

# Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Coffein, Theophyllin und Theobromin beim Hund

B. Loeffler<sup>1</sup>, Katharina Kluge<sup>1</sup>, F. R. Ungemach<sup>1</sup>, M. Kietzmann<sup>2</sup>

Aus dem <sup>1</sup>Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig (Leiter: Prof. Dr. F. R. Ungemach) und dem

<sup>2</sup>Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Hochschule Hannover (Leiter: Prof. Dr. W. Löscher)

**Schlüsselwörter:** Coffein - Theophyllin - Theobromin - Pharmakokinetik - Plasmaspiegel - Urinspiegel - Hund

**Zusammenfassung:** Methylxanthine werden zur Stimulation des zentralen Nervensystems, des Herz-Kreislauf-Apparates oder zur Bronchodilatation eingesetzt. In der vorliegenden Studie wurde die Pharmakokinetik von Coffein, Theophyllin und Theobromin bei Hunden untersucht.

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 3,2 Stunden, so daß wirksame Spiegel ausreichend lange aufrechterhalten wurden. Im Urin konnten die applizierten Methylxanthine ebenfalls nachgewiesen werden, nach Applikation von Coffein trat hier Theobromin als Metabolit in hohen Konzentrationen in Erscheinung.

**Key words:** Caffeine - Theophylline - Theobromine - Pharmacokinetics - Plasma concentration - Urine concentration - Dog

**Summary:** Investigations on the pharmacokinetics of caffeine, theophylline and theobromine in the dog

Methylxanthines are often used as stimulants of the central nervous system, of the cardiovascular system and as bronchodilators. In this study the pharmacokinetics of caffeine, theophylline and theobromine in dogs were examined.

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 3.2 hours and, therefore, effective plasma concentrations were maintained for several hours. In the urine the methylxanthines administered could also be detected, after application of caffeine its metabolite theobromine reached high concentrations.

## Einleitung

Die Methylxanthine Coffein (Abb. 1), 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 (2, 10, 14). Bei Überdosierung kommt es zu Erbrechen, Durchfall, Polyurie, Nervosität, Angst, Tremor, Tachykardie und Herzarrhythmien bis hin zu Todesfällen (4, 6, 10, 14-16).

Während Coffein therapeutisch in einer Dosierung von 5-10 mg/kg KM mehrmals täglich oral oder parenteral zur

Anregung der Atmung und des Herz-Kreislauf-Systems angewendet wird (10), 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 (10). Theobromin wird therapeutisch nicht eingesetzt, ist jedoch in Kakao-Produkten enthalten und kann aus diesen resorbiert werden.

Die genannten Methylxanthine spielen auch im Pferde- und Hunderennsport eine Rolle, da sie dort häufig bei Dopingkontrollen nachgewiesen werden. In diesen Fällen ist zu klären, ob die Stoffe bewußt zur Leistungssteigerung verabreicht wurden, oder ob es sich um unabsichtli-

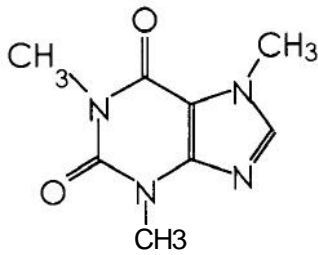


Abb. 1 Strukturformel von Coffein

ches Doping im Rahmen einer tierärztlichen Behandlung oder durch Gabe methylxanthinhaltiger Futtermittel handelt (18, 21, 22).

Der Metabolismus der Methylxanthine findet in der Leber statt. Für den Menschen, die Ratte, die Maus und den Hund sind die Dimethylxanthine Theophyllin, Theobromin, Paraxanthin und 1,3,7-Trimethylharnsäure sowie 6-Amino-5-[N-Formylmethylamino]-1,3-Dimethyluracil als Metabolite beschrieben (2, 3, 7). Theophyllin wird zu 1-Methylxanthin, 3-Methylxanthin und 1,3-Dimethylharnsäure verstoffwechselt (2). Die Methylierung von Theophyllin zu Coffein ist bislang nur in der Humanmedizin vor allem bei Neugeborenen beschrieben und spielt nach dem ersten Lebensjahr keine bedeutende Rolle mehr (14, 17). Der Abbau des Theobromin erfolgt über 3-Methylxanthin, 7-Methylxanthin, 3,7-Dimethylharnsäure und 6-Amino-5-[N-Formylmethylaminol-1-Methyluracil (2).

Durch die vorliegende Untersuchung sollten Daten zur Pharmakokinetik erarbeitet und die Bioverfügbarkeit von Coffein und Theophyllin aus oral angewendeten Fertigarzneimitteln ermittelt werden. Speziell im Hinblick auf den mißbräuchlichen Einsatz der erwähnten Methylxanthine im Hunderennsport sind die Urinkonzentrationen von Coffein, Theophyllin und Theobromin nach entsprechender Arzneimittellapplikation von Interesse. Hierzu liegen bisher jedoch nur wenige und lediglich begrenzt aussagefähige Untersuchungen bei Hunden vor (5,24). In der vorliegenden Studie wurden die Konzentrationen von Coffein und der Dimethylxanthine Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin in Plasma und Urin von Hunden nach intravenöser und/oder oraler Applikation der drei oben erwähnten Wirkstoffe ermittelt.

