

12. EVERSON, G., E. WHEELER, H. WALKER, W. D. CAULFIELD, J. Nutrit. **35**, 209 (1948). — 13. GASSMANN, B., B. LEXOW, D. EHET, Biochem. Ztschr. **332**, 449 (1960). — 14. GASSMANN, B., H. HAENEL, H.-A. KETZ, Med. u. Ernährung **5**, 217 (1964). — 15. GASSMANN, B., H. HAENEL, H.-A. KETZ, M. ZOBEL, Ernährungswiss. **5**, 7 (1964). — 16. GASSMANN, B., H. HAENEL, H.-A. KETZ, M. ZOBEL, Ernährungswiss. **5**, 7 (1964). — 17. GASSMANN, B., H.-A. KETZ, Biochem. Z. **334**, 245 (1961). — 18. GEISSBERGER, W., Z. exper. Med. **119**, 111 (1952). — 19. GRAB, W. in H. M. RAUEN, Biochem. Taschenbuch 790 (Berlin-Heidelberg-New York 1960). — 20. HEINRICH, H. C., Med. Welt **762** (1963). — 21. HÖTZEL, D., Schriftenreihe des Inst. f. Ernährungswissenschaft Gießen, Heft V (Hamburg 1962). — 22. HOLLMANN, S., U. HERLYN, Klin. Wschr. **40**, 98 (1962). — 23. KASPER, H., D. HÖTZEL, Z. Ernährungswiss. **4**, 34 (1963). — 24. Kasper, H., Z. Versuchstierk. **1**, 104 (1961). — 25. KAUFMANN, H. P., H. DRANSFELD, Fette, Seifen, Anstrichmittel **62**, 265 (1960). — 26. KWONG, E., G. FIALA, R. H. BARNES, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **109**, 776 (1962). — 27. LASCH, F., D. RENNER, Wien. klin. Wschr. **69**, 355 (1957). — 28. LASCH, F. W., Münch. med. Wschr. **97**, 798 (1955). — 29. LEVITAN, R., J. S. FORDTRAN, B. A. BURROWS, F. J. INGELFINGER, J. Clin. Invest. **41**, 1754 (1962). — 30. LEVITAN, R., V. BIHERMAN, B. A. BURROWS, F. J. INGELFINGER, J. Lab. Clin. Med. **62**, 639 (1963). — 31. LINNEWEH, F., P. MÜLLER, Mschr. Kinderheilk. **84**, 285 (1940). — 32. MIDDLETON, E. J., H. C. GRICE, Canad. J. Biochem. **42**, 353 (1964). — 33. NAJJAR, V. A., L. E. HOLT, J. Amer. Med. Ass. **123**, 683 (1943). — 34. PEPPLER, E., B. MÜLLER, H. D. CREMER, J. Nutrit. **71**, 91 (1960). — 35. RHODAS, J. E., A. STENGEL, C. RIEGEL, F. A. CAJORI, W. D. FRAZIER, Amer. J. Physiol. **125**, 707 (1939). — 36. RIECHERT, W., Krankenhausarzt **55**, 17 (1955). — 37. SCHANKER, L. S., J. Med. Pharm. Chem. **2**, 343 (1960). — 38. SCHMANDKE, H., Internat. Z. Vitaminforschg. **34**, 186 (1964). — 39. SCHRÖDER, H., K. LIEBICH, Dtsch. Z. Verdgs. u. Stoffwechselkrankheiten **1**, 201 (1939). — 40. SCHWARTZER, K., H. REINHARDT, Med. Klinik **35**, 817 (1939). — 41. SCHÜSSEL, H., L. SUNDER-PLASMANN, Klin. Wschr. **31**, 545 (1953). — 42. SELYE, H., J. Nutrit. **25**, 137 (1943). — 43. SHAMMA'A, M. H., U. AL-KHALIDI, Amer. J. Physiol. **207**, 33 (1964). — 44. TORNACK, J. A., Klin. Wschr. **17**, 1400 (1958). — 45. TURNER, D. A., Amer. J. Digest. Dis. **3**, 594 (1958). — 46. WINKLER, G., Med. Welt **283** (1963). — 47. WIRTS, C. W., F. GOLDMANN, F. R. CALARESU, S. KRAMER, J. CONCANNON, World Congress of Gastroenterol. I, 451 (1958). — 48. WOLF, H., Internat. Z. Vitaminforschg. **28**, 281 (1957).

