

Aus dem Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Coffein,
Theophyllin und Theobromin beim Hund nach
Aufnahme von Kaffee, Tee und Schokolade**

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung des Grades
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Bernd Matthias Nikolaus Loeffler
aus Stuttgart

Leipzig, 2000

Ein Teil der in dieser Arbeit beschriebenen eigenen Untersuchungen liegt bereits in veröffentlichter Form vor.

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Jürgen Gropp

Betreuer: Prof. Dr. Fritz Rupert Ungemach
Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie
Veterinärmedizinische Fakultät
Universität Leipzig

Gutachter: Prof. Dr. Fritz Rupert Ungemach
Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie
Veterinärmedizinische Fakultät
Universität Leipzig

Prof. Dr. Gerhard Oechtering
Klinik für Kleintiere
Veterinärmedizinische Fakultät
Universität Leipzig

Prof. Dr. Manfred Kietzmann
Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
Tierärztliche Hochschule Hannover

Tag der Verteidigung: 12.12.2000

meinen Eltern und Florence

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Literaturübersicht | 3 |
| 2.1 | Methylxanthine | 3 |
| 2.1.1 | Molekulare Wirkmechanismen der Methylxanthine | 5 |
| | Adenosinrezeptor-Antagonismus | 6 |
| | Hemmung der Phosphodiesterasen | 8 |
| | Kalziummobilisation | 9 |
| | Benzodiazepinantagonismus | 10 |
| | Auswirkungen auf den Noradrenalinabbau | 10 |
| | Entzündungshemmung und Wirkung im Arachidonsäurestoffwechsel | 11 |
| 2.1.2 | Coffein | 11 |
| | Physikalisch-chemische Eigenschaften | 11 |
| | Pharmakologische Wirkungen | 12 |
| | Pharmakokinetik | 13 |
| 2.1.3 | Theophyllin | 15 |
| | Physikalisch-chemische Eigenschaften | 16 |
| | Pharmakologische Wirkungen | 16 |
| | Pharmakokinetik | 17 |
| 2.1.4 | Theobromin | 18 |
| | Physikalisch-chemische Eigenschaften | 18 |
| | Pharmakologische Wirkungen | 18 |
| | Pharmakokinetik | 18 |
| 2.1.5 | Paraxanthin | 20 |
| | Physikalisch-chemische Eigenschaften | 20 |
| | Pharmakologische Wirkungen | 20 |
| | Pharmakokinetik | 20 |
| 2.2 | Kaffee | 21 |
| 2.3 | Tee | 23 |
| 2.4 | Schokolade | 24 |
| 2.5 | Doping | 26 |
| 2.5.1 | Definition und Geschichtliches | 26 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 2.5.2 | Dopingformen | 27 |
| | Positives Doping | 27 |
| | Negatives Doping | 28 |
| | Unabsichtliches Doping | 29 |
| | Maßnahmen zur Erschwerung des Dopingnachweises | 29 |
| 2.5.3 | Dopingbestimmungen | 30 |
| 2.5.4 | Dopingkontrollen | 33 |
| 3 | Material und Methode | 34 |
| 3.1 | Zielsetzung | 34 |
| 3.2 | Versuchstiere | 34 |
| 3.3 | Verwendete Präparate und Versuchsaufbau | 35 |
| 3.4 | Versuchsablauf | 36 |
| 3.4.1 | Vorbereitung der Tiere | 37 |
| 3.4.2 | Applikation der Wirkstoffe | 38 |
| 3.4.3 | Probenentnahme | 38 |
| 3.5 | Bestimmung der Methylxanthinkonzentrationen | 39 |
| 3.5.1 | Reagenzien | 39 |
| 3.5.2 | Lösungen | 40 |
| 3.5.3 | Geräte | 40 |
| 3.5.4 | Probenaufarbeitung | 41 |
| 3.5.5 | HPLC-Bedingungen | 42 |
| 3.6 | Berechnung der Methylxanthinkonzentrationen | 42 |
| 3.7 | Berechnung pharmakokinetischer Parameter | 43 |
| 4 | Ergebnisse | 44 |
| 4.1 | Coffein | 44 |
| 4.1.1 | Plasmakonzentrationen | 44 |
| 4.1.2 | Urinkonzentrationen | 46 |
| 4.2 | Theophyllin | 48 |
| 4.2.1 | Plasmakonzentrationen | 48 |
| 4.2.2 | Urinkonzentrationen | 48 |
| 4.3 | Theobromin | 51 |
| 4.3.1 | Plasmakonzentrationen | 51 |
| 4.3.2 | Urinkonzentrationen | 51 |

| | | |
|------------|---|------------|
| 4.4 | Kaffee | 53 |
| 4.4.1 | Plasmakonzentrationen | 53 |
| 4.4.2 | Urinkonzentrationen | 53 |
| 4.5 | Tee | 55 |
| 4.5.1 | Plasmakonzentrationen | 55 |
| 4.5.2 | Urinkonzentrationen | 56 |
| 4.6 | Schokolade | 57 |
| 4.6.1 | Plasmakonzentrationen | 58 |
| 4.6.2 | Urinkonzentrationen | 59 |
| 4.7 | Pharmakokinetische Parameter | 59 |
| 5 | Diskussion | 61 |
| 5.1 | Methylxanthinapplikation in Form von Fertigarzneimitteln und Nahrungsmitteln | 62 |
| 5.2 | Nachweisbarkeit der Methylxanthine | 76 |
| 5.3 | Bioverfügbarkeit der Methylxanthine aus Nahrungsmitteln | 77 |
| 5.4 | Leistungsbeeinflussung durch Methylxanthine | 79 |
| 6 | Zusammenfassung | 81 |
| 6.1 | Summary | 82 |
| 7 | Literaturverzeichnis | 84 |
| | Danksagungen | 104 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------------------------|--|
| Abb. | Abbildung |
| AC | Adenylatzyklase |
| AMP | Adenosinmonophosphat |
| A _n | Adenosinrezeptor Nummer n |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| AUC | Fläche unter der Blutspiegelverlaufskurve |
| bzw. | beziehungsweise |
| cAMP | Zyklisches Adenosinmonophosphat |
| cm | Zentimeter |
| C _{max} | maximale Plasmakonzentration |
| d.h. | das heißt |
| DVR | Direktorium für Vollblutzucht und –Rennen e.V. |
| DWZRV | Deutscher Windhundzucht- und Rennverband e.V. |
| EAB | Europäisches Arzneibuch |
| FDA | Food and Drug Administration |
| FN | Deutsche Reiterliche Vereinigung e.V. |
| g | Gramm |
| G _i , G _s | Inhibitorisches bzw. stimulierendes G-Protein |
| HPLC | Hochdruckflüssigkeitschromatographie |
| HVT | Hauptverband für Traber-Zucht und -Rennen e.V. |
| kg | Kilogramm |
| KM | Körpermasse |
| l | Liter |
| mg | Milligramm |
| MG | Molekulargewicht |
| ml | Milliliter |
| mM | Millimolar |
| μM | Mikromolar |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------|---|
| MW | Mittelwert |
| n | Anzahl der Tiere |
| p.a. | pro analysi |
| PDE | Phosphodiesterase |
| psi | pounds per square inch |
| SD | Standardabweichung |
| $t_{1/2}$ | Halbwertszeit |
| t_{\max} | Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration |
| u. | und |
| VDH | Verband für das Deutsche Hundewesen e.V. |
| z.B. | zum Beispiel |

Abbildungsverzeichnis

| <u>Abbildung</u> | <u>Titel</u> | <u>Seite</u> |
|-------------------------|---|---------------------|
| 1 | Xanthingerüst | 3 |
| 2 | Zelluläre Signalübertragung durch Adenosinrezeptoren | 8 |
| 3 | Stoffwechselwege der Methylxanthine | 15 |
| 4 | Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (MW + SD, n = 6). | 45 |
| 5 | Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (MW + SD, n = 5). | 47 |
| 6 | Theophyllinkonzentrationen im Plasma nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 (i.v.) bzw. 10 (p.o.) mg pro kg KM (MW + SD, n = 6). | 49 |
| 7 | Theophyllinkonzentrationen im Urin nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 (i.v.) bzw. 10 (p.o.) mg pro kg KM (MW + SD, n = 5). | 50 |
| 8 | Theobrominkonzentrationen im Plasma (A) und Urin (B) nach intravenöser Applikation von Theobromin in einer Dosierung von 5 mg pro kg KM (MW + SD, n = 6 (Plasma) 5 (Urin)). | 52 |
| 9 | Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach Applikation von Kaffee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 6). | 54 |
| 10 | Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach Applikation von Kaffee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 5) | 55 |
| 11 | Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach Applikation von Tee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 6). | 56 |
| 12 | Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach Applikation von Tee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 5). | 57 |

| | | |
|----|---|----|
| 13 | Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (MW + SD, n = 6). | 58 |
| 14 | Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (MW + SD, n = 5). | 59 |
| 15 | Metabolitenmuster im Harn nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (MW + SD, n = 5). | 64 |
| 16 | Renale Ausscheidung nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (kumulative Darstellung, MW + SD, n = 5). | 65 |
| 17 | Renale Ausscheidung nach intravenöser Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 mg pro kg KM (kumulative Darstellung, MW + SD, n = 5). | 67 |
| 18 | Renale Ausscheidung nach oraler Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (kumulative Darstellung, MW + SD, n = 5). | 68 |
| 19 | Renale Ausscheidung nach intravenöser Applikation von Theobromin in einer Dosierung von 5 mg pro kg KM (kumulative Darstellung, MW + SD, n = 5). | 69 |
| 20 | Metabolitenmuster im Harn nach Applikation von Kaffee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW, n = 5). | 71 |
| 21 | Metabolitenmuster im Harn nach Applikation von Tee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW, n = 5). | 72 |
| 22 | Metabolitenmuster im Harn nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (MW, n = 5). | 72 |
| 23 | Renale Ausscheidung nach Applikation von Kaffee (oben) und Tee (unten) in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (kumulative Darstellung, MW + SD, n = 5). | 73 |
| 24 | Renale Ausscheidung nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (kumulative Darstellung, MW + SD, n = 5). | 74 |

Tabellenverzeichnis

| <u>Tabelle</u> | <u>Titel</u> | <u>Seite</u> |
|----------------|--|--------------|
| 1 | Relative Wirksamkeit von Coffein, Theophyllin und Theobromin (LÖSCHER 1997) | 5 |
| 2 | Zusammensetzung gerösteter Kaffeebohnen (Anteil an der Trockenmasse in Prozent) nach VIANI (1993) | 22 |
| 3 | Coffeingehalt von gebrühtem Kaffee (A) und von löslichem Pulverkaffee (B) | 23 |
| 4 | Zusammensetzung frischer und fermentierter Teeblätter sowie von Schwarzteeaufgüssen bezogen auf den eingesetzten Tee in Prozent der Trockenmasse (FINGER 1991, MAIER u. ENGELHARDT 1991) | 24 |
| 5 | Rezeptur für Milkschokolade und dunkle Schokolade (BECKETT 1990) | 25 |
| 6 | Stoffgruppenliste verbotener Wirkstoffe (DWZRV-Rennordnung, Anhang 8) | 32 |
| 7 | Kenndaten der Versuchshunde | 34 |
| 8 | Verwendete Präparate | 35 |
| 9 | Verwendete Nahrungsmittel | 36 |
| 10 | Versuchsablauf | 37 |
| 11 | Pharmakokinetische Parameter der Methylxanthine nach Applikation als Fertigarzneimittel | 60 |
| 12 | Pharmakokinetische Parameter der Methylxanthine nach Applikation als Nahrungsmittel | 60 |

1 Einleitung

Die Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin wirken broncho- und vasodilatatorisch sowie positiv chronotrop und inotrop. Außerdem erhöhen sie die Leistungsfähigkeit der Skelettmuskulatur und wirken als schwache Diuretika. Coffein und Theophyllin besitzen zudem zentral stimulierende Eigenschaften (ARNAUD 1987, LÖSCHER 1997, SERAFIN 1995).

Während Coffein therapeutisch in einer Dosierung von 5-10 mg/kg KM mehrmals täglich oral oder parenteral zur Anregung der Atmung und des Herz-Kreislaufsystems angewendet wird (LÖSCHER 1997), ist das Indikationsgebiet für Theophyllin wegen seiner relaxierenden Wirkung an der glatten Muskulatur vor allem die Bronchodilatation. Die Dosierung beträgt hier 5-6 mg/kg KM bei intravenöser und 10 mg/kg KM bei oraler Applikation (LÖSCHER 1997). Coffein und Theophyllin sind zudem in Nahrungsmitteln wie Kaffee und Tee enthalten. Theobromin wird therapeutisch nicht eingesetzt, ist jedoch in Kakaoprodukten (v.a. Blockschokolade, Kakaopulver) und Tee enthalten und kann aus diesen resorbiert werden.

Aufgrund ihrer Wirkungen werden Methylxanthine auch mißbräuchlich zur Leistungssteigerung bei Windhunden eingesetzt (TOBIN 1981, WELLS et al. 1988). Dies stellt einen Verstoß gegen das Tierschutzgesetz dar, da die Anwendung von Dopingmitteln bei sportlichen Wettkämpfen und ähnlichen Veranstaltungen verboten ist und dem Tier Leistungen abverlangt werden, denen es normalerweise nicht gewachsen ist (TIERSCHUTZGESETZ 1998). Darüber hinaus verbietet die Windhundrennordnung des Verband für das Deutsche Hundewesen e.V. (VDH) jede Manipulation zum Zwecke der Leistungsbeeinflussung. Zur Überwachung des Dopingverbotes werden vom VDH bei internationalen und nationalen Veranstaltungen Dopingkontrollen durchgeführt. Der Nachweis verbotener Substanzen, zu denen auch die Methylxanthine gehören, führt zur Disqualifikation des Tieres bzw. des ganzen Zwingers (ANON. 1998). In gutachterlicher Tätigkeit ist daher häufig zu klären, ob die Stoffe bewußt zur Leistungssteigerung verabreicht

wurden, oder ob es sich um unabsichtliches Doping im Rahmen einer tierärztlichen Behandlung oder durch Gabe methylxanthinhaltiger Futtermittel handelt (TOBIN 1981, UNGEMACH 1985, UNGEMACH u. NÜRNBERGER 1999).

Speziell in Hinblick auf den mißbräuchlichen Einsatz der erwähnten Methylxanthine im Hunderennsport sind die Urinkonzentrationen von Coffein, Theophyllin und Theobromin nach entsprechender Arzneimittelapplikation von Interesse. Ob weiterhin auch aus der Aufnahme methylxanthinhaltiger Nahrungsmittel (Kaffee, Tee, Schokolade) positive Dopingbefunde resultieren können, hängt von der Bioverfügbarkeit dieser Stoffe aus den genannten Produkten ab. Da zu diesen Punkten nur sehr wenige und nur begrenzt aussagefähige Informationen im Schrifttum vorliegen (CLIFFORD 1987, WARSZAWSKI et al. 1982, WELLS et al. 1988), sollten durch die vorliegenden Untersuchungen entsprechende Daten zur Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik ermittelt werden. Dazu wurden die Konzentrationen von Coffein, Theophyllin und Theobromin sowie die des Metaboliten Paraxanthin in Plasma und Urin von Hunden nach intravenöser und/oder oraler Applikation der drei oben erwähnten Wirkstoffe und zusätzlich nach oraler Verabreichung von Kaffee, Tee und Schokolade ermittelt.

2 Literaturübersicht

2.1 Methylxanthine

Xanthin (Abb.1), das der Harnsäure verwandt ist, stellt von der chemischen Struktur ein Dioxypurin dar (RIMPLER 1999). Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin, als drei- bzw. zweifach methylierte Xanthine, sind die bekanntesten Vertreter aus der Gruppe der Methylxanthine. Mit Ausnahme des Paraxanthins zählen sie zu den ältesten Genuß- und Arzneimitteln und sind als Inhaltsstoffe natürlicherweise in einer Reihe von Pflanzen und auch in Getränken wie beispielsweise Kaffee (Coffein), Tee (Coffein, Theobromin, Theophyllin) und Kakao (Theobromin, Coffein) enthalten (FREDHOLM et al. 1999).

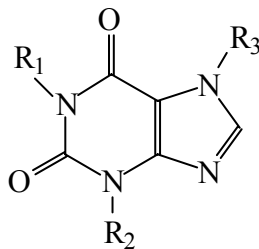


Abb. 1: Xanthingrundgerüst

Der therapeutische Einsatz von Coffein wurde erstmals 1859 von SALTER beschrieben, der - selbst Asthmatiker - Kaffee als Linderungsmittel bei asthmatischen Beschwerden vorschlug (PERSSON 1985, SAKULA 1985). PAL (1912) wies auf die bronchospasmolytische Wirkung von Coffein hin. Denselben Effekt konnten HERRMANN und GREENE (1937) für Theophyllin nachweisen. Seither wurden weitere Methylxanthinderivate mit dem Ziel entwickelt, die unerwünschten Wirkungen zu minimieren und gleichzeitig die pharmakologisch erwünschten Wirkungen zu verstärken. Im Handel sind derzeit als Humanarzneimittel zum Beispiel Chlortheophyllin, Cholintheophyllinat,

Diprophyllin, Etofyllin, Etofyllinclofibrat, Fenetyllin, Pentifyllin, Pentoxifyllin, Proxyphyllin und Theobromin-Natriumsalicylat als Abkömmlinge der natürlichen Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin. Veterinärmedizinisch sind derzeit noch Coffein, Theophyllin, Aminophyllin und Propentofyllin von Bedeutung. Coffein wird zur Anregung der Atmung und des Herz- Kreislaufsystems sowie zur Wirkungsverstärkung von Analgetika eingesetzt. Theophyllin wird aufgrund seiner bronchodilatatorischen Wirkung bei entsprechenden Erkrankungen des Atmungsapparates eingesetzt (LÖSCHER 1997). Theobromin wurde früher als Diuretikum und Herzstimulanz eingesetzt, wozu es heute jedoch nicht mehr verwendet wird, da wirksamere Medikamente zur Verfügung stehen (DECKER 1972, BOOTH 1977).

Wie sich aus der obigen Auflistung ergibt, besitzen die Methylxanthine allgemein eine große Anzahl zentraler und peripherer pharmakologischer Wirkungen. Sie wirken antiasthmatisch, indem sie die Bronchialmuskulatur relaxieren. Das Zentralnervensystem wird stimuliert, wodurch Müdigkeit beseitigt und die Aufmerksamkeit erhöht wird. Weiterhin wird die CO₂-Empfindlichkeit des Atemzentrums erhöht und damit das Atemminutenvolumen gesteigert. Die Herzmuskulatur wird stimuliert und dadurch die Durchblutung der Organe verstärkt. Die Herzfrequenz und der periphere Gefäßwiderstand werden geringgradig erhöht. Weiterhin nehmen die Leistungsfähigkeit der Skelettmuskulatur und die Zwerchfellkontraktilität zu, was sich positiv auf die Atemfunktion auswirkt. An den Nieren wird die Diurese erhöht (ARNAUD 1987, RALL 1990). Hinsichtlich der Wirkungspotenz der Methylxanthine an den verschiedenen Organsystemen bestehen zwischen den einzelnen Substanzen Unterschiede, die für Coffein, Theophyllin und Theobromin in Tabelle 1 dargestellt sind. Als unerwünschte pharmakologische Wirkungen treten Übelkeit, Erbrechen, Nervosität, Ruhelosigkeit, Herzrhythmusstörungen, Angst, Schlaflosigkeit, Tremor und Hyperästhesie auf. Weitere pharmakologische Besonderheiten der einzelnen Methylxanthine werden bei der Beschreibung der jeweiligen Substanz dargestellt.

Tabelle 1: Relative Wirksamkeit von Coffein, Theophyllin und Theobromin (LÖSCHER 1997)

| Wirkung | Coffein | Theophyllin | Theobromin |
|-----------------------------------|----------------|--------------------|-------------------|
| zentrale Erregung | +++ | ++ | |
| Stimulation des Herzen | + | +++ | ++ |
| Relaxation der glatten Muskulatur | ++ | +++ | +++ |
| Stimulation der Skelettmuskulatur | +++ | ++ | + |
| Steigerung der Diurese | + | +++ | ++ |

2.1.1 Molekulare Wirkmechanismen der Methylxanthine

Zwar macht man sich die Wirkung der Methylxanthine schon seit langer Zeit zu Nutze, doch sind sie auch heute noch Gegenstand der Forschung. Die Wirkung der Methylxanthine erklärt sich durch verschiedene Mechanismen. Die kompetitive Hemmung der Adenosinrezeptoren im Konzentrationsbereich von 10–100 $\mu\text{mol/l}$ wird in den vergangenen Jahren als Hauptmechanismus für die pharmakologische Wirkung der Methylxanthine angesehen (FREDHOLM 1980, PHILLIS u. WU 1981 a, b, DALY 1982, RALL 1982, BIAGGIONI 1991, NEHLIG 1999). Andere Arbeiten sehen den Wirkungsmechanismus der Methylxanthine in der Hemmung der Phosphodiesterasen und dem damit verbundenen Anstieg der Konzentration des zellulären zyklischen Adenosinmonophosphates (cAMP) begründet (RITCHIE 1975). Im weiteren mobilisieren die Methylxanthine Kalzium aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum und verhindern dessen Rückspeicherung. Doch scheinen die beiden letzteren Effekte für die pharmakologischen Wirkungen eher von untergeordneter Bedeutung zu sein, da die benötigten Plasmaspiegel (0,1–1 mmol/l) über den therapeutisch bzw. mit Einnahme bestimmter Nahrungsmittel erreichbaren Blutkonzentrationen liegen. Jedoch ist es denkbar, daß je nach Art der

Aufnahme lokal entsprechende Konzentrationen erreicht werden (SAWYNOK et al. 1993).

Adenosinrezeptor-Antagonismus

Viele Wirkungen der Methylxanthine sind denen des Adenosins konträr, was zu der Annahme eines Methylxanthin-Adenosin-Antagonismus führte (SNYDER 1984). Seit der ersten Erwähnung des Methylxanthin-Adenosin-Antagonismus durch THER et al. (1957) wurden hierzu intensive Untersuchungen durchgeführt (SNYDER 1984, ANDERSSON et al. 1985, GERLACH et al. 1987) und wird heute als wichtigster Mechanismus der Wirkungsweise der Methylxanthine angesehen (BOULENGER et al. 1982, FREDHOLM 1980, DALY et al. 1981, FREDHOLM u. PERSSON 1982, FREDHOLM 1995).

Adenosin ist im Säugetierorganismus als Intermediat und als Bestandteil der Nukleotide Adenosinmono- bzw. Adenosintriphosphat (AMP, ATP) an vielen Stoffwechselfvorgängen beteiligt (SNYDER 1984). Die Biosynthese des Nucleosids Adenosin erfolgt aus Adenin und Ribose (LÖFFLER u. PETRIDES 1998). Es wird bei hypoxischen Zuständen und durch Reizung des Sympathikus im Herz und in den Blutgefäßen gebildet. Durch die daraufhin eingeleitete Vasodilatation bzw. Hemmung der neuronalen Noradrenalinfreisetzung kommt es zu einem negativen „feedback“ (BERNE 1980). Weiterhin hemmt Adenosin die Thrombozytenaggregation und die Lipolyse (SNYDER 1984). Die Verabreichung von Adenosin löst beim Tier Sedation, Bradykardie, Hypotonie und Hypothermie aus und verringert die Ansprechbarkeit des kardiovaskulären Systems und des Fettgewebes auf adrenerge Reize (FREDHOLM u. HEDQVIST 1980, MAITRE et al. 1974, DRURY u. SZENT-GYORGYI 1930). Die Wirkung von Adenosin am Herz beschreibt bereits DRURY u. SZENT-GYORGYI (1930) als negativ chronotrop und negativ inotrop. Während es in den meisten Geweben einen vasodilatatorischen Effekt ausübt, wird an den Nierengefäßen eine Vasokonstriktion ausgelöst (FREDHOLM 1980, OSSWALD 1979).

Adenosin entfaltet seine pharmakologische Wirkung über die Bindung an Adenosinrezeptoren, die an der äußeren Zellmembran lokalisiert sind (DALY et al. 1981). Diese Rezeptoren sind im Gehirn, am Herzen, am Atmungsapparat, an den Nieren, am Magen-Darm-Trakt und im Fettgewebe zu finden (BENOWITZ 1990, CHOU u. BENOWITZ 1994). Es werden nach FREDHOLM et al. (1994) die Subtypen A₁, A_{2A}, A_{2B} und A₃ unterschieden. In Hinblick auf die Methylxanthine scheint der A₃-Rezeptor nur von geringer Bedeutung zu sein (FREDHOLM et al. 1999, NEHLIG 1999). Zur Aktivierung des A_{2B}-Rezeptors sind höhere Adenosinkonzentrationen nötig, als sie unter physiologischen Bedingungen erreicht werden. Jedoch scheint es unter pathophysiologischen Umständen durchaus möglich, daß dieser Rezeptor durch endogenes Adenosin aktiviert wird und Coffein als Inhibitor fungieren kann (FREDHOLM et al. 1999). Die Hauptrolle bei der Wirkungsvermittlung der Methylxanthine kommt nach NEHLIG (1999) und FREDHOLM et al. (1999) den Rezeptorsubtypen A₁ und A_{2A} zu, da sie im Tiermodell durch niedrige Adenosinkonzentrationen aktiviert werden.

Die Adenosinrezeptoren sind an membranständige Guanylnukleotid-regulatorische Proteine (G-Proteine G_i, G_s) gekoppelt, die auf die Adenylatzyklase (AC), ein integrales Membranprotein, einwirken. So bewirkt die Aktivierung des A₁-Rezeptors über ein G_i-Protein die Hemmung der Adenylatzyklase, während die Aktivierung des A_{2A}-Rezeptors über ein G_s-Protein den gegenteiligen Effekt zur Folge hat (FREDHOLM et al. 1994, FREDHOLM et al. 1999, NEHLIG 1999). LÖDOS u. WOLFF 1977, VAN CALKER et al. 1979, SILBERNAGEL 1991, BENOWITZ 1990, CHOU u. BENOWITZ 1994 hatten diesen Effekt bereits dem A₂-Rezeptor zugeschrieben, bevor die weitere Unterteilung in A_{2A}- und A_{2B}-Rezeptoren durch FREDHOLM et al. (1994) erfolgte.

Die Adenylatzyklase wiederum ist für die Umwandlung von Adenosintriphosphat (ATP) zu zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) verantwortlich, daß im Zytosol als zweiter Botenstoff „second messenger“ fungiert. cAMP aktiviert zellspezifische Proteinkinasen, die, der Funktion der Zielzelle entsprechend, bestimmte Proteine phosphorylieren. Zur Beendigung der Zellantwort wird cAMP

durch Phosphodiesterasen (PDE) zu Adenosinmonophosphat (AMP) hydrolysiert und damit inaktiviert (Abb. 2) (STRYER 1994).

