zwei Dosierungen Theophyllin eingesetzt (10 und 30 mg/kg KGW p.o. 90 min prä; n=12). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=12) behandelt. Die Versuchsdauer betrug insgesamt sechs Minuten, von denen die letzten vier Minuten aufgezeichnet und ausgewertet wurden.

Die Werte sind als box plots mit dem Median und der 25./75. Perzentile dargestellt. Der Mittelwert ist zusätzlich als gestrichelte Linie dargestellt.

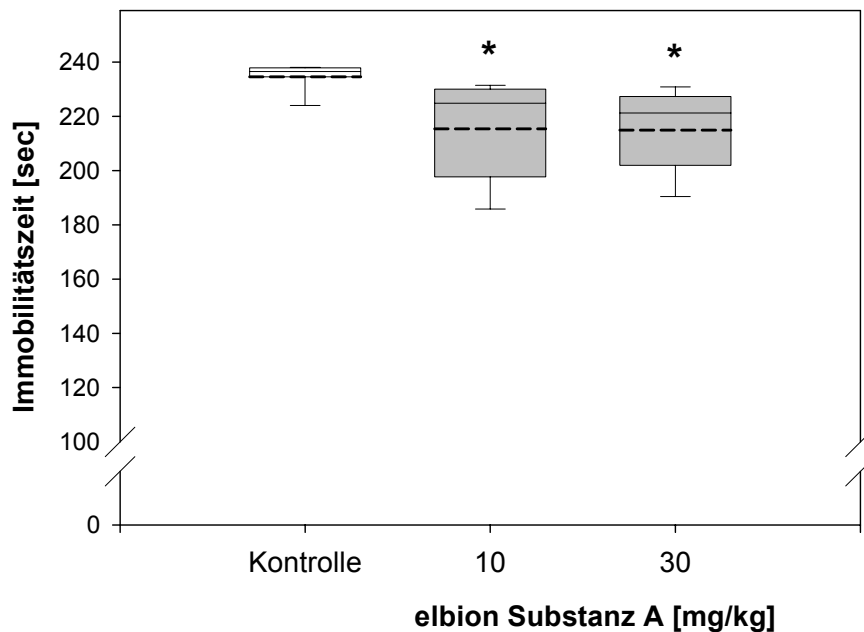
\*:  $p < 0,05$  vs. Kontrollgruppe

#:  $p < 0,05$  10 mg vs. 30 mg Theophyllin

(One Way ANOVA on Ranks mit anschließendem Dunn's Test)

#### Wirkung von elbion Substanz A im Forced Swim Test an der Maus

Die Immobilitätszeit [sec] wurde durch die elbion Substanz A sowohl bei 10 mg/kg KGW p.o. als auch bei 30 mg/kg KGW p.o. signifikant gegenüber der vehikelbehandelten Kontrollgruppe reduziert. Die substanzbehandelten Mäuse zeigten im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine Stunde nach Substanzapplikation in beiden Dosierungsgruppen ein deutlich gesteigertes aktives Schwimmverhalten. So lag die Immobilitätszeit in der Kontrollgruppe bei 236,5 [234,6 / 237,8] sec, während die Immobilitätszeit in der niedrigen Dosierung 224,9 [197,7 / 230,0] sec betrug und damit um 4,9 % reduziert war. In der hohen Dosierung wurde die Immobilitätszeit im Vergleich zur Kontrolle um 6,5 % erniedrigt. Die Immobilitätszeit der hohen Dosierung (221,2 [201,9 / 227,4].sec) lag damit nur geringfügig niedriger als bei der niedrigen Dosierung. Zwischen den beiden eingesetzten Dosierungen konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden.



**Abb. 22:** Wirkung von elbion Substanz A auf die Immobilitätszeit im Schwimmtest Maus

Es wurden zwei Dosierungen elbion Substanz A eingesetzt (10 und 30 mg/kg KGW p.o. 2h prä; n=12). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=12) behandelt. Die Versuchsdauer betrug insgesamt sechs Minuten, von denen die letzten vier Minuten aufgezeichnet und ausgewertet wurden.

Die Werte sind als box plots mit dem Median und der 25./75. Perzentile dargestellt. Der Mittelwert ist zusätzlich als gestrichelte Linie dargestellt.

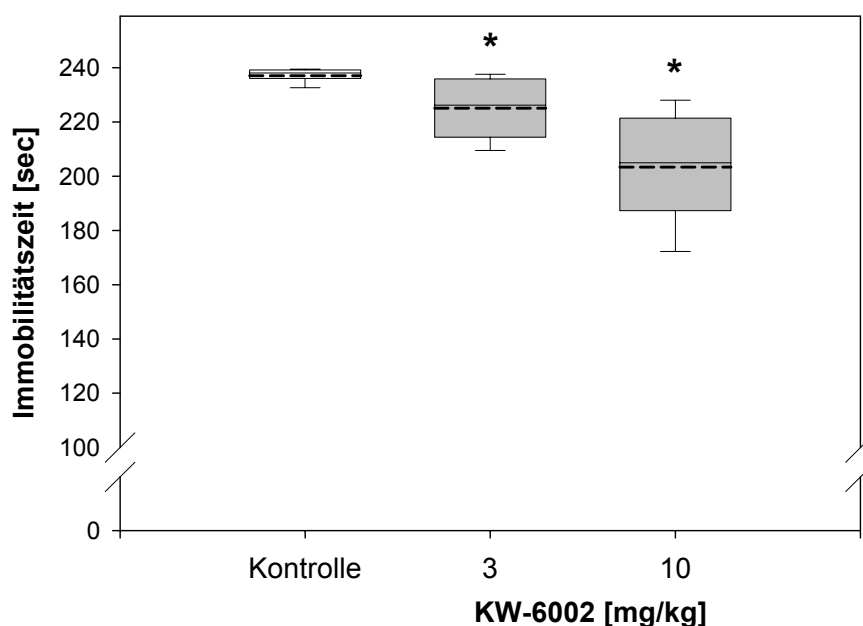
\*:  $p < 0,05$  vs. die Kontrollgruppe

(One Way ANOVA on Ranks mit anschließendem Dunn's Test)

#### Wirkung von KW-6002 im Forced Swim Test an der Maus

Die Immobilitätszeit [sec] wurde durch KW-6002 dosisabhängig und signifikant gegenüber der vehikelbehandelten Kontrollgruppe reduziert. Die substanzbehandelten Mäuse zeigten im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine Stunde nach Substanzapplikation in beiden Dosierungsgruppen (3 und 10 mg/kg KGW p.o.) ein deutlich gesteigertes aktives Schwimmverhalten. So lag die Immobilitätszeit in der Kontrollgruppe bei 238,1 [236,1 / 239,2] sec, während die Immobilitätszeit in der niedrigen Dosierung 226,2 [214,4 / 235,9] sec betrug (Reduktion der Immobilität im Vergleich zur Kontrollgruppe um 5,0 %) und in der hohen Dosierung deutlich niedriger bei 205,0 [187,3 / 221,4] sec lag (Reduktion um 13,9 %). Zwischen den beiden eingesetzten Dosierungen konnte jedoch kein signifikanter Unterschied beobachtet werden (siehe Abb. 23). Bevor die Tiere der hohen Dosierung in das Wasserglas eingesetzt wurden, zeigten die Tiere nach der Substanzapplikation im Heimkäfig Verhaltensauffälligkeiten. So waren die Tiere bei 10 mg/kg erregt, bissig und schlugen mit ihren Schwänzen und sprangen im Käfig umher. Diese Verhaltensauffälligkeiten

waren bei den Tieren der niedrigen Dosierung und den Tieren der Kontrollgruppe nicht zu beobachten.



**Abb. 23:** Wirkung von KW-6002 auf die Immobilitätszeit im Schwimmtest Maus

Es wurden zwei Dosierungen KW-6002 eingesetzt (3 und 10 mg/kg KGW p.o. 60 min prä; n=12). Die Kontrolltiere wurden mit dem Vehikel (HEC; n=12) behandelt. Die Versuchsdauer betrug insgesamt sechs Minuten, von denen die letzten vier Minuten aufgezeichnet und ausgewertet wurden.