Anschrift des Verfassers:

Dr. med. H. KASPER, 63 Giessen, Inst. f. Ernährungswissenschaft

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz

Die biologische Verträglichkeit von Cafestol im Eiertest

Von W. GRIEM und K. LANG

Mit 2 Abbildungen und 8 Tabellen

(Eingegangen am 27. April 1965)

Nach den Angaben von KAUFMANN und HAMSAGAR (1962) beträgt der Mittelwert des Fettanteils beim Rohkaffee 14% und beim gerösteten Kaffee 15%. Die hauptsächlich vorkommenden Fettsäuren im Rohkaffee sind nach ECKEY und MILLER (1954) die Linolsäure (35,8%), die Palmitinsäure (28,2%), die Ölsäure (17,3%) und die Stearinsäure (12,7%). Auch im eigenen Institut hat FRICKER (1964) die Fettsäurezusammensetzung von Rohkaffee untersucht. Die Probe enthielt 39,5% Linolsäure, 30,0% Palmitinsäure, 10,8% Ölsäure, 10,3%

Stearinsäure, 9,6% Palmitolsäure und Spuren von Linolensäure. Man findet also im Kaffeeöl dieselben Fettsäuren, die auch in den üblichen Speiseölen enthalten sind. Jedoch ist der Gehalt an Unverseifbaren, der durchschnittlich etwa 11% des Gewichtes ausmacht, beim Kaffeeöl gegenüber den Speiseölen ungewöhnlich hoch. Als unverseifbare Substanzen findet man die Phytosterine γ -Sitosterin, Dehydrositosterin und Stigmasterin, ferner zwei Sterine, die bisher nur in tierischen Fetten, in Pilzen und anderen Mikroorganismen nachgewiesen worden waren, das Lanosterin und das Dehydrolanosterin, das von KAUFMANN und SEN GUPTA (1964) konstitutionsmäßig aufgeklärte Cofeasterin

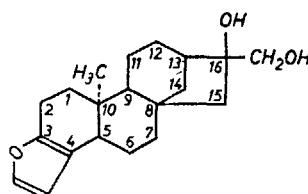


Abb. 1. Konstitutionsformel des Cafestols

sowie die Diterpene Kahweol und Cafestol. Das letztere, das früher auch als Cofesterol bzw. Coffeol bezeichnet wurde, hat die Formel C₂₀H₂₈O₃. Die endgültige Konstitutionsformel des Cafestols ist von DJERASSI und Mitarb. (1953–60) und von HAWORTH und Mitarb. (1954–57) aufgeklärt worden (Abb. 1). Das Unverseifbare liegt im Kaffeeöl hauptsächlich mit Fettsäuren verestert vor. Die Zusammensetzung des Kaffeeöles beträgt nach KAUFMANN und HAMSAGAR 1,45% Phytosterinester, 75,2% Triglyceride, 18,5% Cafestol- bzw. Kahweol-Fettsäuremonoester, 1,2% freies Cafestol bzw. Kahweol, 4,2% Phosphatide und nicht identifizierte Stoffe.

Bei den bisher in unserem Institut durchgeföhrten Untersuchungen über die Verträglichkeit des Kaffeeöles beschäftigten wir uns mit biologischen, physiologischen und pathologischen Fragen (LANG 1965, KIECKEBUSCH, CZOK, FRICKER und GRIEM 1964). Wir fanden bei den Ratten nach der Verfütterung von Kaffeeöl eine Wachstumshemmung und Herabsetzung der Proteinefficiency, eine Erhöhung der absoluten Wasseraufnahme, eine Beeinträchtigung der Leberfunktion, eine Senkung der Körpertemperatur, eine gesteigerte zentrale Erregbarkeit, eine geringgradige bis hochgradige Einzelzellverfettung der Leber und eine hochgradige Atrophie der Testes. Diese Untersuchungsergebnisse zeigen, daß im Kaffeeöl schädliche Substanzen enthalten sind. Zwar spielen diese Substanzen beim Trinken von Kaffee keine Rolle, weil die zugeführten Lipidmengen in einer Tasse Kaffee zu gering sind. Beschäftigt man sich jedoch mit der Frage, ob das Kaffeeöl ernährungsphysiologisch ausgenutzt werden kann, so ist die Aufklärung der schädlichen Substanzen von Bedeutung. Da wir annehmen, daß das Unverseifbare für die schädliche Wirkung des Kaffeeöles in erster Linie verantwortlich zu machen ist, interessierte uns zuerst die toxikologische Eigenschaft des Cafestols im Eiertest, da dieses in großen Mengen in dem Unverseifbaren des Rohkaffeeöles gefunden wird. Über die praktische Durchführung des Eiertestes zur Prüfung der biologischen Verträglichkeit von Substanzen berichten wir später. In dieser Arbeit werden wir die in unserem Institut von GRIEM durchgeföhrte Beimpfung der Eier und die Er-

gebnisse der Vorversuche bekanntgeben, für die über 4000 Eier beimpft bzw. ausgezählt worden sind. Diese grundlegenden Untersuchungen, die bisher von anderen Autoren bei der Beimpfung von Bruteiern unberücksichtigt geblieben sind, ermöglichen es uns, jederzeit reproduzierbare Ergebnisse mit dem Eiertest zu liefern. Die statistischen Auswertungen der Ergebnisse erfolgen nach der Logit-Berechnung (BERKSON, KOLLER).