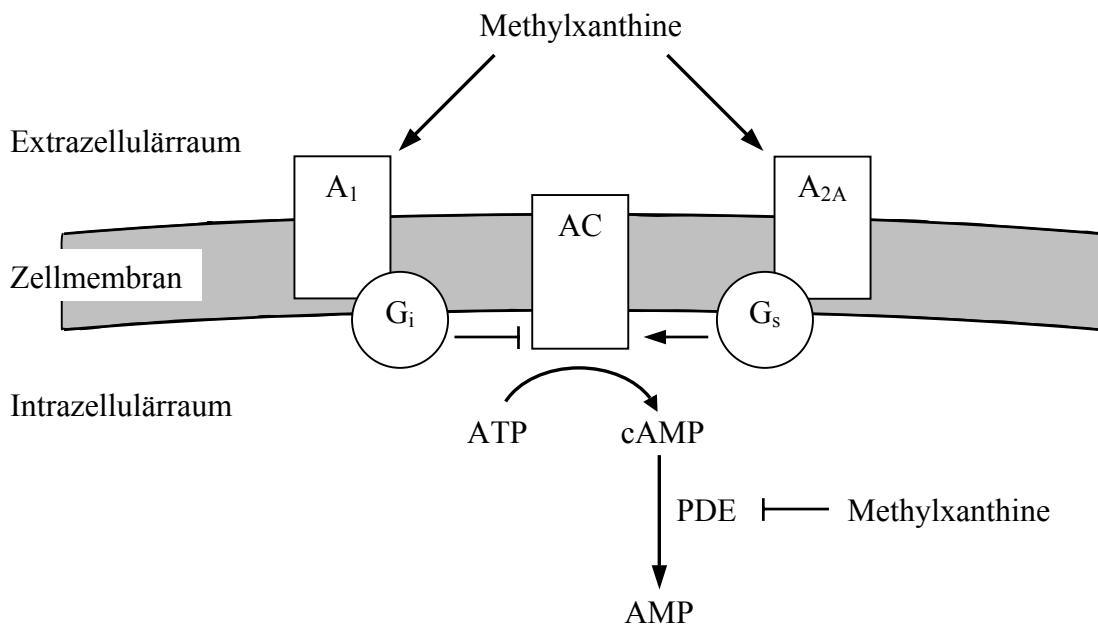


Abb. 2: Zelluläre Signalübertragung durch Adenosinrezeptoren

Hemmung der Phosphodiesterasen

Methylxanthine hemmen die für den Abbau des zyklischen Adenosinmonophosphats (cAMP) verantwortlichen Phosphodiesterasen (Abb. 2) direkt, wodurch es zu einem Anstieg des cAMP im Zytosol kommt (SUTHERLAND u. RALL 1958, RALL u. SUTHERLAND 1958, BUTCHER u. SUTHERLAND 1962, BEAVO et al. 1970, GREENGARD 1979). Zur Hemmung der Phosphodiesterasen sind

Coffeinkonzentrationen von 0,1 bis 1 mmol/l nötig, was die Konzentrationen überschreitet, die nach oraler Coffeinaufnahme zu beobachten sind. Trotzdem kann Theophyllin ab Konzentrationen von 50 µmol/l schon eine gewisse Phosphodiesterasenhemmung bewirken. Ab einer etwa 20%igen Phosphodiesterasenhemmung können bereits lipolytische Vorgänge ablaufen (BEAVO et al. 1970). In Untersuchungen von SMELLIE et al. (1979) und CHOI et al. (1988) am Gehirn wurden bei Konzentrationen von 480-750 µmol/l Coffein und 350-1000 µmol/l Theophyllin eine 50%ige Hemmung der Phosphodiesterasen festgestellt.

Kalziummobilisation

Die Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration durch Methylxanthine wurde zuerst an Skelettmuskelpräparaten nachgewiesen (BIANCHI 1961). Durch die Erhöhung des intrazellulären Kalziumspiegels wird eine Muskelkontraktion ausgelöst. Kalzium wird dabei vermehrt aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt und seine Rückspeicherung gehemmt (WEBER u. HERZ 1968, JOHNSON u. INESI 1969, BLAYNEY et al. 1978, ITO et al. 1977, SU u. HASSELBACH 1984, CHAPMAN u. TUNSTALL 1988). Zur Kalziumfreisetzung sind nach (DALY 1993) intrazelluläre Coffeinkonzentrationen von 1-10 mmol/l notwendig. PESSAH et al. (1987) geben 1-25 mmol/l Coffein für die Freisetzung des Kalziums über spezielle Kalziumionenkanäle und die Wiederaufnahmehemmung an. Nach ROUSSEAU et al. (1988) besitzen Coffein, Theophyllin und Theobromin am isolierten Skelettmuskel in Konzentrationen von 1,25 mmol/l jeweils denselben positiven Effekt auf die Kalziumfreisetzung aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum. Auch BLINKS et al. (1972) zeigen, daß Coffein, Theophyllin und Theobromin die Kontraktionskraft des Herzens im selben Maße erhöhen.

Benzodiazepinantagonismus

MARANGOS et al. (1979) konnten durch *In-vitro*-Untersuchungen an Gehirnen von Ratten und Menschen eine kompetitive Hemmung von Diazepamwirkungen durch Coffein, Theophyllin und Theobromin nachweisen. Dabei zeigt Coffein eine größere Hemmwirkung als Theophyllin und Theobromin. Die benötigten Coffeinkonzentrationen von 0,5 bis 0,7 mmol/l sind auch *in vivo* erreichbar. Die Einstufung als Benzodiazepinantagonist wird im weiteren auch von anderen Autoren unterstützt (MARANGOS et al. 1979, BOULENGER et al. 1982, WEIR u. HRUSKA 1983). Klinische Studien von MATTILA et al. (1982) konnten diese Beobachtungen ebenfalls bestätigen. PROCTER und GREDEN (1982) sahen diesen Effekt jedoch nicht.

Auswirkungen auf den Noradrenalinabbau

BERKOWITZ et al. (1970) stellen beim Menschen nach Coffeininjektion eine erhöhte Noradrenalin synthese und erhöhten Noradrenalinumsatz fest, woraus sie auf eine verstärkte Noradrenalin freisetzung aus den Neuronen schließen. Dies wird auch durch spätere Untersuchungen bestätigt (WALDECK 1971, CORRODI et al. 1972, GOLDBERG et al. 1982). Nach KALSNER (1971) und KALSNER et al. (1975) erhöhen Coffein und Theophyllin die Wirkung von Noradrenalin an den Blutgefäßen durch Hemmung der Wiederaufnahme in das Neuron und des Abbaus durch Katechol-0-Methyltransferase. Dies tritt bei Konzentrationen von 150 µmol/l auf und könnte zu den Wirkungen der Methylxanthine auf das Gefäßsystem beitragen.

Entzündungshemmung und Wirkung im Arachidonsäurestoffwechsel

VINEGAR et al. (1976) und SEEGERs et al. (1981) berichten über eine entzündungshemmende Wirkung des Coffeins. Außerdem wird die antiinflammatorische Wirkung einiger Cyclooxygenasehemmer verstärkt. Jedoch hemmt Coffein die Prostaglandinsynthese selbst nicht und verstärkt auch eine durch Acetylsalicylsäure vermittelte Hemmung nicht (VINEGAR et al 1976).

2.1.2 Coffein

Die Extraktion von Coffein aus grünen Kaffeebohnen wurde 1820 von RUNGE beschrieben. 1875 beschrieb MEDICUS erstmals die chemische Struktur der Xanthine (ARNAUD 1987).

Physikalisch-chemische Eigenschaften

Coffein hat die chemische Bezeichnung 1,3,7-Trimethylxanthin. Die Molmasse beträgt 194,2 und der Schmelzpunkt liegt bei 238° C (ANON. 1995). Die Strukturformel ist in Abbildung 3 dargestellt. Coffein ist ein farb- und geruchsloses Pulver mit bitterem Geschmack. Es ist eine schwache Base ($pK_b = 14,15$). Bei Raumtemperatur löst es sich zu 18% in Chloroform und zu 2% in Wasser. Das Absorptionsmaximum einer wäßrigen Coffeinelösung in ultraviolettem Licht liegt bei 272 nm (ARNAUD 1987).

Natürlich kommt Coffein zu 1-2% in Kaffeebohnen und zu 3-4% in Teeblättern vor (FINGER 1991, MAIER u. ENGELHARDT 1991, KAPLAN et al. 1974, STREULI 1970). Außerdem ist es in Cola-Nüssen (bis 2,3%), Mateblättern (bis 8%) und in über 60 anderen Pflanzen enthalten (EAB 1997, ARNAUD 1987).

Pharmakologische Wirkungen

Coffein wirkt zentral erregend und beeinflusst das Herz-Kreislauf-System, den Atmungsapparat, die glatte Muskulatur, die Skelettmuskulatur, die Nierenfunktion und den Gastrointestinaltrakt. Als Fertigarzneimittel wird es in der Humanmedizin als Somnolytikum sowie in Kombination mit diversen Analgetika eingesetzt. Daneben ist Coffein als Inhaltsstoff verschiedener Genußmittel das am häufigsten verwendete Stimulans des menschlichen Zentralnervensystems (DALY 1993). Beim Tier wird Coffein zur Anregung der Atmung und des Herz-Kreislaufsystems in einer Dosierung von 5-10 mg/kg KM mehrmals täglich oral oder parenteral angewendet (LÖSCHER 1997). Der Genuß von zwei Tassen Kaffee (ca. 160 mg Coffein) erhöht beim Menschen die Aufmerksamkeit und vermindert die Müdigkeit. 75-300 mg Coffein verkürzen die Reaktionszeit auf visuelle und akustische Reize (CHOU u. BENOWITZ 1994). KUSANAGI et al. (1974) stellen im Rahmen leistungsphysiologischer Untersuchungen an Hunden eine Erhöhung der Laufleistung nach Applikation von 2,5 mg Coffein pro kg KM fest. FUJII et al. (1974) können nach Verabreichung von 5 und 10 mg Coffein pro kg KM an Pferde ebenfalls eine Leistungssteigerung nachweisen. Höhere Dosierungen von Coffein (über 15 mg/kg KM) verursachen beim Menschen Kopfschmerzen, Nervosität, Unruhe, Hyperästhesie, Muskelzuckungen bis hin zu Herzversagen und Tod bei einer Dosierung von 200 mg pro kg KM (ARNAUD 1987, SERAFIN 1995). Die letale Dosis liegt beim Hund bei 110-175 mg/kg KM, während sie für die Katze 80-150 mg/kg KM beträgt (SUTTON 1981, FOOR u. STOWE 1975). Durch regelmäßige Einnahme von Coffein können Gewöhnung und Abhängigkeit auftreten. So stellten BOULENGER et al. (1983) nach Langzeitbehandlung mit Coffein am Gehirn von Ratten eine Zunahme der Adenosinrezeptordichte fest. Als Entzugssymptome nach längerem Coffeingenuß sind Kopfschmerzen, Müdigkeit, Ängstlichkeit und Unwohlsein beschrieben (SILVERMAN et al. 1992).

Pharmakokinetik

Coffein wird aus dem Magen-Darm-Trakt des Menschen und der Tiere schnell und nahezu vollständig resorbiert (MARKS u. KELLY 1973, BONATI et al. 1982, BLANCHARD u. SAWERS 1983a/b, ARNAUD 1993). Für den Fall, daß Coffein als Bestandteil von Kaffee eingenommen wird, beschreiben MORGAN et al. (1982) beim Menschen die Absorption des Coffeins jedoch als unvollständig.

Nach oraler Einnahme werden beim Menschen maximale Coffeinkonzentrationen im Plasma nach 15 bis 120 Minuten erreicht, während dies beim Tier nach 60 bis 120 Minuten zu beobachten ist (ARNAUD u. WELSCH 1982, BONATI et al. 1982, WARSZAWSKI et al. 1977, TSE u. VALIA 1981).

Die Plasmahalbwertszeit des Coffeins beträgt beim Menschen 2,5-4,5 Stunden (ARNAUD 1987). Unterschiede zwischen jüngeren und älteren Individuen bestehen nach BLANCHARD u. SAWERS (1983b) nicht. Jedoch ist die Halbwertszeit bei Neugeborenen aufgrund des noch nicht ausgereiften Cytochrom P₄₅₀-Enzymsystems verlängert (ARANDA et al. 1979). So nimmt sie von 100 bzw. 80 Stunden bei Früh- und Neugeborenen auf 2,6 Stunden bei 5-6 Monate alten Säuglingen ab (ARANDA et al. 1977, LE GUENEC u. BILLON 1987, PARSONS u. NEIMS 1981, ALDRIDGE et al. 1979, PAIRE et al. 1988, PEARLMAN et al. 1989). In Untersuchungen beim Hund ergeben sich Halbwertszeiten von 3,7 bis 6,7 Stunden (WARSZAWSKI et al. 1977, TSE u. VALIA 1981, CHRISTENSEN et al. 1981).

Coffein wird in der Leber zu Di- und Monomethylxanthinen, zu Di- und Monomethylharnsäure, zu Tri- und Dimethylallantoin sowie zu diversen Uracilen metabolisiert (Abb. 3, S. 15)(ARNAUD 1987, 1993). Coffein kann im Organismus aus Theophyllin gebildet werden. So beobachteten BORY et al. (1979) und BADA et al. (1979) die Synthese von Coffein bei frühgeborenen Säuglingen, die wegen Apnoe mit Theophyllin behandelt worden waren. Der Nachweis von Coffein im Plasma ist auf das in dieser Altersstufe erst zu einem Drittel ausgereifte mikrosomale Enzymsystem zurückzuführen (ARANDA et al. 1979). Bei Erwachsenen dagegen wird das aus Theophyllin entstandene Coffein schneller metabolisiert. Nach TANG-

LIU u. RIEGELMANN (1981) werden etwa 6% des verabreichten Theophyllins zu Coffein metabolisiert. TODI et al. (1999) sehen eine endogene Coffeinsynthese auch in Untersuchungen mit Pferden.

Ein geringer Anteil des Coffeins (0,5-5%) wird von Mensch und Tier unverändert mit dem Harn ausgeschieden (ARNAUD 1993). Mit den Fäzes werden nach Untersuchungen von ARNAUD (1976) zufolge bei der Ratte 8-10% des eingegebenen Coffeins ausgeschieden, während es nach CALLAHAN et al. (1982) beim Menschen 2-5% sind. Außerdem wird Coffein in Speichel, Milch, Samenflüssigkeit und Galle sezerniert (PARSONS u. NEIMS 1978, COOK 1976, NEWTON et al. 1981, BEACH et al. 1982, TYRALA u. DODSON 1979, FINDLAY et al. 1981, BAILEY et al. 1982, RYU 1985, ARNAUD u. WELSCH 1980). Die Verabreichung von Furosemid bewirkt beim Menschen durch ein gesteigertes Harnvolumen eine erhöhte kumulative Coffeinausscheidung innerhalb der ersten 12 Stunden. Die Urinkonzentration wird durch Furosemid jedoch nicht beeinflusst (DELBEKE und DEBACKERE 1988).

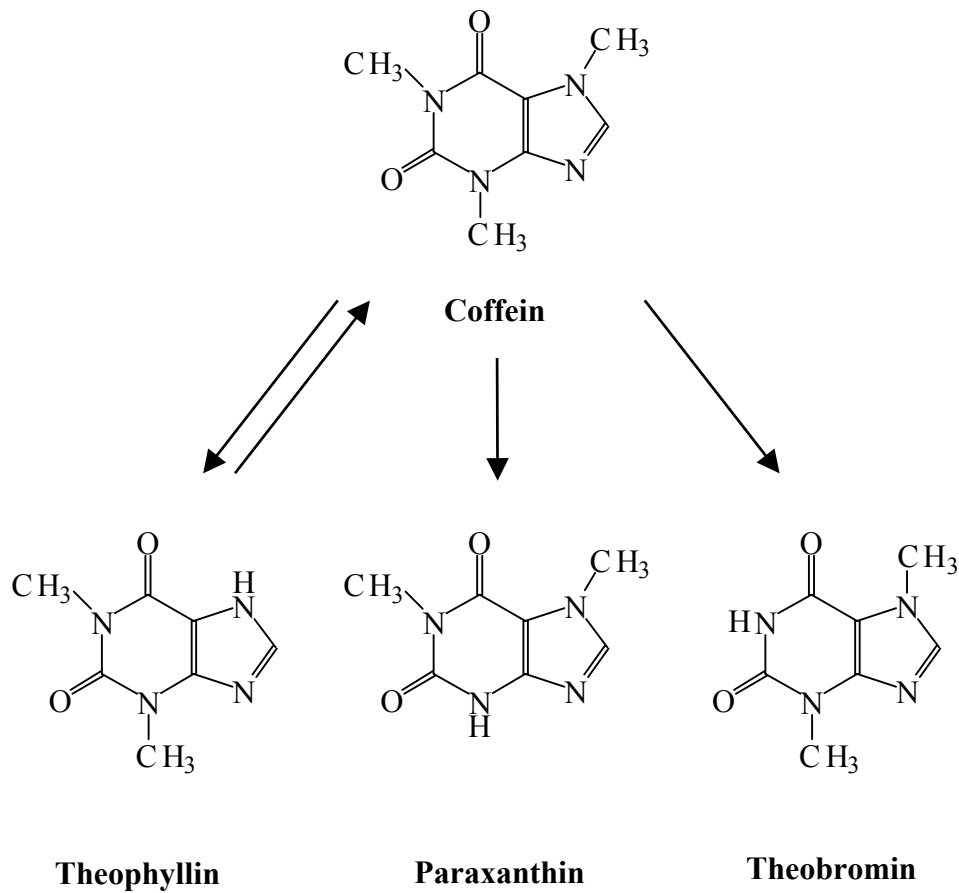


Abb. 3: Stoffwechselwege der Methylxanthine

2.1.3 Theophyllin

Theophyllin wurde 1888 durch KOSSEL als Bestandteil des Tees entdeckt. Nachdem die chemische Synthese möglich war, wurde es zu Beginn des 20. Jahrhunderts hauptsächlich als Diuretikum eingesetzt. Auch nach der Entdeckung der bronchospasmolytischen Wirkung im Jahr 1922 durch HIRSCH wurde Theophyllin in erster Linie als Kardiotonikum und Diuretikum verwendet (ARNAUD 1984).

Physikalisch-chemische Eigenschaften

Theophyllin (1,3-Dimethylxanthin) hat eine Molmasse von 180,2. Es hat schwach basische ($pK_s = 0,3$) Eigenschaften und schmilzt bei 270°C . Ein Teil Theophyllin löst sich bei Raumtemperatur in etwa 150 Teilen Wasser, 120 Teilen Ethanol und 200 Teilen Chloroform (EAB 1997). Die Strukturformel zeigt Abbildung 3.

Theophyllin findet sich in sehr geringen Mengen in Kaffeebohnen (5 mg/kg) und Teeblättern (bis 15 mg/kg) (FRANZKE et al. 1968).

Pharmakologische Wirkungen

Theophyllin wird zur Bronchodilatation, zur Steigerung der mukoziliären Clearance und zur Verbesserung der Zwerchfellkontraktion eingesetzt. Neue Erkenntnisse zur entzündungshemmenden Wirkung von Methylxanthinen als Phosphodiesterase-Hemmstoffe (PDE4), haben zu einer regen Diskussion über den Einsatz von Theophyllin als Basistherapeutikum in der Asthmatherapie geführt (WETTENGEL 1998). So stellten SATO et al. (1998) einen dosisabhängigen Anstieg des endogenen Glukokortikoidspiegels im Plasma von Mäusen nach Theophyllinapplikation fest. Weiterhin wird die Anhäufung von T-Lymphozyten im Lungengewebe gehemmt und durch die fehlende Interleukin-Freisetzung (IL-5) die Migration der eosinophilen Granulozyten verhindert (MARKHAM u. FAULDS 1998, PAGE 1999). Die Behandlung der atopischen Dermatitis mit oral verabreichtem Theophyllin zeigte dagegen keinen Erfolg, wohingegen mit intravenöser Applikation von Aminophyllin eine Verbesserung der Symptome erzielt werden konnte (HANIFIN u. CHAN 1996). Die mangelnde Wirksamkeit der Theophyllintherapie ist durch einen Gewöhnungseffekt und durch eine zu geringe Wirkstoffkonzentration in der Haut zu erklären (HANIFIN u. CHAN 1996). Um eine bronchodilatatorische Wirkung zu erzielen, sind Blutkonzentrationen von 10-20 $\mu\text{g/ml}$ Theophyllin nötig, während die antiinflammatorische Wirkung schon im Konzentrationsbereich von 5-10 $\mu\text{g/ml}$ festzustellen ist (WEINBERGER u. HENDELES 1996, MARKHAM u. FAULDS

1998, PAGE 1999). Veterinärmedizinisch wird Theophyllin in einer Dosierung von 5-6 mg/kg KM intravenös und bis zu 10 mg/kg KM oral eingesetzt (LÖSCHER 1997).

Pharmakokinetik

Nach oraler Applikation ist die Resorption des Theophyllins aus dem Gastrointestinaltrakt des Menschen und des Hundes nahezu vollständig (HENDELES et al. 1977, NIELSEN-KUDSK 1980, ASLAKSEN et al. 1981, Mc KIERNAN et al. 1981, TSE u. SZETO 1982, HENDELES et al. 1983, NOSAKA et al. 1986). TSE und SZETO (1982) konnten diesbezüglich keinen Unterschied zwischen Theophyllin und Aminophyllin (einem Gemisch aus 85% Theophyllin und 15% Ethylendiamin) feststellen, obwohl ersteres schlechter wasserlöslich ist. Maximale Plasmaspiegel an Theophyllin werden nach oraler Applikation bei Hunden nach 0,5 bis 3,5 Stunden erreicht (Mc KIERNAN et al. 1981, TSE u. SZETO 1982, NOSAKA et al. 1986). Die Plasmahalbwertszeit von Theophyllin wird in der Literatur mit 3,8 bis 6,4 Stunden nach intravenöser Applikation und 4,3 bis 7,5 Stunden nach oraler Verabreichung angegeben (Mc KIERNAN et al. 1981, TSE u. SZETO 1982, NOSAKA et al. 1986).

Aus Theophyllin entstehen in der Leber durch Metabolismus 1-Methylxanthin, 3-Methylxanthin und 1,3-Dimethylharnsäure (ARNAUD 1987). Weiterhin ist die unter 2.1.2 beschriebene körpereigene Methylierung des Theophyllins zu Coffein möglich (Abb. 3). Über die Nieren wird den Untersuchungen von PIAFSKY u. OGILVIE (1975) sowie OGILVIE (1978) zufolge rund 10% des Theophyllins ausgeschieden.

2.1.4 Theobromin

Theobromin wurde 1842 erstmals von WOSKRESENSKY isoliert (ARNAUD 1984).

Physikalisch-chemische Eigenschaften

Die chemische Bezeichnung für Theobromin (Abb. 3) lautet 3,7-Dimethylxanthin. Seine Molmasse beträgt 180,2. Bei Theobromin handelt es sich um ein weißes und geruchloses kristallines Pulver mit einem Schmelzpunkt von 350°-360° C. Theobromin hat sehr schwach basische ($pK_{S1} < 1$) und schwach saure Eigenschaften ($pK_{S2} = 10,0$) (EAB 1997).

Kakaobohnen und speziell deren Schalen können bis 3% Theobromin enthalten, in schwarzem Tee, Kaffee, Colanüssen und Mate kommt es dagegen nur in Spuren vor (EAB 1997, ANON. 1995).

Pharmakologische Wirkungen

Die bedeutendste pharmakologische Wirkung des Theobromins ist die Steigerung der Diurese, die länger anhält als nach Applikation von Theophyllin. Durch Einführung wirksamerer Diuretika entfiel die Indikation für den Einsatz von Theobromin (BOOTH 1977). Weiterhin wirkt Theobromin gefäßerweiternd und anregend auf den Herzmuskel (ANON. 1995, LÖSCHER 1997).

Pharmakokinetik

MUMFORD et al. (1996) konnten bei Menschen nach oraler Verabreichung von Theobromin als Kapsel und in Form von Schokolade im Plasma maximale

Wirkstoffspiegel von Theobromin nach 3 bzw. 2 Stunden feststellen. Die Konzentrationen betragen 6,7 bzw. 8,1 mg/ml. Die Bioverfügbarkeit von Theobromin aus der Schokolade war in dieser Studie höher (115%), als die Verfügbarkeit des Wirkstoffes aus der Kapsel. SHIVELY et al. (1985) errechneten für Theobromin beim Menschen eine Verfügbarkeit aus Schokolade von 80% einer vergleichend applizierten Theobrominlösung.

CORNISH u. CHRISTMAN (1957) zufolge sind bei Menschen nach Theobromineinnahme im Harn 7-Methylxanthin (28-30%), 3-Methylxanthin (14-21%) und 7-Methylharnsäure als Metabolite und 11-12% an unverändertem Theobromin enthalten. ARNAUD u. WELSCH (1979) wie auch SHIVELY u. TARKA (1983) fanden im Harn von Ratten 7-Methylxanthin (6%), 7-Methylharnsäure (4%), 3,7-Dimethylharnsäure (3%), 6-Amino-5-[N-Formylmethylamino]-1-Methyluracil (36%), ursprüngliches Theobromin (49%) und geringe Mengen an Dimethylallantoin und N-Methylharnstoff. MILLER et al. (1984), die den Metabolismus des Theobromins an verschiedenen Säugetierarten mittels radioaktiv markiertem Theobromins untersuchten, stellten für alle Arten dieselben Metabolite, jedoch in jeweils anderem Verhältnis fest. So wurden beim Hund 3-Methylxanthin (25%) und die Uracilderivate (10%) in den größten Mengen ausgeschieden, während 7-Methylxanthin (4%), und die Di- und Monomethylharnsäuren (8%) in geringeren Mengen auftraten. Nicht verstoffwechseltes Theobromin stellte mit 46% den größten Anteil der gemessenen Stoffe dar. ALY (1981) verabreichte Schafen oral jeweils 40 mg Theobromin pro kg Körpermasse und 3 g Kakaoschalen (einfach und über 5 Tage) pro kg Körpermasse. Im Harn der Tiere war daraufhin vor allem Theobromin und 7-Methylharnsäure, sowie in geringerem Umfang auch 7-Methylxanthin und 3-Methylxanthin enthalten.

2.1.5 Paraxanthin

Paraxanthin wurde erstmals 1883 von SALOMON aus dem Harn des Menschen isoliert (ARNAUD 1984).

Physikalisch-chemische Eigenschaften

Paraxanthin bzw. 1,7-Dimethylxanthin besitzt eine Molmasse von 180,2. Es kommt in der Natur nicht vor. Die Strukturformel ist in Abbildung 3 dargestellt.

Pharmakologische Wirkungen

Die Annahme, daß Paraxanthin eine pharmakologische Wirkung besitzt, wurde von SNYDER et al. (1981) durch *In-vitro*-Untersuchungen gestützt, da es die Adenosinrezeptoren im selben Maße wie Coffein hemmt. Mit einem Anteil von 70-80% ist es der Hauptmetabolit des Coffeins beim Menschen (ARNAUD u. WELSCH 1982, BENOWITZ et al. 1995). In vergleichenden Untersuchungen zur Wirkung von Paraxanthin und Coffein konnten BENOWITZ et al. (1995) beim Menschen für beide Substanzen dieselben pharmakologischen Wirkungen nachweisen, jedoch war Coffein hinsichtlich der Beeinflussung des Sympathikotonus, der Katecholaminfreisetzung, des Blutdrucks und der Lipolyse wirkungsvoller als Paraxanthin.

Pharmakokinetik

Die Resorption von Paraxanthin aus dem Gastrointestinaltrakt des Menschen wurde von LELO et al. (1986a) als vollständig beschrieben. BORTOLOTTI et al. (1985) verabreichten Paraxanthin intravenös an Ratten und ermittelten eine

Plasmahalbwertszeit von 1 Stunde. BENOWITZ et al. (1995) stellten im Plasma von Menschen nach oraler Applikation von 2 bzw. 4 mg Coffein pro kg KM maximale Paraxanthinkonzentrationen von 1,4 und 1,6 mg/l nach 5 bzw. 9 Stunden fest. Nach oraler Einnahme von Paraxanthin (2 und 4 mg/kg KM) wurden die maximalen Plasmaspiegel (2,8 bzw. 5,6 mg/l) nach 3 bzw. 2 Stunden erreicht.

Da die Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin auch in verschiedenen Nahrungsmitteln enthalten sind, kommen Kaffee, Tee und Schokolade als Quellen für Dopingverstöße bei Windhundrennen in Frage.

2.2 Kaffee

Als Rohkaffee wird der von der Frucht- und Samenschale befreite ungeröstete Samen von Pflanzen der Gattung *Coffea* bezeichnet (Kaffeeverordnung 1981). Die Gattung *Coffea* wird in fünf Gruppen unterteilt, wobei nur einige Arten der Gruppe *Eucoffea* für den Anbau nutzbar gemacht wurden. Die wichtigsten Arten sind *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, *Coffea liberica* und *Coffea mocha* (STREULI 1970). Für die Kaffeeproduktion werden vor allem *Coffea arabica*, *Coffea canephora* var. *robusta* und eine Kreuzung dieser beiden Pflanzen *Coffea arabusta* genutzt.