Tab. 1 Verwendete Präparate

Formulierung	Wirkstoff	Dosierung [mg/kg KM]	Präparat	Hersteller
Injektionslösung	Coffein	10	Coffernum-Natrium salicylic. solut. 50%ig	Atarost Twistring
Tablette			Coffeinum purum	Berlin-Chemie AG, Berlin
Injektionslösung	Theophyllin	5	afpred® forte-THEO	Sanavita, Werne
Tablette		10	Theophyllin retard-ratiopharm® 125	Ratiopharm, Ulm
Injektionslösung	Theobromin	5	Theobromin-Injektionslösung	Apothek des Univ.-Klinikums Leipzig

## Material und Methoden

### Versuchstiere

Die Versuche wurden an acht Jahre alten Beagle-Hündinnen durchgeführt, die in zwei Gruppen zu je drei Tieren gehalten wurden. Zum Zeitpunkt der Applikation waren die Tiere nüchtern, eine Fütterung erfolgte vier Stunden nach Applikation der Substanzen. Wasser war frei zugänglich. Zwischen den einzelnen Versuchsdurchgängen lag ein Zeitraum von mindestens zwei Wochen, um eine vollständige Elimination der verabreichten Substanz zu gewährleisten.

### Versuchsablauf

Die Substanzen Coffein und Theophyllin wurden oral und intravenös, Theobromin nur intravenös in Form von Fertigarzneimitteln, bei denen es sich um Monopräparate handelte, im Cross-over-Design an sechs weibliche Beagles verabreicht (Tab. 1). Da kein Theobrominpräparat zur oralen Anwendung im Handel ist, wurde auf die orale Applikation verzichtet. Nach der Arzneimittelgabe wurden über 36 Stunden Plasma- und Urinproben entnommen, wobei nur fünf Tiere zur Uringewinnung katheterisiert werden konnten.

Am Versuchstag wurde den Hunden vor Applikation der Substanzen ein Ballon-Harnkatheter (ProfilCath, Rüschi-Brilliant-Ballonkatheter) gelegt und zwischen den Probenentnahmen verschlossen und fixiert. Der Harnkatheter wurde zur Schonung der Blasenwand nach 24 Stunden entfernt. Für die Urinentnahme nach 36 Stunden wurden die Tiere erneut katheterisiert. Die intravenöse Applikation erfolgte über eine Venenverweilkanüle in die Vena cephalica antibrachii. Die Tabletten wurden den Hunden auf dem Zungengrund plaziert und das Abschlucken des Präparates kontrolliert.

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 antibrachii bzw. der Vena saphena parva in heparinisierte Eppendorfgläser (20 I.E. Heparin/ml Blut) entnommen. Nach intravenöser Injektion der drei Methylxanthine fand eine Blutprobengewinnung zusätzlich nach 5, 10, 15, 45 und 75 Minuten statt. Im Anschluß wurde Plasma durch Zentrifugation (10 Minuten, 4° C, 6500 U/min) gewonnen und bis zur Analyse bei -20° C gelagert.

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 gewonnen und das Urinvolumen bestimmt. Ein Aliquot von 2 ml wurde bis zur Analyse bei -20° C gelagert. Nach intravenöser Applikation der Substanzen wurde zusätzlich auch nach drei Stunden Urin gewonnen.

### Analytik

Die Methylxanthinkonzentrationen wurden nach Festphasenextraktion mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt (modifiziert nach 1).

### Probenvorbereitung

300 µl Plasma bzw. Urin (1:10 verdünnt) wurden mit 50 µl internem Standard (Betahydroxyethyltheophyllin, 18 µg/ml in Methanol/Wasser 1:9) und 300 µl Kaliumphosphatpuffer (0,4M; pH 5,3) versetzt und 500 µl des Gemisches auf die mit 2 x 1 ml Methanol und 2 x 1 ml destilliertem Wasser konditionierte Extraktions säule (Bond Elut® C18 100 mg, Varian, Darmstadt) aufgetragen. Es folgte ein dreimaliges 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 bei 60° C über drei Stunden (Speedvac Vac® Plus SC 110A, Life Sciences International, Frankfurt) wurde der Rückstand in 250 µl Eluent (Triethylamin 1% in H<sub>2</sub>O:Tetrahydrofuran 98,75:1,25 v/v) aufgenommen, kraftig geschüttelt und bis zur Analyse 12 Stunden bei 4° C im Kühlschrank gelagert. Die chromatographische Trennung wurde bei Raumtemperatur mit einer Reversed-Phase-C18-Säule (LiChrosphere® 100 RP-18, 5 µm, 125-4, Merck, Darmstadt) durchgeführt. Die Detektion

Tab. 2 Aus den Plasmatdaten errechnete pharmakokinetische Parameter nach intravenöser und oraler Verabreichung von Coffein (10 mg/kg KM), Theophyllin (5 mg/kg KM i.v., 10 mg/kg KM p.o.) und Theobromin (5 mg/kg KM)

	Coffein				Theophyllin				Theobromin	
	oral		iv.		oral		iv.		iv.	
	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

fand bei einer Wellenlänge von 280 nm statt. Das Injektionsvolumen betrug 50  $\mu\text{l}$  und die Fließgeschwindigkeit des Eluenten 1,0 ml pro Minute. Die Retentionszeiten lagen für Theobromin, Paraxanthin, Theophyllin und Coffein durchschnittlich bei 4, 7, 8 und 18 Minuten.

Berechnung der Methylxanthinkonzentrationen

Zur Eichung wurde Plasma und Urin unbehandelter Hunde mit der zu quantifizierenden Substanz versetzt und den Proben entsprechend aufgearbeitet und analysiert.

Der Quotient aus den Peakflächen des Analyten und des internen Standards wurde zur Erstellung einer Eichkurve graphisch gegen die Konzentration des entsprechenden Analyten aufgetragen. Anhand dieser Eichkurve konnte die Konzentration der einzelnen Methylxanthine in den Proben aus dem Flächenverhältnis des Analyten und des internen Standards berechnet werden.

Die Eichkurven waren im untersuchten Bereich (Coffein von 0,3 bis 30  $\mu\text{g/ml}$ , Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin von 0,09 bis 90  $\mu\text{g/ml}$ ) linear, die Korrelationskoeffizienten lagen zwischen 0,97 und 0,99.