Für die Prüfung der biologischen Verträglichkeit von Cafestol, einer nicht in Wasser löslichen Substanz, nahmen wir als Lösungsmittel Olivenöl. Da auch dieses Öl im Eiertest mit steigender Dosierung zunehmende Absterbequoten aufweist, wurden zuerst in einem Vorversuch die Absterbequoten für Olivenöl im Eiertest bestimmt. Das Olivenöl bezogen wir aus einer Apotheke. In den einzelnen Dosierungsgruppen beimpften wir sowohl bei dem Olivenölversuch als auch bei den Cafestolversuchen je 10 Eier intravitellär am 6. Bebrütungstage. Die wahren und die durch die Logit-Rechnung errechneten theoretischen Absterbequoten für Olivenöl gibt die Tab. 1a und die χ^2 -Berechnung die Tab. 1b wieder.

Tabelle 1a

Die wahren Absterbequoten und die mit Hilfe der Regressionsgleichung $y_R = -0,6706 + 0,6724 \cdot x$ ermittelten theoretischen Logits und deren Umrechnung in theoretisch zu erwartende Absterbequoten für Olivenöl

Dosis pro kg-Ei in ml	$x_i = \log$ der Dosis	$p_i =$ Absterberaten in %	$y_i = \log \frac{p_i}{1-p_i}$	$p_{Ri} =$ theoretische Absterberaten in %
0,5	-0,3010	20	0,1270-1	12
1,0	-	10	0,3294-1	18
2,0	0,3010	20	0,5318-1	25
4,0	0,6021	20	0,7343-1	35
8,0	0,9031	60	0,9366-1	46

$$LD_{50} = 0,9973 \leqq 9,94 \text{ ml} \leqq 9,11 \text{ g}$$

$$p_o = 1,3818 \leqq 24,1 \text{ ml} \leqq 64\%$$

$$p_u = 0,6128 \leqq 4,1 \text{ ml} \leqq 36\%$$

Tabelle 1b
Unabhängigkeitsprüfung nach dem χ^2 -Verfahren für Olivenöl

Dosis	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	Summe
Abgestorbene Eier	a 2	1	2	2	6	13
	b 2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	
	c -0,6	-1,6	-0,6	-0,6	3,4	
	d 0,14	0,98	0,14	0,14	4,45	
Entwickelte Kücken	a 8	9	8	8	4	37
	b 7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	
	c 0,6	1,6	0,6	0,6	-3,4	
	d 0,047	0,35	0,047	0,047	1,56	
Summe	a 10	10	10	10	10	50
Summe	d 0,187	1,33	0,187	0,187	6,01	7,901

$$p < 10\%$$

Die Unterschiede der Absterbequoten bei den einzelnen Dosierungseinheiten werden auf Grund der Summe von $\chi^2 = 7,901$ als statistisch auffällig angenommen.

Tabelle 2a

Die wahren Absterbequoten und die mit Hilfe der Regressionsgleichung $y_R = -1,6515 + 3,2248 \cdot x$ ermittelten theoretischen Logits und deren Umrechnung in theoretisch zu erwartende Absterbequoten für in Olivenöl gelöstes Cafestol (Versuch I)

Dosis pro kg-Ei in ml	$x_i = \log$ der Dosis	$p_i =$ Absterberaten in %	$y_i = \log \frac{p_i}{1-p_i}$	$p_{Ri} =$ theoretische Absterberaten in %
2,5	0,3979	30	0,6316-1	30
5,0	0,6990	80	0,6026	80
10,0	1,0000	100	2,6232	
20,0	1,3010	100	4,2636	
40,0	1,6021	100	5,9045	

$$LD_{50} = 0,5121 \triangleq 3,25 \text{ mg}$$

$$p_o = 0,5791 \triangleq 3,79 \text{ mg} \triangleq 62\%$$

$$p_u = 0,4451 \triangleq 2,79 \text{ mg} \triangleq 38\%$$

Tabelle 2b

Unabhängigkeitstestsprüfung nach dem χ^2 -Verfahren für Cafestol
(Versuch I)

Dosis	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0	Summe
Abgezorbene Eier	3	8	8	10	10	41
	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	
	-5,2	-0,2	1,8	1,8	1,8	
	3,3	0,005	0,40	0,40	0,40	
Entwickelte Kücken	7	2	0	0	0	9
	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	
	5,2	0,2	-1,8	-1,8	-1,8	
	15,0	0,022	1,8	1,8	1,8	
Summe	a	10	10	10	10	50
Summe	d	18,3	0,027	2,2	2,2	24,927

$$p < 5\%$$

Die Unterschiede der Absterbequoten bei den einzelnen Dosierungseinheiten sind auf Grund der Summe von $\chi^2 = 24,927$ statistisch gesichert.