Die Werte sind als box plots mit dem Median und der 25./75. Perzentile dargestellt. Der Mittelwert ist zusätzlich als gestrichelte Linie dargestellt.

\*:  $p < 0,05$  vs. Kontrollgruppe

(One Way ANOVA on Ranks mit anschließendem Dunn's Test)

### 3.2.3 Olfaktorische Bulbektomie an der Ratte

In der nachfolgend beschriebenen Validierungsphase sollte der Einfluss von Referenzsubstanzen und den drei in dieser Arbeit verwendeten Adenosinrezeptor-Antagonisten auf das zuvor erfolgreich etablierte komplexe Tiermodell der Depression untersucht werden (ausführliche Beschreibung zur Etablierungsphase unter 3.1.3.3). Dazu wurde der Substanzeinfluss auf die lokomotorische Aktivität im *Open Field* überprüft. Vor der Durchführung der Hauptversuche wurde die Aktivität der Tiere in einem Vorversuch (Pre-Test) bewertet. Die Pre-Tests der drei Hauptversuchsgruppen sind im Folgenden nicht einzeln dargestellt. Wie bereits zuvor beschrieben dienten sie zum einen durch den Nachweis einer signifikanten Hyperaktivität der bulbektomierten Tiere in den drei Hauptversuchsgruppen der Modellbestätigung, zum anderen dienten sie der Zusammenstellung randomisierter Behandlungsgruppen für die Hauptversuche.



### 3.2.3.1 *Bestimmung der lokomotorischen Aktivität im Open Field vor Substanzeinfluss (Pre-Test)*

Die jeweiligen Hauptversuchsgruppen wurden drei Wochen post operationem im sog. Pre-Test im *Open Field* auf ihre lokomotorische Aktivität hin getestet. Ziel dieses Pre-Tests war der Nachweis einer signifikant gesteigerten lokomotorischen Aktivität der bulbektomierten Tiere. In allen drei Hauptversuchsgruppen unterschieden sich die bulbektomierten Tiere in ihrer lokomotorischen Aktivität deutlich von den scheinoperierten Tieren. Der Grad des signifikanten Unterschiedes zwischen den bulbektomierten und scheinoperierten Tieren variierte dabei geringgradig innerhalb der drei Hauptversuchsgruppen. Alle drei Gruppen zusammengenommen ergab die durchschnittliche aktive Zeit der bulbektomierten Tiere im Pre-Test  $\approx 116$  sec, die der scheinoperierten Tiere lag mit  $\approx 98$  sec deutlich darunter. Die prozentuale Steigerung der lokomotorischen Aktivität bulbektomierter Tiere vs. scheinoperierter Tiere reichte dabei von 11,9 % bis 26,1 % (siehe dazu auch Tab. 28, Anhang). Ausgehend von den Pre-Test Ergebnissen im *Open Field* wurden randomisierte Behandlungsgruppen zusammengestellt, so dass im Mittel eine gleichmäßige Aktivität bei den jeweiligen Behandlungsgruppen (Substanz resp. Vehikel) vor Beginn der Behandlung vorlag. Erkrankte Tiere oder bulbektomierte Tiere, die in diesem Pre-Test durch eine drastisch herabgesetzte Aktivität auffällig wurden, wurden von der weiteren Versuchsdurchführung ausgeschlossen (Ausreißerkontrolle, siehe dazu 3.1.3.4). Diese Tiere wurden im Anschluss an den Pre-Test auf die Vollständigkeit der olfaktorischen Bulbektomie hin überprüft. In der Mehrzahl waren bei diesen im Pre-Test auffälligen hypolokomotorischen bulbektomierten Ratten Bulbusreste oder eine Schädigung des präfrontalen Cortex zu beobachten. Insgesamt wurden in den drei Hauptversuchsgruppen jedoch nur sehr wenige Tiere selektiert und damit von der weiteren Versuchsdurchführung ausgeschlossen (siehe Tab. 27, Anhang).

### 3.2.3.2 *Bestimmung der lokomotorischen Aktivität im Open Field unter Substanzeinfluss (Hauptversuche)*

Ziel der Hauptversuche war die Überprüfung einer potenziellen antidepressiven Wirkung von den im Schwimmtest antidepressiv wirksamen Adenosinrezeptor-Antagonisten auf die Hyperaktivität bulbektomierter Ratten im *Open Field*. Analog zum Schwimmtest wurden Imipramin und Amitriptylin als Standardsubstanzen ausgewählt, die zu einem eindeutig antidepressiven Effekt in Form einer Reduktion der Hyperaktivität bulbektomierter Tiere in dem Modell der Olfaktorischen Bulbektomie führen sollten. Die Dosierungen der beiden Standardsubstanzen orientierte sich dabei an Literaturangaben (KELLY et al. 1997; LEONARD 1984; STOCKERT et al. 1988).

Im weiteren Verlauf wurde die Wirkung von elbion Substanz A, KW-6002 und

Theophyllin in diesem Tiermodell der Depression untersucht. Die Dosierungen dieser drei Testsubstanzen wurde ausgehend von den Ergebnissen der zuvor durchgeführten Katalepsie-Versuche festgesetzt. Der Einfluss der Adenosinrezeptor-Antagonisten auf die lokomotorische Aktivität sollte mit dem eindeutig antidepressiven Effekt der beiden Standardsubstanzen verglichen werden, um auf diese Weise ein Aussage über ein antidepressives Potential dieser Substanzklasse zu treffen.

Im Anschluss an die Durchführung des Pre-Tests, der zur Selektion und Randomisierung der jeweiligen Behandlungsgruppen diente, wurde mit der subchronischen Behandlung der operierten Tiere begonnen. Am jeweils 15. Behandlungstag wurde die lokomotorische Aktivität der Tiere erneut im *Open Field* getestet (= 1. Re-Test). Nach einer zweiwöchigen Auswaschphase wurde in zwei der drei Hauptversuchsgruppen eine zweite Behandlungsperiode durchgeführt, nach deren Abschluss ebenfalls die lokomotorische Aktivität im *Open Field* gemessen wurde (= 2. Re-Test).

Der Parameter Aktivität [sec] der Verhaltensuntersuchungen im *Open Field* ist im folgenden graphisch als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardfehler (SEM) dargestellt. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe bzw. innerhalb der eingesetzten Dosierungen sind in den nachfolgenden Abbildungen mit den entsprechenden Symbolen gekennzeichnet. Ein signifikanter Unterschied in der Vehikelgruppe (in den Abbildungen gekennzeichnet durch das Symbol #) zwischen den scheinoperierten und den bulbektomierten Tieren ist dabei modellbestätigend als Nachweis der charakteristischerweise durch die Olfaktorische Bulbektomie induzierte Hyperaktivität bulbektomierter Tiere zu verstehen. Antidepressiv wirksame Substanzen führen in diesem Modell zu einer Reduktion der Hyperaktivität bulbektomierter Tiere, so dass ein Unterschied zwischen den mit Substanz resp. Vehikel behandelten bulbektomierten Tieren auf einen antidepressiven Effekt der jeweils eingesetzten Substanz hinweist (in den Abbildungen gekennzeichnet durch das Symbol +). Die lokomotorische Aktivität der mit einer antidepressiv wirksamen Substanz behandelten bulbektomierten Tiere sollte sich demzufolge der Aktivität der scheinoperierten Tiere annähern. Durch den Vergleich der Aktivität der mit Substanz resp. Vehikel behandelten scheinoperierten Tiere können Hinweise auf sedierende bzw. antriebssteigernde Einflüsse durch die eingesetzte Substanz gewonnen werden. Nach Literaturangaben (KELLY et al. 1997; LEONARD 1984) sollte die Behandlung mit in diesem Modell antidepressiv wirksamen Substanzen nicht zu einer Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität scheinoperierter Tiere führen.

Zur besseren Darstellung sind die Ergebnisse der lokomotorischen Aktivität im *Open Field* nicht nach zeitlicher Abfolge der Versuche sondern nach Mechanismen aufgeführt.