Berechnung pharmakokinetischer Parameter

Pharmakokinetische Kenndaten wurden unter Verwendung eines Zwei-Kompartiment-Modells mit Hilfe des Programms Topfit 2.0 errechnet (8). Die graphischen Darstellungen (Abb. 2-8) basieren auf den Rohdaten.

Die Bioverfügbarkeit der oral applizierten Methylxanthine Coffein und Theophyllin wurde als prozentualer Anteil der Fläche un-

ter der Blutspiegelverlaufskurve ( $AUC_{p.o.}$ ) eines Einzeltieres von seiner eigenen  $AUC_{i.v.}$  berechnet.

**Ergebnisse**

Tabelle 2 zeigt die aus den Plasmakonzentrationsdaten errechneten pharmakokinetischen Parameter für die jeweilige Muttersubstanz. Für Coffein wurden auch die Zeitverläufe der wichtigsten Metaboliten in Plasma und Harn bestimmt.

Nach intravenöser und oraler Applikation von 10 mg Coffein pro kg Körpermasse wurden im Plasma und im Urin Coffein, Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin nachgewiesen. Die intravenöse Injektion von Coffein erzeugte im Plasma initiale Coffeinkonzentrationen von  $176,1 \pm 48,4 \mu\text{mol/l}$  (Abb. 2a). Die Plasmahalbwertszeit betrug  $4,3 \pm 1,4$  Stunden. Nach oraler Applikation 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 (Abb. 2b). Die Elimination folgte einer Kinetik erster Ordnung mit einer Halbwertszeit von  $3,2 \pm 0,9$  Stunden. Coffein konnte nach intravenöser und oraler Verabreichung im Plasma bei einer Nachweisgrenze von  $0,02 \mu\text{mol/l}$  bis zu 36 Stunden nachgewiesen werden. Die Bioverfügbarkeit von Coffein betrug durchschnittlich 93%. Die Plasmakonzentrationsverläufe von

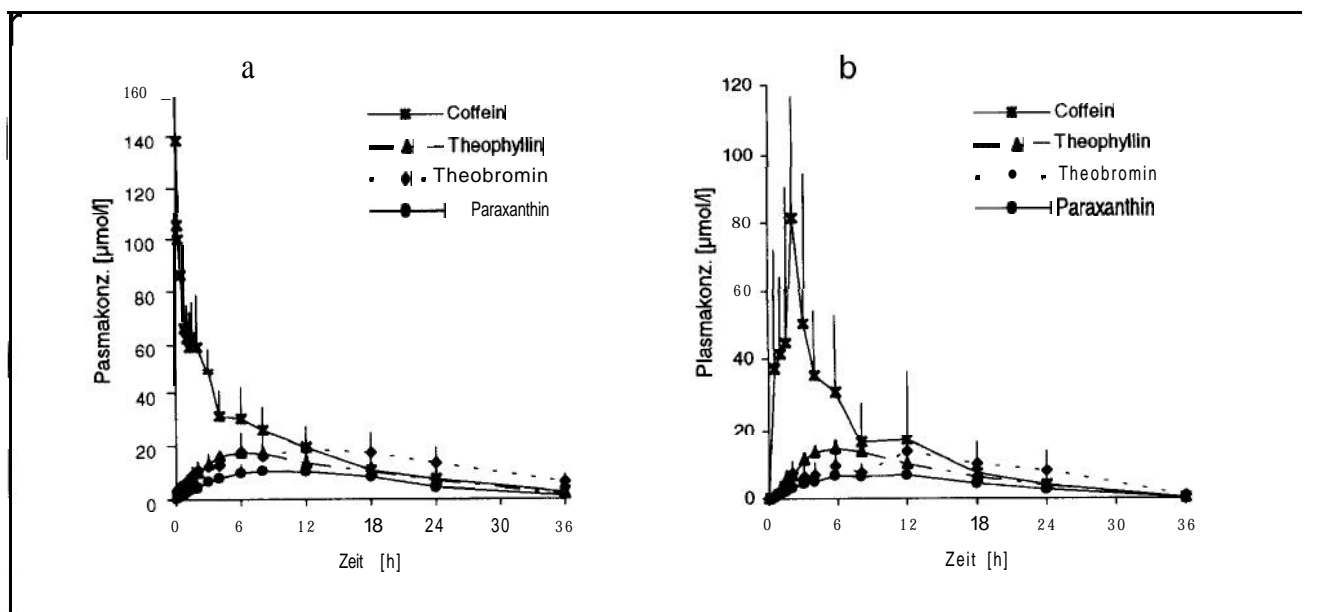


Abb. 2 Methylxanthinkonzentrationen im Plasma nach intravenöser (a) und oraler (b) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg/kg KM (MW + SD, n = 6)