Der durchschnittliche Verbrauch an Rohkaffee lag 1995 in der Bundesrepublik Deutschland bei 7,1 kg pro Person, was in etwa 169 Litern Kaffee entspricht. Haupterzeugerländer für den deutschen Markt sind mit einem Anteil von 35% bzw. 8% die Länder Kolumbien und Brasilien (TRAUTWEIN 1996).

In Tabelle 2 sind die Hauptinhaltsstoffe gerösteter Kaffeebohnen aufgeführt. Unter den coffeinhaltigen Nahrungsmitteln weist Kaffee den höchsten Coffeingehalt auf. KAPLAN et al. (1974) geben für geröstete Kaffeebohnen einen Coffeingehalt von 0,8 bis 1,8% an. STREULI (1970) gibt einen Coffeingehalt von 1 bis 2% an und weist darauf hin, daß die Robusta-Sorten einen höheren Anteil an Coffein besitzen.

VIANI (1993) beziffert den Coffeingehalt der Arten Arabica und Robusta auf 1,3% bzw. 2,4%. Die Coffeinmenge im Kaffee hängt jedoch nicht nur von den verwendeten Kaffeebohnen ab, sondern wird auch durch die Art der Zubereitung beeinflusst. Zu den beiden Kategorien Filterkaffee und löslicher Kaffee gibt es in der Literatur zahlreiche Angaben, die jedoch stark differieren (Tab. 3). Die Unterschiede lassen sich durch verschiedene Brühverfahren erklären. Die Untersuchungen von BURG (1975) stellen mit über 2000 ausgewerteten Kaffeeproben das umfangreichste Probengut dar. Als Durchschnittswerte werden pro 150 ml Kaffee 85 mg Coffein in Filterkaffee, 60 mg Coffein in Instantkaffee und 3 mg Coffein in entkoffeiniertem Kaffee angegeben.

Tabelle 2: Zusammensetzung gerösteter Kaffeebohnen (Anteil an der Trockenmasse in Prozent) nach VIANI (1993)

| Substanz | Arabica | Robusta |
|----------------------------|---------|---------|
| Coffein | 1,3 | 2,4 |
| Mineralien | 4,5 | 4,7 |
| - davon Kaliumverbindungen | 1,8 | 1,9 |
| Lipide | 17,0 | 11,0 |
| Trigonellin, Nicotinsäure | 1,0 | 0,7 |
| Proteine | 10,0 | 10,0 |
| Aliphatische Säuren | 2,4 | 2,5 |
| Depside (Chlorogensäure) | 2,7 | 3,1 |
| Kohlenhydrate | 38,0 | 41,5 |
| Flüchtige Aromastoffe | 0,1 | 0,1 |
| Melanoide (Differenz) | 23,0 | 23,0 |

Tabelle 3: Coffeingehalt von gebrühtem Kaffee (A) und von löslichem Pulverkaffee (B)

| | Autor | mg/l | mg/Tasse |
|----------|------------------------------|---------------|-----------------|
| A | Marks u. Kelly (1973) | keine Angaben | 80 |
| | Lelo et al. (1986b) | 334 | 80 |
| | Stavric et al. (1986) | 364 | 84 |
| | Burg (1975) | 567 | 85 |
| | Gilbert et al. (1976) | 621 | 112 |
| | Bunker u. Mc Williams (1979) | 1000 | 151 |
| | Zylber-Katz et al. (1984) | keine Angaben | 155 |
| B | Lelo et al. (1986b) | 285 | 60 |
| | Gilbert et al. (1976) | 328 | 66 |
| | Burg (1975) | 400 | 60 |
| | Bunker u. Mc Williams (1979) | 440 | 66 |

2.3 Tee

Als schwarzer und grüner Tee wird der Aufguß von Blättern des Teestrauches *Camellia sinensis* bzw. *Thea sinensis* mit heißem Wasser bezeichnet (TRAUTWEIN 1996). Der Ursprung der Teekultur liegt in China, wo Tee schon seit 4000 Jahren als Heil- und Genußmittel bekannt ist (WEISS 1995). Die Hauptanbauländer sind heute China, Indien, Sri Lanka, Indonesien und Kenia (HERRMANN 1994). Der Pro-Kopf-Verbrauch von Tee lag in der Bundesrepublik Deutschland 1995 bei etwa 220 Gramm, was einem Konsum von rund 21 Litern Tee entspricht.

Aufgrund des Coffeingehaltes ist die Applikation von Tee an Windhunde zum Zwecke der Leistungssteigerung denkbar. So wurde in Irland schon seit jeher vor einem Rennen Tee an Windhunde verabreicht, da Coffein dort nicht als Dopingmittel

angesehen wird (TOBIN 1981). Tabelle 4 stellt die Inhaltsstoffe von frischen und fermentierten Teeblättern sowie eines Aufgusses mit schwarzem Tee dar. BURG (1975) gibt den Coffeingehalt von Instanttee mit 30 mg pro 150 ml an. Andere Autoren geben für mit Teebeuteln gebrühten Tee Werte von 28 bis 44 mg pro Tasse (FDA 1980) bzw. 8 bis 91 mg pro Tasse an (GILBERT 1984).

Tabelle 4: Zusammensetzung frischer und fermentierter Teeblätter sowie von Schwarzteeaufgüssen bezogen auf den eingesetzten Tee in Prozent der Trockenmasse (FINGER 1991, MAIER u. ENGELHARDT 1991)

| Substanz | frische Teeblätter | fermentierte Teeblätter | Aufguß (Schwarztee)* |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------|-------------------------|
| Aminosäuren | 4 | 4 | 3,5 |
| Aromastoffe | 0,01 | 0,02 | 0,01 |
| Asche | 5 | 5 | 4,5 |
| Coffein | 4 | 4 | 3,2 |
| Kohlenhydrate | 7 | 7 | 4,0 |
| Pigmente | 5 | 5 | Spuren |
| Polyphenole, monomer | 30 | 5 | 4,5 |
| Polyphenole, oxidiert | | 25 | 15 |
| Proteine | 15 | 15 | Spuren |
| Rohfaser | 30 | 30 | |

* Ziehdauer 5 Minuten

2.4 Schokolade

Schokolade stellt eine Mischung aus Zucker und Kakaomasse dar, wobei Theobromin das Hauptalkaloid des Kakaos darstellt (Tab. 5). Da Milkschokolade

im Gegensatz zu dunkler Schokolade einen geringeren Kakaoanteil besitzt, enthält sie demzufolge mit durchschnittlich 180 mg (150-200 mg) pro 100 g auch weniger Theobromin als dunkle Schokolade mit im Mittel 630 mg (400-800 mg) Theobromin pro 100 g (SOUCI et al. 1994).

Schokoladen mit hohem Kakao- bzw. Theobrominanteil (z.B. Scho-Ka-Kola®) enthalten zusätzlich Coffein (0,2%). Sie kommen damit auch als potentielle Dopingmittel bei Windhundrennen in Betracht. Allerdings besteht beim Hund durch Aufnahme großer Mengen Kakaopulver oder Backschokolade bereits die Gefahr einer Theobrominvergiftung, da diese Nahrungsmittel besonders reich an Theobromin sind. Die für Hunde toxische Dosis von etwa 100 mg Theobromin pro kg KM ist bereits in 6 g dieser Lebensmittel enthalten (GFELLER u. MESSONIER 1998, STRACHAN u. BENNETT 1994, SUTTON 1981).

Tabelle 5: Rezeptur für Milkschokolade und dunkle Schokolade (BECKETT 1990)

| | Milkschokolade [%] | Dunkle Schokolade [%] |
|-------------------------------------|--------------------|-----------------------|
| Kakaomasse | 11,78 | |
| Kakaobohnenmischung / Kakaomasse | | 60,65 |
| Vollmilchpulver | 19,08 | |
| Zucker | 48,73 | 36,25 |
| Kakaobutterzusatz | 19,98 | 2,6 |
| Lecithin | 0,35 | 0,3 |
| Vanillin | 0,08 | 0,2 |

2.5 *Doping*

2.5.1 Definition und Geschichtliches

Unter Doping versteht man die Verabreichung von Substanzen an Mensch und Tier mit dem Ziel einer Beeinflussung der natürlichen und aktuellen Leistungsfähigkeit bei sportlichen Wettkämpfen (UNGEMACH u. NÜRNBERGER 1999). Als Tierarten kommen hier vor allem Pferde, Hunde und Reisetauben in Betracht.

Der Begriff „Doping“ bzw. „dop“ stammt von südafrikanischen Eingeborenenstämmen und bezeichnet ein berauschendes Getränk, das während religiöser Feierlichkeiten getrunken wurde. Im amerikanischen Sprachgebrauch beschrieb Doping später das trickreiche Betäuben und anschließende Ausrauben von Menschen durch Zigeuner. Dadurch ergab sich dann der Bezug zum Rauschgift und 1899 erschien der Begriff „Doping“ erstmals in einem englischen Wörterbuch (TOBIN 1981, HERMLE 1996). Anfang des 20. Jahrhunderts erhielt das Wort dann seine heutige Bedeutung (TOBIN 1981).

Das Bestreben, schneller als die Konkurrenten zu sein, ist allerdings kein Attribut der heutigen Zeit. So sollen schon die sagenumwobenen Berserker der nordischen Mythologie das aus *Amanita muscaria* gewonnene Bufotein genutzt haben, um ihre Kampfkraft um ein mehrfaches zu steigern (PICK 1993). Bereits im dritten Jahrhundert vor Christus war es im Römischen Reich unter Androhung der Todesstrafe verboten, Pferde vor einem Rennen zu manipulieren. Damals verabreichte man den Tieren sog. „Hydromel“, eine Honiglösung, die die Ausdauer verbessern sollte (TOBIN 1981, PICK 1993). In England wurden 1666 die ersten Dopingbestimmungen verabschiedet, die eine Applikation von Anregungsmitteln an Pferde verboten. In Preußen wurde 1881 die Verabreichung alkoholischer Getränke an vermeintlich „feige“ Pferde unter Strafe gestellt (UNGEMACH 1985). Die zielgerichtete Bekämpfung des Dopings begann allerdings erst im 20. Jahrhundert, da es einerseits durch Arzneimittel-Neuentwicklungen möglich war, immer gezielter

und erfolgreicher zu manipulieren, und andererseits unerlaubte Substanzen durch bessere Analytik nachweisbar wurden (UNGEMACH u. NÜRNBERGER 1999).

2.5.2 Dopingformen

Eine Kategorisierung der unerlaubten Beeinflussung der natürlichen und aktuellen Leistungsfähigkeit wurde von UNGEMACH u. NÜRNBERGER (1999) für den Pferdesport durchgeführt. Die Manipulationen lassen sich in positives, negatives und unabsichtliches Doping sowie in Maßnahmen zur Erschwerung des Dopingnachweises einteilen. Aufgrund der Ergebnisse von Dopinganalysen aus dem Hunderennsport kann davon ausgegangen werden, daß bei den Hunden ähnliche Bemühungen unternommen werden, die Leistungsfähigkeit der Tiere zu verändern. Dabei handelt es sich am häufigsten um positives bzw. unabsichtliches Doping (APELT 1998*).

Positives Doping

Doping auf Sieg:

Es wird entweder kurz vor dem Wettkampf oder während der Trainingsphase durchgeführt. Bei der akuten Einflußnahme auf die Leistung werden zum einen psychomotorische Stimulantien (z.B. Phenylalkylamine, Methylxanthine, Opioide), die den natürlichen Überlastungsschutz des Organismus ausschalten sollen, eingesetzt, zum anderen werden geringe Dosen an Sedativa (z.B. Benzodiazepine) verwendet, um Tiere mit überreaktiven Erregungszuständen zu beruhigen. Dies wird auch als paradoxe Form des Dopings bezeichnet. Ein langfristiger Einsatz bestimmter Pharmaka (z.B. Anabolika) steigert die Leistungsfähigkeit der Tiere.

* laut persönlicher Mitteilung von Herrn Dr. med. vet. H.-J. Apelt, Weeze 14.2.1998

Doping zur Wiederherstellung der normalen Leistungsbereitschaft:

Diese Form des Dopings zielt darauf ab, die genetisch determinierte Leistungsfähigkeit des Tieres wiederherzustellen, die durch den aktuellen Gesundheitszustand des Tieres eingeschränkt wird. Dabei ist in erster Linie die Behebung bestehender Lahmheiten durch medikamentelle Schmerzausschaltung (z.B. nichtsteroidale Antiphlogistika, Lokalanästhetika, Glukokortikoide) von Bedeutung.

Doping mit körpereigenen Substanzen:

Zu dieser Art des Dopings zählen in erster Linie Eigenblutinjektionen (v.a. Erythrozyten) und die Verabreichung von Erythropoetin (EPO), ein in der Niere gebildetes Hormon, das die Erythropoese reguliert (BERGLUND et al 1988, MÜLLER 1999). Beide Maßnahmen haben zum Ziel, den Anteil der Erythrozyten im Blut zu erhöhen und dadurch die Sauerstofftransportkapazität des Blutes zu steigern.

Physikalisches Doping:

In diese Kategorie gehören alle Maßnahmen zur Manipulation der Leistungsfähigkeit, die nicht mit der Applikation chemischer Substanzen einher gehen. Es wird durch Einschränkung des Schmerzempfindens oder durch gezielte Schmerzauslösung versucht das Tier zu beeinflussen. Als Beispiele wären elektrische Reize, Akupunktur, Ultraschall und UV-Strahlen zu nennen.

Negatives Doping

Zu negativem Doping werden Neuroleptika und Ataraktika in höherer Dosierung als beim positivem Doping übererregter Tiere eingesetzt. Es kommt in der Folge zu einer psychomotorischen Antriebslosigkeit und damit zu einer Leistungsminderung. Diese Form des Dopings wird vorwiegend von Konkurrenten bzw. Außenstehenden durchgeführt, da dem Tierbesitzer oder –trainer einfachere und unauffälligere Mittel zur Verringerung der Leistungsfähigkeit zu Verfügung stünden.

Unabsichtliches Doping

Zu dieser Kategorie des Dopings gehören positive Dopingbefunde, denen Arzneianwendungen ohne konkreten Vorsatz vorausgingen. Häufig ist dies durch unzureichende Kenntnis der Halbwertszeiten und der sich daraus ergebenden Absetzfrist eines angewendeten Medikaments bedingt. Hierbei kann die für lebensmittelliefernde Tiere festgelegte Wartezeit nicht als Orientierung dienen, da dadurch lediglich die Rückstandsunbedenklichkeit ausgedrückt wird, jedoch nicht zwingend Rückstandsfreiheit. So können durchaus auch nach Ablauf der Wartezeit noch meßbare Wirkstoffkonzentrationen im Tier vorhanden sein. Weiterhin kann die Unkenntnis der gesamten Wirkungsbreite eines Arzneimittels zu unbeabsichtigten Dopingfällen führen. Außerdem werden oftmals Kombinationspräparate appliziert und dabei nicht alle Wirkstoffe auf Dopingrelevanz überprüft. Desweiteren können pharmazeutische Hilfsstoffe, die nicht immer ausgewiesen sein müssen, und Futterbestandteile zu ungewollten Dopingfällen führen.

Maßnahmen zur Erschwerung des Dopingnachweises

Diese Dopingmethode rückt mit den ständig besser werdenden Nachweisverfahren zunehmend in den Hintergrund. Es wird versucht, den analytischen Nachweis der verabreichten Substanz zu erschweren. Dies wird zum einen dadurch versucht, daß sogenannte Maskierungsmittel, die für sich keine leistungssteigernde Wirkung besitzen, zusammen mit den Dopingmitteln verabreicht werden. Diese Maskierungsmittel sollen in der Analyse die verbotene Substanz überlagern. Zum anderen werden Diuretika mit der Absicht eingesetzt, über eine erhöhte Harnproduktion die Konzentration des Dopingmittels im Harn zu senken (z.B. Phenylbutazon). Andererseits hat zum Beispiel Furosemid unterschiedlichen Einfluß auf die Ausscheidung diverser Substanzen und kann die Urinkonzentrationen mancher Stoffe (z.B. Fentanyl, Procain) auch erhöhen. Weiterhin kann durch Applikation von Urikostatika wie z.B. Probenecid der Sekretionsprozeß in den

Nierentubuli gehemmt werden. Da Probenecid eine Affinität zum selben Carriersystem besitzt wie andere Pharmaka (z.B. Benzylpenicillin, Salicylsäure), werden diese erst verzögert ausgeschieden (FREY 1996).

2.5.3 Dopingbestimmungen

Heutzutage existieren separate Dopingbestimmungen verschiedener Verbände für ihre Mitglieder. Im Pferdesport haben die Deutsche Reiterliche Vereinigung e.V. (FN), das Direktorium für Vollblutzucht und -Rennen e.V. (DVR) und der Hauptverband für Traber-Zucht und -Rennen e.V. (HVT) Bestimmungen erlassen, die das Dopen der Sportpferde verbieten bzw. für bestimmte Substanzen Grenzwerte in Harn und Plasma festlegen (FN 1994, DVR 1996, HVT 1995).

Für die dem Verband für das Deutsche Hundewesen (VDH) angeschlossenen Windhundvereine ist die VDH-Windhundrennordnung maßgebend (ANON. 1998). Dem entsprechend hat der Deutsche Windhundzucht- und Rennverband e.V. (DWZRV) die Vorgaben des VDH in seine Rennordnung übernommen. In beiden Rennordnungen wird der Tatbestand des Dopings an sich, sowie die Durchführung der Dopingkontrollen und die zu erlassenden Sanktionen beschrieben. Demnach muß „ein Hund, der von seinem Besitzer zwecks Teilnahme an einer Leistungsprüfung auf eine Rennbahn gebracht wird, in seinen Geweben, seinen Körperflüssigkeiten und seinen Ausscheidungen am Tag des Rennens oder der Leistungsprüfung frei sein von allen Substanzen, die auf der Stoffgruppenliste des VDH aufgeführt sind“ (Tab. 7). Der DWZRV hat an dieser Stelle noch den Teilsatz „und das physiologische Maß überschreiten“ eingefügt. Durch die Gliederung der Dopingliste in Wirkstoffgruppen, bleibt ihre Aktualität trotz der raschen Entwicklung auf dem Arzneimittelmarkt gewahrt. Steht oder stand ein Hund bis einige Tage vor dem Rennen in tierärztlicher Behandlung, kann der Besitzer ein Formular ausfüllen, in dem Art, Menge und Zeitpunkt der verabreichten Substanz aufgeführt ist und vom behandelnden Tierarzt bestätigt wird. Aufgrund dieser Eintragungen und unter

Berücksichtigung der Halbwertszeit der verabreichten Substanz, entscheidet der Bahn- bzw. Dopingtierarzt über eine Startfreigabe. Zur Überwachung des Dopingverbotes werden vom VDH bei internationalen und nationalen Veranstaltungen Dopingkontrollen durchgeführt.

Der §6a des Arzneimittelgesetzes (1998) verbietet das Inverkehrbringen, Verschreiben und Anwenden von Arzneimitteln zu Dopingzwecken beim Menschen. Die Grundlage der Verbandsbestimmungen im Pferde- und Hundesport stellt das europäische bzw. nationale Tierschutzgesetz dar. Dieses untersagt nach §3 die Manipulation der Tiere, da zum einen „dem Tier Leistungen abverlangt werden, denen es normalerweise nicht gewachsen ist“ und zum anderen „die Anwendung von Dopingmittel bei sportlichen Wettkämpfen und ähnlichen Veranstaltungen verboten ist“ (TIERSCHUTZGESETZ 1998). Es soll vor Betrug geschützt bzw. einer verfälschten Zuchtauswahl vorgebeugt werden. Zur Umsetzung der genannten Bestimmungen wurde vom VDH bzw. DWZRV ein Liste erstellt, in der die verbotenen Stoffgruppen aufgeführt sind (Tab. 6). Die Aktualität der Liste bleibt durch die Einteilung in Stoffgruppen bestehen, da auch neue Pharmaka konkret zugeordnet werden können.

Tabelle 6: Stoffgruppenliste verbotener Wirkstoffe (DWZRV-Rennordnung, Anhang 8)

- Substanzen, die auf das zentrale oder periphere Nervensystem wirken
- Substanzen, die auf das vegetative Nervensystem wirken
- Substanzen, die auf den Magen-Darm-Trakt wirken
- Substanzen, die auf Herz und Kreislauf wirken
- Substanzen, die auf den Bewegungsapparat wirken
- Substanzen mit fiebersenkender, schmerzstillender, entzündungshemmender Wirkung
- Substanzen mit antibiotischer, antimykotischer, antiviraler Wirkung
- Substanzen, die die Blutgerinnung beeinflussen
- Substanzen mit zellschädigender Wirkung
- Antihistaminika
- Diuretika
- Lokalanaesthetika
- Muskelrelaxantien
- Atmungsstimulantien
- Sexualhormone (Ausnahme: Präparate zur Verhinderung der Läufigkeit)
- Anabolika
- Kortikosteroide
- Endokrine Sekrete und ihre synthetischen Homologe

Doping liegt vor, wenn bei einem Hund eine oder mehrere Substanzen - gleich in welcher Menge - gefunden wird, die in der obigen Stoffgruppenliste aufgeführt sind und das physiologische Maß überschreiten.

Dopingkontrollen

Unter Federführung des Verbandes für das Deutsche Hundewesen werden bei nationalen und internationalen Windhundrennen im Gebiet der Bundesrepublik Deutschland Dopingkontrollen seit 1994 durchgeführt. So wurden beispielsweise im Jahr 1994 18 Tiere untersucht, von denen 4 Hunde (18%) ein positives Dopingergebnis aufwiesen (APELT 1998*). Die Kontrollen werden im gesamten Bundesgebiet von einem der Rennkommission des VDH angehörenden Tierarzt ohne Vorankündigung durchgeführt. Nach einem Rennen werden dann in der Regel das erstplatzierte, sowie zwei weitere per Los ausgewählte Tiere kontrolliert. Die Besitzer gehen mit ihren Hunden und einer offiziellen Aufsichtsperson spazieren, um beim natürlichen Harnabsatz den Urin des Hundes aufzufangen. Den Rüden wird dabei eine Plastiktüte so unter den Rumpf gebunden, daß der Harn während des Absetzens darin aufgefangen wird. Der Harn von Hündinnen wird in entsprechenden Gefäßen aufgefangen. Ist auf natürlichen Wege kein Harn zu erhalten, so wird mittels Harnkatheter versucht, Urin zu gewinnen. Sollte auch dies ohne Erfolg bleiben, so wird eine Blutprobe entnommen. Die Proben werden in Beisein des Besitzers in eine A- und eine B-Probe geteilt, versiegelt und verpackt. Die ordnungsgemäße Durchführung wird durch den Besitzer bescheinigt. Das analysierende Institut bestätigt bei Eingang der Proben die Unversehrtheit des Siegels und führt anschließend substanzgruppenspezifische Übersichtsanalysen durch, denen im Verdachtsfall substanzspezifische Nachweisuntersuchungen folgen. Zur Feststellung eines positiven Dopingfalles muß die verbotene Substanz in der A- und der B-Probe nachgewiesen werden.

Da Methylxanthine dopingrelevante Wirkstoffe sind und aufgrund der Möglichkeit des Nachweises von Methylxanthinen nach Aufnahme von Nahrungs- bzw. Genußmitteln, wie Kaffee, Tee, Schokolade, sollte in der vorliegenden Arbeit die Pharmakokinetik der Methylxanthine nach Gabe der Substanzen Coffein, Theophyllin und Theobromin sowie nach Aufnahme von Kaffee, Tee und Schokolade beim Hund untersucht werden.

3 Tiere, Material, Methode

3.1 Zielsetzung

Es sollte die Pharmakokinetik der Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin beim Hund untersucht werden. Dazu sollten nach oraler und intravenöser Applikation der genannten Substanzen Blut- und Urinproben entnommen und mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie analysiert werden.

3.2 Versuchstiere

Die Versuche wurden an sechs jeweils acht Jahre alten Beagle-Hündinnen (Stamm BEAK: Hoe) durchgeführt, die in zwei Gruppen zu je drei Tieren im Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig gehalten wurden (Tab. 7). Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Versuche klinisch gesund. Die Fütterung erfolgte wechselweise mit den Hundefuttermitteln Royal Canin CS, CC, Club Spezial und Pedigree Pal.

Tabelle 7: Kenndaten der Versuchshunde

| Nr. | Gruppe | Tätowierung | Alter (Jahre) |
|-----|--------|-------------|---------------|
| 1 | 1 | 0487 | 8 |
| 2 | | 9311 | 8 |
| 3 | | 0485 | 8 |
| 4 | 2 | 0488 | 8 |
| 5 | | 0482 | 8 |
| 6 | | 0486 | 8 |

3.3 *Verwendete Präparate und Versuchsaufbau*

Die Substanzen Coffein und Theophyllin wurden oral und intravenös, Theobromin nur intravenös, jeweils in Form von Fertigarzneimitteln (Monopräparate) im Cross-over-Design an sechs weibliche Beagles verabreicht (Tab. 8). Zusätzlich wurden sie als Inhaltsstoffe der Nahrungsmittel Kaffee, Tee und Schokolade verabreicht (Tab. 9). Da kein Theobrominpräparat zur oralen Anwendung im Handel ist, wurde auf diesen Versuch verzichtet.

Tabelle 8: Verwendete Präparate

| Wirkstoff | Präparat | Formulierung | Dosierung [mg/kg KM] | Hersteller |
|------------------|--|---------------------|-------------------------------------|---|
| Coffein | Coffeinum purum | Tabletten | 10 | Berlin-Chemie AG, Berlin |
| Coffein | Coffeinum- Natrium salicylic. solut. 50%ig | Injekt.-Lsg. | 10 | Atarost, Twistringem |
| Theophyllin | afpred [®] forte-THEO | Injekt.-Lsg. | 5 | Sanavita, Werne |
| Theophyllin | Theophyllin retard- ratiopharm [®] 125 | Tabletten | 10 | Ratiopharm, Ulm |
| Theobromin | Theobromin- Inj.lsg. | Injekt.-Lsg. | 5 | Apotheke d. Univ. Klinikums Leipzig |

Tabelle 9: Verwendete Nahrungsmittel

| Nahrungsmittel | Produktname | Hersteller | Methylx.-Konz. [mg/ml] |
|--|--------------------|---------------------------------|---|
| Kaffee | Jacobs Krönung® | Kraft Jacobs Suchard, Bremen | ¹ Coffein: 3,0 |
| Tee | Assam | Lipton, Hamburg | ¹ Coffein: 3,6 ¹ Theobromin: 0,9 |
| Schokolade | Scho-Ka-Kola® | Stollwerck, Köln | ² Theobromin: 7,5 ² Coffein: 2,0 |
| ¹ Methylxanthinkonzentrationen nach eigenen HPLC-Analysen ² Methylxanthinkonzentrationen nach Angaben des Herstellers | | | |

Der jeweils erst genannte Wirkstoff war von besonderem Interesse und die Dosierung entsprechend ausgerichtet.

Zur Herstellung des Kaffeegetränkes wurden 80 g Kaffeepulver (Jacobs Krönung®, Jacobs) mit 300 ml Wasser in einer handelsüblichen Kaffeemaschine aufgebriht. Die Teeblätter (52,5 g; Assam, Lipton) wurden mit 300 ml kochendem Wasser übergossen und der Tee nach 3 Minuten durch ein Sieb gegossen. Anschließend erfolgte die Analyse mittels der in Kapitel 3.5 beschriebenen Methode.

3.4 Versuchsablauf

Die Hunde erhielten letztmalig am Vortag des Versuchs Futter. Am Versuchstag selbst erfolgte eine Fütterung vier Stunden nach Applikation der Substanzen. Wasser war frei zugänglich. An einem Versuchstag wurden jeweils drei Hunde behandelt. Zwischen den einzelnen Versuchsdurchgängen (Tab. 10) lag ein Zeitraum von

mindestens zwei Wochen, um eine vollständige Elimination der verabreichten Substanz zu gewährleisten.