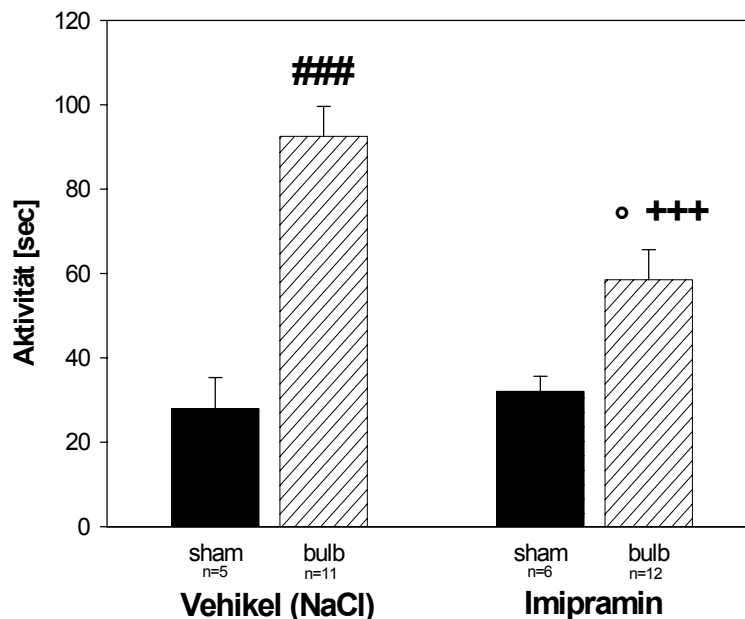
So wird zuerst die Wirkung der beiden eingesetzten Standardsubstanzen und nachfolgend die Wirkung der drei Adenosinrezeptor-Antagonisten in diesem Modell der Depression angeführt.

### **Wirkung von Standardsubstanzen auf die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Ratten**

#### Wirkung von Imipramin auf die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Ratten

Das in der Pharmakotherapie der Depression beim Menschen verwendete TCA Imipramin (10 mg/kg KGW i.p. 1 x täglich, 15 Tage lang) wurde in der ersten Hauptversuchsgruppe in deren zweiten Behandlungsphase eingesetzt (siehe Tab. 12). Die im Pre-Test beobachtete Hyperaktivität der bulbektomierten Ratten konnte durch die Behandlung mit Imipramin hochsignifikant reduziert werden ( $F$  (OP x Behandlung) = 6,06;  $p < 0,001$ ) und damit ein deutlicher antidepressiver Effekt dieser Referenzsubstanz in diesem Modell demonstriert werden.

Abb. 24 zeigt das Ergebnis der dreiminütigen Lokomotionsmessung nach fünfzehntägiger Behandlung mit Imipramin resp. Vehikel (0,9 % NaCl). Die vehikelbehandelten bulbektomierten Ratten waren innerhalb der Messung  $92,5 \pm 7,1$  sec aktiv, während die mit Imipramin behandelten bulbektomierten Tiere eine hochsignifikant geringere Aktivität von  $58,5 \pm 7,1$  sec aufwiesen ( $p < 0,001$ ) (Reduktion der lokomotorischen Aktivität um 36,8 %). Innerhalb der Substanzgruppe unterschieden sich die bulbektomierten Ratten nur noch wenig von den scheinoperierten Ratten (sham:  $32,1 \pm 3,6$  sec,  $p = 0,017$ ). Innerhalb der Vehikelgruppe unterschieden sich die beiden Operationsgruppen wie im Pre-Test jedoch weiterhin hochsignifikant voneinander (bulb:  $92,5 \pm 7,1$  sec vs. sham:  $28,0 \pm 7,4$  sec,  $p < 0,001$ ). Die Behandlung mit Imipramin resp. Vehikel führte bei den scheinoperierten Tieren zu keinem signifikanten Effekt, die lokomotorische Aktivität war hier annähernd gleich niedrig (Imipramin:  $32,1 \pm 3,6$  sec vs. Vehikel:  $28,0 \pm 7,4$  sec,  $p = 0,748$ ).



**Abb. 24:** Olfaktorische Bulbektomie: Lokomotorische Aktivität im Open Field nach Behandlung mit Imipramin

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit Imipramin (10 mg/kg KGW i.p. 1 x täglich) resp. Vehikel (0,9 % NaCl) behandelt. Innerhalb der Vehikelgruppe musste die Behandlung einer bulbektomierten (bulb) Ratte mit herabgesetztem Allgemeinbefinden frühzeitig beendet werden. Die Messung der lokomotorischen Aktivität im modifizierten Open Field wurde für drei Minuten durchgeführt (2. Re-Test). Die Ergebnisse sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt. Aus technischen Gründen konnte die Aufzeichnung einer scheinoperierten (sham) Ratte der Vehikelgruppe nicht ausgewertet werden. Eine Ratte wurde aufgrund unvollständiger Bulbektomie aus der Versuchsauswertung ausgeschlossen.

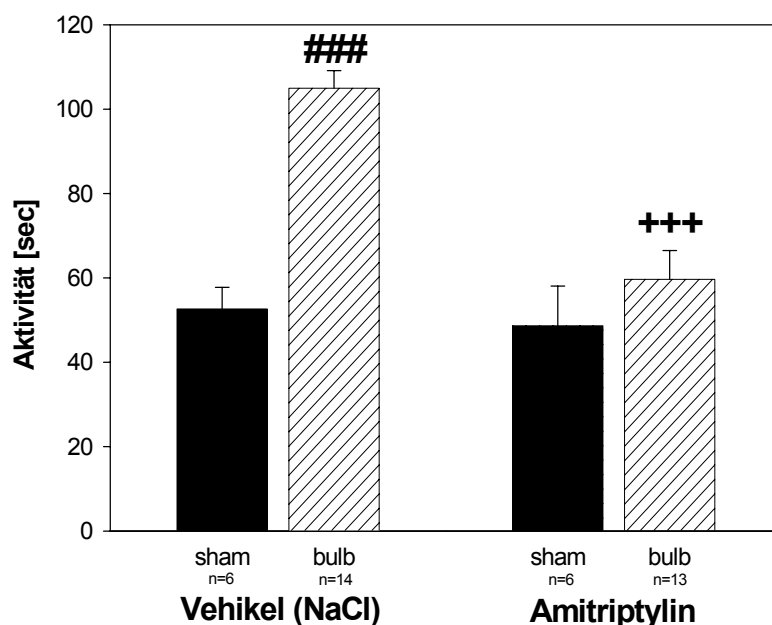
### :  $p < 0,001$  bulb Vehikel vs. sham Vehikel  
 + + + :  $p < 0,001$  bulb Imipramin vs. bulb Vehikel  
 ° :  $p < 0,05$  bulb Imipramin vs. sham Imipramin  
 (Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

#### Wirkung von Amitriptylin auf die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Ratten

Das als Antidepressivum klinisch verwendete Amitriptylin wurde in einer Dosierung von 10 mg/kg KGW i.p. über einen Zeitraum von 15 Tagen den Tieren der zweiten Hauptversuchsgruppe 1 x täglich in der ersten Behandlungsperiode verabreicht (siehe Tab. 12). Wie zuvor bereits bei Imipramin gezeigt, resultierte die Behandlung mit Amitriptylin in einer hochsignifikanten Reduktion der Hyperaktivität bulbektomierter Ratten ( $F$  (OP x Behandlung) = 8,96;  $p < 0,001$ ). Damit konnte auch für diese zweite Standardsubstanz ein deutlicher antidepressiver Effekt in diesem Modell gezeigt werden.

In der Abb. 25 ist das Ergebnis der dreiminütigen Lokomotionsmessung nach fünfzehntägiger Behandlung mit Amitriptylin resp. Vehikel (0,9 % NaCl) dargestellt. Die vehikelbehandelten bulbektomierten Ratten waren innerhalb der Messung  $105,0 \pm 4,2$

sec aktiv, während die mit Amitriptylin behandelten bulbektomierten Tiere eine hochsignifikant geringere Aktivität von  $59,7 \pm 6,8$  sec aufwiesen ( $p < 0,001$ ) (Reduktion der lokomotorischen Aktivität um 43,1 %). Die behandelten bulbektomierten und scheinoperierten Ratten unterschieden sich nur geringfügig und nicht signifikant in ihrer Aktivität (bulb:  $59,7 \pm 6,8$  sec vs. sham:  $48,7 \pm 9,4$  sec,  $p = 0,270$ ). Innerhalb der Vehikelgruppe unterschieden sich die beiden Operationsgruppen wie im Pre-Test jedoch weiterhin hochsignifikant voneinander (bulb:  $105,0 \pm 4,2$  sec vs. sham:  $52,6 \pm 5,1$  sec,  $p < 0,001$ ). Die Behandlung mit Amitriptylin resp. Vehikel führte bei den scheinoperierten Tieren zu keinem signifikanten Effekt, die lokomotorische Aktivität war annähernd gleich niedrig (Imipramin:  $32,1 \pm 3,6$  sec vs. Vehikel:  $28,0 \pm 7,4$  sec,  $p = 0,748$ ).