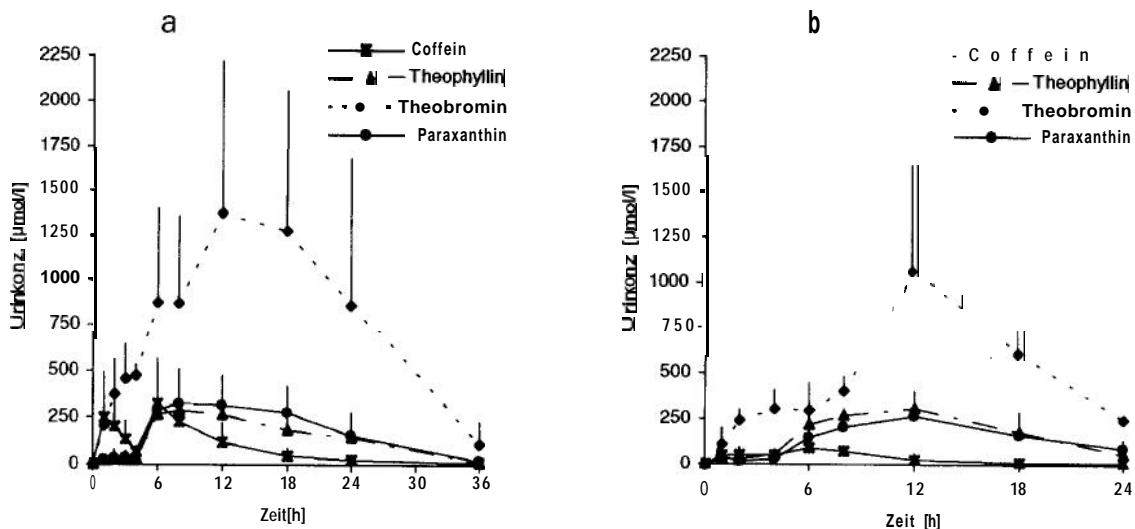


Abb. 3 Methylxanthinkonzentrationen im Urin nach intravenöser (a) und oraler (b) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg/kg KM (MW + SD, n = 5)

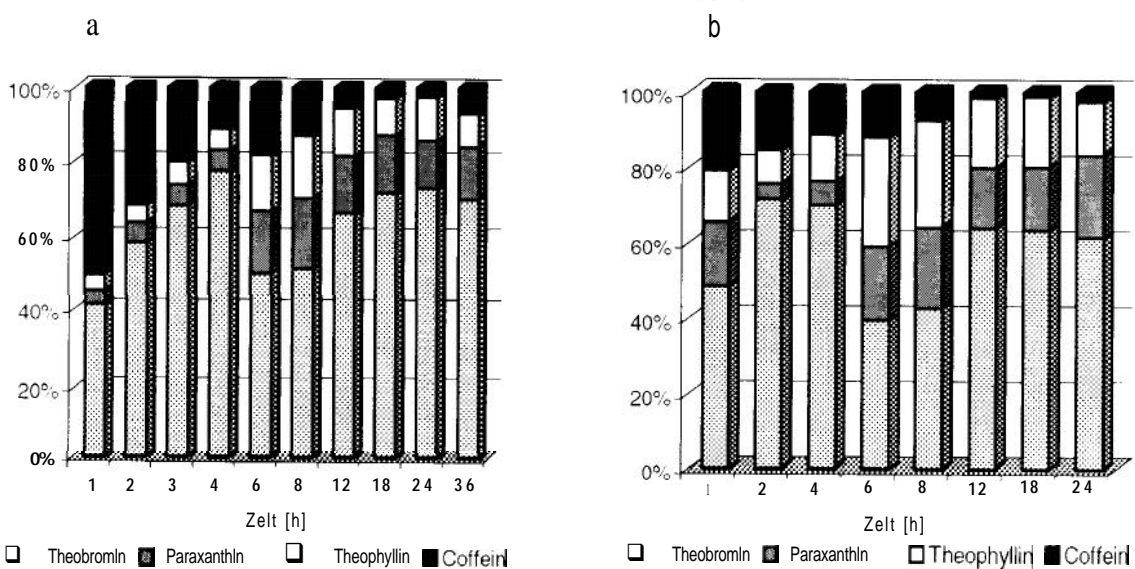


Abb. 4 Stoffanteile an der renalen Ausscheidung nach intravenöser (a) und oraler (b) Applikation von Coffein in einer Dosierung von 10 mg/kg KM (MW, n = 5)

Theobromin, Theophyllin und Paraxanthin, die bei diesem Versuch als Metabolite in Erscheinung traten, unterschieden sich zwischen intravenöser und oraler Verabreichung nicht wesentlich (Abb. 2). Theobromin hatte ein Konzentrationsmaximum 12 Stunden nach oraler ( $13,4 \pm 10,4 \mu\text{mol/l}$ ) bzw. intravenöser ( $199 \pm 7,5 \mu\text{mol/l}$ ) 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 12 Stunden ( $6,5 \pm$

$2,0 \mu\text{mol/l}$ ), nach oraler Applikation nach acht Stunden ( $10,5 \pm 1,9 \mu\text{mol/l}$ ). Im Urin ergab sich für Coffein sowohl nach intravenöser als auch nach oraler Applikation durchschnittlich sechs Stunden nach Versuchsbeginn die maximale Konzentration (Abb. 3), die nach intravenöser Applikation ( $322 \pm 241 \mu\text{mol/l}$ ) deutlich höher war als nach oraler Gabe ( $89 \pm 77 \mu\text{mol/l}$ ). Die als Metabolite des Coffeins entstandenen Dimethylxanthine Theobromin, Theophyllin und Paraxanthin erreichten teilweise deutlich höhere Urinkonzentrationen als Coffein (Abb. 3). Als Hauptmetabolit erzielte Theobromin mittlere Konzentrationsmaxima von 1300-1400  $\mu\text{mol/l}$  und 1000-1100  $\mu\text{mol/l}$  nach intra-