Tabelle 3a

Die wahren Absterbequoten und die mit Hilfe der Regressionsgleichung $y_R = -1,0866 + 2,5167 \cdot x$ ermittelten theoretischen Logits und deren Umrechnung in theoretisch zu erwartende Absterbequoten für in Olivenöl gelöstes Cafestol (Versuch II)

Dosis pro kg-Ei in ml	$x_i = \log$ der Dosis	$p_i =$ Absterberaten in %	$y_i = \log \frac{p_i}{1-p_i}$	$p_{Ri} =$ theoretische Absterberaten in %
1,25	0,0969	10	0,1573-1	13
2,5	0,3979	50	0,9148-1	45
5,0	0,6990	80	0,6726	83
10,0	1,0000	100	1,4301	97
20,0	1,3010	100	2,1876	—

$$LD_{50} = 0,4317 \triangleq 2,70 \text{ mg}$$

$$p_o = 0,5092 \triangleq 3,25 \text{ mg} \triangleq 60\%$$

$$p_u = 0,3542 \triangleq 2,26 \text{ mg} \triangleq 40\%$$

Tabelle 3b
 Unabhängigkeitstestsprüfung nach dem χ^2 -Verfahren für Cafestol
 (Versuch II)

Dosis	1,25	2,5	5,0	10,0	20,0	Summe
Abgestorbene Eier	a 1	5	8	10	10	34
	b 6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	
	c -5,8	-1,8	1,2	3,2	3,2	
	d 4,95	0,48	0,2	1,51	1,51	
Entwickelte Kücken	a 9	5	2	0	0	16
	b 3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	
	c 5,8	1,8	-1,2	-3,2	-3,2	
	d 10,51	1,01	0,45	3,2	3,2	
Summe	a 10	10	10	10	10	50
Summe	d 15,46	1,49	0,65	4,61	4,61	26,82

$p < 5\%$

Die Unterschiede der Absterbequoten bei den einzelnen Dosierungseinheiten sind auf Grund der Summe von $\chi^2 = 26,82$ statistisch gesichert.

Mit dem Cafestol wurden zwei unterschiedliche Versuche angesetzt. Im Cafestol-Versuch I wurden die verschiedenen Dosen in mg so gewählt, daß in jedes Ei 0,1 ml Olivenöl mit der entsprechenden Menge Cafestol in das Brutei injiziert werden konnte. Für den Cafestol-Versuch II war die injizierte Dosis des Cafestols für das einzelne Brutei in 0,05 ml Olivenöl enthalten. Die Werte für diese beiden Versuche, deren Absterbequoten sich aus der schädigenden Wirkung des Olivenöls und des Cafestols zusammensetzen, sind aus den Tab. 2a und b und 3a und b zu entnehmen. Die Abb. 2 gibt eine graphische Übersicht der theoretisch errechneten Absterbequoten der Versuche wieder.

Tabelle 4
 Werte der Absterbequoten für Cafestols nach Abzug der errechneten Absterbequoten für 1,0 und 2,0 ml Olivenöl

Cafestol-Versuch I

$$\begin{array}{rcl} y_1 0,6317 - 1 + (-0,4771) & = & 0,1545 - 1 = 13\% \\ y_2 0,6026 - 0,4771 & = & 0,1255 = 57\% \end{array}$$

Cafestol-Versuch II

$$\begin{array}{rcl} y_1 0,1573 - 1 + (-0,3273) & = & 0,8300 - 2 = 6\% \\ y_2 0,9148 - 1 + (-0,3273) & = & 0,5875 - 1 = 28\% \\ y_3 0,6726 - 0,3273 & = & 0,3453 = 69\% \\ y_4 1,4301 - 0,3273 & = & 1,1028 = 93\% \end{array}$$

Um die Frage der biologischen Verträglichkeit des Cafestols allein beantworteten zu können, müssen wir, um die LD₅₀ pro kg-Brutei für das Cafestol allein berechnen zu können, die Hypothese aufstellen, daß das Olivenöl für das Cafestol ein indifferentes Lösungsmittel darstellt, d. h. daß beide Substanzen keine chemischen Verbindungen miteinander eingehen, die zusätzlich eine Schädigung der embryonalen Entwicklung hervorrufen. Nach dieser Voraus-

setzung können wir die durchschnittlichen Absterbequoten des Olivenöles für die Dosen 1,0 ml und 2,0 ml/kg-Ei, die 18% bzw. 25% betragen, von den errechneten Absterbequoten bei den beiden Cafestol-Versuchen subtrahieren bzw. addieren. Diese unterschiedliche Berechnung ergibt sich aus der Tatsache, daß bei der statistischen Logit-Berechnung der Null-Wert der Absterbequoten bei 50% liegt. Die Absterbequoten des Lösungsmittels erhalten oberhalb des Null-Wertes ein positives Vorzeichen. Dieses ist jedoch unterhalb der 50%-Grenze, also unterhalb des Null-Wertes, als negativ zu setzen.