Tabelle 10: Versuchsablauf

| Versuchsdurchgang | Applikation |
|-------------------|-------------------|
| 1 | Coffein oral |
| 2 | Coffein i. v. |
| 3 | Theophyllin oral |
| 4 | Theophyllin i. v. |
| 5 | Theobromin i. v. |
| 6 | Kaffee |
| 7 | Tee |
| 8 | Schokolade |

3.4.1 Vorbereitung der Tiere

Am Versuchstag wurde den Hunden vor Applikation der Substanzen mit Hilfe eines geschlitzten Spekulum ein Ballon-Harnkatheter (ProfilCath, RÜSCH-BRILLANT-Ballonkatheter, Ch. 10) eingeführt. Das Ende des Katheters wurde mit Hilfe eines Gummistopfens verschlossen und mittels Stülpa-Verbandsmull, der den Hunden vom Schulterbereich bis zur Glutealmuskulatur übergezogen wurde, fixiert. Um die Katheter vor Beschädigung durch die Hunde zu schützen, erhielten die Tiere einen Plastikhalskragen. Im Falle der intravenösen Applikation wurde eine Venenverweil-Kanüle gelegt.

3.4.2 Applikation der Wirkstoffe

Die Tabletten und die Schokolade wurden den Hunden auf dem Zungenrund plaziert und das Abschlucken kontrolliert. Kaffee und Tee wurden mit einer Plastikspritze in den Mundwinkel verabreicht. Die intravenösen Applikationen erfolgten in die Vena cephalica antebrachii. Alle Arzneimittel wurden vollständig aufgenommen. Erbrechen oder Regurgitieren wurden nicht beobachtet.

3.4.3 Probenentnahme

Den Hunden wurden unmittelbar vor der Verabreichung und 30, 60, 90, 120 Minuten sowie 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36 Stunden danach je 2 ml Blut aus der Vena cephalica antebrachii bzw. der Vena saphena parva in heparinisierte Eppendorfgefäße (20 I.E. Heparin / ml Blut) entnommen. Im Anschluß wurde Plasma durch Zentrifugation (10 Minuten, 4°C, 6500 U/min.) gewonnen und bis zur Analyse bei -20°C eingefroren. Nach intravenöser Verabreichung der drei Methylxanthine wurden zusätzlich nach 5, 10, 15, 45, 75 Minuten Blutproben entnommen.

Unmittelbar vor der Applikation und 60, 120 Minuten sowie 4, 6, 8, 12, 18, 24, 36 Stunden danach wurde der angesammelte Urin aus der Harnblase in ein Becherglas abgelassen. Das Urinvolumen wurde jeweils bestimmt. Ein Aliquot von 2 ml wurde in ein Eppendorfgefäß überführt und dieses bis zur Analyse bei -20°C gelagert. Der Harnkatheter wurde zur Schonung der Blasenwand nach 24 Stunden entnommen. Für die Urinentnahme nach 36 Stunden wurden die Tiere erneut katheterisiert. Nach intravenöser Applikation der Substanzen wurde nach 3 Stunden ebenfalls Urin aus der Blase entnommen.

3.5 Bestimmung der Methylxanthinkonzentrationen

Die Methylxanthinkonzentrationen wurden nach Festphasen-Extraktion mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt. Die gewählte Methode orientierte sich an der Methode von ARAMAKI et al. (1991), so daß es möglich war die Methylxanthine Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin gleichzeitig nachzuweisen. Die Nachweisgrenze im Plasma lag für Coffein bei 0,02 µg/ml, für Theophyllin bei 0,008 µg/ml und für Theobromin bei 0,009 µg/ml. Im Urin galten für Coffein 0,22 µg/ml, für Theophyllin 0,09 µg/ml und für Theobromin 0,01 µg/ml als Nachweisgrenze.

3.5.1 Reagenzien

| | |
|---|---------------------|
| Acetonitril HPLC Gradient Grade LiChrosolv [®] | Merck, Darmstadt |
| Betahydroxyethyltheophyllin | Sigma, Deisenhofen |
| Coffein | Sigma, Deisenhofen |
| Destilliertes Wasser | Millipore, Eschborn |
| Essigsäure 96% p.a. | Merck, Darmstadt |
| Heparin, Heparin-Natrium-25000-ratiopharm [®] | Ratiopharm, Ulm |
| Kaliumdihydrogenphosphat p.a. | Roth, Karlsruhe |
| Natronlauge (1 mol/l) | Merck, Darmstadt |
| Paraxanthin | Sigma, Deisenhofen |
| Reinstwasser Milli-Q plus | Millipore, Eschborn |
| Tetrahydrofuran p.a. | Merck, Darmstadt |
| Theobromin | Sigma, Deisenhofen |
| Theophyllin | Sigma, Deisenhofen |
| Triethylamin | Fluka, Neu-Ulm |

3.5.2 Lösungen

| | | | |
|---------------|--------------------------|-----------------------------|-----------|
| Stammlösungen | <i>Analyten</i> | Coffein | 300 µg/ml |
| | | Theophyllin | 90 µg/ml |
| | | Theobromin | 90 µg/ml |
| | | Paraxanthin | 90 µg/ml |
| | <i>Interner Standard</i> | Betahydroxyethyltheophyllin | 180 µg/ml |

Kaliumphosphatpuffer 0,4 mol/l, pH 5,3

Eluent Triethylamin 1% / Tetrahydrofuran 98,75:1,25 (v/v)

Natronlauge 1 mol/l

3.5.3 Geräte

Ultraschallbad: Sonorex Super 10P, Bandelin, Berlin

Rundschüttler: Reax 200, Heidolph, Kelheim

Zentrifugen: Centrifuge 5403, Eppendorf, Hamburg

Centrifuge 5415C, Eppendorf, Hamburg

Festphasenextraktion:

Extraktionssäulen: Varian Bond Elut[®] C18 100 mg, Varian, Harbor City, USA

Chemie-Membranpumpe: MZ 2C, Vacuubrand, Wertheim

Vakuumverdampfer:

Vakuumkonzentrator SC 110 A: Savant Instruments Inc., Holbrook, NY, USA

Kühlfalle RVT 4104: Savant Instruments Inc., Holbrook, NY, USA

Vapornet VN 100: Savant Instruments Inc., Holbrook, NY, USA

Vakuumpumpe VP 100: Savant Instruments Inc., Holbrook, NY, USA

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC):

Vorsäulen: LiChroCart[®] 4-4, LiChrosphere[®] 100 RP-18 (5 µm)
Merck, Darmstadt

Säulen: LiChroCart[®] 125-4, LiChrosphere[®] 100 RP-18 (5 µm)
Merck, Darmstadt

Pumpe: L-6200 A-Intelligent-Pump, Merck/Hitachi, Darmstadt/Tokyo

Detektor: L-4250 UV-VIS-Detektor, Merck/Hitachi, Darmstadt/Tokyo

Interface: D-6000 Interface, Merck/Hitachi, Darmstadt/Tokyo

Integrator: D-7000 HPLC-Manager, Merck, Darmstadt

Compaq Deskpro XL 590

Autosampler: AS-2000 A Autosampler, Merck/Hitachi, Darmstadt/Tokyo

Peltierrack: PR-2000 Peltierrack, Merck/Hitachi, Darmstadt/Tokyo

3.5.4 Probenaufarbeitung

Zur Aufarbeitung der Plasma- und Urinproben mit Hilfe einer Festphasenextraktion wurde die Methode von ARAMAKI et al. (1991) modifiziert. Daraus ergab sich folgendes Vorgehen:

Plasmaproben:

300 µl Plasma wurden mit 50 µl internem Standard (Betahydroxyethyltheophyllin, 18 µg/ml in Methanol/Wasser 1:9) und 300 µl Kaliumphosphatpuffer in ein Eppendorfgefäß überführt und nach anschließendem Schütteln davon 500 µl auf die mit 2 x 1 ml Methanol und 2 x 1 ml destilliertem Wasser konditionierte Extraktionssäule aufgetragen.

Urinproben:

30 µl Urin, 270 µl destilliertes Wasser, 50 µl interner Standard und 300 µl Kaliumphosphatpuffer wurden in einem Eppendorfgefäß vereinigt und geschüttelt. Hiervon wurden 500 µl auf die mit 2 x 1 ml Methanol und 2 x 1 ml destilliertem Wasser konditionierte Extraktionssäule pipettiert.

Es folgte das dreimalige Waschen der Säulen mit jeweils 1 ml destilliertem Wasser und anschließend die Elution der Methylxanthine mit 3 x 300 µl Methanol. Nach dem Verdampfen des Methanols im Vakuumverdampfer bei 60°C über 3 Stunden wurde der Rückstand in 250 µl Eluent aufgenommen, kräftig geschüttelt und bis zur Injektion in die HPLC-Anlage 12 Stunden bei 4°C im Kühlschrank gelagert.

3.5.5 HPLC-Bedingungen

Als mobile Phase diente ein Eluent aus 1%igem Triethylamin in Reinstwasser und Tetrahydrofuran (98,75:1,25 v/v). Dieser wurde vor der Verwendung im Ultraschallbad entgast. Die chromatographische Analyse wurde bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Detektion fand bei einer Wellenlänge von 280 nm statt. Das Injektionsvolumen betrug 50 µl, die Fließgeschwindigkeit des Eluenten 1,0 ml pro Minute und der Druck ca. 980 psi.

3.6 *Berechnung der Methylxanthinkonzentrationen*

Die Konzentrationen der Muttersubstanzen bzw. der Metaboliten wurden unter Zuhilfenahme eines Internen Standards ermittelt. Zur Eichung wurden Plasma und Urin unbehandelter Hunde mit der zu quantifizierenden Substanz versetzt und den Proben entsprechend aufgearbeitet und analysiert.

Hierbei wurde der Quotient aus den Peakflächen des Analyten und des internen Standards zur Erstellung einer Eichkurve graphisch gegen die Konzentration des entsprechenden Analyten aufgetragen. Anhand dieser Eichkurve konnte die Konzentration der einzelnen Methylxanthine in den untersuchten Proben aus dem Flächenverhältnis des Analyten und des internen Standards berechnet werden. Die Eichkurven waren im untersuchten Bereich (Coffein von 0,3 bis 30 µg/ml, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin von 0,09 bis 90 µg/ml) linear, die Korrelationskoeffizienten der Eichkurven lagen zwischen 0,97 und 0,99.

3.7 Berechnung pharmakokinetischer Parameter

Pharmakokinetische Kenndaten wurden unter Verwendung eines Zwei-Kompartiment-Modells mit Hilfe des Programms Topfit 2.0 errechnet (HEINZEL et al. 1993).

Die Bioverfügbarkeit der oral applizierten Methylxanthine Coffein (Tablette, Kaffee, Tee) Theophyllin (Tablette) und Theobromin (Schokolade) wurde als prozentualer Anteil der Fläche unter der Blutspiegelverlaufskurve ($AUC_{p.o.}$) eines Einzeltieres von seiner eigenen $AUC_{i.v.}$ berechnet.

Die Eliminationshalbwertszeit $t_{1/2}$ [h] wurde aus der terminalen Eliminationskonstante λ nach folgender Gleichung errechnet: $t_{1/2} = \ln 2/\lambda$

Die Fläche unter der Blutspiegelverlaufskurve AUC [$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$] wurde nach der linearen Trapezregel bestimmt.

4 Ergebnisse

4.1 Coffein

Nach intravenöser und oraler Applikation von 10 mg Coffein pro kg Körpermasse wurden im Plasma und im Urin Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin nachgewiesen.

4.1.1 Plasmakonzentrationen

Die intravenöse Coffeinapplikation erzeugte initiale Coffeinmaxima von im Mittel $176,1 \pm 48,4 \mu\text{mol/l}$. Die Plasmahalbwertszeit betrug $4,3 \pm 1,4$ Stunden (Abb. 4). Nach oraler Verabreichung des Coffeins in gleicher Dosierung wurde eine maximale Coffeinplasmakonzentration von $61,8 \pm 34,5 \mu\text{mol/l}$ nach $1,6 \pm 0,9$ Stunden erreicht. Danach fiel der Coffeingehalt mit einer mittleren Halbwertszeit von $3,2 \pm 0,9$ Stunden ab. Coffein konnte nach intravenöser und oraler Verabreichung im Plasma bei einer Nachweisgrenze von $0,1 \mu\text{mol/l}$ ($0,02 \mu\text{g/ml}$) bis zu 36 Stunden nachgewiesen werden. (Abb. 4). Die Bioverfügbarkeit von Coffein betrug durchschnittlich 93 %.

Die Plasmakonzentrationsverläufe von Theobromin, Theophyllin und Paraxanthin, die bei diesem Versuch als Metabolite in Erscheinung traten, unterschieden sich zwischen den jeweiligen Verabreichungsformen nicht wesentlich (Abb. 4). Theobromin hatte ein Konzentrationsmaximum zwölf Stunden nach oraler ($13,4 \pm 10,4 \mu\text{mol/l}$) bzw. intravenöser ($18,9 \pm 7,5 \mu\text{mol/l}$) Coffeinapplikation. Theophyllinkonzentrationen waren jeweils sechs Stunden nach Versuchsbeginn mit durchschnittlich $17,3 \pm 1,6 \mu\text{mol/l}$ nach intravenöser sowie $14,1 \pm 2,1 \mu\text{mol/l}$ nach oraler Verabreichung am höchsten. Paraxanthin erreichte nach intravenöser Coffeininjektion maximale Plasmaspiegel nach zwölf Stunden ($6,5 \pm 2,0 \mu\text{mol/l}$), nach oraler Applikation nach acht Stunden ($10,5 \pm 1,9 \mu\text{mol/l}$).

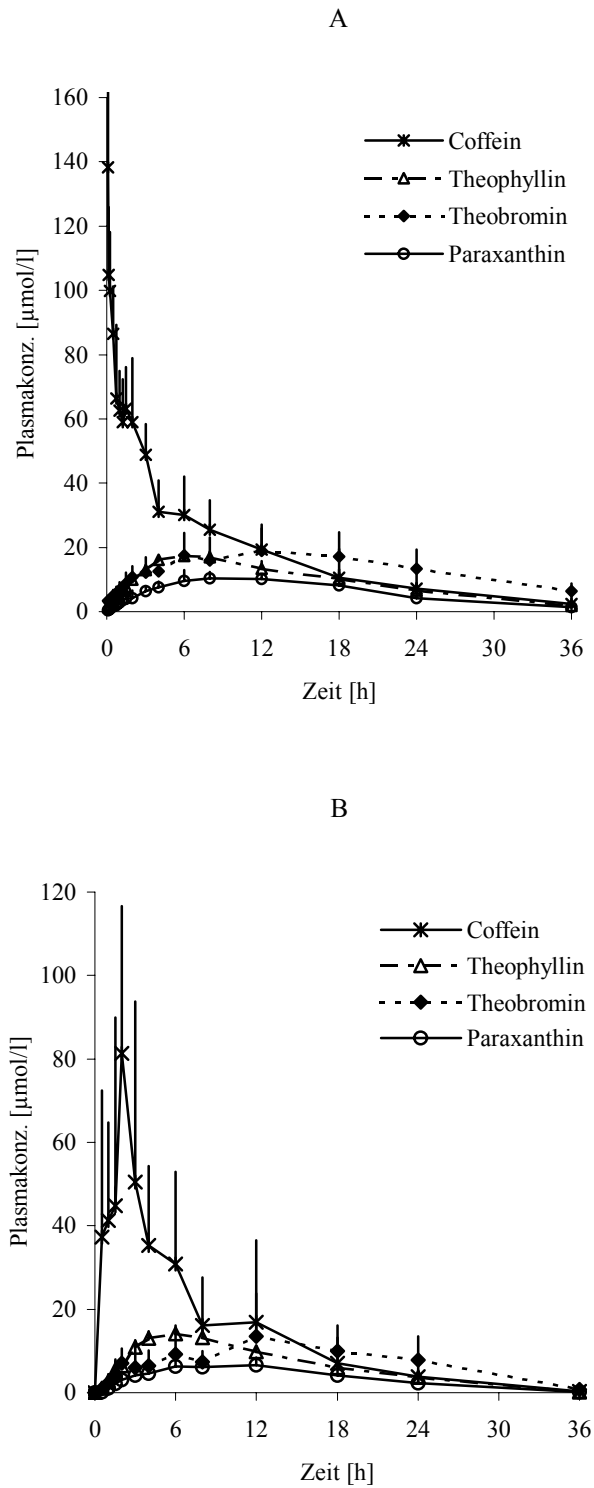


Abb. 4: Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (MW + SD, n = 6).

4.1.2 Urinkonzentration

Im Urin erreichte Coffein sowohl nach intravenöser als auch nach oraler Verabreichung durchschnittlich sechs Stunden nach Versuchsbeginn eine maximale Konzentration (Abb. 5), die nach intravenöser Applikation ($322 \pm 241 \mu\text{mol/l}$) deutlich höher war als nach oraler Eingabe ($89 \pm 77 \mu\text{mol/l}$). Die als Metabolite des Coffeins entstandenen Dimethylxanthine Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin erreichten teilweise deutlich höhere Urinkonzentrationen als Coffein (Abb. 5). Als Hauptmetabolit erreichte Theobromin mittlere Konzentrationsmaxima von $1377 \pm 845 \mu\text{mol/l}$ und $1055 \pm 576 \mu\text{mol/l}$ nach intravenöser bzw. oraler Applikation jeweils zwölf Stunden nach Versuchsbeginn. Theophyllin trat zwölf Stunden nach oraler Verabreichung in maximaler Urinkonzentration auf ($307 \pm 96 \mu\text{mol/l}$), nach intravenöser Injektion war die höchste Urinkonzentration nach acht Stunden erreicht ($288 \pm 161 \mu\text{mol/l}$). Maximale Paraxanthinurinspiegel waren zwölf Stunden nach oraler ($263 \pm 68 \mu\text{mol/l}$) und acht Stunden nach intravenöser Applikation meßbar (Abb. 5).

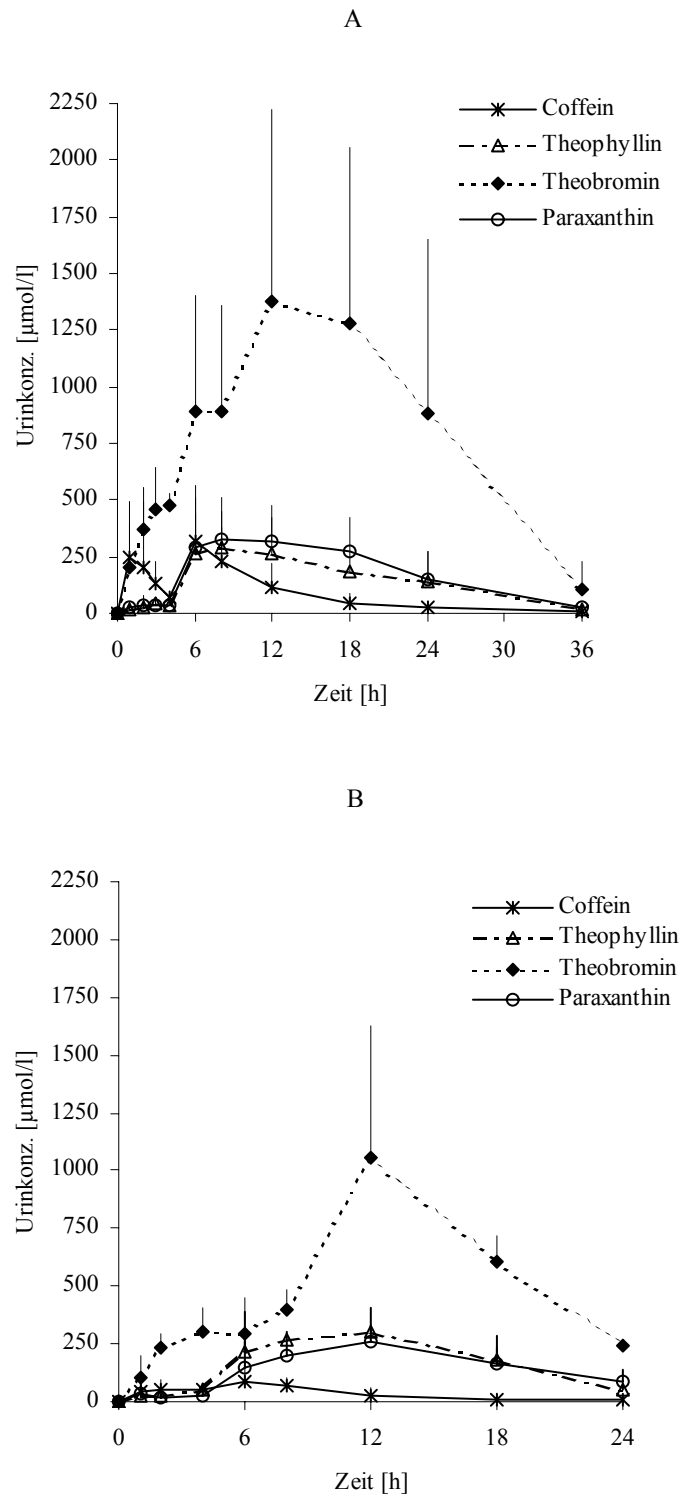


Abb. 5: Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (MW + SD, n = 5).

4.2 *Theophyllin*

Die orale und intravenöse Applikation von Theophyllin führte zu meßbaren Plasma- und Urinspiegeln.

4.2.1 Plasmakonzentration

Nach intravenöser Injektion von Theophyllin in einer Dosierung von 5 mg pro kg Körpermasse betrug im Plasma der mittlere Anfangsblutspiegel $49,3 \pm 7,0 \mu\text{mol/l}$. Nach oraler Verabreichung von 10 mg Theophyllin pro kg Körpermasse wurden maximale Plasmakonzentrationen von $42,5 \pm 9,3 \mu\text{mol/l}$ nach $4,8 \pm 0,5$ Stunden erzielt (Abb. 6). Die mittlere Plasmahalbwertszeit betrug $5,0 \pm 0,5$ Stunden bei intravenöser und $3,2 \pm 0,5$ Stunden bei oraler Applikation. Die Bioverfügbarkeit des Theophyllins lag im Mittel bei 73 %. Wie in Abbildung 3 dargestellt, wird Theophyllin zu 1-Methylxanthin und 1,3-Dimethyluracil verstoffwechselt. Die mit der verwendeten Methode nachweisbaren Methylxanthine Coffein, Theobromin und Paraxanthin treten nach Applikation von Theophyllin jedoch nicht in Erscheinung.

4.2.2 Urinkonzentration

Die höchste Urinkonzentration an Theophyllin war sechs Stunden nach oraler Aufnahme ($774 \pm 296 \mu\text{mol/l}$) und vier Stunden nach intravenöser Injektion ($656 \pm 600 \mu\text{mol/l}$) meßbar (Abb. 7).

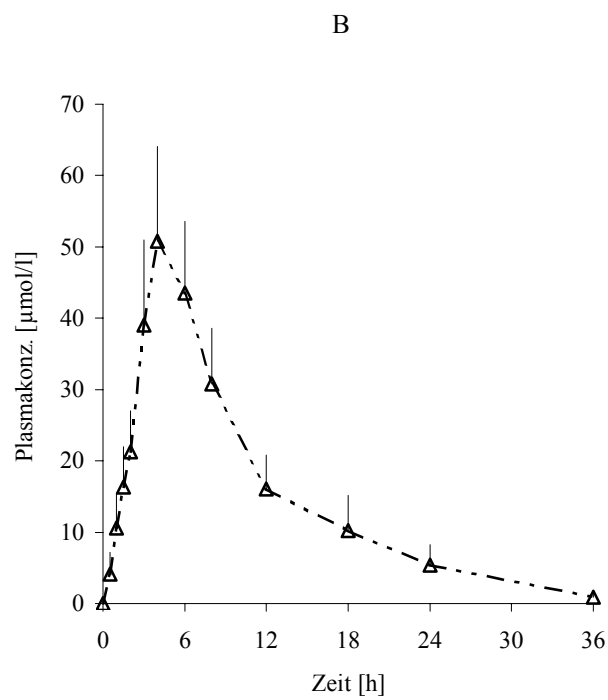
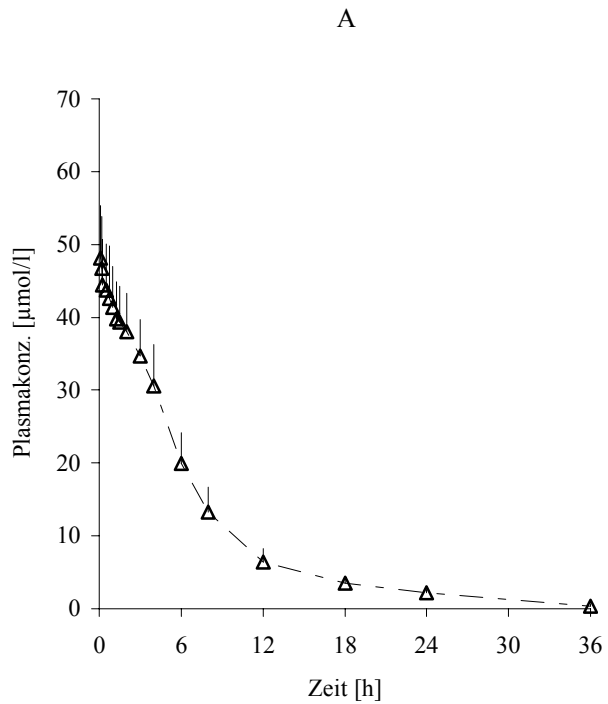


Abb. 6: Theophyllinkonzentrationen im Plasma nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 (i.v.) bzw. 10 (p.o.) mg pro kg KM (MW + SD, n = 6).

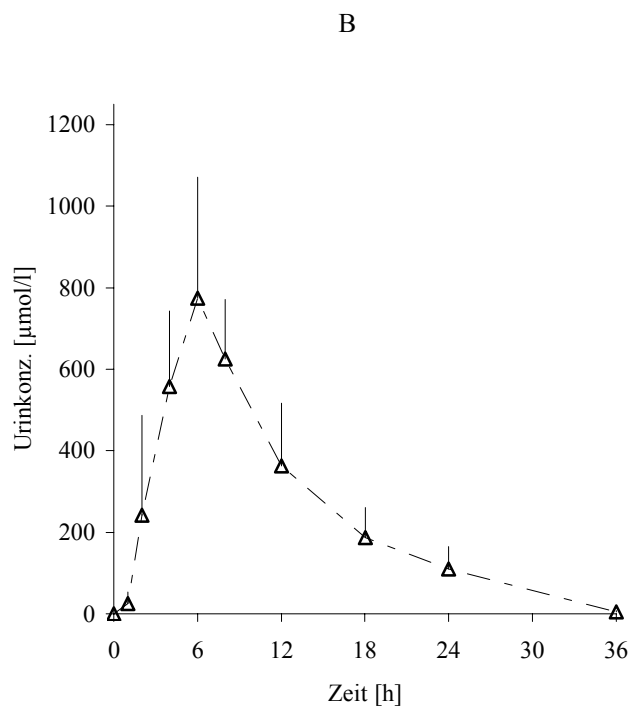
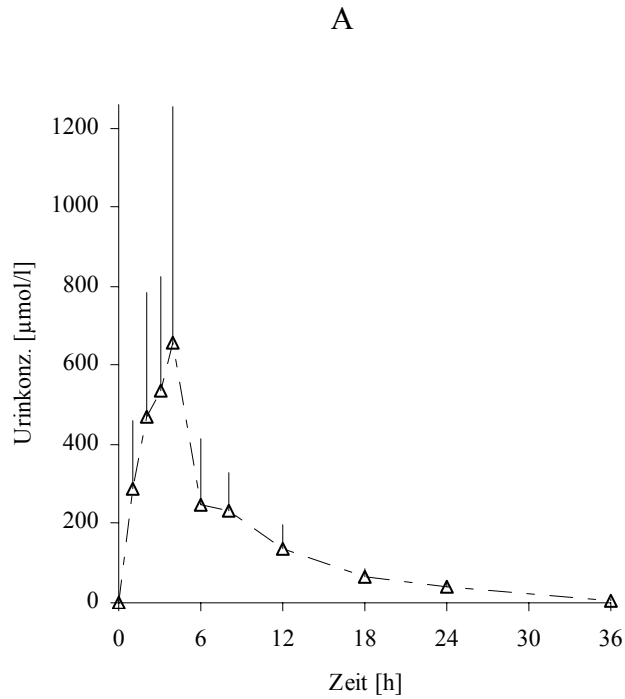


Abb. 7: Theophyllinkonzentrationen im Urin nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 (i.v.) bzw. 10 (p.o.) mg pro kg KM (MW + SD, n = 5).