**Abb. 25:** Olfaktorische Bulbektomie: Locomotorische Aktivität im Open Field nach Behandlung mit Amitriptylin

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit Amitriptylin (10 mg/kg KGW i.p. 1 x täglich) resp. Vehikel (0,9 % NaCl) behandelt. Die Messung der lokomotorischen Aktivität im modifizierten Open Field wurde für drei Minuten durchgeführt (1. Re-Test). Die Ergebnisse sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt. Von den insgesamt 28 bulbektomierten (bulb) Tieren wurde ein Tier aufgrund unvollständiger Bulbektomie von der Auswertung ausgeschlossen.

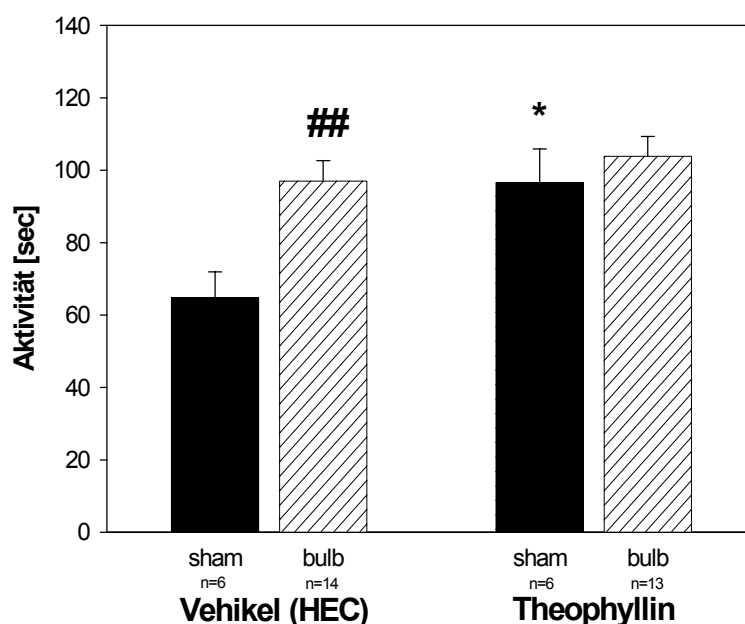
### :  $p < 0,001$  bulb Vehikel vs. sham Vehikel  
 +++ :  $p < 0,001$  bulb Amitriptylin vs. bulb Vehikel  
 (Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

## **Wirkung von Adenosinrezeptor-Antagonisten auf die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Ratten**

### Wirkung von Theophyllin auf die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Ratten

Der unselektive Adenosinrezeptor-Antagonist Theophyllin wurde in der dritten Hauptversuchsgruppe in der ersten Behandlungsphase eingesetzt (siehe Tab. 12). Die subchronische Behandlung mit Theophyllin (30 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich, 15 Tage lang) resultierte im Gegensatz zu den beiden zuvor dargestellten Standardsubstanzen nicht in einer gesenkten lokomotorischen Aktivität der bulbektomierten Tiere. Es deutete sich im Gegenteil eine leichte Aktivitätssteigerung an. Dieser Effekt erreichte jedoch keine statistische Signifikanz ( $F$  (OP x Behandlung) = 3,1;  $p=0,391$ ) (Vehikel:  $97,0 \pm 5,6$  sec vs. Theophyllin:  $103,8 \pm 5,5$  sec, Steigerung der lokomotorischen Aktivität um 7,0 %). Signifikant wurde der Effekt hingegen bei den scheinoperierten Tieren, die unter Einfluss von Theophyllin aktiver waren als unter Vehikeleinfluss ( $p=0,011$ ) (Steigerung der lokomotorischen Aktivität um 49,1 %).

Abb. 26 stellt die Ergebnisse der dreiminütigen Lokomotionsmessung nach fünfzehntägiger Behandlung mit Theophyllin resp. Vehikel (HEC) dar. Innerhalb der Vehikelgruppe unterschieden sich die bulbektomierten Ratten analog zum Pre-Test signifikant von den vehikelbehandelten scheinoperierten Ratten (bulb:  $97,0 \pm 5,6$  sec vs. sham:  $64,8 \pm 7,2$  sec,  $p=0,003$ ). In der Substanzgruppe unterschieden sich die beiden Operationsgruppen nicht voneinander. Die Aktivität der bulbektomierten Tiere lag hier nur gering über der der scheinoperierten Tiere (bulb:  $103,8 \pm 5,5$  sec vs. sham:  $96,6 \pm 9,3$  sec,  $p=0,480$ ).



**Abb. 26:** Olfaktorische Bulbektomie: Lokomotorische Aktivität im Open Field nach Behandlung mit Theophyllin

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit Theophyllin (30 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich) resp. Vehikel (HEC) behandelt. Die Messung der lokomotorischen Aktivität im modifizierten Open Field wurde für drei Minuten durchgeführt (1. Re-Test). Die Ergebnisse sind als MW ± SEM dargestellt. Aufgrund schlechten Allgemeinbefindens wurde ein bulbektomiertes (bulb) Tier der Substanzgruppe nicht in die Versuchsauswertung einbezogen.

## :  $p < 0,01$  bulb Vehikel vs. sham Vehikel

\* :  $p < 0,05$  sham Theophyllin vs. sham Vehikel

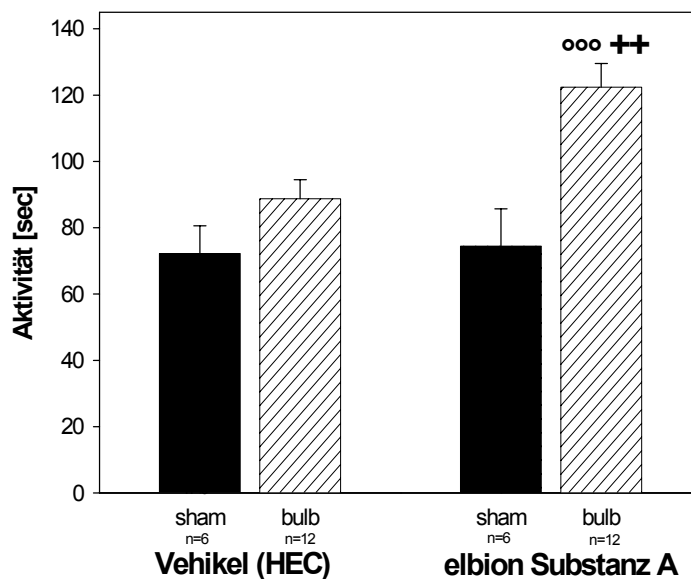
(Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

#### Wirkung von elbion Substanz A auf die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Ratten

Die subchronische Behandlung mit dem moderat selektiven Adenosinrezeptor-Antagonisten elbion Substanz A (30 mg/kg KGW p.o. 2 x täglich, 15 Tage lang) wurde in der ersten Hauptversuchsgruppe in der ersten Behandlungsphase eingesetzt (siehe Tab. 12). Ähnlich wie bei Theophyllin führte elbion Substanz A dabei auch nicht zu einer Senkung sondern zu einem signifikanten Anstieg der lokomotorischen Aktivität bei den bulbektomierten Tieren ( $F$  (OP x Behandlung) = 3,74;  $p=0,001$ ).