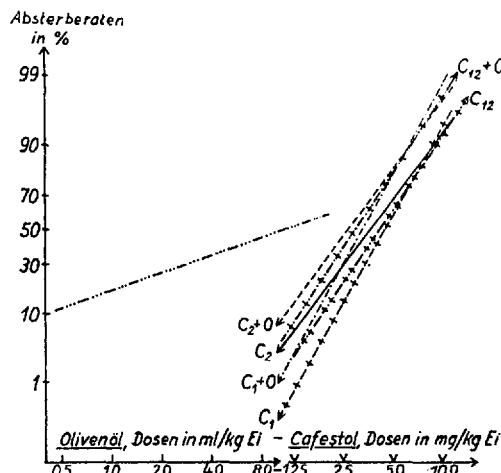


Abb. 2. Graphische Darstellungen der Absterbequoten von Olivenöl und Cafestol

Zeichenerklärung:

-----	= Olivenöl
- - - - -	= Cafestol in Olivenöl gelöst ($C_1 + O$)
- + - + -	= Cafestol nach Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles (C_1)
- - - - -	= Cafestol in Olivenöl gelöst ($C_2 + O$)
—————	= Cafestol nach Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles (C_2)
- + - + - -	= Cafestol in Olivenöl gelöst ($C_{12} + O$)
- + - + - + -	= Cafestol nach Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles (C_{12})

Mit diesen Werten kann die schädigende Wirkung des Cafestols allein im Eiertest ermittelt werden (Tab. 5 und 6). Wir müssen also die Absterbequote des Lösungsmittels von den Absterbequoten der Substanz + Lösungsmittel subtrahieren bzw. addieren. Liegen die letzteren Werte oberhalb von 50%, so haben sie einen positiven Logarithmus, und die Absterbequoten von 18% bzw. 25% müssen von diesem Wert subtrahiert werden, da die tatsächlichen Absterbequoten bei der alleinigen Anwendung der Substanz geringer wären. Dagegen müssen die Absterbequoten des Lösungsmittels zu den unterhalb der 50%-Grenze liegenden Werten der Absterbequoten der Substanz + Lösungsmittel addiert werden, um die neu zu berechnenden Absterberaten zu verkleinern. Ferner darf nicht vergessen werden, daß bei der Logit-Skala nur die Absterbequote von 50% als fixer Punkt angesehen werden darf. Geht man von diesem Punkt aus und addiert bzw. subtrahiert die Absterbequote von 18%, so erhält man die Prozentwerte von 68% bzw. 32%. Diese haben den logarithmischen Wert von +0,3272 bzw. -0,3272. Durch diese Berechnungen erhält

man Absterbequoten, die allein auf die schädigende Wirkung des Cafestols zurückzuführen sind. Mit den so berechneten Absterbequoten kann dann eine neue Logit-Berechnung durchgeführt werden, und man erhält auf diesem Wege die LD₅₀ des Cafestols im Eiertest (Tab. 5 und 6).

Tabelle 5

Die nach Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles erhaltenen wahren Absterbequoten und die mit Hilfe der Regressionsgleichung $y_R = -2,0780 + 3,1481 \cdot x$ ermittelten theoretischen Logits und deren Umrechnung in theoretisch zu erwartende Absterbequoten ohne die schädigende Wirkung von Olivenöl für Cafestol (Versuch I)

Dosis pro kg-Ei in ml	$x_i = \log$ der Dosis	$p_i =$ Absterberaten in %	$y_i = \log \frac{p_i}{1-p_i}$	$p_{Ri} =$ theoretische Absterberaten in %
2,5	0,3979	13	0,1746-1	13
5,0	0,6990	57	0,1225	57

$$LD_{50} = 0,6601 \leqq 4,56 \text{ mg}$$

$$p_o = 0,7388 \leqq 5,48 \text{ mg} \leqq 63\%$$

$$p_u = 0,5814 \leqq 3,81 \text{ mg} \leqq 37\%$$

Tabelle 6

Die nach Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles erhaltenen wahren Absterbequoten und die mit Hilfe der Regressionsgleichung $y_R = -1,4239 + 2,5658 \cdot x$ ermittelten theoretischen Logits und deren Umrechnung in theoretisch zu erwartende Absterbequoten ohne die schädigende Wirkung von Olivenöl für Cafestol (Versuch II)