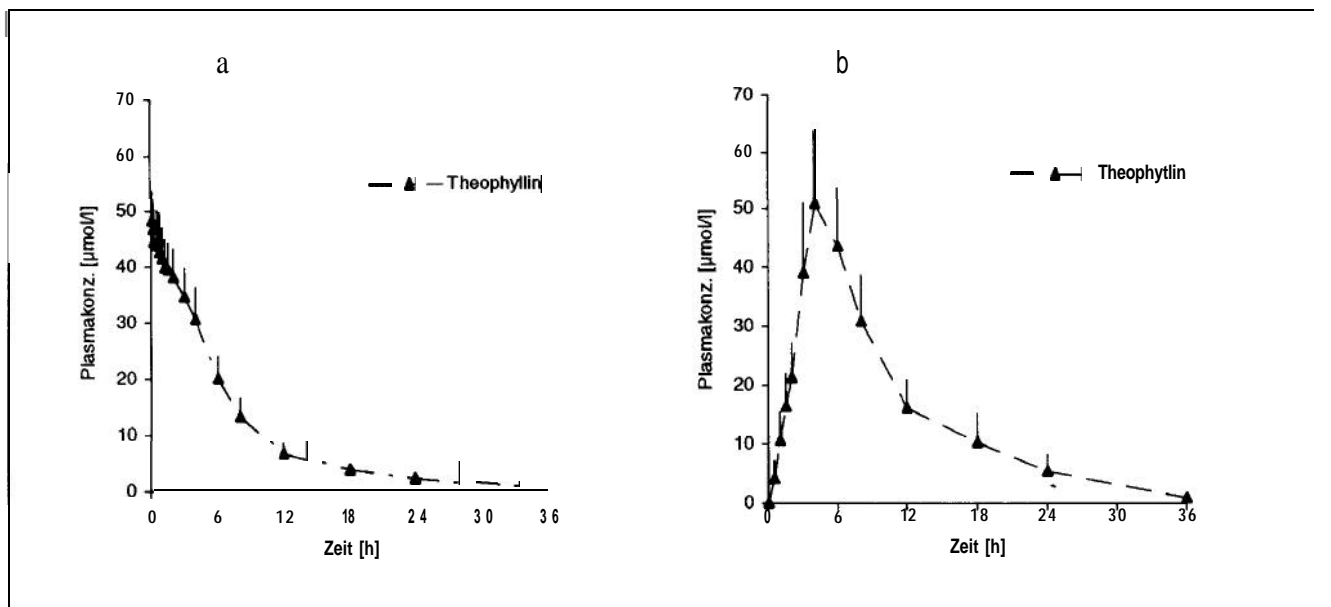


Abb. 5 Theophyllinkonzentrationen im Plasma nach intravenöser (a) und oraler (b) Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 (i. v.) bzw. 10 (p. o.) mg/kg KM (MW + SD, n = 6)

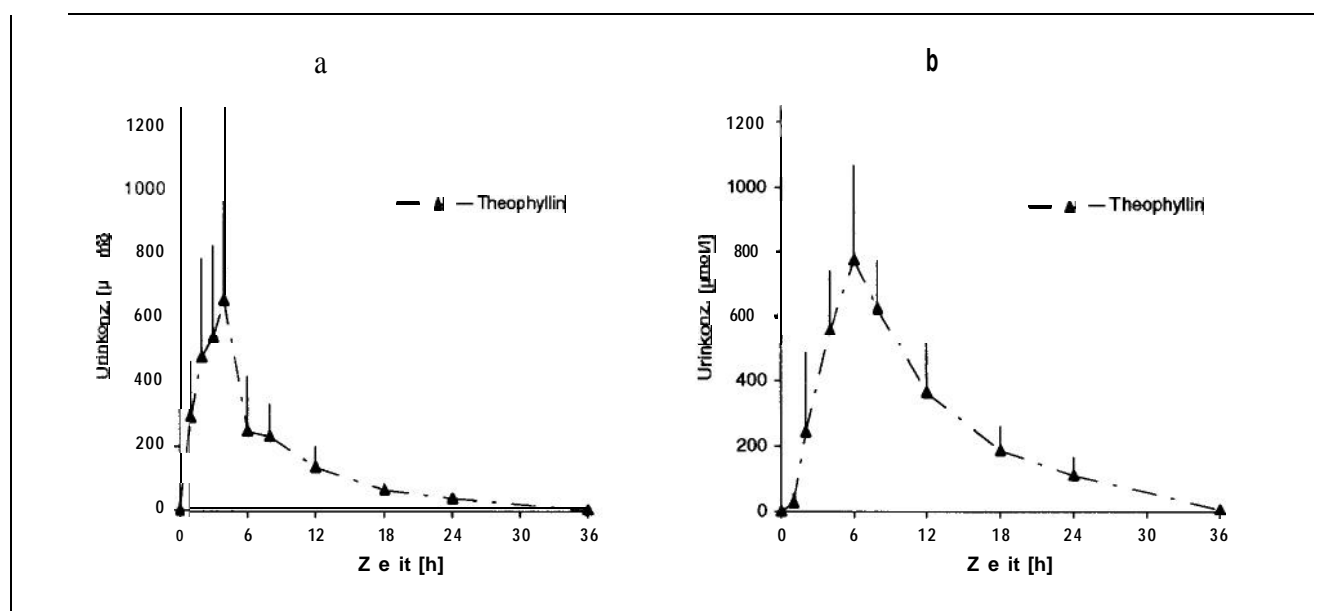


Abb. 6 Theophyllinkonzentrationen im Urin nach intravenöser (a) und oraler (b) Applikation von Theophyllin in einer Dosierung von 5 (i. v.) bzw. 10 (p. o.) mg/kg KM (MW + SD, n = 5)

venöser bzw. oraler Applikation jeweils 12 Stunden Versuchsbeginn. Theophyllin trat 12 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 12 Stunden nach oraler ( $263 \pm 68 \mu\text{mol/l}$ ) und acht Stunden nach intravenöser Applikation ( $324 \pm 185 \mu\text{mol/l}$ ) meßbar (Abb. 3). Abbildung 4 verdeutlicht die einzelnen Anteile der Metaboliten an der renalen Gesamtausscheidung nach intravenöser und oraler Coffeinverabreichung. Nach intravenöser Injektion von *Theophyllin* in einer

nach Dosierung von 5 mg pro kg Körpermasse betrug im Plasma der mittlere Anfangsblutspiegel  $49,3 \pm 7,0 \mu\text{mol/l}$  (Abb. 5a). 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. 5b). 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%. Die höchste Urinkonzentration Theophyllin war sechs Stunden nach oraler Aufnahme ( $700\text{-}800 \mu\text{mol/l}$ ) und vier Stunden nach intravenöser Injektion ( $600\text{-}700 \mu\text{mol/l}$ ) meßbar (Abb. 6).