Abb. 27 stellt die dreiminütige Lokomotionsmessung nach fünfzehntägiger Behandlung mit elbion Substanz A resp. Vehikel (HEC) dar. Deutlich wird der lokomotorisch stimulierende Effekt der Substanz bei den bulbektomierten Tieren: Diese waren mit  $122,4 \pm 7,1$  sec signifikant stärker lokomotorisch aktiv als die bulbektomierte Vehikelgruppe ( $88,8 \pm 5,7$  sec) (Steigerung der lokomotorischen Aktivität um 37,8 %). Die Substanz hatte innerhalb der scheinoperierten Tiere hingegen keinen signifikanten antriebssteigernden Effekt, die Tiere unterschieden sich nur minimal in ihrer Aktivität

(Vehikel:  $72,2 \pm 8,4$  sec vs. elbion Substanz A:  $74,4 \pm 11,3$  sec). Im Gegensatz zum Pre-Test konnte in der Vehikelgruppe zwar ein deutlicher, aber kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den Operationsgruppen gemessen werden. Die Aktivität der vehikelbehandelten bulbektomierten Tiere lag jedoch immer noch deutlich über der der scheinoperierten Tiere. Dessen ungeachtet ist die in der Abb. 27 dargestellte Vehikelgruppe die einzige Gruppe, die sich im Hauptversuch nicht signifikant voneinander entscheidet.



**Abb. 27:** Olfaktorische Bulbektomie: Lokomotorische Aktivität im Open Field nach Behandlung mit der elbion Substanz A

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit elbion Substanz A (30 mg/kg KGW p.o. 2 x täglich) resp. Vehikel (HEC) behandelt. Die Messung der lokomotorischen Aktivität im modifizierten Open Field wurde für drei Minuten durchgeführt (1. Re-Test). Die Ergebnisse sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt. Von den insgesamt 26 bulbektomierten Tieren wurden zwei Tiere aufgrund unvollständiger Bulbektomie von der Auswertung ausgeschlossen.

++ :  $p < 0,01$  bulb elbion Substanz A vs. bulb Vehikel

ooo :  $p < 0,001$  bulb elbion Substanz A vs. sham elbion Substanz A

(Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

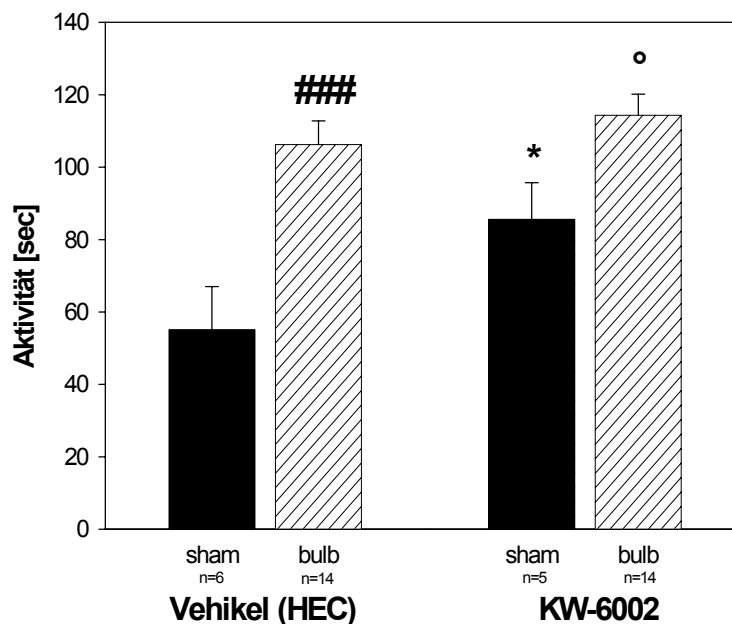
#### Wirkung von KW-6002 auf die lokomotorische Aktivität bulbektomierter Ratten

Auch die Behandlung mit dem selektiven Adenosin- $A_{2A}$  Rezeptor- Antagonisten KW-6002 (10 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich, über einen Zeitraum von 15 Tagen), die in der zweiten Hauptversuchsgruppe in der zweiten Behandlungsperiode durchgeführt wurde (siehe Tab. 12), führte wie die beiden zuvor getesteten Adenosinrezeptor-Antagonisten zu einem Anstieg und nicht zu einer Senkung der lokomotorischen Aktivität bei den bulbektomierten Tieren. Dieser lokomotorisch aktivierende Effekt erreichte in diesem Fall jedoch keine statistische Signifikanz ( $F$  (OP x Behandlung) = 1,7;  $p = 0,380$ ). Signifikant wurde der Effekt allerdings bei den scheinoperierten Tieren, die unter



Substanzeinwirkung aktiver waren als unter Vehikeleinfluss (Vehikel:  $55,1 \pm 11,9$  sec, KW-6002:  $85,6 \pm 10,1$  sec; Steigerung der lokomotorischen Aktivität um 55,4 %,  $p=0,044$ ).

Abb. 28 stellt die Ergebnisse der dreiminütigen Lokomotionsmessung nach fünfzehntägiger Behandlung mit KW-6002 resp. Vehikel (HEC) dar. Innerhalb der Vehikelgruppe unterschieden sich die bulbektomierten Ratten analog zum Pre-Test hochsignifikant von den vehikelbehandelten scheinoperierten Ratten (bulb:  $106,2 \pm 6,6$  sec vs. sham:  $55,1 \pm 11,9$  sec,  $p<0,001$ ). Auch in der Substanzgruppe unterschieden sich die beiden Operationsgruppen signifikant voneinander, so wiesen die bulbektomierten Tiere im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren eine schwach signifikant höhere lokomotorische Aktivität auf (bulb:  $114,3 \pm 5,8$  sec vs. sham:  $85,6 \pm 10,1$  sec,  $p=0,028$ ) (Steigerung um 7,6 %).



**Abb. 28:** Olfaktorische Bulbektomie: Lokomotorische Aktivität im Open Field nach Behandlung mit KW-6002

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit KW-6002 (10 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich) resp. Vehikel (HEC) behandelt. Die Messung der lokomotorischen Aktivität im modifizierten Open Field wurde für drei Minuten durchgeführt (2. Re-Test). Die Ergebnisse sind als  $MW \pm SEM$  dargestellt. Aufgrund schlechten Allgemeinbefindens wurde ein scheinoperiertes (sham) Tier der Substanzgruppe nicht in die Versuchsauswertung einbezogen.

### :  $p<0,001$  bulb Vehikel vs. sham Vehikel

° :  $p<0,05$  bulb KW-6002 vs. sham KW-6002

\* :  $p<0,05$  sham KW-6002 vs. sham Vehikel

(Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

### 3.2.3.3 *Evaluierung des Lernvermögens im Two Compartment Passive Avoidance Test unter Substanzeinfluss*

In diesem Modell wird das konditionierte Lernvermögen von Tieren beurteilt. Tiere, die am ersten Tag durch negative Konditionierung in Form eines aversiven Stimulus gelernt haben, die dunkle Kammer der Testapparatur zu meiden, betreten diese Kammer am zweiten Versuchstag mit einer deutlich höheren Latenzzeit und verbringen deutlich mehr Zeit in der hellen, aversiven Kammer. Der maximale Lerneffekt liegt in diesem Modell bei 180 sec (= Gesamtdauer des Versuches). Tiere, die ein beeinträchtigtes Lernverhalten aufweisen, betreten die dunkle Kammer hingegen mit einer deutlich geringeren Latenzzeit. In der Etablierungsphase konnte Literaturangaben entsprechend ein reduziertes Lernvermögen der bulbektomierten Tiere gezeigt werden (siehe dazu 3.1.3.3 Abb. 10).