4.3 Theobromin

Die intravenöse Injektion von 5 mg Theobromin pro kg Körpermasse führte zu quantifizierbaren Plasma- und Harnspiegeln von Theobromin.

4.3.1 Plasmakonzentration

Theobromin wurde nach intravenöser Applikation bei der ersten Probenentnahme fünf Minuten nach Injektion in einer Plasmakonzentration von $232,4 \pm 61,3 \mu\text{mol/l}$ nachgewiesen (Abb. 8A). Die durchschnittliche Plasmahalbwertszeit betrug $6,5 \pm 0,6$ Stunden.

4.3.2 Urinkonzentration

Im Urin wurde das Konzentrationsmaximum nach durchschnittlich drei Stunden erreicht und betrug durchschnittlich $2274 \pm 1360 \mu\text{mol/l}$ (Abb. 8B).

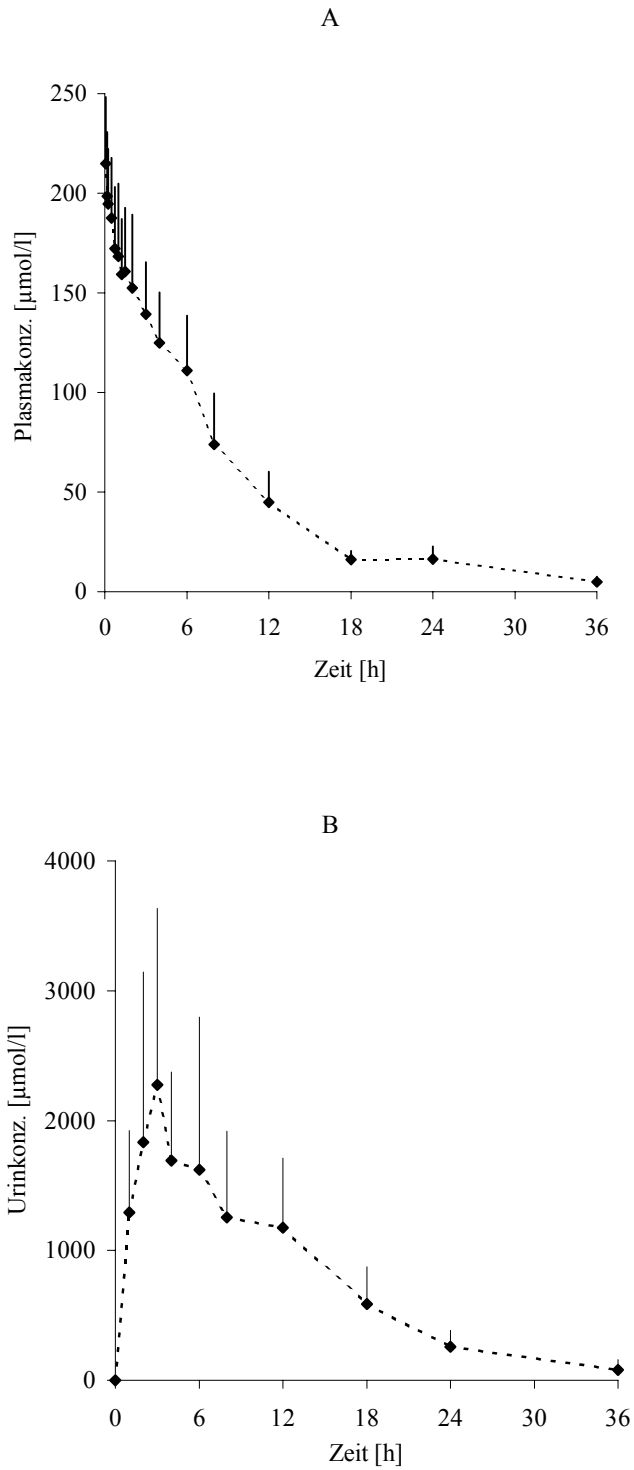


Abb. 8: Theobrominkonzentration im Plasma (A) und im Urin (B) nach intravenöser Applikation einer Theobromininjektionslösung in einer Dosierung von 5 mg pro kg KM (MW + SD, n = 6 (Plasma) 5 (Urin)).

4.4 Kaffee

Nach Applikation des Kaffees in einer Dosierung von 10 mg Coffein (= 3,3 ml Kaffee) pro kg KM waren Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin in Plasma und Urin nachweisbar.

4.4.1 Plasmakonzentration

Coffein trat in den höchsten Plasmakonzentrationen auf ($45,8 \pm 12,4 \mu\text{mol/l}$) und erreichte ein Maximum im Mittel nach $1,5 \pm 0,4$ Stunden (Abb. 9). Die Plasmahalbwertszeit von Coffein betrug $4,0 \pm 0,4$ Stunden und es konnte im Plasma bis zu 18 Stunden nach der Applikation nachgewiesen werden. Die Metabolite Theobromin und Paraxanthin hatten Konzentrationsmaxima von $18,4 \pm 6,6 \mu\text{mol/l}$ bzw. $6,7 \pm 1,4 \mu\text{mol/l}$ nach acht Stunden und Theophyllin erreichte höchste Plasmakonzentrationen von $12,2 \pm 4,5 \mu\text{mol/l}$ nach sechs Stunden (Abb. 9).

4.4.2 Urinkonzentration

Im Harn war Coffein nach zwei Stunden in höchster Konzentration nachweisbar ($67 \pm 33 \mu\text{mol/l}$). Theobromin trat als Hauptmetabolit mit einem Konzentrationsmaximum von durchschnittlich $232 \pm 125 \mu\text{mol/l}$ nach zwölf Stunden auf. Maximale Paraxanthinurinspiegel von $62 \pm 23 \mu\text{mol/l}$ waren ebenfalls nach zwölf Stunden meßbar, während Theophyllin nach acht Stunden in höchster Konzentration ($116 \pm 36 \mu\text{mol/l}$) analysiert wurde (Abb. 10). Im Vergleich mit der Applikation von Coffein als Fertigarzneimittel (Abb. 5) fällt auf, daß die Harnkonzentrationen der Methylxanthine nach Verabreichung von Kaffee deutlich geringer sind. Als Ursache hierfür ist das nach Kaffeeapplikation gesteigerte Harnvolumen zu sehen.

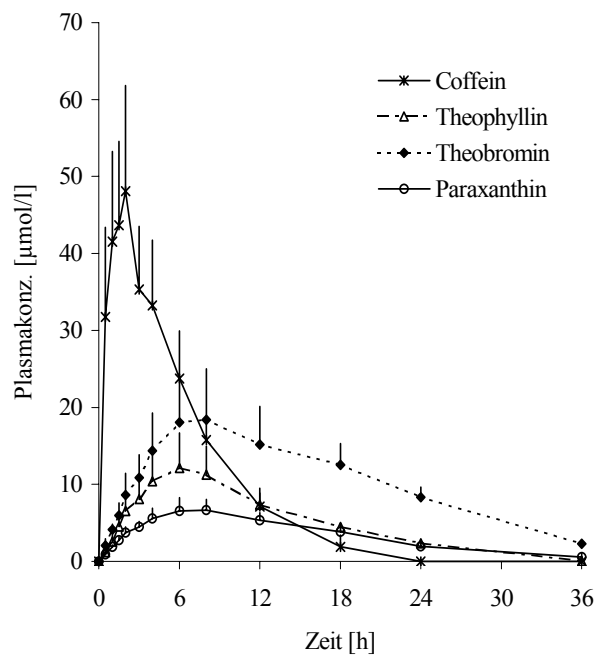


Abb. 9: Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach Applikation von Kaffee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 6).

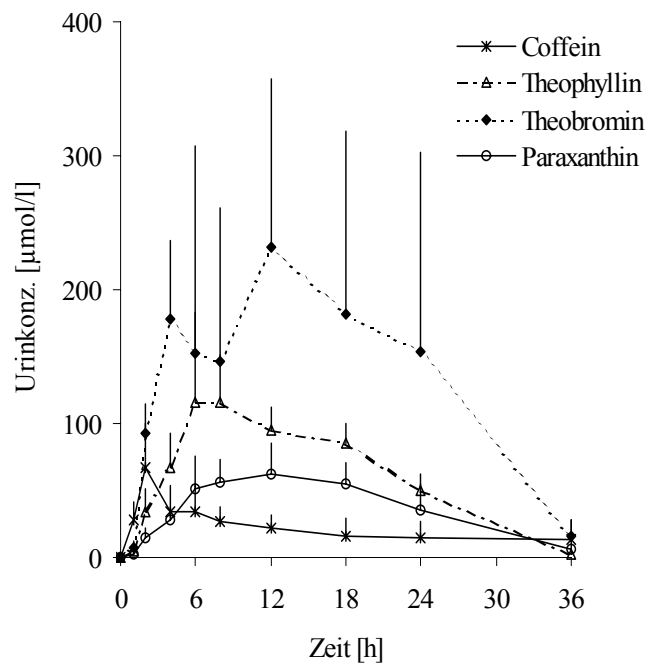


Abb. 10: Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach Applikation von Kaffee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 5).

4.5 Tee

Die Applikation von Tee in einer Dosierung von 10 mg Coffein (= 2,8 ml Tee) pro kg KM führte zu meßbaren Plasma- und Urinkonzentrationen von Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin.

4.5.1 Plasmakonzentration

Coffein erreichte ein Konzentrationsmaximum von $33,0 \pm 20,6 \mu\text{mol/l}$ nach durchschnittlich $1,3 \pm 0,6$ Stunden (Abb. 11). Coffein wurde mit einer mittleren Halbwertszeit von 2,0 Stunden eliminiert und die Bioverfügbarkeit aus Tee betrug

26 ± 12 %. Theobromin und Theophyllin waren nach vier Stunden in höchsten Plasmakonzentrationen von 28,8 ± 5,0 µmol/l bzw. 9,5 ± 1,9 µmol/l nachweisbar. Der höchste Paraxanthinplasmaspiegel war mit 5,6 ± 1,9 µmol/l nach einer Versuchsdauer von sechs Stunden meßbar (Abb. 11).

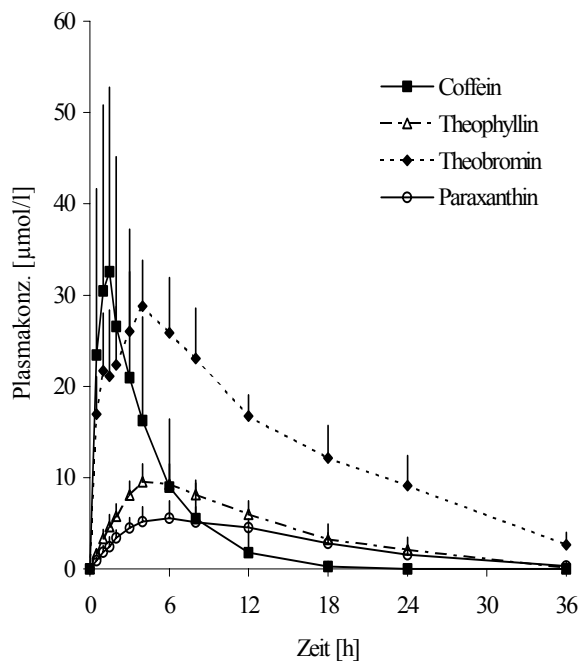


Abb. 11: Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach Applikation von Tee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 6).

4.5.2 Urinkonzentration

Im Urin lag Coffein nach zwei Stunden in größter Konzentration vor (23 ± 18 µmol/l). Theobromin stellte den größten Anteil der ausgeschiedenen Methylxanthine dar und erreichte einen maximalen Urinspiegel (231 ± 82 µmol/l) nach vier Stunden (Abb. 12). Die Konzentration blieb bis 18 Stunden im Bereich von 125 bis 178 µmol/l. Maximale Uringehalte an Paraxanthin und Theophyllin wurden nach zwölf und sechs Stunden mit Werten von 35 ± 30 µmol/l und 64 ± 17 µmol/l

erreicht (Abb. 12). Außer Coffein waren alle Stoffe bis 24 Stunden post applicationem nachweisbar.

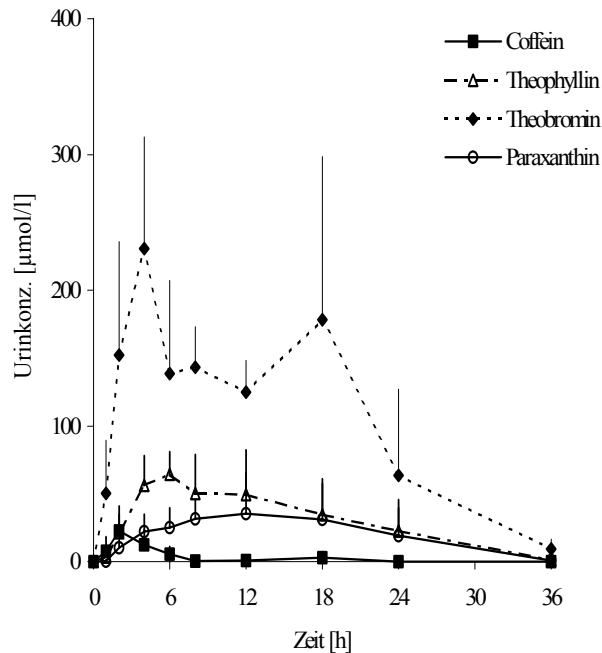


Abb. 12: Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach Applikation von Tee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW + SD, n = 5).

4.6 Schokolade

Im Plasma und Urin wurden nach Verfütterung von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin (= 0,7 g Schokolade) pro kg KM Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin nachgewiesen. Die Schokolade enthielt nach Herstellerangaben 0,2 % Coffein, so daß durch die gewählte Dosierung neben der genannten Menge an Theobromin gleichzeitig 1,3 mg Coffein pro kg KM appliziert wurden. Daraus resultierten Plasma- und Urinspiegel von Coffein sowie seiner Metaboliten Theophyllin und Paraxanthin.

4.6.1 Plasmakonzentration

Im Plasma war Theobromin im Vergleich zu Coffein, Theophyllin und Paraxanthin in höchster Konzentration vorhanden (Abb. 13). Maximale Theobrominplasmaspiegel waren nach durchschnittlich $2,0 \pm 0,3$ Stunden mit einer mittleren Konzentration von $113,8 \pm 14,9 \mu\text{mol/l}$ erreicht. Die Elimination des Theobromin erfolgte mit einer Halbwertszeit von 6,8 Stunden, so daß es auch nach 36 Stunden im Plasma nachzuweisen war. Die Bioverfügbarkeit aus der Schokolade lag bei $77 \pm 12 \%$. Das Konzentrationsmaximum von Theophyllin betrug $2,3 \pm 0,4 \mu\text{mol/l}$ nach vier Stunden, das von Coffein $9,5 \pm 3,5 \mu\text{mol/l}$ nach eineinhalb Stunden und die maximale Paraxanthinplasmakonzentration war mit $2,3 \pm 0,5 \mu\text{mol/l}$ nach zwölf Stunden erreicht (Abb. 13).

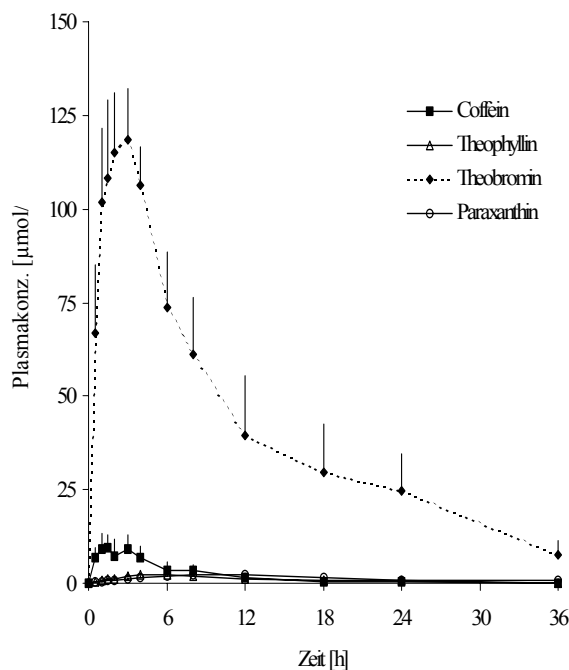


Abb. 13: Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (MW + SD, n = 6).

4.6.2 Urinkonzentration

Mit dem Harn wurde vor allem Theobromin ausgeschieden (Abb. 14). Vier Stunden nach Versuchsbeginn war das Theobrominkonzentrationsmaximum im Urin mit durchschnittlich $989 \pm 263 \mu\text{mol/l}$ erreicht. Das Coffeinmaximum von $5 \mu\text{mol/l}$ lag bei zwei Stunden. Höchste Theophyllinspiegel von $21 \pm 8 \mu\text{mol/l}$ wurden nach sechs Stunden erreicht und Paraxanthin wurde nach zwölf Stunden mit $17 \pm 7 \mu\text{mol/l}$ in maximaler Urinkonzentration nachgewiesen (Abb. 14).

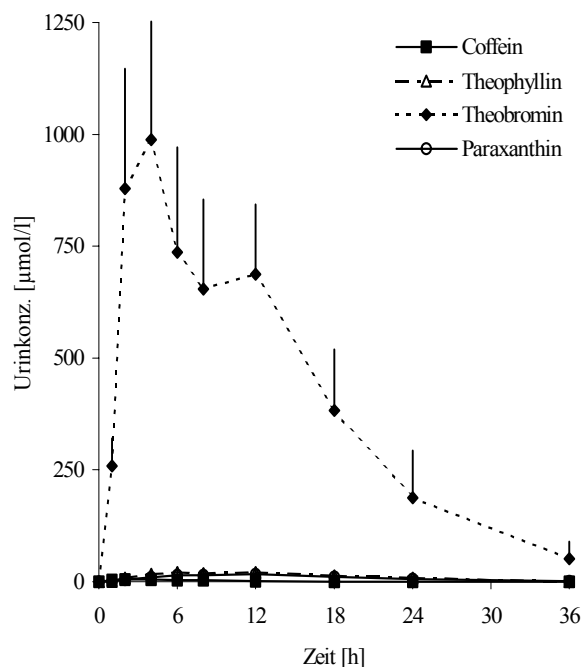


Abb. 14: Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (MW + SD, n = 5).

4.7 *Pharmakokinetische Parameter*

Die Tabellen 11 und 12 zeigen die aus den Plasmatdaten errechneten pharmakokinetischen Parameter für die jeweilige Muttersubstanz.

Tabelle 11: Pharmakokinetische Parameter der Methylxanthine nach Applikation als Fertigarzneimittel

| | Coffein | | | | Theophyllin | | | | Theobromin | |
|--|---------|------|-------|------|-------------|-----|------|-----|------------|------|
| | oral | | i.v. | | oral | | i.v. | | i.v. | |
| | MW | SD | MW | SD | MW | SD | MW | SD | MW | SD |
| C_{max} [$\mu\text{mol/l}$] | 61,8 | 34,5 | 176,1 | 48,4 | 42,5 | 9,3 | 49,3 | 7,0 | 232,4 | 61,3 |
| t_{max} [h] | 1,6 | 0,9 | | | 4,8 | 0,5 | | | | |
| $t_{1/2}$ [h] | 3,2 | 0,9 | 4,3 | 1,4 | 3,2 | 0,5 | 5,0 | 0,5 | 6,5 | 0,6 |
| AUC [$\mu\text{mol/l}\cdot\text{h}$] | 546 | 268 | 608 | 221 | 505 | 123 | 347 | 66 | 1747 | 353 |
| BV [%] | 93 | 45 | | | 73 | 10 | | | | |

MW Mittelwert
SD Standardabweichung
 C_{max} maximale Plasmakonzentration
 t_{max} Zeit bis zum Erreichen des Plasmamaximums
 $t_{1/2}$ Halbwertszeit
AUC Area under the curve
BV Bioverfügbarkeit

Tabelle 12: Pharmakokinetische Parameter der Methylxanthine nach Applikation als Nahrungsmittel

| | Coffein | | | | Theobromin | |
|--|---------|------|------|------|------------|------|
| | Kaffee | | Tee | | Schokolade | |
| | MW | SD | MW | SD | MW | SD |
| C_{max} [$\mu\text{mol/l}$] | 45,8 | 12,4 | 33,0 | 20,6 | 113,8 | 15,0 |
| t_{max} [h] | 1,5 | 0,4 | 1,3 | 0,6 | 2,0 | 0,3 |
| $t_{1/2}$ [h] | 4,0 | 0,4 | 2,0 | 0,9 | 6,8 | 2,8 |
| AUC [$\mu\text{mol/l}\cdot\text{h}$] | 335 | 72 | 144 | 98 | 1371 | 472 |
| BV [%] | 62 | 28 | 26 | 12 | 77 | 12 |

MW Mittelwert
SD Standardabweichung
 C_{max} maximale Plasmakonzentration
 t_{max} Zeit bis zum Erreichen des Plasmamaximums
 $t_{1/2}$ Halbwertszeit
AUC Area under the curve
BV Bioverfügbarkeit

5 Diskussion

Methylxanthine werden nach Windhundrennen häufig in Dopingproben festgestellt. In gutachterlicher Tätigkeit ist zu klären, inwieweit die erhobenen Befunde Dopingrelevanz besitzen. Dazu wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob und für welche Dauer nach der Applikation von methylxanthinhaltigen Fertigarzneimitteln und Nahrungsmitteln (Kaffee, Tee, Schokolade) an Hunde dopingrelevante Plasma- und Urinspiegel der Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin nachweisbar sind und in welchem Umfang diese aus den oralen Darreichungsformen bioverfügbar sind.

Die Methylxanthine Coffein und Theophyllin werden neben dem therapeutischen Einsatz mißbräuchlich auch im Pferde- und Hunderennsport verwendet. Sie werden immer wieder bei Dopinganalysen nachgewiesen (TOBIN 1981, UNGEMACH 1985, UNGEMACH u. NÜRNBERGER 1999, WELLS et al. 1988). Hierbei ist die Frage zu klären, ob der nachgewiesene Wirkstoff auf eine bewußte Verabreichung eines Arzneimittels zum Zwecke der Leistungsbeeinflussung zurückzuführen ist, oder ob die festgestellten Plasma- bzw. Urinkonzentrationen aus anderen Quellen, z.B. dem Futter oder menschlichen Nahrungsmitteln, stammen können. Weiterhin kommt es häufig zu positiven Dopingbefunden, da in Unkenntnis der Ausscheidungskinetik eines Therapeutikums, dieses vor einem Rennen zu spät abgesetzt wird und eine Leistungsbeeinflussung im Sinne von Doping nicht beabsichtigt war (UNGEMACH u. NÜRNBERGER 1999). Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, durch vergleichende Betrachtung der Pharmakokinetik von Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin in Plasma und Urin Rückschlüsse auf die Wirkstoffherkunft zu ziehen. Weiterhin sollte durch Vergleich der Metabolitenmuster nach Verabreichung methylxanthinhaltigen Fertigarzneimittel und Nahrungsmittel geklärt werden, ob dadurch Aussagen über die Quelle der Methylxanthine getroffen werden können.

5.1 Methylxanthinapplikation in Form von Fertigarzneimitteln und Nahrungsmitteln

Die in den vorliegenden Untersuchungen ermittelten Halbwertszeiten von Coffein von 4,3 (i.v.) und 3,2 (oral) Stunden sind vergleichbar mit Angaben von WARSZAWSKI et al. (1977). Nach einmaliger intravenöser Applikation von 50 mg Coffein pro kg Körpermasse ermittelten sie Halbwertszeiten von 6,7 und 3,7 Stunden für ausgewachsene bzw. 30-45 Tage-alte Hunde. Nach oraler Applikation von Coffein (10 mg/kg KM) wurde die höchste Coffeinkonzentration (61,8 µmol/l entsprechen 12,0 µg/ml) im Plasma nach 1,6 Stunden erreicht. Diese Werte stimmen mit Ergebnissen von TSE u. VALIA (1981) überein, in denen nach einer Dosis von 8,6 mg Coffein pro kg Körpermasse maximale Plasmaspiegel von durchschnittlich 10,9 µg/ml nach 1-2 Stunden erreicht wurden und eine Halbwertszeit nach einmaliger Verabreichung von 4,5 Stunden errechnet wurde. Nach wiederholter Coffeinapplikation (alle 12 Stunden) betrug die Halbwertszeit 3,9 Stunden. Die in dieser Studie festgestellten maximalen Konzentrationen des Metaboliten Theobromin liegen mit 0,5-0,6 µg/ml nach 8 Stunden (TSE u. VALIA 1981) deutlich unter dem in den vorliegenden Untersuchungen gemessenen Spitzenspiegel von 13,4 µmol/l (2,41 µg/ml) nach 12 Stunden.

Zur Ausscheidung von Coffein im Urin liegen bisher nur wenige und begrenzt aussagefähige Daten vor. So untersuchten WARSZAWSKI et al. (1982) nach Verabreichung von [1-Methyl-¹⁴C]Coffein an Hunde im Alter von 2-35 Tagen das Verhältnis von Muttersubstanz und seiner wichtigsten Metabolite im Urin. Der Urinabsatz der Tiere, die in einem Stoffwechsellkäfig gehalten wurden, erfolgte entweder spontan oder durch Reizung der Perinealregion. Da in dieser Studie keine absoluten Urinkonzentrationen, sondern der Anteil der jeweiligen Metabolite an der ausgeschiedenen Gesamtradioaktivität angegeben wurde, sind die Ergebnisse nur beschränkt mit den eigenen Daten vergleichbar. In einer weiteren Untersuchung wurde 4 Greyhounds Coffein in einer Dosierung von 25 mg/kg KM eine Stunde vor Rennbelastung oral verabreicht (LAMBERT et al. 1982). Nach 3 Stunden konnten maximale Urinkonzentrationen von 85 µg/ml nachgewiesen werden. In den eigenen

Untersuchungen wurden nach oraler Eingabe von Coffeintabletten mit einer niedrigeren Dosis von 10 mg/kg KM maximale Urinkonzentrationen von 89 $\mu\text{mol/l}$ (17,3 $\mu\text{g/ml}$) Coffein nach 6 Stunden erreicht. Die im Vergleich zu den eigenen Daten höheren Harnspiegel in den Untersuchungen von LAMBERT et al. (1982) sind einerseits auf eine 2,5fach höhere Dosis und andererseits auf eine Aufkonzentrierung des Urins als Folge der Anstrengung durch das Rennen und dem damit verbundenen Wasserverlust zurückzuführen. Das Gesamturinvolumen wurde jedoch von LAMBERT et al. (1982) nicht bestimmt. Zusätzlich zu der Muttersubstanz Coffein, wurden in der vorliegenden Untersuchung im Harn, wie auch im Plasma die Dimethylxanthine Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin als Metabolite des Coffeins nachgewiesen. Theobromin wurde in deutlich höheren Konzentrationen als Coffein, Theophyllin und Paraxanthin im Harn nachgewiesen (Abb. 15). 24 Stunden nach intravenöser und oraler Applikation von Coffein waren rund 3,3 % bzw. 3,0 % in unveränderter Form mit dem Harn ausgeschieden. Der kumulative Anteil der einzelnen Methylxanthine an der Ausscheidung über den Harn ist in der Abbildung 16 dargestellt. Die Untersuchungen von WARSZAWSKI et al. (1982) zeigten große interindividuelle Schwankungen der Metabolitenkonzentrationen wobei Theobromin nicht erfaßt wurde.