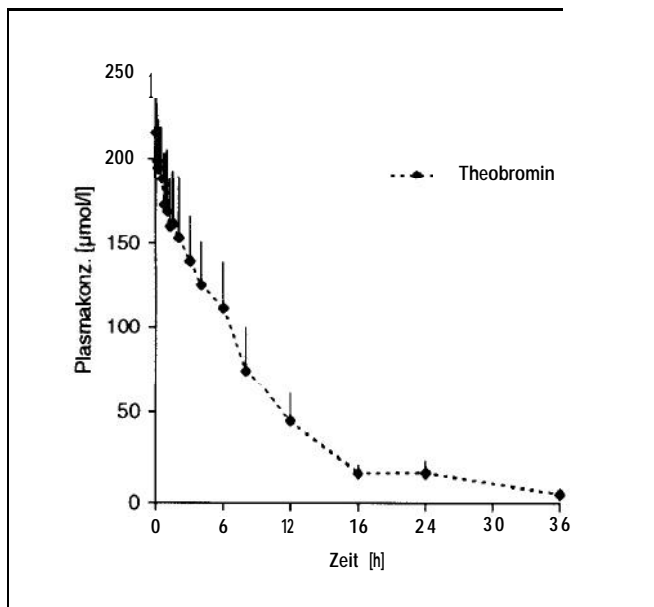


Abb. 7 Theobrominkonzentration im **Plasma** nach intravenöser Applikation einer Theobromininjektionslösung in einer Dosierung von 5 mg/kg KM (MW + SD, n = 6)

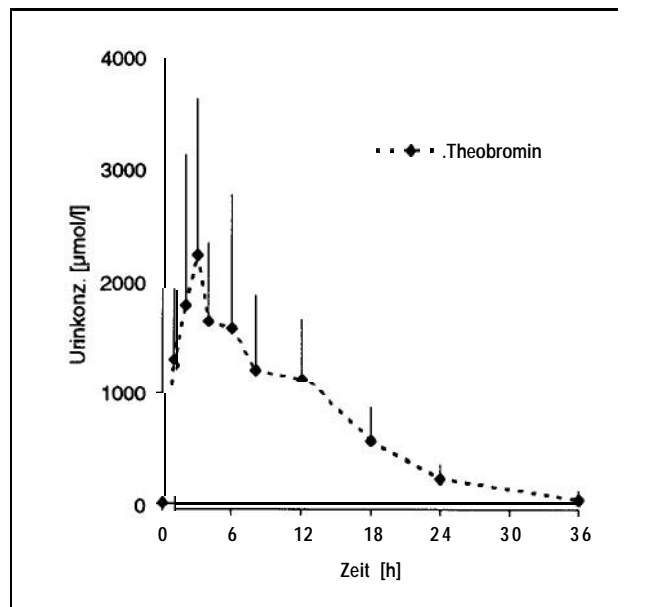


Abb. 8 Theobrominkonzentration im Urin nach intravenöser Applikation einer Theobromininjektionslösung in einer Dosierung von 5 mg/kg KM (MW + SD, n = 5)

*Theobromin* wurde nach intravenöser Applikation (5 mg pro kg Körpermasse) bei der ersten Probenentnahme fünf Minuten nach Injektion in einer Plasmakonzentration von  $232,4 \pm 61,3$  µmol/l nachgewiesen (Abb. 7). Die durchschnittliche Plasmahalbwertszeit betrug  $6,5 \pm 0,6$  Stunden. Im Urin wurde das Konzentrationsmaximum nach durchschnittlich drei Stunden erreicht und lag im Mittel bei 2200-2300 µmol/l (Abb. 8).

## Diskussion

Die Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin werden immer wieder bei Dopinganalysen im Hunde- und Pferdesport nachgewiesen (18, 21, 22). 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, 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 (22).

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob und für welche Dauer nach der Applikation von Fertigarzneimitteln die Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Theobromin in Plasma und Urin nachgewiesen werden können und in welchem Umfang sie aus der oralen Applikationsform bioverfügbar sind. Durch Verwendung der Ballon-Harnkatheter wurde sichergestellt, daß zwischen den Probenahmen kein Urinabsatz stattfand und die Probenzeitpunkte bzw. die dazwischenliegenden Sammelintervalle klar definiert waren.

Die in der vorliegenden Untersuchung ermittelten Halbwertszeiten von Coffein von 4,3 (i. v.) und 3,2 (oral) Stunden liegen in dem Bereich der von Warszawski et al. (23)

nach einmaliger intravenöser Applikation von 50 mg Coffein pro kg Körpermasse ermittelten 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; 12,0 µg/ml) im Plasma nach 1,6 Stunden erreicht. Diese Werte stimmen mit Ergebnissen anderer Untersuchungen überein, in denen nach einer Dosis von 8,6 mg Coffein pro kg Körpermasse maximale Plasmaspiegel von durchschnittlich 10,9 µg/ml nach ein bis zwei Stunden gemessen wurden und sich nach einmaliger Verabreichung eine Halbwertszeit von 4,5 Stunden ergab (19). Nach wiederholter Coffeinapplikation 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 acht Stunden (19) deutlich unter dem in der vorliegenden Untersuchung 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 verabreichten Warszawski et al. (24) Hunden im Alter von zwei bis 35 Tagen [1-methyl-<sup>14</sup>C]Coffein und untersuchten das Verhältnis von Muttersubstanz und seiner wichtigsten Metabolite im Urin. Der Urinabsatz der Tiere, die in einem Stoffwechselkäfig 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 vergleichbar. In einer weiteren Untersuchung wurde vier Greyhounds Coffein in einer Dosierung von 25 mg/kg KM eine Stunde vor einem Rennen oral verabreicht (9). Hierbei konnten nach drei Stunden maximale Urinkonzentrationen von 85 µg/ml nachgewiesen werden. In der vorliegenden Untersuchung wurden nach oraler Einnahme der Coffein-