Dosis pro kg-Ei in ml	$x_i = \log$ der Dosis	$p_i =$ Absterberaten in %	$y_i = \log \frac{p_i}{1-p_i}$	$p_{Ri} =$ theoretische Absterberaten in %
1,25	0,0969	6	0,8238-2	6
2,5	0,3979	28	0,5931-1	28
5,0	0,6990	69	0,3626	70
10,0	1,0000	93	1,1319	93

$$LD_{50} = 0,5571 \leqq 3,61 \text{ mg}$$

$$p_o = 0,6304 \leqq 4,27 \text{ mg} \leqq 61\%$$

$$p_u = 0,4832 \leqq 3,04 \text{ mg} \leqq 39\%$$

Um eine durchschnittliche LD₅₀ für das Cafestol zu berechnen, haben wir ferner beide Cafestolversuche zusammengezogen, da die beiden Versuche sich lediglich durch die Menge des injizierten Lösungsmittels unterscheiden, während bei beiden Versuchen mit den gleichen Cafestoldosen gearbeitet wurde. Die Absterbequoten müssen in diesem Falle natürlich auch addiert und durch 2 dividiert werden. Da die wahren Absterbequoten in beiden Cafestolversuchen für 2,5 mg und für 5,0 mg Cafestol/kg-Ei mit 30% und 80% bzw. mit 50% und 80% sich fast decken, dürfte gegen diesen Schritt nichts einzuwenden sein. Man erhält so die durchschnittlichen Absterbequoten von 40% für 2,5 mg/kg-Ei und von 80% für 5,0 mg/kg-Ei. Mit diesen Werten ist dann die durchschnittliche LD₅₀ für das Cafestol im Eiertest pro kg-Ei durch die Logit-Rechnung leicht zu ermitteln. Nach Abzug der durchschnittlichen Absterbequoten von 21% für das Olivenöl kann nach dem gleichen Schema die durchschnittliche LD₅₀ für das Cafestol allein berechnet werden (Tab. 7 und 8). Eine graphische Übersicht über die verschiedenen Untersuchungsergebnisse gibt die Abb. 2 wieder.

Besprechung der Ergebnisse

Aus den Untersuchungsergebnissen ist zu entnehmen, daß das als Lösungsmittel benutzte Olivenöl ein relativ gut verträgliches Öl ist. Dies ist auch aus dem flachen Kurvenverlauf der theoretischen Absterbequoten ersichtlich (Abb. 2), und auch die LD₅₀ des Olivenöles, die auf Grund der Absterbequoten bei 9,94 ml liegt, spiegelt die gute Verträglichkeit des Öles wider. Das spezifische Gewicht des Olivenöles schwankt nach IVANOW zwischen 0,914 und 0,919 g/cm³. Berechnet man mit diesen Angaben die mittlere letale Dosis nach dem Gewicht, so hat das Olivenöl eine LD₅₀ von 9,11 g/kg-Ei. Dagegen liegen bei den beiden Cafestol-Versuchen (C₁ + 0 und C₂ + 0) die Absterbequoten höher als bei dem Olivenölversuch. Dies hat zur Folge, daß die beiden Kurven einen steileren Anstieg aufweisen als die Kurve der Absterbequoten des Olivenöles. Auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse kann man sagen, daß das Cafestol für das Brutei schädigend ist. Für das Cafestol in 1,0 ml/kg-Ei bzw. 2,0 ml/kg-Ei Olivenöl gelöst liegt die LD₅₀ bei 2,7 mg (C₂ + 0) bzw. 3,3 mg (C₁ + 0) pro kg-Brutei. Die durchschnittliche LD₅₀ für das in Olivenöl gelöste Cafestol liegt bei 2,92 mg/kg-Ei (C₁₂ + 0). Durch den Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles erhöht sich die LD₅₀ des Cafestols, da die Substanz bei dieser theoretischen Annahme nur noch allein schädigend auf das Brutei einwirkt. In dem Cafestol-Versuch I errechnet sich für die LD₅₀ auf diesem Wege ein Wert von 4,56 mg/kg-Ei, im Versuch II liegt die LD₅₀ bei 3,61 mg/kg-Ei, und für beide Versuche liegt die durchschnittliche LD₅₀ bei 4,15 mg/kg-Ei. Dieser Wert ist nach unseren bisherigen Erfahrungen für die mittlere letale Dosis einer Substanz als sehr gering anzusehen, denn im Vergleich hat das Olivenöl eine LD₅₀ von 9,11 g/kg-Ei.