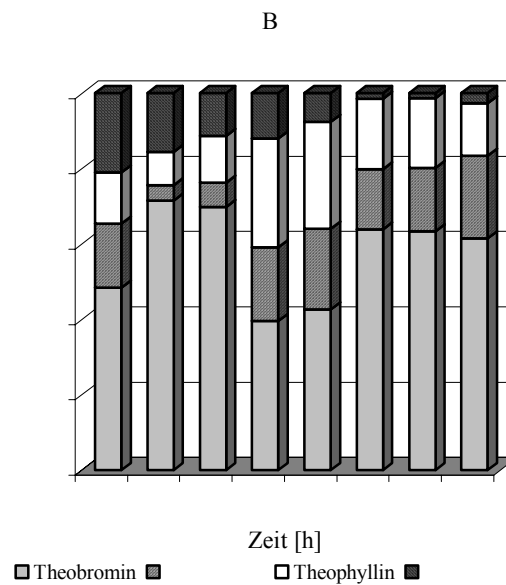
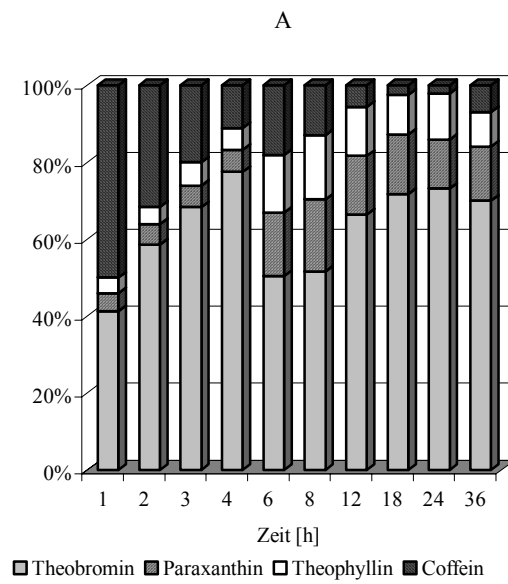


Abb. 15: Metabolitenmuster im Harn nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (MW, n = 5).

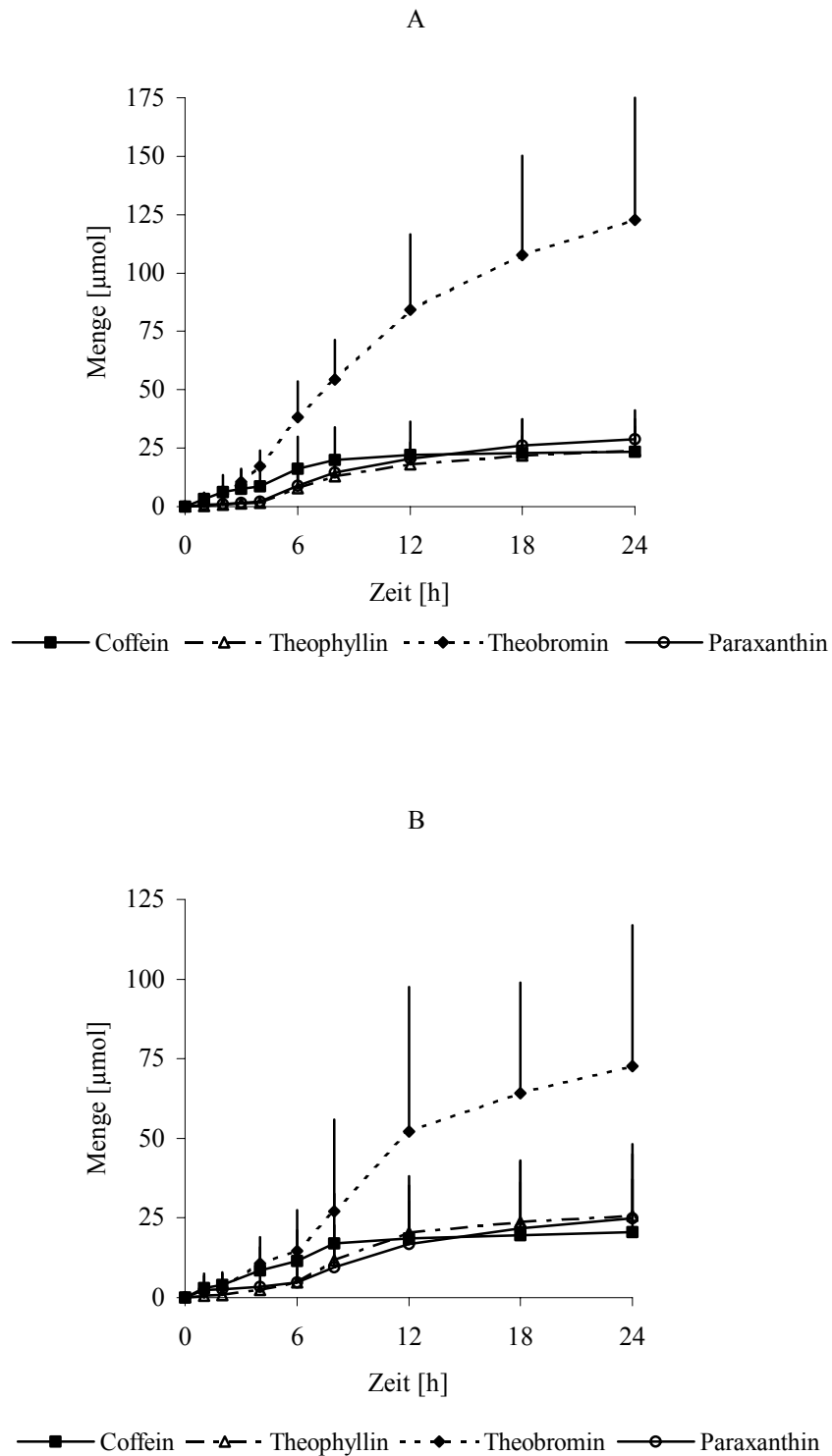


Abb. 16: Renale Ausscheidung nach intravenöser (A) und oraler (B) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (kumulative Darstellung; MW + SD, n = 5).

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Theophyllin beim Hund wurden bisher nur im Blut durchgeführt (Mc KIERNAN et al. 1981, NOSAKA et al. 1986, TSE u. SZETO 1982), während Daten zur Ausscheidung über den Harn noch fehlen und somit durch die vorliegenden Untersuchungen erstmals dargestellt werden. Mc KIERNAN et al. (1981) untersuchten die Pharmakokinetik von Theophyllin nach einmaliger intravenöser und mehrmaliger oraler Applikation (alle 6 Stunden) in einer Dosierung von 9,4 mg/kg KM. Nach intravenöser Injektion wurden anfängliche Plasmakonzentrationen von 13,8 µg/ml bestimmt. In den vorliegenden Untersuchungen wurden mit etwa der halben Dosis (5 mg/kg KM) 49,3 µmol/l bzw. 8,9 µg/ml festgestellt. Diese Werte stimmen auch mit den Ergebnissen von TSE u. SZETO (1982) überein, die bei einer Dosierung von 3,6 mg/kg KM initiale Wirkstoffspiegel von 5 µg/ml nachwiesen. Die aus den eigenen Daten errechnete Halbwertszeit von 5,0 Stunden liegt im Bereich der in der Literatur nach intravenöser Verabreichung für Theophyllin angegebenen Halbwertszeiten von 3,8 bis 6,4 Stunden (Mc KIERNAN et al. 1981, NOSAKA et al. 1986, TSE u. SZETO 1982). Nach oraler Gabe (10 mg/kg KM) lag die in den eigenen Untersuchungen nach 4,8 Stunden ermittelte maximale Plasmakonzentration von Theophyllin mit 42,5 µmol/l (7,7 µg/ml) gering unter dem von Mc KIERNAN et al. (1981) nach Gabe von 9,4 mg/kg KM gemessenen Wert von 8,4 µg/ml. Allerdings wurde das Plasmamaximum in dieser Studie schon nach 1,5 Stunden erreicht. Diese Verzögerung in der eigenen Studie ist wahrscheinlich durch die Verabreichung eines retardierten Theophyllinpräparates bedingt. In einer anderen Studie wurden nach oraler Applikation von Theophyllin in Dosierungen von 8,8-14,9 mg/kg KM maximale Plasmakonzentrationen von 10,3-16,3 µg/ml nach 0,5-3,5 Stunden erreicht (TSE u. SZETO 1982). Die in der vorliegenden Untersuchung festgestellte Halbwertszeit von 3,2 Stunden für Theophyllin ist kürzer als in anderen Studien, in denen Zeiträume von 4,3-7,5 Stunden gefunden wurden (NOSAKA et al. 1986, TSE u. SZETO 1982).

Theophyllin wird in den vorliegenden Untersuchungen immer mit dem Harn ausgeschieden. Die möglichen Metabolite wurden, mit Ausnahme des Coffeins, das jedoch nicht aus Theophyllin gebildet wurde, mit der verwendeten Methodik nicht

erfaßt. Daß kein Coffein nachgewiesen werden konnte, läßt darauf schließen, daß die körpereigene Synthese von Coffein aus Theophyllin beim Hund sehr gering ist. Wenn eine Eigensynthese stattfindet, dann jedoch nur in so geringem Umfang, daß das entstehende Coffein anschließend schnell metabolisiert wird. Die kumulative Betrachtung (Abb. 17 und 18) verdeutlicht, daß 18 Stunden nach intravenöser und oraler Verabreichung der Großteil des mit dem Harn eliminierten Theophyllins ausgeschieden wurde. In Hinblick auf die Bioverfügbarkeit des Theophyllins aus der oralen Applikationsform von durchschnittlich 73 % im Vergleich zur intravenösen Injektion des Theophyllins, zeigt der Vergleich der mit dem Harn ausgeschiedenen Theophyllinmengen gute Übereinstimmung.

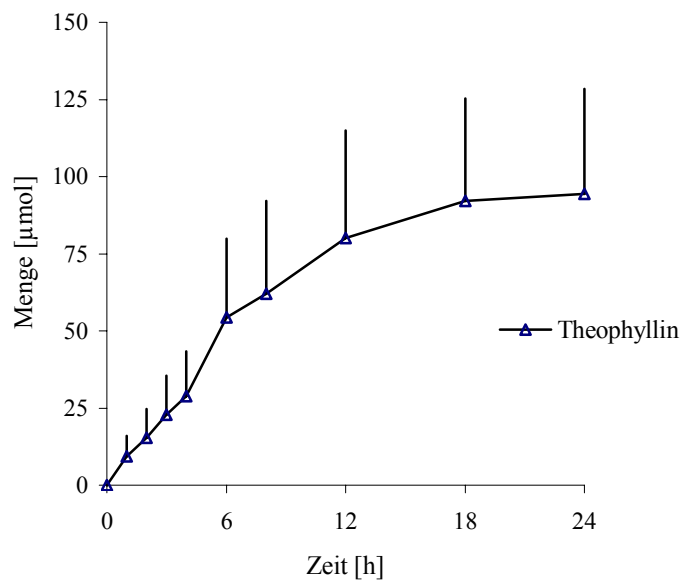


Abb. 17: Renale Ausscheidung nach intravenöser Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 mg pro kg KM (kumulative Darstellung; MW + SD, n = 5).

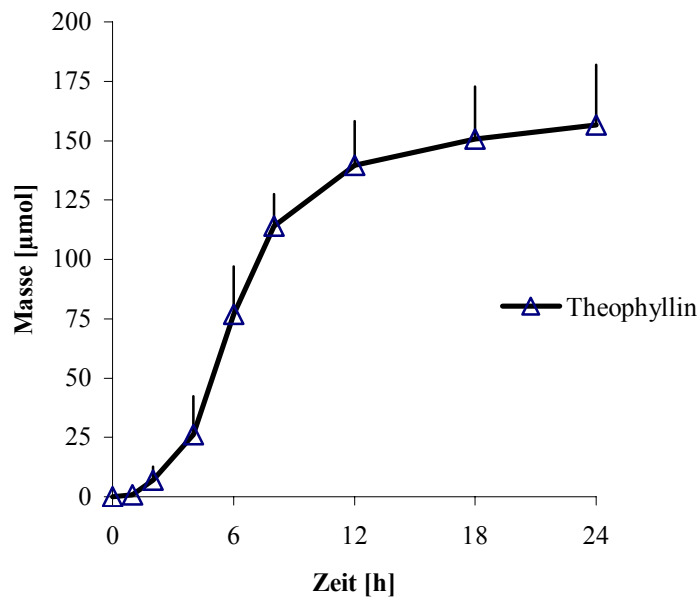


Abb. 18: Renale Ausscheidung nach oralen Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 10 mg pro kg KM (kumulative Darstellung; MW + SD, n = 5).

Aufgrund der Tatsache, daß Theobromin heute nicht mehr therapeutisch eingesetzt wird, sind Studien zur Pharmakokinetik von Theobromin beim Hund kaum vorhanden. MILLER et al. (1984) untersuchten den Metabolismus von Theobromin bei Ratten, Mäusen und beim Hund. Die Untersuchung wurde mit radioaktiv markiertem Theobromin durchgeführt und der Anteil der Muttersubstanz und der Metaboliten an der renal ausgeschiedenen Gesamtaktivität bestimmt. Dadurch konnten keine pharmakokinetischen Parameter aus den Plasmawerten bestimmt werden und aus methodischen Gründen wurden keine Urinkonzentrationen ermittelt. Mit den eigenen Ergebnissen lassen sich grundsätzliche Aussagen zur Ausscheidung von Theobromin machen, das insbesondere auch als Hauptmetabolit von Coffein vorkommt. Ferner können die nach intravenöser Applikation ermittelten Werte zur Ermittlung der Bioverfügbarkeit von oral z.B. mit Futtermitteln aufgenommenem

Theobromin herangezogen werden. In Abbildung 19 ist die kumulative Ausscheidung des Theobromins mit dem Harn dargestellt.

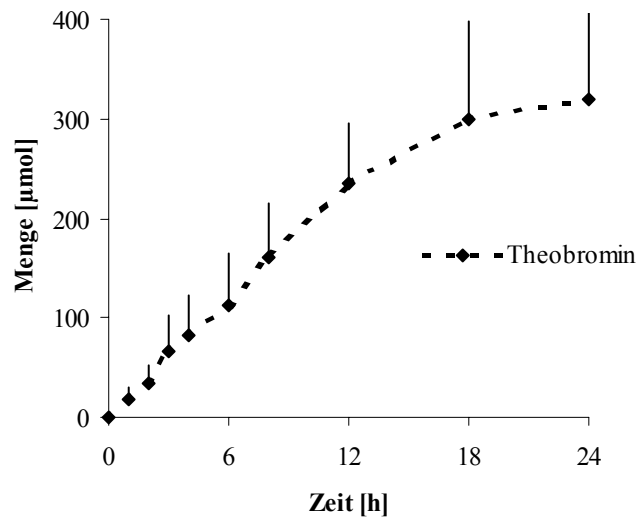


Abb. 19: Renale Ausscheidung nach intravenöser Applikation von Theobromin in einer Dosierung von 5 mg pro kg KM (kumulative Darstellung MW + SD, n = 5).

Wie Tabelle 9 zeigt, lag die Coffeinkonzentration des Kaffees und des Tees im Bereich von 3,0 bis 3,6 mg pro ml. Damit waren der applizierte Kaffee und Tee rund dreimal konzentrierter als gewöhnlich für den menschlichen Verzehr hergestellte Getränke, da das den Tieren zu verabreichende Gesamtvolumen möglichst gering gehalten werden sollte. Dadurch entsprach die verabreichte Coffeinemenge dem Gehalt einer durchschnittlichen Tasse Kaffee (etwa 150 ml), das applizierte Volumen des selbst hergestellten Getränkes betrug jedoch nur rund 40 Milliliter. Die in den Untersuchungen verwendete Schokolade (Scho-Ka-Kola[®], Stollwerk Köln) enthält im Vergleich zu handelsüblichen Milkschokoladen rund vier mal mehr Theobromin und Coffein. Die applizierte Schokoladenmenge entsprach damit 40 g gewöhnlicher Milkschokolade.

Die Ergebnisse zeigen, daß durch die Aufnahme von Kaffee, Tee und Schokolade grundsätzlich meßbare Methylxanthinkonzentrationen im Plasma und im Urin erreicht werden.

Nach Eingabe von Kaffee ist Coffein gut bioverfügbar, während die Applikation von Tee eine deutlich geringere Bioverfügbarkeit des Coffeins aufweist. Bei oraler Verabreichung als Arzneimittel ist Coffein zu 93 % bioverfügbar und besitzt somit gegenüber der Aufnahme in Form von Kaffee oder Tee eine höhere Verfügbarkeit (Tabelle 11-12). Nach der Verabreichung in Tee ist die Bioverfügbarkeit von Coffein geringer, es kommt jedoch auch hierbei zu einem raschen Konzentrationsanstieg von Coffein im Plasma mit einem Maximum nach 1,3 Stunden. Dies zeigt, daß auch mit Tee dopingrelevante Wirkspiegel erreicht werden können.

Nach der Applikation von Kaffee oder Tee läßt sich Coffein im Plasma über 18 Stunden nachweisen. Die Metabolite Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin sind hingegen bis zu 36 Stunden im Plasma nachweisbar. Dies wird ebenfalls in der kumulativen Darstellung der renalen Ausscheidung in Abbildungen 24 bis 25 deutlich, da die Zunahmen pro Sammelintervall geringer werden und die Kurve flacher verläuft.

Mit Hilfe sensitiverer Nachweisverfahren, wie zum Beispiel der Gaschromatographie in Verbindung mit Massenspektrometrie, die in der Dopinganalytik routinemäßig eingesetzt werden, können die Methylxanthine bei noch niedrigeren Konzentrationen und somit entsprechend länger detektiert werden.

Nach Verabreichung von Schokolade konnten ebenfalls alle untersuchten Methylxanthine analysiert werden. Theobromin besitzt eine gute Bioverfügbarkeit und erreichte die mit Abstand höchsten Plasmakonzentrationen. Es wird nur gering metabolisiert. Dies steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen, die mit den coffeinhaltigen Produkten, in denen Theobromin der Hauptmetabolit ist und den überwiegenden Anteil aller Methylxanthine darstellt, erzielt wurden. Im Tee ist Theobromin neben Coffein enthalten; es und entsteht weiterhin durch

Metabolisierung des Coffeins (Abb. 3). Daher ist die Theobrominkonzentration im Plasma nach Aufnahme von Tee höher als nach Kaffee.

Die Urinkonzentrationen von Methylxanthinen weisen größere Streuungen als die Plasmawerte auf, da die Urinkonzentration auch von der individuell unterschiedlich hohen Harnproduktion beeinflusst wird. Auch im Urin wird Theobromin unabhängig von dem verabreichten Nahrungsmittel immer in der höchsten Konzentration ausgeschieden (Abb. 20-22). Bei der Betrachtung der über 24 Stunden erfaßten kumulativen Ausscheidung der Methylxanthine über den Harn wird durch den abflachenden Kurvenverlauf deutlich, daß der Großteil der Substanzen nach 24 Stunden bereits ausgeschieden ist (Abb. 23-24).

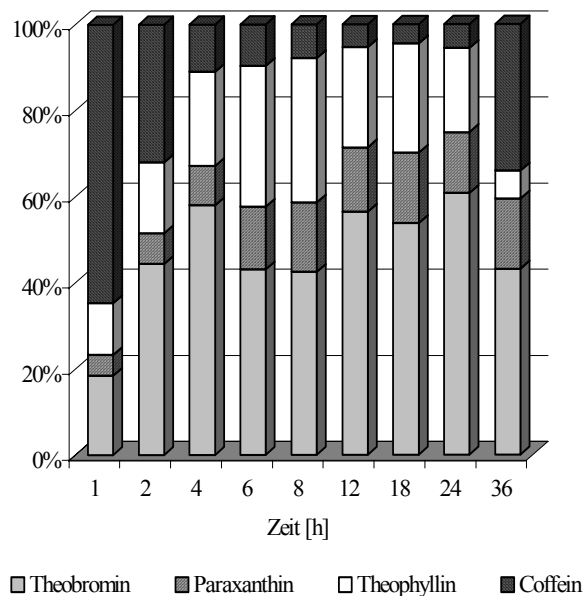


Abb. 20: Metabolitenmuster im Urin nach Applikation von Kaffee in einer Dosierung von 10 mg Coffein pro kg KM (MW, n = 5).

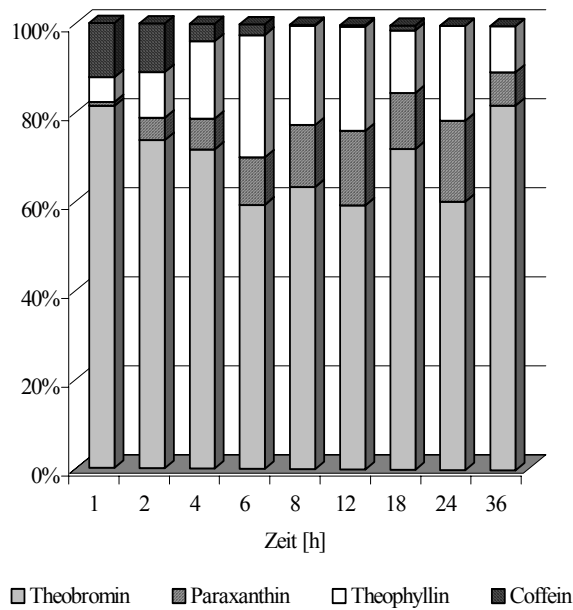


Abb. 21: Metabolitenmuster im Urin nach Applikation von Tee in einer Dosierung von 10 mg Coffein und 2,5 mg Theobromin pro kg KM (MW, n = 5).

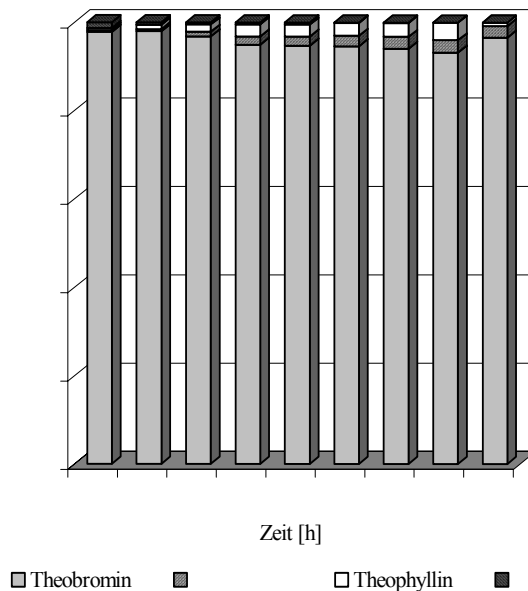


Abb. 22: Metabolitenmuster im Urin nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (MW, n = 5).

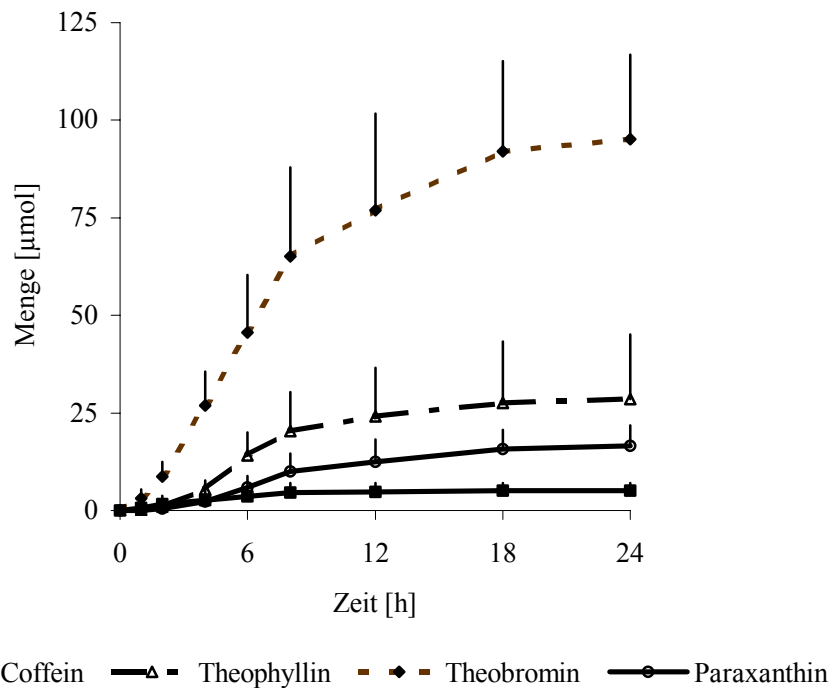
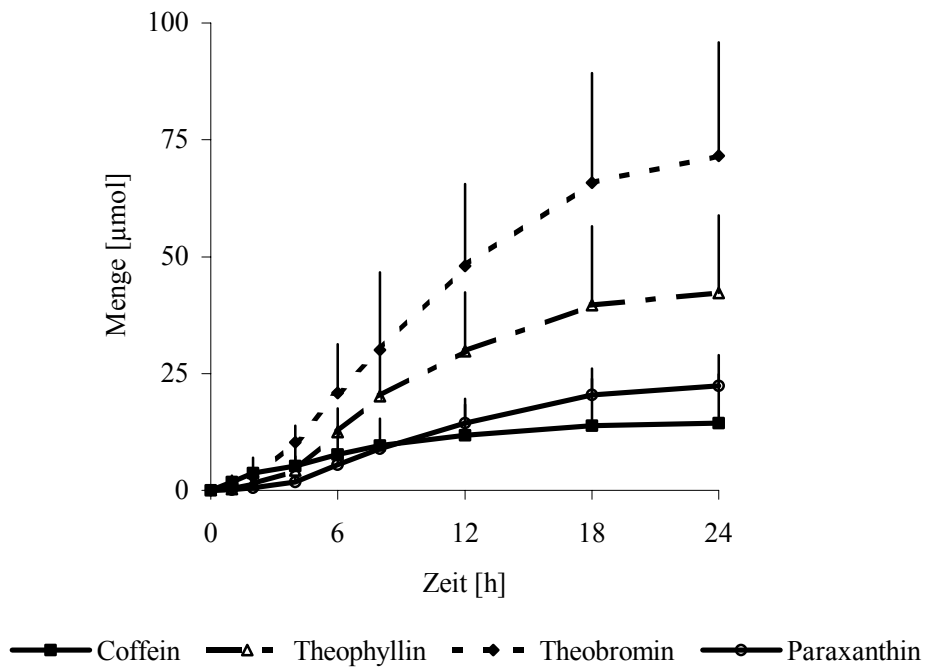


Abbildung 24: Renale Ausscheidung nach Applikation von Kaffee (oben) und Tee (unten) in einer Dosierung von jeweils 10 mg Coffein pro kg KM (kumulative Darstellung; MW + SD, n = 5).

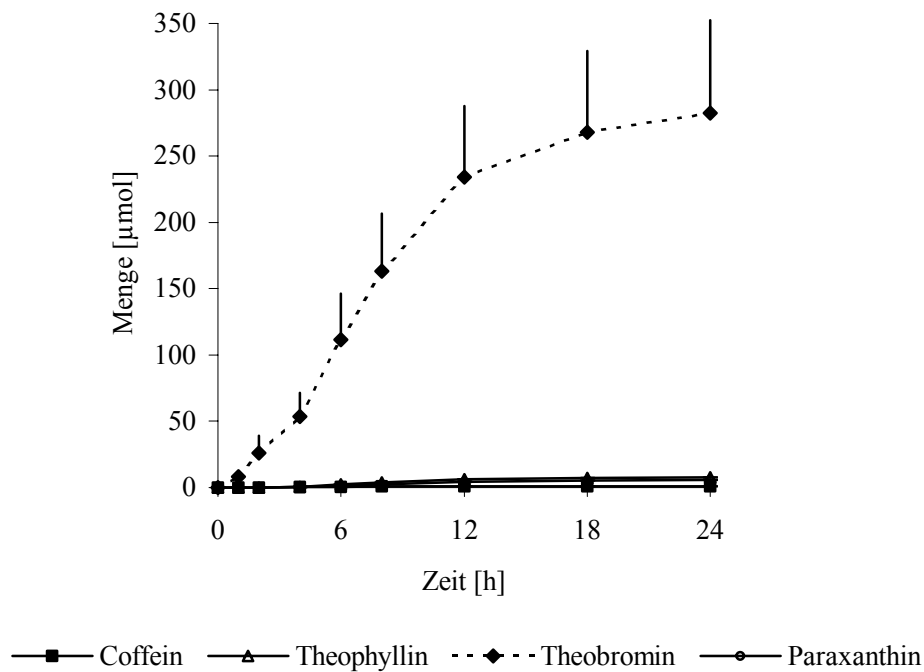


Abb. 24: Renale Ausscheidung nach Applikation von Schokolade in einer Dosierung von 5 mg Theobromin pro kg KM (kumulative Darstellung; MW + SD, n = 5).