Tabletten mit einer niedrigeren Dosis von 10 mg/kg KM maximale Urinkonzentrationen an Coffein von 89 µmol/l (17,3 µg/ml) nach sechs Stunden erreicht. Die höheren Harnspiegel in den Untersuchungen von Lambert et al. (9) sind einerseits auf eine 2,5fach höhere Dosis und andererseits auf eine Konzentrierung des Urins als Folge der Anstrengung durch das Rennen und den damit verbundenen Wasserverlust zurückzuführen. Das Gesamturinvolumen wurde von Lambert et al. (9) 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. Hierbei wurde Theobromin in deutlich höheren Konzentrationen mit dem Harn ausgeschieden als Coffein, Theophyllin und Paraxanthin. Die Untersuchungen von Warszawski et al. (24) zeigten große interindividuelle Schwankungen der Metabolitenkonzentrationen, wobei Theobromin nicht erfaßt wurde.

Die Pharmakokinetik von Theophyllin beim Hund wurde bisher nur im Blut untersucht (11, 13, 20), während Daten zur Ausscheidung über den Harn noch fehlen und somit durch die vorliegende Untersuchung erstmals dargestellt werden. Mc Kiernan et al. (11) untersuchten die Pharmakokinetik von Theophyllin nach einmaliger intravenöser und mehrmaliger oraler Applikation (alle sechs Stunden) in einer Dosierung von 9,4 mg/kg KM. Nach intravenöser Injektion wurden anfängliche Plasmakonzentrationen von 13,8 µg/ml bestimmt. In der vorliegenden Untersuchung 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 et al. überein (20), die bei einer Dosierung von 3,6 mg/kg KM initiale Wirkstoffspiegel von 5 µg/ml nachwiesen. Die in der vorliegenden Studie ermittelte 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 (11, 13, 20). Die nach oraler Gabe (10 mg/kg KM) nach 4,8 Stunden ermittelte maximale Plasmakonzentration von Theophyllin mit 42,5 µmol/l (7,7 µg/ml) ist geringfügig niedriger als der von McKiernan et al. (11) nach Gabe von 9,4 mg/kg KM gemessene Wert von 8,4 µg/ml. Allerdings wurde das Plasmamaximum in dieser Studie schon nach 1,5 Stunden erreicht. Diese Verzögerung ist wahrscheinlich durch die Verabreichung eines retardierten Theophyllinpräparates in der vorliegenden Studie bedingt. In einer anderen Untersuchung wurden nach oraler Applikation von Theophyllin in Dosierungen von 8,8 bis 14,9 mg/kg KM maximale Plasmakonzentrationen von 10,3 bis 16,3 µg/ml nach 0,5-3,5 Stunden erreicht (20). 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 bis 7,5 Stunden festgestellt wurden (13, 20).

Theophyllin wurde in der vorliegenden Untersuchung mit dem Harn ausgeschieden. Die möglichen Metabolite konnten, mit Ausnahme des Coffeins, mit der verwendeten Methodik nicht erfaßt werden; ihre Analyse hätte den Rahmen der Studie überschritten.

Studien zur Pharmakokinetik von Theobromin beim Hund sind kaum vorhanden, wahrscheinlich aufgrund der Tatsache, daß Theobromin heute nicht mehr therapeutisch eingesetzt wird. Miller et al. (12) untersuchten den Meta-

bolismus 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. Durch die andere Fragestellung bedingt wurden keine pharmakokinetischen Parameter aus den Plasmawerten bestimmt und aus methodischen Gründen keine Urinkonzentrationen ermittelt. Mit den hier erhaltenen Daten lassen sich grundsätzliche Aussagen zur Ausscheidung von Theobromin machen, das insbesondere 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.

Zusammenfassend erlaubt die vorliegende Untersuchung, die speziell im Hinblick auf die Dopingproblematik durchgeführt wurde, nicht nur die Kinetik von Methylxanthinen im Blut, sondern auch im Urin verlässlich zu verfolgen. Durch Verwendung von Dauer-Harnkathetern konnten die Urinkonzentrationen in den Sammelintervallen genau bestimmt werden, wobei im Urin die Methylxanthine bis zu 36 Stunden und in deutlich höherer Konzentration als im Plasma nachweisbar waren. Anhand des Methylxanthinmusters kann auf das verabreichte Methylxanthin rückgeschlossen werden. Nach Applikation von Coffein treten im Plasma und Urin Theophyllin, Theobromin und Paraxanthin als Metaboliten auf, wobei Theobromin langsamer verstoffwechselt wird und im Urin als Hauptmetabolit ausgeschieden wird. Dagegen ist nach Applikation von Theophyllin und Theobromin in Form von Arzneimitteln weder im Plasma noch im Urin Coffein nachweisbar. Somit kann bei gleichzeitigem Vorhandensein aller genannten Methylxanthine in einer Dopingprobe die Applikation eines Theophyllinpräparates bzw. von Theobromin ausgeschlossen werden. Finden sich im Plasma oder Urin nur Theophyllin oder Theobromin, kann mit der verwendeten Methode geschlossen werden, daß das jeweilige Methylxanthin verabreicht wurde.

In weiteren Studien soll geklärt werden, inwieweit nach der Gabe methylxanthinhaltiger Futtermittel und Getränke bei Hunden dopingrelevante Spiegel dieser Methylxanthine und ihrer Abbauprodukte in Blut und Urin nachgewiesen werden können.