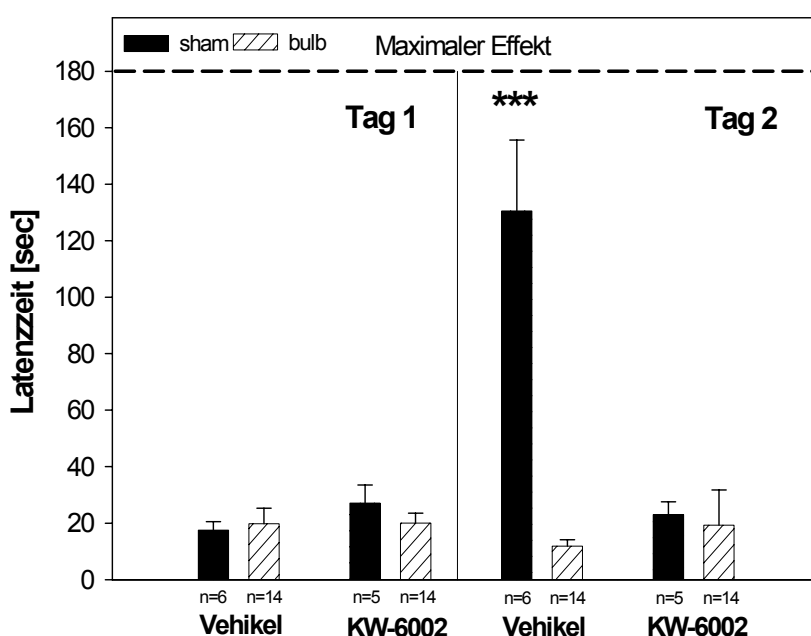
Antidepressiva wie Imipramin, Amitriptylin oder Fluoxetin erhöhen die Latenzzeit bulbektomierter Tiere am 2. Versuchstag, so dass die Latenzzeit sich der der scheinoperierten Tiere annähert. Diese Wirkung wird mit einem antidepressiven Effekt korreliert (CAIRNCROSS et al. 1979; KELLY et al. 1997; LEONARD 1984; VAN RIEZEN et al. 1977). In diesem Versuch sollte untersucht werden, inwieweit ein selektiver Adenosin-A<sub>2A</sub> Rezeptor-Antagonist sich auf das reduzierte Lernvermögen bulbektomierter Ratten auswirkt.

Der Versuch wurde in der zweiten Hauptversuchsgruppe während der Behandlungsperiode mit KW-6002 (10 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich) im Anschluss an die Messung der lokomotorischen Aktivität im *Open Field* durchgeführt. Die Tiere wurden an den beiden Versuchstagen zwei Stunden vor Beginn der Untersuchungen mit dem Vehikel (HEC) resp. mit der Substanz (KW-6002) behandelt.

Die Abb. 29 zeigt das Ergebnis des Versuches im *Two Compartment Passive Avoidance Test*. Am ersten Versuchstag konnte weder bezüglich der Operationsgruppen noch bezüglich der Behandlungsgruppen ein signifikanter Unterschied beobachtet werden (F Tag 1 (OP x Behandlung) = 0,7, p=0,410). Die niedrigste Latenzzeit wiesen die vehikelbehandelten scheinoperierten Tiere mit  $17,5 \pm 3,0$  sec auf. Die höchste Latenzzeit am ersten Versuchstag wiesen mit  $27,1 \pm 6,4$  sec die substanzbehandelten scheinoperierten Tiere auf. Die ähnlichen Latenzzeiten zwischen den beiden Behandlungsgruppen sprechen dafür, dass die in diesem Versuch eingesetzte Substanz keinen sedierenden Effekt ausübt, der sich in einer hohen Latenzzeit darstellen würde.

Am zweiten Versuchstag wurde einzig in der Gruppe der vehikelbehandelten scheinoperierten Tiere ein Lerneffekt in diesem Modell deutlich. Diese Gruppe erinnerte sich offenbar an den aversiven Stimulus in der dunklen Kammer am Vortag und betrat die dunkle Kammer mit einer Latenzzeit von  $130,5 \pm 25,1$  sec hochsignifikant später als

die drei restlichen Gruppen (F Tag 2 (OP x Behandlung) = 18,7,  $p < 0,001$ ). Dahingegen führte die eingesetzte Substanz nicht zu einer Verbesserung des beeinträchtigten Lernvermögens der bulbektomierten Tiere. So betraten die substanzbehandelten bulbektomierten Tiere die dunkle Kammer mit einer ähnlichen Latenzzeit wie die vehikelbehandelten bulbektomierten Tiere (vehikelbehandelt:  $11,9 \pm 2,3$  sec, substanzbehandelt:  $19,3 \pm 12,5$  sec). Die Latenzzeit der substanzbehandelten scheinoperierten Tiere lag mit  $23,0 \pm 4,5$  sec lediglich geringfügig über der Latenzzeit der bulbektomierten Tiere und deutlich unter der Latenzzeit der vehikelbehandelten scheinoperierten Tiere.



**Abb. 29:** Einfluss der Behandlung mit KW-6002 auf das Lernverhalten bulbektomierter Ratten im Two Compartment Passive Avoidance Test

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 17 Tagen mit KW-6002 (10 mg/kg p.o. 1 x täglich) resp. Vehikel (HEC) behandelt. Aufgrund schlechten Allgemeinbefindens wurde ein scheinoperiertes (sham) Tier der Substanzgruppe nicht in die Versuchsauswertung einbezogen. Die Ergebnisse sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt. Der maximale Effekt wird erreicht, wenn ein Tier die dunkle Kammer innerhalb der Beobachtungszeit (=180 sec) nicht betritt.

\*\*\*:  $p < 0,001$  sham Vehikel vs. bulb Vehikel Tag 2

°°°:  $p < 0,001$  sham Vehikel vs. sham KW-6002 Tag 2

(Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test)

#### 3.2.3.4 Gewichtsverlauf unter Einfluss von Adenosinrezeptor-Antagonisten

Die Körpergewichtsentwicklung unter Einfluss der drei eingesetzten Adenosin- $A_{2A}$  Rezeptor-Antagonisten sollte Hinweise auf deren pharmakologische Verträglichkeit liefern. Hierfür wurde das Körpergewicht der behandelten operierten Ratten während

des jeweiligen Behandlungszeitraumes täglich vor der Substanzapplikation erfasst.

In der Etablierungsphase der Olfaktorischen Bulbektomie konnte gezeigt werden, dass der OP-Status (scheinoperiert resp. bulbektomiert) einen deutlichen Effekt auf die Körpergewichtsentwicklung ausübt (siehe 3.1.3.3 Abb. 11). Aufgrund unterschiedlicher absoluter Ausgangsgewichte der scheinoperierten und der bulbektomierten Tiere zu Behandlungsbeginn (siehe Tab. 14) ist in den Abb. 30-32 die Entwicklung des relativen Körpergewichtes [%] dargestellt. Das Körpergewicht vor Behandlungsbeginn (= *pre-dose*) entspricht dabei 100 %. Die darauffolgenden Werte beziehen sich jeweils auf diesen Ausgangswert. Da neben einem zu untersuchenden substanzbedingten Effekt auf den Gewichtsverlauf auch ein Einfluss durch den jeweiligen Operationsstatus der Tiere (bulbektomiert resp. scheinoperiert) vorlag (siehe Abb. 11), sind die beiden Operationsgruppen separat dargestellt.

**Tab. 14:** Olfaktorische Bulbektomie: Körpergewicht [g] der Ratten vor Behandlungsbeginn, 4 Wochen post operationem

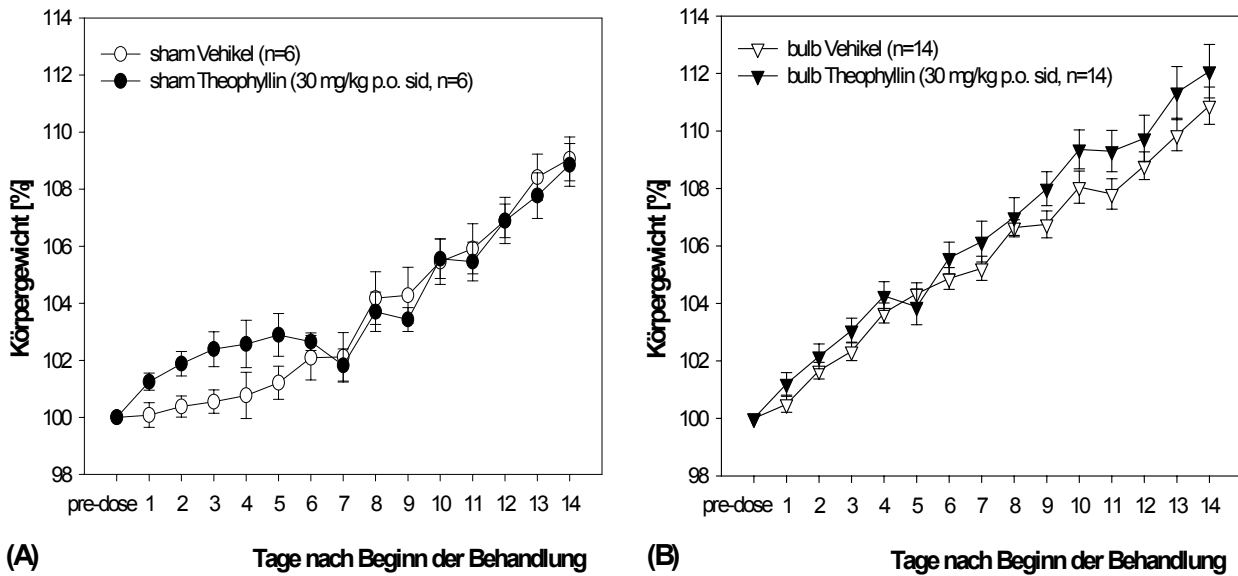
absolutes Körpergewicht [g] operierter Tiere vor Behandlungsbeginn		
	sham	bulb
<b>1. Hauptversuchsgruppe</b> ( <i>elbion Substanz A / Vehikel</i> )	n=12 330,6 ± 26,9	n=28 322,0 ± 28,2
<b>2. Hauptversuchsgruppe</b> ( <i>KW-6002 / Vehikel</i> )	n=12 349,3 ± 25,2	n=24 323,3 ± 24,3 **
<b>3. Hauptversuchsgruppe</b> ( <i>Theophyllin / Vehikel</i> )	n=12 364,3 ± 24,9	n=28 341,3 ± 25,5 *