Theobromin wird nur gering metabolisiert und wegen des naturgemäß hohen Gehalts in Schokolade treten andere Abbauprodukte nur in sehr geringen Mengen auf. Dagegen entsteht nach Gabe von Kaffee und Tee Theobromin als Metabolit von Coffein und aus dem Metabolitenmuster im Plasma oder Harn kann auf die Art des verabreichten methylxanthinhaltigen Nahrungsmittels zurückgeschlossen werden. Wird im Plasma oder Urin fast ausschließlich Theobromin nachgewiesen, läßt dies auf die vorangegangene Applikation eines Kakaoproduktes schließen, da diese nur wenig Coffein und Theophyllin enthalten und letztere auf metabolischem Wege nicht bzw. nur in sehr geringem Umfang aus Theobromin gebildet werden können. Theobromin an sich führt aufgrund seines pharmakologischen Wirkmusters (Tab. 1) jedoch nicht zu einer gezielten Leistungssteigerung. Es ist zudem auch nicht als Fertigarzneimittel zugelassen. Vor diesem Hintergrund und angesichts der Tatsache,

daß verschiedene kommerzielle Hundedrops gemäß Deklaration Kakao enthalten, wäre über einen Plasma- bzw. Uringrenzwert für Theobromin bei Dopinganalysen, wie sie für bestimmte Wirkstoffe im Human- und Pferdesport existieren, nachzudenken. Im Pferdesport haben die Deutsche Reiterliche Vereinigung e.V. (FN) und das Direktorium für Vollblutzucht und Rennen e.V. (DVR) für Theobromin einen Grenzwert von 2 µg/ml Urin festgelegt, da es durch Futterverunreinigungen mit Kakaobohnenschalen häufiger zu positiven Dopinganalysen kam (ALY 1981, UNGEMACH u. NÜRNBERGER 1999). Dieser Grenzwert wäre auch für eine Reglementierung im Windhundrennsport geeignet, da aus eigenen Untersuchungen zu ersehen ist, daß schon die Aufnahme von rund einer viertel Tafel (25 g) Milkschokolade zu weitaus höheren Urinkonzentrationen führt. Daraus läßt sich schlußfolgern, daß beim Nachweis von Theobromin im Harn im Konzentrationsbereich einiger µg pro ml die Schokoladenapplikation schon geraume Zeit zurückliegen muß und demzufolge dem Besitzer ein zielgerichtetes bzw. die Leistungsfähigkeit des Tieres verbesserndes Handeln nicht unterstellt werden kann. Sollte andererseits ein Hundebesitzer seinem Tier am Tag eines Rennens Schokolade eingeben haben, um es zu dopen, so ist mit großer Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, daß das Tier, im Falle einer Dopingkontrolle, positiv getestet wird, da die Plasma- und Harnkonzentrationen an Coffein, Theophyllin und vor allem Theobromin leicht nachzuweisen sind (Abb. 13 und 14). Zur Festlegung eines Schwellenwertes im Hundesport fehlen allerdings bisher entsprechende Untersuchungen, aus denen sich wirksame, eventuell leistungssteigernde Plasma- bzw. Urinspiegel ableiten lassen.

Beim Nachweis von Coffein, Theophyllin und Theobromin in einem ausgewogeneren, mit den Abbildungen 20 und 21 vergleichbaren Verhältnis, muß davon ausgegangen werden, daß dem Hund zuvor ein Coffein enthaltendes Fertigarzneimittel oder Nahrungsmittel verabreicht wurde. Tendenziell zeigt sich in der vorliegenden Untersuchung nach Tee zu allen Zeitpunkten in Plasma und Harn ein größerer Anteil von Theobromin im Vergleich zu den anderen detektierten Methylxanthinen. Findet sich im Plasma oder Urin nur Theophyllin, so kann mit der verwendeten Methode geschlossen werden, daß Theophyllin verabreicht wurde. Eine

weitere Differenzierung der Coffeinherkunft (Kaffee, Tee oder Fertigarzneimittel) ist basierend auf den eigenen Daten nicht mit Sicherheit möglich. Da Getränke wie Kaffee und Tee von Hunden in der Regel nicht freiwillig aufgenommen werden, kann jedoch von einer bewußten Coffeinapplikation ausgegangen werden. Das bestehende generelle Verbot von Coffein und Theophyllin im Hunderennsport ist vor diesem Hintergrund gerechtfertigt.

5.2 Nachweisbarkeit der Methylxanthine

Ein Augenmerk der vorliegenden Arbeit war auf die Nachweisbarkeit bzw. Nachweisdauer von Coffein, Theophyllin und Theobromin in Blut- und Harnproben von Hunden gelegt, um dadurch die vorausgegangene Applikation methylxanthinhaltiger Stoffe nachweisen bzw. differenzieren zu können.

Nach Verabreichung von Coffein, Theophyllin und Theobromin in therapeutischen Dosierungen und auch nach Aufnahme methylxanthinhaltiger Nahrungsmittel in relevanter Größenordnung (rund eine Tasse Kaffee bzw. Tee, 25 g Schokolade) sind die ursprünglich enthaltenen Methylxanthine bzw. deren Metabolite, sofern sie mit der verwendeten Methode erfaßt werden konnten, bis zu einer Dauer von 36 Stunden in Blut und Harn der Versuchshunde nachzuweisen. Die Ergebnisse zeigen, daß die Untersuchung des Harns, die bei routinemäßigen Dopingkontrollen der Untersuchung von Blut vorgezogen wird, gerechtfertigt und sinnvoll ist, da die gesuchten Substanzen im Harn in deutlich höheren Konzentrationen vorliegen als im Blut. Auch nach intravenöser Injektion der genannten Methylxanthine, sind diese bereits bei der ersten Harnentnahme nach einer Stunde nachweisbar, so daß auch eine direkt vor einem Rennen durchgeführte intravenöse Verabreichung von Coffein, Theophyllin oder Theobromin, in der Dopingkontrolle auffällt.

Andererseits geht aus den ermittelten Daten hervor, daß, um einen positiven Dopingbefund zu vermeiden, eine Therapie mit Coffein oder Theophyllin mindestens mehrere Tage vor einem Rennen beendet werden sollte und Hunde in dieser Zeit

keinen Zugang zu methylxanthinhaltigen Nahrungsmitteln haben sollten. Die gleichzeitige Applikation von Furosemid zur Verdünnung des Urins, wird, wie Untersuchungen am Menschen zeigten das Harnvolumen zwar steigern, die Coffeinkonzentration jedoch nicht verringern (DELBEKE u. DEBACKERE 1988). Ist eine Therapie unverzichtbar, so besteht den Statuten des DWZRV zufolge mit tierärztlicher Therapieerklärung die Möglichkeit, daß der Bahntierarzt vor Ort über eine Startfreigabe entscheidet (Kap. 2.5.3).

5.3 Bioverfügbarkeit der Methylxanthine aus Nahrungsmitteln

Untersuchungen beim Menschen zur Absorption von Coffein und Theobromin aus verschiedenen Nahrungsmitteln (Kaffee, Coca-Cola[®] und Schokolade) im Vergleich zu oral applizierten Wirkstoffen wurden erstmalig von MUMFORD et al. (1996) durchgeführt. Sie untersuchten die Plasmaverläufe von Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin bis 6 Stunden nach Verabreichung der Nahrungsmittel bzw. Wirkstoffe. Maximale Plasmaspiegel an Coffein erreichten demnach nach Eingabe der Coffeinkapseln schneller höhere Konzentrationen (2 mg/ml; 30 min) als nach Verzehr von Coca-Cola[®] oder Schokolade (1,5 µg/ml; 1,5-2 Stunden). In den eigenen Untersuchungen konnte diese Beobachtung für den Hund nicht bestätigt werden. Das Konzentrationsmaximum von Coffein im Plasma wurde jeweils 1,5-2 Stunden nach oraler und intravenöser Verabreichung von Coffein, sowie nach oraler Applikation von Kaffee, Tee und Schokolade erreicht. In Übereinstimmung mit den in der vorliegenden Arbeit ermittelten Daten, konnten MUMFORD et al. (1996) nach oraler Applikation von Coffeinkapseln, Kaffee und Schokolade an Menschen im Plasma Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin nachweisen. Nach Verabreichung von Theobrominkapseln wurde im Plasma dagegen nur Theobromin analysiert. Dies entspricht den in dieser Arbeit ermittelten Ergebnissen nach Injektion einer Theobrominlösung. Für die Biosynthese von Coffein oder eines Dimethylxanthins aus Theobromin ergab sich weder durch die

Untersuchungen von MUMFORD et al. (1996) noch durch die eigenen Untersuchungen ein Hinweis. Aufgrund der kurzen Versuchsdauer von 6 Stunden konnten MUMFORD et al. (1996) nicht die gesamte Fläche unter der Blutspiegelverlaufskurve (AUC) bestimmen und folglich waren Angaben zur Bioverfügbarkeit der Methylxanthine nicht möglich. SHIVELY et al. (1985) errechneten im Rahmen von Untersuchungen zum Metabolismus von Theobromin beim Menschen eine Bioverfügbarkeit von 80 % Theobromin aus Schokolade im Vergleich zu einer oral applizierten Theobrominlösung. Ausgehend von der guten Löslichkeit und Verfügbarkeit dieser wäßrigen Theobromin-Natriumacetat-Lösung stellt die in den vorliegenden Untersuchungen beim Hund ermittelte Bioverfügbarkeit des Theobromins von 77 % ein vergleichbares Ergebnis dar.

Die Bioverfügbarkeit von Theobromin aus Schokolade und Kakao ist auch hinsichtlich möglicher Vergiftungen bedeutsam. So muß aufgrund der in den eigenen Untersuchungen ermittelten guten Bioverfügbarkeit von Theobromin aus Schokolade ($\approx 80\%$) davon ausgegangen werden, daß bereits die Aufnahme von 160 g Blockschokolade oder Kakaopulver durch einen Hund von 20 kg KM zu einer Theobrominvergiftung führen kann und der Verzehr von 400 g Blockschokolade für diesen bereits letal sein kann (GFELLER u. MESSONNIER 1998, STIDWORTHY et al. 1997, STRACHAN u. BENNETT 1994, LEWIS et al. 1990, DROLET et al. 1984, SUTTON 1981). Die Gefahr durch die vermeintlich harmlosen und häufig für die Hunde leicht zugänglichen Nahrungsmittel ist den Tierbesitzern oft nicht bewußt. Die Vergiftungssymptome wie Erbrechen, Durchfall, Polyurie, Nervosität, Angst, Tremor, Tachykardie und Herzarrhythmien sind unspezifisch. Zudem treten sie nach Aufnahme der Nahrungsmittel akut auf und können schnell zum Tode führen, was ein Erkennen und Therapieren der Vergiftung schwierig macht (GFELLER u. MESSONNIER 1998, STRACHAN u. BENNETT 1994, SUTTON 1981). Die Therapie der Theobrominvergiftung erfolgt symptomatisch, da kein Antidot existiert. Dementsprechend sollte dem Hund ein Emetikum verabreicht bzw. der Magen gespült werden. Weiterhin ist die Applikation von medizinischer Kohle indiziert. Weitere Maßnahmen stellen das Katheterisieren der Harnblase (Resorption von

Theobromin über die Blasenwand wird verhindert) und medikamentelle Behandlung der vorliegenden Ausfallserscheinungen dar (GFELLER u. MESSONNIER 1998).

5.4 Leistungsbeeinflussung durch Methylxanthine

KUSANAGI et al. (1974) untersuchten an zwei Beagle-Hunden den Einfluß von Coffein auf die Laufleistung durch intravenöse Injektion von 2,5, 5 und 7,5 mg/kg KM. Die Hunde, die sich auf einem elektrisch betriebenen Laufband bewegten, zeigten in Folge der Coffeinapplikation kein einheitliches Reaktionsmuster. So verbesserte Coffein die Leistung des schnelleren und lauffreudigeren Hundes nochmals, wohingegen bei dem langsameren und nicht so gut an das Laufband adaptierten Hund keine Leistungssteigerung zu beobachten war. Daraus schließen KUSANAGI et al. (1974), daß die Applikation von Coffein vor allem auf trainierte Hunde leistungssteigernd wirkt. TONG et al. (1993) konnten in Untersuchungen an anästhesierten Beagles nach intravenöser Injektion von Coffein (20 mg/kg KM) eine erhöhte Kontraktionskraft der Zwerchfellmuskulatur feststellen. Beim Menschen konnten BERGLUND und HEMMINGSSON (1982) sowie PASMANN et al. (1995) einen leistungssteigernden Effekt bei Ausdauersportarten beobachten. Unter Berücksichtigung dieser leistungsphysiologischen Ergebnisse und unter Einschluß der Erkenntnisse aus *In-vitro*-Versuchen (FREDHOLM 1980, DALY 1982, BIAGGIONO 1991) ist beim Hund nach Applikation von Kaffee, Tee und Schokolade in den hier beschriebenen Mengen von einer Leistungssteigerung auszugehen.

Zusammenfassend erlauben die vorliegenden Untersuchungen, die speziell in Hinblick auf die Dopingproblematik durchgeführt wurden, nicht nur das pharmakokinetische Verhalten von Methylxanthinen im Blut, sondern auch im Urin verlässlich zu verfolgen. Durch Verwendung von Ballon-Harnkathetern wurde sichergestellt, daß zwischen den Probennahmen kein Urinabsatz möglich war und die Probenzeitpunkte bzw. die dazwischen liegenden Sammelintervalle klar definiert

waren. Im Urin waren die Methylxanthine bis zu 36 Stunden und in deutlich höherer Konzentration als im Plasma nachweisbar. Mit Kenntnis der Harnkonzentrationen, des kinetischen Verhaltens und des Metabolitenmusters der Methylxanthine können in Dopinguntersuchungen Rückschlüsse auf das verabreichte Methylxanthin gezogen werden.

6 Zusammenfassung

Loeffler, Bernd Matthias Nikolaus

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Coffein, Theophyllin und Theobromin beim Hund nach Aufnahme von Kaffee, Tee und Schokolade

aus dem Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie der
Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Leipzig im April 2000

(83 S., 24 Abb., 12 Tab., 187 Lit.)

Methylxanthine stimulieren das zentrale Nervensystem, das Herz-Kreislauf-System und führen zur Bronchodilatation. Die Ergebnisse der Dopinguntersuchungen im Windhundsport zeigen, daß die Methylxanthine wie Coffein, Theophyllin und Theobromin nicht nur therapeutisch, sondern auch mißbräuchlich zur Leistungssteigerung eingesetzt werden. In der vorliegenden Studie wurde die Pharmakokinetik von Coffein, Theophyllin und Theobromin bei Hunden untersucht. Speziell in Hinblick auf die Dopingproblematik im Windhundsport wurden bei den Hunden zusätzlich Plasma- und Harnproben nach Applikation von Kaffee, Tee und Schokolade analysiert. Nach oraler Applikation von Coffein und Theophyllin (10 mg/kg KM) wurden im Plasma mittlere Konzentrationsmaxima an Coffein von 61,8 µmol/l und an Theophyllin von 42,5 µmol/l nach 1,6 bzw. 4,8 Stunden erreicht. Die Elimination erfolgte jeweils mit einer Halbwertszeit von etwa 3 Stunden. Im Urin konnten die applizierten Methylxanthine ebenfalls nachgewiesen werden, nach Applikation von Coffein war Theobromin als Metabolit in hohen Konzentrationen nachweisbar. Nach Aufnahme von Kaffee und Tee durch Hunde konnte in Plasma und Urin Coffein, Theophyllin und Theobromin nachgewiesen werden. Nach Verfütterung von Schokolade wurde im Wesentlichen nur Theobromin gefunden, so

daß aus dem Metabolitenmuster der Methylxanthine zum Teil auf das aufgenommene Nahrungsmittel geschlossen werden kann.

Um nicht in Konflikt mit geltenden Dopingbestimmungen zu kommen, sollten Hundehalter darauf achten, daß ihre Tiere in den Tagen vor einem Rennen keinen Zugang zu methylxanthinhaltigen Produkten wie Kaffee, Tee und Schokolade haben.

6.1 Summary

Loeffler, Bernd Matthias Nikolaus

Investigations of the pharmacokinetics of caffeine, theophylline and theobromine in the dog.

Institute of Pharmacology, Pharmacy and Toxicology of the Veterinary Faculty of the University of Leipzig

Leipzig, April 2000

(83 p., 24 fig., 12 tab., 187 ref.)

Methylxanthines are often used as stimulants of the central nervous system, of the cardiovascular system and as bronchodilators. Doping samples of racing greyhounds demonstrate that methylxanthines like caffeine, theophylline, and theobromine besides their therapeutic use, are illegally used to strengthen the animals. In this study the pharmacokinetics of caffeine, theophylline and theobromine in dogs were examined. Additionally samples of plasma and urine were taken after application of coffee, tea, and chocolate. After oral application of caffeine and theophylline (10 mg/kg) highest plasma concentrations of caffeine were about 61.8 µmol/l and of theophylline about 42.5 µmol/l after 1.6 and 4.8 hours, respectively. The elimination half-lives for both methylxanthines were 3 hours. The methylxanthines administered

could also be detected in the urine, after application of caffeine its metabolite theobromine reached high concentrations. After the administration of coffee and tea to dogs caffeine, theophylline and theobromine can be found in plasma and urine. After the feeding of cocoa products (chocolate) theobromine was the predominant methylxanthine to be analysed. Therefore the quantitative relationship of the various methylxanthine metabolites detected can indicate the origin of the ingested methylxanthines.

In order to avoid violation of doping regulations, dog owners should assure that their animals have no access to methylxanthine-containing diets in the days before racing competitions.

7 Literaturverzeichnis

- ANON. (1998)
Dopingbestimmungen des Verbandes für das Deutsche Hundewesen (VDH).
Unser Rassehund 1998(3), 8-9
- ANON. (1995)
Römpp Chemie Lexikon.
J. Falbe u. M. Regik (Hrsg.)
Verlag Thieme, Stuttgart, New York
- ALDRIDGE, A., J.V. ARANDA u. A.H. NEIMS (1979)
Caffeine metabolism in the newborn.
Clin. Pharmacol. Ther. 25, 447-453
- ALY, Z.H. (1981)
Untersuchungen über Coffein und Theobromin bei Schafen.
Zentralbl. Veter. Med. A. 28, 711-719
- ANDERSSON, R.G., L. LUNDHOLM u. G. WINGREN (1985)
Contraction and cyclic AMP-related relaxation of the intimal and medial smooth
muscle layers of pig thoracic aorta.
Acta Pharmacol. Toxicol. 56(5), 391-397
- ARAMAKI, S., O. ISHIDAKA, E. SUZUKI, A. MOMOSE u. K. UMEMURA
(1991)
Pharmacokinetics of caffeine and its metabolites in horses after intravenous,
intramuscular or oral administration.
Chem. Pharm. Bull 39(11), 2999-3002
- ARANDA, J.V., J.M. COLLINGE, R. ZINMAN u. G. WATTERS (1979)
Maturation of caffeine elimination in infancy.
Arch. Dis. Child. 54, 946-949
- ARANDA, J.V., C.E. COOK, W. GORMAN, J.M. COLLINGE, P.M.
LOUGHNAN, E.W. OUTERBRIDGE, A. ALDRIDGE u. A.H. NEIMS (1977)
Pharmacokinetic profile of caffeine in the premature newborn infant with apnea.
J. Pediatr. 94(4), 663-668
- ARNAUD, M.J. (1976)
Identification, kinetic and quantitative study of [2-14C] and [1-Me-14C]caffeine
metabolites in rat's urine by chromatographic separations.
Biochem. Med. 16, 67-76

- ARNAUD, M.J. (1984)
Products of metabolism of caffeine.
in: P.B. DEWS (Hrsg.): Caffeine: Perspectives from Recent Research.
Springer-Verlag, New York, S. 3-32
- ARNAUD, M.J. (1985)
Comparative metabolic disposition of [1-Me¹⁴C]caffeine in rats, mice, and
chinese hamsters.
Drug Metab. Dispos. 13(4), 471-478
- ARNAUD, M.J. (1987)
The pharmacology of caffeine.
Prog. Drug. Res. 31, 273-313
- ARNAUD, M.J. (1993)
Metabolism of caffeine and other components of coffee.
in: S. GARATTINI (Hrsg.): Caffeine, Coffee and Health.
Raven Press, New York, S. 43-95
- ARNAUD, M.J., u. C. WELSCH (1979)
Metabolic pathway of theobromine in the rat and identification of two new
metabolites in human urine.
J. Agric. Food Chem. 27(3), 524-527
- ARNAUD, M.J., u. C. WELSCH (1982)
Theophylline and caffeine metabolism in man.
in: N. RIETBROCK, B.G. WOODCOCK u. A.H. STAIB (Hrsg.): Theophylline
and other methylxanthines.
Verlag Vieweg, Braunschweig, Wiesbaden, S. 135-148
- ARZNEIMITTELGESETZ (1998)
In der Fassung vom 11. Dezember 1998. Bundesgesetzblatt Jahrgang 1998
Teil 1, 3586
- ASLAKSEN, A., O.M. BAKKE u. T. VIGANDER (1981)
Comparative pharmacokinetics of theophylline and aminophylline in man.
Br. J. Clin. Pharmacol. 11(3), 269-273
- BADA, H.S., N.N. KHANNA, S.M. SOMANI u. A.A. TIN (1979)
Interconversion of theophylline and caffeine in newborn infants.
J. Pediatr. 94(6), 993-995

- BAILEY, D.N., R.T. WEIBERT, A.J. NAYLOR u. R.F. SHAW (1982)
A study of salicylate and caffeine excretion in the breast milk of two nursing mothers.
J. Anal. Toxicol. 6, 64-68
- BEACH, C.A., J.R. BIANCHINE u. N. GERBER (1982)
The excretion of caffeine in the semen of men: comparison of the concentration in blood and semen.
Proc. West. Pharmacol. Soc. 25, 377-380
- BEAVO, J.A., N.L. ROGERS, O.B. CROFFORD, J.G. HARDMAN, E.W. SUTHERLAND u. E.V. NEWMAN (1970)
Effects of xanthine derivatives on lipolysis and on 3',5'-monophosphate phosphodiesterase activity.
Mol. Pharmacol. 6, 597-603
- BENOWITZ, N.L. (1990)
Clinical pharmacology of caffeine.
Ann. Rev. Med. 41, 277-288
- BENOWITZ, N.L., P. JACOB, H. MAYAN u. C. DENARO (1995)
Sympathomimetic effects of paraxanthine and caffeine in humans.
Clin. Pharmacol. Ther. 58(6), 684-691
- BERGLUND, B., u. P. HEMMINGSSON (1982)
Effects of caffeine ingestion on exercise performance at low and high altitudes in cross-country skiers.
Int. J. Sports Med. 3(4), 234-236
- BERGLUND, B., G. BIRGEGÅRD u. P. HEMMINGSSON (1988)
Serum erythropoietin in cross-country skiers.
Med. Sci. Sports Exerc. 20(2), 208-209
- BERKOWITZ, B.A., J.H. TARVER u. S. SPECTOR (1970)
Release of norepinephrine in the central nervous system by theophylline and caffeine.
Eur. J. Pharmacol. 10, 64-71
- BERNE (1980)
The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow.
Circ. Res. 47, 807-813
- BIAGGIONI, I., S. PAUL, A. PUCKETT u. C. ARZUBIAGA (1991)
Caffeine and theophylline as adenosine receptor antagonists in humans.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 258, 588-593

- BIANCHI, C.P. (1961)
The effect of caffeine on radiocalcium movement in frog sartorius.
J. Gen. Physiol. 44, 845-858
- BLANCHARD, J., u. S.J. SAWERS (1983a)
The absolute bioavailability of caffeine in man.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 24, 93-98
- BLANCHARD, J., u. S.J. SAWERS (1983b)
Comparative pharmacokinetics of caffeine in young and elderly men.
J. Pharmacokinet. Biopharm. 11, 109-126
- BLAYNEY, L., H. THOMAS, J. MUIR u. A. HENDERSON (1978)
Action of caffeine on calcium transport by isolated fractions of myofibrils,
mitochondria, and sarcoplasmic reticulum from rabbit heart.
Circ. Res. 43, 520-526
- BLINKS, J.R., C.B. OLSON, B.R. JEWELL u. P. BRAVENY (1972)
Influence of caffeine and other methylxanthines on mechanical properties of
isolated mammalian heart muscle. Evidence for a dual mechanism of action.
Circ. Res. 30, 367-392
- BONATI, M., R. LATINI, F. GALLETI, J.F. YOUNG, G. TOGNONI u.
S. GARATTINI (1982)
Caffeine disposition after oral doses.
Clin. Pharmacol. Ther. 32, 98-106
- BOOTH, N.H. (1977)
Drugs acting on the central nervous system.
in: L. MEYER JONES, N.H. BOOTH u. L.E. Mc DONALD (Hrsg.): *Veterinary
pharmacology and therapeutics.*
Iowa State University Press, Ames, S. 413
- BORTOLOTTI, A., L. JIRITANO, u. M. BONATI (1985)
Pharmacokinetics of paraxanthine, one of the primary metabolites of caffeine, in
the rat.
Drug Metab. Dispos. 13(2), 227-231
- BORY, C., P. BALTASSAT, M. PORTHAULT, M. BETHENOD, A. FREDERICH
u. J.V. ARANDA (1979)
Metabolism of theophylline to caffeine in the premature newborn infants.
J. Pediatr. 94(6), 988-993

- BOULENGER, J.P., J. PATEL u. P.J. MARANGOS (1982)
Effects of caffeine and theophylline on adenosine and benzodiazepine receptors in human brain.
Neurosci. Lett. 30, 161-166
- BOULENGER, J.P., J. PATEL, R.M. POST, A.M. PARMA u. P.J. MARANGOS (1983)
Chronic caffeine consumption increases the number of brain adenosine receptors.
Life Sci. 32, 1135-1142
- BUNKER, M.L., u. M. Mc WILLIAMS (1979)
Caffeine content of common beverages.
J. Am. Diet. Assoc. 74(1), 28-32
- BURG, A.W. (1975)
Physiological disposition of caffeine.
Drug Metabol. Rev. 4(2), 199-228
- BUTCHER, R.W., u. E.W. SUTHERLAND (1962)
Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials. I. Purification and properties of cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterize adenosine 3',5'-phosphate in human urine.
J. Biol. Chem. 237, 1244-1250
- CALLAHAN, M.M., R.S. ROBERTSON, M.J. ARNAUD, A.R. BRANFMAN, M.F. Mc COMISH u. D.W. YESAIR (1982)
Human metabolism of [1-methyl-14C]- and [2-14C]caffeine after oral administration.
Drug Metab. Dispos. 10(4), 417-423
- CHAPMAN, R.A., u. J. TUNSTALL (1988)
Pharmacology of calcium uptake and release from the sarcoplasmic reticulum: sensitivity to methylxanthines and ryanodine.
in: P.F. BAKER (Hrsg.): Handbook of Experimental Pharmacology: Calcium in Drug Actions.
Springer-Verlag, Berlin, S. 199-216
- CHOI, O.H., M.T. SHAMIM, W.L. PADGETT u. J.W. DALY (1988)
Caffeine and theophylline analogues: correlation of behavioral effects with activity as adenosine receptor antagonists and as phosphodiesterase inhibitors.
Life Sci. 43, 387-398