## LITERATUR

1. Aramaki S, Suzuki E, Ishidaka O, Momose A et al. Pharmacokinetics of caffeine and its metabolites in the horse after intravenous, intramuscular and oral administration. *Chem Pharm Bull* 1991; 39: 2999-3002.
2. Arnaud MJ. The pharmacology of caffeine. *Prog Drug Rev* 1987; 31: 273-313.
3. Blanchard J, Sawers SJ, Jonkman JH, Tang-Liu DD. Comparison of the urinary metabolite Profile of caffeine in young and elderly males. *Br J Clin Pharm* 1985; 19: 225-32.
4. Bistner SI, Ford RB. Poisonings. In: Kirk and Bistner's Handbook of Veterinary Procedures and Emergency Treatment. Philadelphia: Saunders 1995; 186-7.
5. Clifford RJ. Caffeine - The potential for its abuse in the racing greyhound. *Vet Rec* 1987; 120: 592-5.
6. Gfeller RW, Messonnier SP, eds. Chocolate (theobromine) and caffeine poisoning. In: *Small Animal Toxicology and Poisonings*. St. Louis: Mosby 1998; 109-13.

7. Grant D, Tang B, Kalow W. Variability in caffeine metabolism. *Clin Pharm Ther* 1983; 33: 591-600.
8. Heinzl G, Woloszczak R, Thomann P, eds. TopFit Version 2.0: Pharmacokinetik and pharmacodynamic data analysis system for the PC. Stuttgart: Fischer 1993.
9. Lambert MBT, Miller J, Evans JA. The estimation of caffeine in the urine of dogs. *Arch Toxicol* 1982; Supplement No 5: 339-44.
10. Löscher W. Zentrale Analeptika. In: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Löscher W, Ungemach FR, Kroker R, Hrsg. Berlin, Hamburg: Parey 1997; 111-3.
11. McKiernan BC, Neff-Davis CA, Koritz GD, Davis LE et al. Pharmacokinetic studies of theophylline in dogs. *J Vet Pharmacol Therap* 1981; 4: 103-10.
12. Miller GE, Radulovic LL, Dewit RH, Brabec MJ et al. Comparative theobromine metabolism in five mammalian species. *Drug Metab Disp* 1984; 12: 154-60.
13. Nosaka H, Takagi K, Hasegawa T, Ogura Y et al. Pharmacokinetics of theophylline in beagle dogs and asthmatic patients after multiple oral doses of sustained-release theophylline tablet formulation. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1986; 24: 528-35.
14. Serafin WE. Methylxanthines. In: *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW et al., eds. New York: Mc Graw-Hill 1995; 672-8.
15. Strachan ER, Bennett A. Theobromine poisoning in dogs. *Vet Rec* 1994; 134: 284.
16. Sutton RH. Cocoa poisoning in a dog. *Vet Rec* 1981; 109: 563-5.
17. Tang-Liu DD, Riegelman S. Metabolism of theophylline to caffeine in adults. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1981; 34: 371-80.
18. Tobin T. *Drugs and the Performance horse*. Springfield: Thomas 1981; 194-8.
19. Tse FLS, Valia KH. Plasma theobromine after oral administration of caffeine to dogs. *J Pharm Sci* 1981; 70: 579-80.
20. Tse FLS, Szeto DW. Theophylline bioavailability in the dog. *J Pharm Sci* 1982; 71: 1301-3.
21. Ungemach FR. Dopingkontrolle bei Rennpferden. *Tierärztl Prax* 1985; 13: 35-53.
22. Ungemach FR, Nürnberger MC. Doping im Pferdesport. In: *Pferdekrankheiten*. Dietz O, Huskamp B, Hrsg. Stuttgart: Enke 1999; 65-80.
23. Warszawski D, Gorodischer R, Moses SW, Bark H. Caffeine pharmacokinetics in young and adult dogs. *Biol Neonate* 1977; 32: 138-42.
24. Warszawski D, Ben-Zvi Z, Gorodischer R, Arnaud MJ et al. Urinary metabolites of caffeine in young dogs. *Drug Metabol Disp* 1982; 10: 424-8.

Bernd Loeffler  
 Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie  
 Veterinärmedizinische Fakultät  
 der Universität Leipzig  
 An den Tierkliniken 15  
 D-04103 Leipzig

## REFERAT FÜR DIE PRAXIS

### Lomustin (CCNU) zur Behandlung resistenter Lymphome beim Hund

Moore AS, London CA, Wood CA, Williams LE, Cotter SM, L'heureux DA, Frimberger AE. Lomustine (CCNU) for the treatment of resistant lymphoma in dogs. *J Vet Intern Med* 1999; 13: 395-8.

Die Autoren behandelten 43 Hunde mit Lymphomen, die durch frühere Behandlungen mit Chemotherapeutika zunächst eine vollständige Remission erlebten, dann aber einen Rückschlag erlitten, sowie zwei Hunde, die nach Behandlung mit 9-Aminocamptothecin oder Prednisolon, und einen Hund, der nach kombinierter Chemotherapie nur eine unvollständige Remission zeigte, mit 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-Nitrosoharnstoff (CCNU). Die Dosis betrug zunächst 100 mg/m<sup>2</sup> KOF per os alle drei Wochen bei sechs Hunden. Da diese Tiere eine massive

Neutropenie entwickelten, wurde die Dosis bei den restlichen 37 Hunden auf 90 mg/m<sup>2</sup> KOF, davon bei einem schließlich auf 80 mg/m<sup>2</sup> KOF reduziert. Bei zwei der 43 Hunde konnte kein Erfolg festgestellt werden, bei drei Hunden wurde eine vollständige Remission erzielt, bei acht eine partielle, bei 14 blieb die Krankheit stabil, wovon vier eine kurzzeitige Reduktion des Tumorumfanges um mehr als 50% zeigten, und bei 16 Hunden schritt das Lymphom fort. Nebenwirkungen traten besonders in Form von Neutropenie und Thrombozytopenie auf, während Fieber, Symptome von **seiten** des zentralen Nervensystems oder der Nieren selten waren. Die Autoren halten die Behandlung mit CCNU für wirkungsvoll bei Hunden, die nach einer vorausgegangenen Chemotherapie einen Rückschlag erleiden.

W. Kraft, München