Zum Schluß möchte ich noch sagen, daß der Abzug der schädigenden Wirkung eines Lösungsmittels für toxikologische Untersuchungen neu ist. Da jedoch auch Lösungsmittel eine schädigende Wirkung aufweisen, sollte man nach meiner Meinung diesen Faktor nicht unberücksichtigt lassen. Im Säugetierversuch löst man eine Substanz in Aqua dest. auf und bestimmt auf diesem Wege die LD₅₀ der Substanz, obwohl man weiß, daß auch destilliertes Wasser eine schädigende Wirkung auf den Organismus ausübt. Zwar kann man beim Säugetier die Schädigung, die durch das Aqua dest. ausgelöst wird, unberücksichtigt lassen, weil die geringe Menge z. B. bei einer intravenösen Injektion vom Puffersystem des Blutes ausgeglichen wird und die Versuchstiere bei intravenösen Injektionen geringer Mengen von Aqua dest. keine klinisch erkennbaren Krankheitssymptome zeigen. Da diese stabilen Verhältnisse beim Brutei im Gegensatz zum Säugetier jedoch nicht vorliegen, darf im Eiertest die schädigende Wirkung des Lösungsmittels nicht unberücksichtigt bleiben. Man muß sich natürlich darüber im klaren sein, daß man durch diese Berechnungen einen theoretischen Wert erhält, da eine Applikation einer Substanz in das Brutei nur mit einem Lösungsmittel in der Praxis vorgenommen werden kann. Die Berechnung ist aber im Eiertest notwendig, weil das Brutei viel empfindlicher ist als ein Säugetierorganismus und schon auf kleinste Reize reagiert. Dies hat den großen Vorteil, daß im Eiertest auch gut verträgliche Substanzen auf ihre biologische Verträglichkeit zu testen sind, bei denen im Säugetierversuch keine statistisch signifikanten Reaktionen mehr zu erzielen sind.

Gegen den Abzug der schädigenden Wirkung des Lösungsmittels wird man noch einwenden, daß im Eiertest mit so geringen Mengen des Lösungsmittels

gearbeitet werden muß, daß durch das Lösungsmittel allein keine Absterbequoten erzielt werden können. Dieser Einwand läßt sich in der Praxis jedoch leicht entkräften. Es kann nämlich möglich sein, daß eine Substanz schlecht löslich ist, so daß größere Mengen eines Lösungsmittels zur Lösung der Substanz erforderlich sind. Ferner ist es dem Experimentator nicht möglich, bei zu kleinen Mengen des Lösungsmittels für die Einhaltung genauer Dosen zu garantieren.

Tabelle 7

Die wahren Absterbequoten und die mit Hilfe der Regressionsgleichung $y_R = -1,2057 + 2,5871 \cdot x$ ermittelten theoretischen Logits und deren Umrechnung in theoretisch zu erwartende Absterbequoten für Cafestol (Versuch I + II)

Dosis pro kg-Ei in ml	$x_i = \log$ der Dosis	$p_i =$ Absterberaten in %	$y_i = \log \frac{p_i}{1-p_i}$	$p_{R_i} =$ theoretische Absterberaten in %
2,5	0,3979	40	-0,1760	40
5,0	0,6990	80	0,6026	80

$$LD_{50} = 0,4660 \leqq 2,92 \text{ mg}$$

$$p_o = 0,5293 \leqq 3,38 \text{ mg} \leqq 60\%$$

$$p_u = 0,4027 \leqq 2,53 \text{ mg} \leqq 40\%$$

Tabelle 8

Die nach Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles erhaltenen wahren Absterbequoten und die mit Hilfe der Regressionsgleichung $y_R = -1,6186 + 2,6202 \cdot x$ ermittelten theoretischen Logits und deren Umrechnung in theoretisch zu erwartende Absterbequoten ohne die schädigende Wirkung von Olivenöl für Cafestol (Versuch I + II)

Dosis pro kg-Ei in ml	$x_i = \log$ der Dosis	$p_i =$ Absterberaten in %	$y_i = \log \frac{p_i}{1-p_i}$	$p_{R_i} =$ theoretische Absterberaten in %
2,5	0,3979	21	0,4240 - 1	21
5,0	0,6990	62	0,2129	62

$$LD_{50} = 0,6177 \leqq 4,14 \text{ mg}$$

$$p_o = 0,6785 \leqq 4,77 \text{ mg} \leqq 59\%$$

$$p_u = 0,5569 \leqq 3,60 \text{ mg} \leqq 41\%$$

Zusammenfassung

Die Untersuchungen im Eiertest über die Verträglichkeit von Cafestol in Olivenöl gelöst, haben bei einer intravitellären Beimpfung der Bruteier am 6. Bebrütungstage eine durchschnittliche LD_{50} von 2,92 mg Cafestol/kg-Ei (-2,53 mg/kg-Ei; +3,38 mg/kg-Ei) ergeben. Nach Abzug der schädigenden Wirkung des Olivenöles errechnete sich für das Cafestol allein eine durchschnittliche LD_{50} von 4,15 mg/kg-Ei (-3,60 mg/kg-Ei; +4,77 mg/kg-Ei). Das im Versuch verwendete Olivenöl wies eine LD_{50} von 9,94 ml bzw. 9,11 g/kg-Ei auf.