- CHOU, T.M., u. N.L. BENOWITZ (1994)
Caffeine and coffee: effects on health and cardiovascular disease.
Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 109(2), 173-189
- CHRISTENSEN, H.D., C.V. MANIO u. O.R. KLING (1981)
Caffeine kinetics during late pregnancy.
in: Drug metabolism of the immature human.
Raven Press, New York, S. 163-181
- CLIFFORD, R.J. (1987)
Caffeine-The potential for its abuse in the racing greyhound.
Vet. Rec. 120, 592-595
- COOKE, A.R. (1976)
Gastric damage by drugs and the role of the mucosal barrier.
Aust. N. Z. J. Med. 6, Suppl. 1, 26-32
- CORNISH, H.H., u. A.A. CHRISTMAN (1957)
A study of the metabolism of theobromine, theophylline, and caffeine in man.
J. Biol. Chem. 228, 315-323
- CORRODI, H., K. FUXE u. G. JONSSON (1972)
Effects of caffeine on central monoamine neurons.
J. Pharm. Pharmacol. 24, 155-158
- DALY, J.W. (1982)
Adenosine receptors: target sites for drugs.
J. Med. Chem. 25, 197-207
- DALY, J.W. (1993)
Mechanism of action of caffeine.
in: S. GARATTINI (Hrsg.): Caffeine, Coffee, and Health.
Raven Press, New York, S. 97-150
- DALY, J.W., R.F. BRUNS u. S.H. SNYDER (1981)
Adenosine receptors in the central nervous system: relationship to the central actions of methylxanthines.
Life Sci. 28, 2083-2097
- DECKER, R.A. (1972)
Theobromine poisoning in a dog.
J. Amer. Vet. Med. Assoc. 161(2), 198

- DELBEKE, F.T., u. M DEBACKERE (1988)
The influence of diuretics on the excretion and metabolism of doping agents part IV – Caffeine.
Biopharm. Drug Dispos. 9(2), 137-145
- DEUTSCHE REITERLICHE VEREINIGUNG e.V. (FN) WARENDORF (1994)
Leistungsprüfungsordnung (LPO) mit Änderungen vom 01.01.1996
- DIREKTORIUM FÜR VOLLBLUTZUCHT UND RENNEN KÖLN (1996)
Rennordnung
- DROLET, R., T.D. ARENDT u. C.M. STOWE (1984)
Cacao bean shell poisoning in a dog.
J. Amer. Vet. Med. Assoc. 185(8), 902
- DRURY, A.N., u. A. SZENT-GYOIGYI (1930)
The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart.
J. Physiol. 68, 213-237
- EUROPÄISCHES ARZNEIBUCH (1997)
Vom 18. Juni 1997. Bundesanzeiger S. 8249.
Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
- FDA (1980)
Caffeine content of various products.
Food and drug administration, Washington
- FINDLAY, J.W., R.L. De ANGELIS, M.F. KEARNEY, R.M. WELCH u. J.M. FINDLAY (1981)
Analgesic drugs in breast milk and plasma.
Clin. Pharmacol. Ther. 29, 625-633
- FINGER, A. (1991)
Flavonol- und Flavonglycoside des Tees.
Braunschweig, Tech. Univ., Diss.
- FOOR, J., u. C.M. STOWE (1975)
Acute fatal caffeine toxicosis in a dog.
J. Amer. Vet. Med. Assoc. 167(5), 379
- FRANZKE, C., K.S. GRUNERT, U. HILDEBRANDT u. H. GRIEHL (1968)
On the theobromine and theophylline content of raw coffee and tea.
Pharmazie 23(9), 502-503

- FREDHOLM, B.B. (1980)
Are methylxanthine effects due to antagonism of endogeneous adenosine?
Trends Pharm. Sci. 1, 129-132
- FREDHOLM, B.B. (1995)
Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine.
Pharmacol. Toxicol. 76, 93-101
- FREDHOLM, B.B., u. C.G.A. PERSSON (1982)
Xanthine derivatives as adenosine receptor antagonists.
Eur. J. Pharmacol. 81, 673-676
- FREDHOLM, B.B., u. P. HEDQVIST (1980)
Modulation of neurotransmission by purine nucleotides and nucleosides.
Biochem. Pharmacol. 29, 1635-1643
- FREDHOLM, B.B., M.P. ABBRACCHIO, G. BURNSTOCK, J.W. DALY, T.K.
HARDEN, K.A. JACOBSON, P. LEFF u. M. WILLIAMS (1994)
Nomenclature and classification of purinreceptors.
Pharmacol. Rev. 46, 143-156
- FREDHOLM, B.B., K. BÄTTIG, J. HOLMÉN, A. NEHLIG u. E.E. ZVARTAU
(1999)
Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute
to its widespread use.
Pharmacol. Rev. 51, 83-133
- FREY, H.-H. (1996)
Pharmakologie der Niere.
in: H.-H. FREY u. W. LÖSCHER: Lehrbuch der Pharmakologie und
Toxikologie für die Veterinärmedizin.
Verlag Enke, Stuttgart, S. 352
- FUJII, S., S. INADA, S. YOSHIDA, C. KUSANAGI u. K. MIMA (1972)
Pharmacological studies on doping drug for race horses. II. Caffeine.
Nippon Juigaku Zasshi 34(3), 135-141
- GERLACH, E., u. B.F. BECKER (1987)
Topics and perspectives in adenosine research.
Springer-Verlag, Berlin

- GFELLER, R.W., u. S.P. MESSONNIER (1998)
Chocolate (theobromine) and caffeine poisoning.
in: R.W. GFELLER u. S.P. MESSONNIER (Hrsg.): Small animal toxicology
and poisonings.
Verlag Mosby, St. Louis, S. 109-113
- GILBERT, R.M. (1984)
Caffeine consumption.
Prog. Clin. Biol. Res. 158, 185-213
- GILBERT, R.M., J.A. MARSHMAN, M. SCHWIEDER u. R. BERG (1976)
Caffeine content of beverages as consumed.
Can. Med. Assoc. J. 114(3), 205-208
- GOLDBERG, M.R., P.W. CURATOLO, C.S. TUNG u. D. ROBERTSON (1982)
Caffeine down-regulates beta-adrenoreceptors in rat forebrain.
Neurisci. Lett. 31, 47-52
- GREENGARD, P. (1979)
Cyclic nucleotides, phosphorylated proteins, and the nervous system.
Fed. Proc. 38(8), 2208-17
- GREENGARD, P. (1979)
Intracellular signals in the brain.
Harvey Lect. 75, 277-331
- HANIFIN, J., u. S.C. CHAN (1996)
Diagnosis and treatment of atopic dermatitis.
Dermatol. Ther. 1, 9-18
- HAUPTVERBAND FÜR TRABERZUCHT UND RENNEN e.V. KAARST (1995)
Trabrennordnung vom 14.12.1995
- HEINZEL, G., R. WOLOSZCZAK u. P. THOMANN (1993)
TopFit Version 2.0: Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis
system for the PC.
Verlag Fischer, Stuttgart
- HENDELES, L., u. M. WEINBERGER (1977)
Kinetics of intravenous theophylline.
Clin. Pharmacol. Ther. 22(6), 936
- HENDELES, L., u. M. WEINBERGER (1983)
Theophylline.
Pharmacotherapy 3, 2-44

- HERMLE, B. (1996)
Höchstleistungen durch Arzneimittel?
PTA heute 10, 1105-1110
- HERRMANN, K. (1994)
Die zum Flavor des Schwarzen Tees beitragenden nichtflüchtigen
Verbindungen: Polyphenole.
Gordian 3, 28-30
- ITO, Y., H. SUZUKI u. H. KURIYAMA (1977)
Effects of caffeine and procaine on the membrane and mechanical properties of
the smooth muscle cells of rabbit main pulmonary artery.
Jpn. J. Physiol. 27(4), 467-481
- JOHNSON, P.N., u. G. INESI (1969)
The effect of methylxanthines and local anesthetics on fragmented
sarcoplasmatic reticulum.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 169, 308-314
- KALSNER, S. (1971)
Mechanism of potentiation of contractor responses to catecholamines by
methylxanthines in aortic strips.
Br. J. Pharmacol. 43, 379-388
- KALSNER, S., R.D. FREW u. G.M. SMITH (1971)
Mechanism of methylxanthine sensitization of norepinephrine responses in a
coronary artery.
Am. J. Physiol. 228, 1702-1707
- KAPLAN, E., J.H. HOLMES u. N. SAPEIKA (1974)
Caffeine content of tea and coffee.
S. Afr. J. Nutr. 10, 32-33
- KUSANAGI, C., S. FUJII u. S. INADA (1974)
Evaluation of doping drugs by treadmill exercise in dogs I. Caffeine.
Jap. J. Vet Sci. 36, 81-92
- LAMBERT, M.B.T., J. MILLER u. J.A. EVANS (1982)
The estimation of caffeine in the urine of dogs.
Arch. Toxicol. Suppl. 5, 339-344
- LE GUENNEC, J.C., u. B. BILLON (1987)
Delay in caffeine elimination in breast-fed infants.
Pediatrics 79, 264-268

- LELO, A., D.J. BIRKETT, R.A. ROBSON u. J.O. MINERS (1986a)
Comparative pharmacokinetics of caffeine and its primary demethylated metabolites paraxanthine, theobromine and theophylline in man.
Br. J. Clin. Pharmacol. 22, 177-182
- LELO, A., J.O. MINERS, R. ROBSON u. D.J. BIRKETT (1986b)
Assessment of caffeine exposure: Caffeine content of beverages, caffeine intake, and plasma concentrations of methylxanthines.
Clin. Pharmac. Ther. 39, 54-59
- LEWIS, L.D., M.L. MORRIS Jr. u. M.S. HAND (1990)
Menschliche Nahrung und andere Zusätze.
in: Klinische Diätetik für Hund und Katze.
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover, S. II-13
- LÖFFLER, G., u. P. PETRIDES (1998)
Stoffwechsel der Purine und Pyrimidine.
in: Biochemie und Pathobiochemie.
Springer-Verlag, Berlin, S. 582-585
- LÖSCHER, W. (1997)
Zentrale Analeptika.
in: W. LÖSCHER, F.R. UNGEMACH u. R. KROKER (Hrsg.):
Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 111-113
- LONDOS, C., u. J. WOLFF (1977)
Two distinct adenosine-sensitive sites on adenylate cyclase.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74(12), 5482-5486
- MAIER, H.G., u. U.H. ENGELHARDT (1991)
Genußmittel.
in: W. FREDE (Hrsg.): Taschenbuch für Lebensmittelchemiker und –
technologen.
1. Aufl., Springer-Verlag, Berlin
- MAITRE, M., L. CHESIELSKI, A. LEHMANN, E. KEMPF u. P. MANDEL (1974)
Protective effect of adenosine and nicotinamide against audiogenic seizure.
Biochem. Pharmacol. 23(20), 2807-2816
- MARANGOS, P.J., S.M. PAUL, A.M. PAMA, F.K. GOODWIN, P. SYAPIN u.
P. SKOLNICK (1979)
Purinergic inhibition of diazepam binding to rat brain *in vitro*.
Life Sci. 24, 851-858

- MARKHAM, A., u. D. FAULDS (1998)
Theophylline. A review of its potential steroid sparing effects in asthma.
Drugs 56(6), 1081-1091
- MARKS, V., u. J.F. KELLY (1973)
Absorption of caffeine from tea, coffee, and coca-cola.
Lancet 1, 827
- MATTILA, M.J., E. PALVA u. K. SAVOLAINEN (1982)
Caffeine antagonizes diazepam effects in man.
Med. Biol. 60(2), 121-123
- Mc KIERAN, B.C., C.A. NEFF-DAVIS, G.D. KORITZ, L.E. DAVIS u.
D.R. PHERIS (1981)
Pharmacokinetic studies of theophylline in dogs.
J. vet. Pharmacol. Ther. 4, 103-110
- MILLER, G.E., C.C. RADULOVIC, R.H. DEWIT, M.J. BRABEC, S.M. TARKA u.
H.H. CORNISH (1984)
Comperative theobromine metabolism in five mammalian species.
Drug Metab. Dispos. 12(2), 154-160
- MORGAN, K.J., V.J. STULTS u. M.E. ZABIK (1982)
Amount and dietary sources of caffeine and saccharin intake by individuals ages
5 to 18 years.
Regul. Toxicol. Pharmacol. 2, 296-307
- MÜLLER, R.K. (1999)
Doping und Toxikologie.
Naturw. Rdsch. 52(7), 259-263
- MUMFORD, G.K., N.L. BENOWITZ, S.M. EVANS, B.J. KAMINSKI, K.L.
PRESTON, C.A. SANNERUD, K. SILVERMAN u. R.R. GRIFFITHS (1996)
Absorption rate of methylxanthines following capsules, cola and chocolate.
Eur. J. Pharmacol. 51, 319-325
- NEHLIG, A. (1999)
Are we dependent upon coffee and caffeine?
Neurosci. Biobehav. Rev. 23, 563-576
- NEWTON, R., L.J. BROUGHTON, M.J. LINDA, P.J. MORRISON, H.J. ROGERS
u. I.D. BRADBROOK (1981)
Plasma and salivary pharmacokinetics of caffeine in man.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 21, 45-52

- NIELSEN-KUDSK, F., I. MAGNUSSEN, T. STAEHELIN JENSEN u. K. NÆSER (1980)
Bioavailability and pharmacokinetics in man of orally administered theophylline.
Acta pharmacol. toxicol. 46, 205-212
- NOSAKA, H., K. TAKAGI, T. HASEGAWA, Y. OGURA, Y. MIZUKAMI u. T. SATAKE (1986)
Pharmacokinetics in beagle dogs and asthmatic patients after multiple oral doses of sustained-release theophylline tablet formulation.
Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. 24(10), 528-535
- OGILVIE, R.I. (1978)
Clinical pharmacokinetics of theophylline.
Clin. Pharmacokin. 3, 267-293
- OSSWALD, W. (1979)
Disposition of vasoconstrictor agonists.
Mechan. Vasodilat. 1979, 89-97
- PAGE, C.P. (1999)
Recent advances in our understanding of the use of theophylline in the treatment of asthma.
J. Clin. Pharmacol. 39, 237-240
- PAIRE, M., P. VAN LIEFERINHEN, V. DESVIGNES, C. DUBRAY, E.J. RAYNAUD u. J. LAVARENNE (1988)
Cinétique de la caféine au cours des premiers mois de la vie et implications pratiques.
Sem. Hôp. Paris 64, 1813-1817
- PARSONS, W.D., u. A.H. NEIMS (1978)
Effect of smoking on caffeine clearance.
Clin. Pharmacol. Ther. 24, 40-45
- PARSONS, W.D., u. A.H. NEIMS (1981)
Prolonged half-life of caffeine in healthy term newborn infants.
J. Pediatr. 98, 640-641
- PASMAN, W.J., M.A. VAN BAAK, A.E. JEUKENDRUP u. A. DE HAAN (1995)
The effect of different dosages of caffeine on endurance performance time.
Int. J. Sports Med. 16, 225-230

- PEARLMAN, S.A., C. DURAN, M.A. WOOD, M.J. MAISELS u. C.M. BERLIN Jr. (1989)
Caffeine pharmacokinetics in preterm infants older than 2 weeks.
Dev. Pharmacol. Ther. 12, 65-69
- PERSSON, C.G. (1985)
On the medical history of xanthines and other remedies for asthma: a tribute to HH Salter.
Thorax 40(12), 881-886
- PESSAH, I.N., R.A. STAMBUK u. J.E. CASIDA (1987)
Ca²⁺-activated ryanodine binding: mechanisms of sensitivity and intensity modulation by Mg²⁺, caffeine, and adenosine nucleotides.
Mol. Pharmacol. 31, 232-238
- PHILLIS, J.W., u. P.H. WU (1981a)
Adenosine may regulate the vascular supply and thus the growth and spread of neoplastic tissues: a proposal.
Gen. Pharmacol. 12, 309-310
- PHILLIS, J.W., u. P.H. WU (1981b)
The role of adenosine and its nucleotides in the central synaptic transmission.
Prog. Neurobiol. 16, 187-239
- PIAFSKY, K.M., u. R.I. OGILVIE (1975)
Dosage of theophylline in bronchial asthma.
N. Engl. J. Med. 292(23), 1218-1222
- PICK, M. (1993)
Doping im Pferdesport und die Problematik für den behandelnden Tierarzt.
Prakt. Tierarzt, Jg. 1993(7), 613-620
- PROCTER, A.W., u. J.F. GREDEN (1982)
Caffeine and benzodiazepine use.
Am. J. Psychiatry 139(1), 132
- RALL, T.W. (1982)
Evolution of the mechanism of action of methylxanthines: From calcium mobilizers to antagonists of adenosine receptors.
Pharmacologist 24, 277-287

- RALL, T.W. (1990)
Drugs used in the treatment of asthma. The methylxanthines, cromolyn sodium, and other agents.
in: A.T.W. GILMAN, A.S. NIEW u. P. TAYLOR (Hrsg.): The Pharmacological Basis of Therapeutics.
Pergamon Press, New York, S. 618-637
- RALL, T.W., u. E.W. SUTHERLAND (1958)
Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particulates.
J. Biol. Chem. 232, 1065-1076
- RIMPLER H. (1999)
Methylxanthine.
in: Biogene Arzneistoffe.
Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, S. 265-268
- RITCHIE, J.M. (1975)
Central nervous system stimulants. The Xanthines.
in: L.S. GOODMAN u. A. GILMAN(Hrsg.): The Pharmacological Basis of Therapeutics.
Verlag MacMillan, New York, S. 367-378
- ROUSSEAU, E., J. LADINE, Q.Y. LIU u. G. MEISSNER (1988)
Activation of the Ca²⁺ release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum by caffeine and related compounds.
Arch. Biochem. Biophys. 267(1), 75-86
- RYU, J.E. (1985)
Caffeine in human milk and in serum of breast-fed infants.
Dev. Pharmacol. Ther. 8, 329-337
- SAKULA, A. (1985)
Henry Hyde Salter (1823-71): a biographical sketch.
Thorax 40(12), 887-888
- SAWYNOK, J., u. T.L. YAKSH (1993)
Caffeine as an analgesic adjuvant: a review of pharmacology and mechanism of action.
Pharmacol. Rev. 45(1), 43-85
- SEEGERS, A.J.M., L.P. JAGER, P. ZANDBERG u. J. VAN NOORDWIJK (1981)
The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of non-narcotic analgesic drug mixtures in rats.
Arch. Int. Pharmacodyn. 251, 237-254

- SERAFIN, W.E. (1995)
Methylxanthines.
in: J.G. HARDMAN, L.E. LIMBIRD, P.B. MOLINOFF, R.W. RUDDON et al.
(Hrsg.): Godman and Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics.
Verlag Mc Graw-Hill, New York, S. 672-678
- SHIVELY, C.A., u. S.M. TARKA Jr. (1983)
Theobromine metabolism and pharmacokinetics in pregnant and nonpregnant
Sprague-Dawley rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 67(3), 376-382
- SHIVELY, C.A., S.M. TARKA Jr., M.J. ARNAUD, B.H. DVORCHIK, G.T.
PASSANANTI u. E.S. VESELL (1985)
High levels of methylxanthines in chocolate do not alter theobromine
disposition.
Clin. Pharmacol. Ther. 37(4), 415-424
- SILBERNAGEL, S. (1991)
Endokrines System und Hormone.
in: S. SILBERNAGEL u. A. DESPOPOULUS (Hrsg.): Taschenatlas der
Physiologie.
Verlag Thieme, Stuttgart, New York, S. 242-243
- SILVERMAN, K., S.M. EVANS, E.C. STRAIN u. R.R. GRIFFITH (1992)
Withdrawal syndrome after the double-blind cessation of caffeine consumption.
N. Engl. J. Med. 327, 1109-1114
- SMELLIE, F.W., C.W. DAVIS, J.W. DALY u. J.N. WELLS (1979)
Alkylxanthines: inhibition of adenosine-elicited accumulation of cyclic AMP in
brain slices and of brain phosphodiesterase activity.
Life Sci. 24, 2475-2482
- SNYDER, S.H. (1984)
in: P.B. DEWS (Hrsg.): Caffeine.
Springer-Verlag, Berlin, S. 129-141
- SNYDER, S.H., J.J. KATIMS, Z. ANNAU, R.F. BRUNS u. J.W. DALY (1981)
Adenosine receptors and behavioral actions of methylxanthines.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78(5), 3260-3264
- SOUCI, S.W., W. FACHMANN u. H. KRAUT (1994)
in: Food composition and nutrition tables. Die Zusammensetzung der
Lebensmittel, Nährwert-Tabellen.
Verlag Medpharm, Stuttgart, S. 1042-1043

- STAVRIC, B., R. KLASSEN u. S.G. GILBERT (1984)
Automated high-performance liquid chromatographic assay for monitoring
caffeine and its metabolites in biological fluids of monkeys consuming caffeine.
J. Chromatogr. 310, 107-118
- STIDWORTHY, M.F., J.S. BLEAKLEY, M.T. CHEESEMAN u. D.F. KELLY
(1997)
Chocolate poisoning in dogs.
Vet. Rec. 141(1), 28
- STRACHAN, E.R., u. A. BENNETT (1994)
Theobromine poisoning in dogs.
Vet. Rec. 134, 284
- STREULI, H. (1970)
Kaffee.
in: Handbuch der Lebensmittelchemie.
Springer-Verlag, Berlin, S. 1-95
- STRYER, L. (1994)
Hormonwirkung.
in: L. STRYER (Hrsg.): Biochemie.
3. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, S. 1012-1016
- SU, J.Y., u. W. HASSELBACH (1984)
Caffeine-induced calcium release from isolated sarcoplasmic reticulum of
rabbit skeletal muscle.
Pfluegers Arch. 400, 14-21
- SUTHERLAND, E.W., u. T.W. RALL (1958)
Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by
tissue particles.
J. Biol. Chem. 232, 1077-1091
- SUTTON, R.H. (1981)
Cocoa poisoning in a dog.
Vet. Rec. 109, 563-565
- TANG-LIU, D.D., u. S. RIEGELMANN (1981)
Metabolism of theophylline to caffeine in adults.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 34(3), 371-380

- THER, L., R. MUSCHAWEK u. J. HERGOTT (1957)
Antagonismus zwischen Adenosin und methyl-Xanthinen am Reizleitungssystem des Herzens.
Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 231, 586-590
- TIERSCHUTZGESETZ (1998)
In der Fassung vom 25. März 1998. Bundesgesetzblatt Jahrgang 1998 Teil 1 Nr. 30, ausgegeben zu Bonn am 29. Mai 1998; 1105-20
- TOBIN, T. (1981)
Drugs and the performance horse.
Verlag Thomas, Springfield, Illinois
- TODI, F., M. MENDONCA, M. RYAN u. P. HERSKOVITS (1999)
The confirmation and control of metabolic caffeine in standardbred horses after administration of theophylline.
J. vet. Pharmacol. Ther. 22, 333-342
- TONG, M.R., X.M. KANG, S. SUETSUGU u. S. TSUTOMU (1993)
Effects of caffeine on diaphragmatic contractility and fatigue.
Chin. Med. J. 106(10), 751-756
- TRAUTWEIN (1996)
Kaffee, Tee, Kakao.
Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten e.V. (AID), Bonn
- TSE, F.L.S., u. D.W. SZETO (1982)
Theophylline bioavailability in the dog.
J. Pharmacol. Sci. 71(11), 1301-1303
- TSE, F.L.S., u. K.H. VALIA (1981)
Plasma theobromine after oral administration of caffeine to dogs.
J. Pharmacol. Sci. 70(5), 579-580
- TYRALA, E.E., u. W.E. DODSON (1979)
Caffeine secretion into breast milk.
Arch. Dis. Child. 54, 787-800
- UNGEMACH, F.R. (1985)
Dopingkontrolle bei Rennpferden.
Tierärztl. Prax. 13, 35-53

- UNGEMACH, F.R., u. M.CH. NÜRNBERGER (1999)
Doping im Pferdesport.
in: O. DIETZ u. B. HUSKAMP (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis.
Verlag Enke, Stuttgart, S. 65-80
- VAN CALKER, D., M. MILLER u. B. MAMPRECHT (1979)
Adenosine regulates via two different types of receptors, the accumulation of cyclic AMP in cultured brain cells.
J. Neurochem. 33, 999-1005
- VIANI, R. (1993)
The composition of coffee.
in: S. GARATTINI (Hrsg.): Caffeine, Coffee and Health.
Raven Press, New York, S. 17-41
- VINEGAR, R., J.F. TRUAX, J.L. SELPH, R.M. WELCH u. H.L. WHITE (1976)
Potentiation of the anti-inflammatory and analgesic activity of aspirin by caffeine in the rat.
Soc. Exp. Biol. Med. 151, 556-560
- WALDECK, B. (1971)
Some effects of caffeine aminophylline on the turn-over of catecholamines in the brain.
J. Pharm. Pharmacol. 23, 824-830
- WARSAWSKI, D., Z. BEN-ZVI, R. GORODISCHER, M.J. ARNAUD u. I. BRACCO (1982)
Urinary metabolites of caffeine in young dogs.
Drug Metabol. Dispos. 10(4), 424-428
- WARSAWSKI, D., R. GORODISCHER, S.W. MOSES u. H. BARK (1977)
Caffeine pharmacokinetics in young and adult dogs.
Biol. Neonate 32, 138-142
- WEBER, A., u. R. HERZ (1968)
The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine in reticulum.
J. Gen. Physiol. 52, 750-759
- WEINBERGER, M., u. L. HENDELES (1996)
Theophylline in asthma.
N. Engl. J. Med. 334(21), 1380-1388

- WEIR, R.L., u. R.E. HRUSKA (1983)
Interaction between methylxanthines and the benzodiazepine receptor.
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 265, 42-48
- WEISS, S.K. (1996)
Bindungs- und Extraktionsverhalten ausgewählter Mineralstoffe im Tee.
Braunschweig, Tech. Univ., Diss.
- WELLS, D.J., B.M. HANKS, C.S. YARBROUGH u. M.A. DAVIS (1988)
Determination of methylxanthine stimulants in urine of racing greyhounds by
high-performance liquid chromatography. Resolution of a contested drug
administration case.
J. Anal. Toxicol. 12, 30-32
- WETTENGEL, R. (1998)
Theophyllin – Rückblick, Standortbestimmung und Ausblick.
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 48(1), 535-539
- ZYLBER-KATZ, E., L. GRANIT u. M. LEVY (1984)
Relationship between caffeine concentrations in plasma and saliva.
Clin. Pharmacol. Ther. 36(1), 133-137

VERORDNUNGEN

1981

- Verordnung über Kaffee, Zichorie, Kaffee-Ersatz und Kaffeezusätze
(Kaffeeverordnung)
Vom 12. Feb. 1981
Bundesgesetzblatt T. 1 1981, S. 225

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. M. Kietzmann für die Überlassung des Themas der vorliegenden Dissertation und die allzeit gewährte gute Unterstützung bei der Erstellung derselben.

Herrn Prof. Dr. F.R. Ungemach danke ich für die freundliche Betreuung und die konstruktiven Anregungen beim Anfertigen der Veröffentlichungen und der Dissertation.

Frau Dr. K. Kluge danke ich für die gewährte Betreuung und Hilfsbereitschaft.

Frau Dr. U. Knoll möchte ich für ihre Hilfsbereitschaft in Fragen der HPLC und beim Vermitteln chemischen Wissens danken.

Den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Institutes für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie möchte ich für die herzliche Aufnahme und die Hilfestellungen bei den Laborarbeiten und der Durchführung der Versuche danken.

Den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Klinik und Poliklinik für kleine Haus- und Heimtiere der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig möchte ich für die Hilfe bei der Vorbereitung der Versuche und für die medizinische Betreuung der Versuchshunde danken.

Herrn H.-J. Apelt, Essen, möchte ich für seine Unterstützung bei Fragen des Windhundsports und der Durchführung der Dopingkontrollen danken.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Dr. H.-J. Koch, Birkenfeld, für die Bereitstellung medizinischer Geräte zur Durchführung der Versuche.