Die Angaben beziehen sich auf das vor der ersten Behandlung mit dem jeweiligen Adenosinrezeptor-Antagonist resp. dem jeweiligen Vehikel (in allen drei Fällen handelte es sich dabei um HEC) festgestellte Körpergewicht der scheinoperierten (sham) bzw. bulbektomierten (bulb) Tiere der jeweiligen Hauptversuchsgruppe. Ausgehend von den Ergebnissen der lokomotorischen Aktivität im Pre-Test wurden randomisierte Behandlungsgruppen zusammengestellt. Die Werte in der Tabelle sind in g KGW angegeben (MW ± SD). Statistisch wurden die einzelnen Gruppen untereinander mit Hilfe eines student t-Tests untersucht (\*: p<0,05 \*\*:p<0,01 vs. sham).

#### Entwicklung des Körpergewichts von bulbektomierten Ratten unter Einfluss von Theophyllin

Die subchronische Behandlung mit Theophyllin (30 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich) führte weder bei den scheinoperierten Tieren noch den bulbektomierten Tieren zu signifikanten Unterschieden des relativen Körpergewichtes im Vergleich zur jeweiligen Vehikelgruppe. Die Behandlung mit Theophyllin führte bei den scheinoperierten Tieren innerhalb der

ersten Behandlungshälfte zu einem geringgradig höheren relativen Körpergewicht. Die Unterschiede zur Vehikelgruppe erreichten allerdings keine statistische Signifikanz (siehe Abb. 30 (A)). Bei den bulbektomierten Tieren entwickelte sich das relative Körpergewicht nahezu parallel zu dem der Vehikelgruppe. Dabei lag das Körpergewicht der Substanzgruppe nahezu durchgängig geringgradig oberhalb der Gewichtskurve der Vehikelgruppe (siehe Abb. 30 (B)).



**Abb. 30:** Olfaktorische Bulbektomie: Einfluss von Theophyllin auf die Gewichtsentwicklung bei subchronischer Applikation

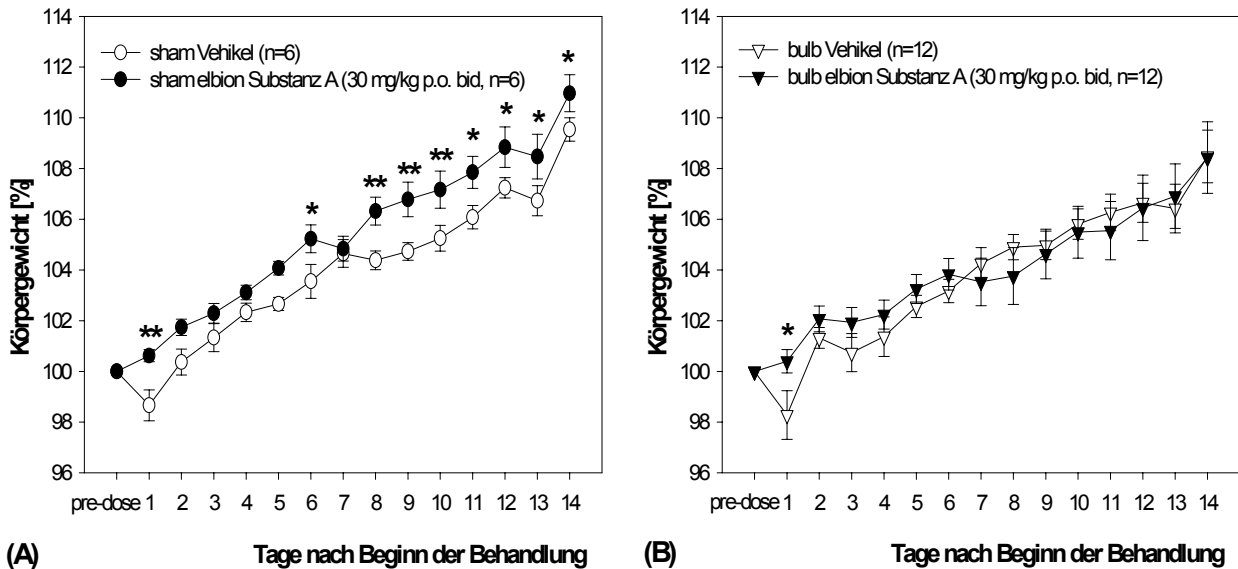
Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit Theophyllin (30 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich) behandelt. Die Vehikeltiere wurden mit HEC behandelt. Das Körpergewicht wurde täglich vor der Applikation festgestellt. Die Daten sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt. Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test

- (A) Gewichtsentwicklung scheinoperierter Ratten unter Einfluss von Theophyllin  
 (B) Gewichtsentwicklung bulbektomierter Ratten unter Einfluss von Theophyllin

#### Entwicklung des Körpergewichts von bulbektomierten Ratten unter Einfluss von elbion Substanz A

Bei den scheinoperierten Tieren führte die subchronische Behandlung mit elbion Substanz A (30 mg/kg KGW p.o. 2 x täglich) während der fünfzehntägigen Behandlungsperiode zu einem signifikanten Unterschied des relativen Körpergewichtes einen Tag nach Behandlungsbeginn. Darüber hinaus unterschied sich das relative Körpergewicht innerhalb der beiden Behandlungsgruppen sechs Tage nach Behandlungsbeginn. In der letzten Behandlungshälfte (acht bis vierzehn Tage nach Behandlungsbeginn) unterschieden sich die beiden Gruppen durchgehend signifikant voneinander. Zu diesen Zeitpunkten lag das relative Körpergewicht der substanzbehandelten scheinoperierten Tiere signifikant über dem der

vehikelbehandelten Tiere (siehe Abb. 31 (A)). Der Gewichtsverlauf der beiden Behandlungsgruppen entwickelte sich jedoch über den gesamten Beobachtungszeitraum annähernd parallel, wobei das relative Körpergewicht der substanzbehandelten Tiere durchweg oberhalb des Gewichtes der vehikelbehandelten Tiere lag. Bei den bulbektomierten Tieren führte die Behandlung mit elbion Substanz A lediglich am 1. Tag nach Behandlungsbeginn zu einem signifikanten Unterschied im relativen Körpergewicht (siehe Abb. 31 (B)).



**Abb. 31:** Olfaktorische Bulbektomie: Einfluss der elbion Substanz A auf die Gewichtsentwicklung bei subchronischer Applikation

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit elbion Substanz A (30 mg/kg KGW p.o. 2 x täglich) behandelt. Die Vehikeltiere wurden mit HEC behandelt. Das Körpergewicht wurde täglich vor der ersten Applikation festgestellt. Die Daten sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt.