Schrifttum

- BERKSON, J., J. Amer. Statistical Association, **48**, 565-599 (1953). — ECKEY, E. W. and L. P. MILLER, Vegetable Oils and Fats S. 760 (New York 1954). — DJERASSI, C. and H. BENDAS, Chem. u. Ind., S. 1481-1482 (1955). — DJERASSI, C., H. BENDAS, and P. SEN GUPTA, J. org. Chem., **20**, 1040-1055 (1955). — DJERASSI, C., M. CAIS, and L. A. MITTSCHER,

J. Amer. Chem. Soc., **80**, 247–249 (1958). — DJERASSI, C., E. WILFRED, L. VISCO, and A. J. LEMIN, J. Org. Chem., **18**, 1449–1460 (1953). — FIMEGAN, R. A. and C. DJERASSI, J. Amer. Chem. Soc., **82**, 4342–4344 (1960). — HAWORTH, R. D. and R. JOHNSTON, J. Chem. Soc., London, **1957**, 1492–1496. — HAWORTH, R. D. and R. JOHNSTON, Chem. and Ind. **1956**, 168. — HAWORTH, R. D., A. H. JUBB, and T. MCKENNA, T. Chem. and Ind. **1955**, 104–106. — HAWORTH, R. D., A. H. JUBB, and T. MCKENNA, J. Chem. Soc. London, **1954**, 1983–1989. — IVANOW, S., Biochemie der Fette. A. Abhängigkeit der Zusammensetzung vom Klima. In: HEFTER, G. und H. SCHÖNFELD: Chemie und Technologie der Fette und Fettprodukte. Bd. I, Kapitel VII, S. 375 (Wien, 1936). — KAUFMANN, H. P. und R. S. HAMSAGAR, Fette-Seifen-Anstrichmittel **64**, 206–213 (1962). — KAUFMANN, H. P. und A. K. SEN GUPTA, Fette-Seifen-Anstrichmittel **66**, 461–466 (1964). — KIECKEBUSCH, W., G. CZOK, A. FRICKER und W. GRIEM, Arzneimittel-Forschung, **14**, 1249–1252 (1964). — KOLLER, S., Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse. In: HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 10. Auflage, Bd. II, (Berlin 1955). — LANG, K., (im Druck).

Anschrift der Verfasser:

Dr. W. GRIEM und Prof. Dr. Dr. K. LANG, Institut für physiologische Chemie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Joh.-Joachim-Becher-Weg 15

BUCHBESPRECHUNGEN

Biochemisches Taschenbuch in 2 Teilen. Herausgegeben von H. M. RAUEN-Münster i. W. 2. Auflage. 1. Teil: XII, 1060 Seiten mit 151 Abbildungen und zahlreichen Tabellen. 2. Teil: VIII, 1084 Seiten mit 166 Abbildungen und zahlreichen Tabellen (Berlin-Heidelberg-New York 1964, Springer-Verlag). Preis: geb. kpl. DM 156,—.

Das „Biochemische Taschenbuch“ ist für den Biochemiker, den wissenschaftlich arbeitenden Mediziner und den Biologen längst zu einem Begriff geworden, wie der D'Ans-Lax für den Chemiker. Der riesenartige Zuwachs an biochemischen Daten und Methoden machte eine erweiterte Neuauflage erforderlich, die sehr zweckmäßig in zwei Bände gegliedert worden ist. Der erste Band enthält außer den international vereinbarten Regeln für Abkürzungen und Nomenklatur in der Biochemie die „Stoffwerte“ und wird wohl am häufigsten zum Nachschlagen benutzt werden. Der zweite Band enthält folgende Kapitel: Räumliche Struktur der Stoffe. Physikalische Chemie. Radioaktivität. Tierversuche. Körper- und Zellbestandteile. Biologische Strukturen. Biologische Funktionen. Biochemische Arbeitsmethoden. Statische Auswertungsmethoden. Alle Abschnitte sind von hervorragenden Fachleuten geschrieben. In einem Taschenbuch dieses Umfangs wird natürlich jeder auf dem einen oder anderem Gebiet noch Wünsche anmelden können. Es muß ja stets ein Kompromiß zwischen Inhalt und eben noch tragbarem Umfang geschlossen werden. Im ganzen ist aber ein erfreulicher Fortschritt gegenüber der ersten Auflage zu verzeichnen. In dem Kapitel „Eigenschaften und Aktivitätsbestimmungen von Enzymen“ möchte man sich jeweils Hinweise auf Originalliteratur wünschen, da die Auswahl der Daten bei dem knappen Umfang notgedrungen etwas willkürlich und unvollständig erfolgen muß. Eine erfreuliche und vorzügliche Erweiterung dieses Kapitels ist der Abschnitt „Enzymaktivitätsbestimmungen im Serum für die klinische Diagnostik“. Alles in allem sollte das „Biochemische Taschenbuch“ in keinem über biologische Fragen arbeitenden Laboratorium fehlen.

K. H. BÄSSLER (Mainz)

Comprehensive Biochemistry, Vol. 13 (Übersicht über die Biochemie, Band 13). Herausgegeben von M. FLORKIN-Liège und E. H. STOTZ-New York. XII, 164 Seiten mit zahlreichen Tabellen (Amsterdam 1964, Elsevier Publishing Company) Preis: geb. DM 22,50.