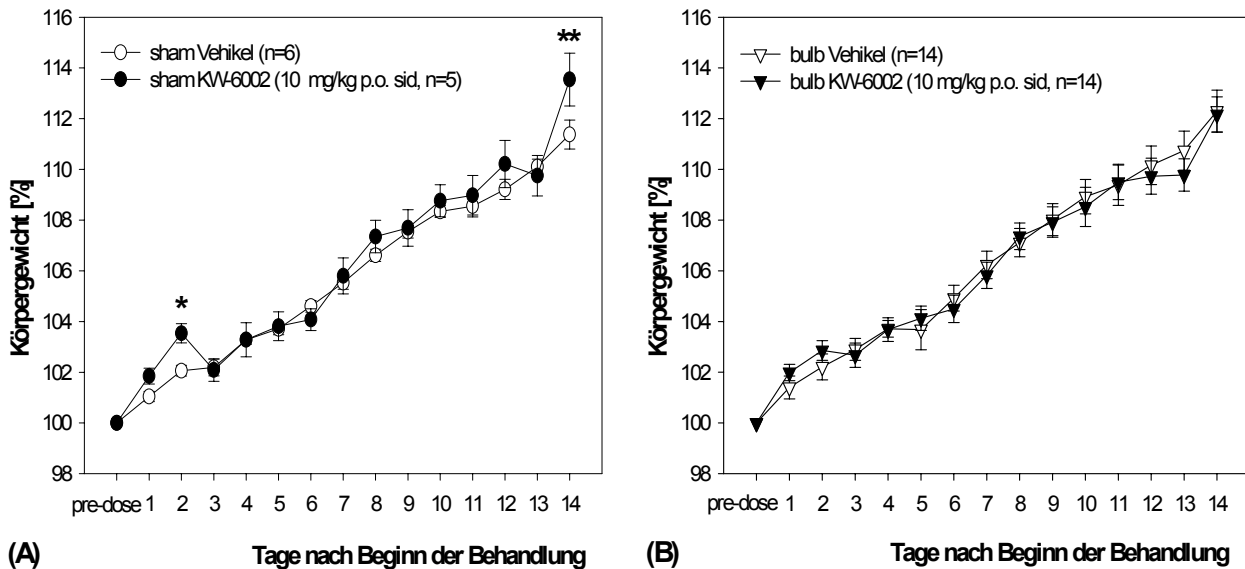
(\*:  $p < 0,05$  \*\*:  $p < 0,01$  vs. Vehikel am jeweiligen Behandlungstag, Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test.

- (A) Gewichtsentwicklung scheinoperierter Ratten unter Einfluss von elbion Substanz A  
 (B) Gewichtsentwicklung bulbektomierter Ratten unter Einfluss von elbion Substanz A

#### Entwicklung des Körpergewichts von bulbektomierten Ratten unter Einfluss von KW-6002

Bei den scheinoperierten Tieren war die Behandlung mit KW-6002 (10 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich) begleitet von einem signifikanten Unterschied im relativen Körpergewicht am zweiten und vierzehnten Tag nach Behandlungsbeginn. Zu diesen Zeitpunkten lag das relative Körpergewicht der substanzbehandelten scheinoperierten Tiere signifikant über dem der vehikelbehandelten Tiere (siehe Abb. 32 (A)). Der Gewichtsverlauf der beiden Behandlungsgruppen entwickelte sich jedoch über den gesamten Beobachtungszeitraum annähernd parallel. Die signifikanten Unterschiede sind auf die

hohe Körpergewichtszunahme eines einzelnen Tieres zurückzuführen. Bei den bulbektomierten Tieren führte die Behandlung KW-6002 während der Behandlungsperiode zu keinerlei signifikanten Unterschieden (siehe Abb. 32 (B)).



**Abb. 32:** Olfaktorische Bulbektomie: Einfluss der KW-6002 auf die Gewichtsentwicklung bei subchronischer Applikation

Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 15 Tagen mit KW-6002 behandelt (10 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich). Die Vehikeltiere wurden mit HEC behandelt. Das Körpergewicht wurde täglich vor der Applikation festgestellt. Die Daten sind als MW  $\pm$  SEM dargestellt. (\*:  $p < 0,05$  \*\*:  $p < 0,01$  vs. Vehikel am jeweiligen Behandlungstag, Two Way ANOVA mit anschließendem Tukey Test).

- (A) Gewichtsentwicklung scheinoperierter Ratten unter Einfluss von KW-6002  
 (B) Gewichtsentwicklung bulbektomierter Ratten unter Einfluss von KW-6002

Die dargestellten Gewichtsentwicklungskurven während der subchronischen Behandlung mit den drei Adenosinrezeptor-Antagonisten weisen trotz einzelner signifikanter Unterschiede zur jeweiligen Vehikelgruppe auf eine insgesamt gleichmäßige Gewichtsentwicklung der Behandlungsgruppen hin.

### 3.2.3.5 Bestimmung der Blutplasmaspiegel nach subchronischer Behandlung

Um eine Exposition der operierten Tiere zum Zeitpunkt der durchgeführten Verhaltensuntersuchungen mit den jeweils eingesetzten Substanzen sicherzustellen, wurden die Plasmaspiegel von Imipramin, Amitriptylin, elbion Substanz A, KW-6002 und Theophyllin am Ende der jeweiligen Behandlungsperiode bestimmt (ng Substanz/ml Plasma; MW  $\pm$  SEM, Maximal- und Minimalwert). Dazu wurde den Tieren zwei Stunden nach der jeweils letzten Substanzapplikation Blut aus dem retroorbitalen Venenplexus

abgenommen. Die jeweilige Behandlungsdauer war davon abhängig, ob nach der Beurteilung der lokomotorischen Aktivität im *Open Field* noch weitere verhaltenspharmakologische Untersuchungen durchgeführt wurden. Aus diesem Grund kam es zu geringgradigen Variationen innerhalb der Behandlungsdauer der entsprechenden Versuchsgruppe.

Nach 18 Tagen Behandlung mit Imipramin (10 mg/kg KGW i.p. 1 x täglich) wiesen die Tiere einen mittleren Plasmaspiegel von  $98,0 \pm 11,2$  ng/ml auf. Die Plasmaspiegel reichten von 52,0 (minimaler Wert) bis 213,0 (maximaler Wert) ng/ml. 16 Tage Behandlung mit Amitriptylin (10 mg/kg KGW i.p. 1 x täglich) führte bei den Tieren zu einem Plasmaspiegel von  $78,2 \pm 8,6$  ng/ml (Min: 34,6; Max: 215,2). Nach 17 Tagen Behandlung mit elbion Substanz A (30 mg/kg KGW p.o. 2 x täglich) wurde bei den Tieren ein Spiegel von  $2189,7 \pm 596,0$  ng/ml (Min: 1090,0; Max: 3430,0) gemessen. Mit Abschluss der Behandlungsperiode mit KW-6002 (10 mg/kg KGW p.o. 1 x täglich) lag der Plasmaspiegel bei den Tieren bei  $733,5 \pm 41,0$  ng/ml (Min: 455,1; Max: 1165,2). 16 Tage Behandlung mit Theophyllin (30 mg/kg KGW p.o.) führte bei den Tieren zu einem Plasmaspiegel von  $52749,4 \pm 1470,2$  ng/ml (Min: 41492,5; Max: 64887,3).

**Tab. 15:** Ergebnisse der Plasmaspiegelbestimmung der in der Hauptversuchsphase der Olfaktorischen Bulbektomie Ratte subchronisch verwendeten Substanzen

Substanz	Behandlungs- dauer [d]	Anzahl Proben [n]	Plasmakonzentration [ng/ml]		
			MW $\pm$ SEM	Min	Max
Imipramin 10 mg/kg i.p. sid	18	17	$98,0 \pm 11,2$	52,0	213,0
Amitriptylin 10 mg/kg i.p. sid	16	19	$78,2 \pm 8,6$	34,6	215,2
elbion Substanz A 30 mg/kg p.o. bid	17	18	$2189,7 \pm 596,9$	1090,0	3430,0
KW-6002 10 mg/kg p.o. sid	18	20	$733,5 \pm 41,0$	455,1	1165,2
Theophyllin 30 mg/kg p.o. sid	16	19	$52749,4 \pm 1470,2$	41492,5	64887,3