

Resorption, Verteilung im Organismus und Ausscheidung von Metformin

RÜDIGER BECKMANN

Biochemische Abteilung der Chemie Grünenthal GmbH, Stolberg/Rheinland

Eingegangen am 7. Januar 1969

Absorption, Distribution in the Organism and Elimination of Metformin

Summary. Twenty-four hours after oral administration of metformin-¹⁴C to mice (100 mg/kg), an average of 77.2% of the administered activity was recovered in the urine and 8.4% in the faeces. Under the same test conditions the rat eliminated 66.8% of the administered dose in the urine and 18.4% with the faeces. Less than 1% of the radioactivity was found in the bile. Unchanged metformin was the only radioactive substance which appeared in the urine of rats and mice. The investigation comparing the distributions of buformin-¹⁴C and of metformin-¹⁴C in the body organs gave a similar picture for both biguanides. The highest biguanide concentrations were found in the kidneys, adrenals, pancreas and liver. Serum concentrations amounted to an average of 1.2 µg/ml after oral administration of 50 mg buformin-¹⁴C/kg and 6.2 µg/ml after 150 mg metformin-¹⁴C/kg. Healthy human volunteers eliminated an average of 63% of the administered dose in the urine within 36 h. Metformin was not metabolized by the human being. From the rate of elimination in the urine, the biological half-life of the biguanide was found to be 2.8 h. Compared with other biguanides the weak hypoglycaemic activity of metformin in both animals and diabetics cannot be explained by low absorption. It is due to the weak intrinsic activity of this biguanide as such.

Résorption, distribution dans l'organisme et élimination de la metformine

Résumé. On a administré à des souris par voie orale, 100 mg/kg de metformine-¹⁴C. Après 24 h on a pu retrouver en moyenne 77.2% de la dose administrée dans l'urine et 8.4% dans les fèces. Dans les mêmes conditions d'expérimentation le rat élimine 66.8% de la dose par les urines et 18.4% par les fèces. On a décelé moins de 1% de la dose radioactive dans la bile. Dans l'urine du rat et de la souris, on a trouvé uniquement la substance radioactive inchangée. Une étude comparative de la distribution dans les organes n'a pas révélé de différence entre les deux biguanides, la buformine-¹⁴C et la metformine-¹⁴C. On a trouvé les concentrations les plus élevées dans les reins, les capsules surrénales, le pancréas et le foie. Après administration d'une dose orale de 50 mg/kg de bufor-

mine-¹⁴C la concentration sérique était de l'ordre de 1.2 µg/ml en moyenne, et après administration d'une dose de 150 mg/kg de metformine, de l'ordre de 6.2 µg/ml. Des volontaires sains éliminent pendant 36 h en moyenne 63% de la dose administrée par l'urine. Également chez l'homme, la metformine n'est pas métabolisée. D'après la vitesse d'excrétion urinaire le temps de demi-vie biologique du biguanide est de 2.8 h. Comparé à celui d'autres biguanides, l'effet hypoglycémiant plus faible de la metformine aussi bien chez le diabétique que chez l'animal, ne s'explique pas par une résorption moindre. Il doit être ramené à une activité intrinsèque moins importante.

Zusammenfassung. 24 Std nach oraler Gabe von 100 mg/kg Metformin-¹⁴C an Mäuse lassen sich durchschnittlich 77.2% der applizierten Aktivität im Urin und 8.4% im Kot nachweisen. Die Ratte eliminiert unter denselben Versuchsbedingungen 66.8% der Dosis mit dem Harn und 18.4% mit dem Kot. In der Galle findet sich weniger als 1% der applizierten Radioaktivität. Im Urin von Ratten und Mäusen tritt als einzige radioaktive Substanz unverändertes Metformin auf. Die vergleichende Untersuchung der Organverteilung von Buformin-¹⁴C und Metformin-¹⁴C ergibt für beide Biguanide ein ähnliches Bild. Die höchsten Biguanidkonzentrationen finden sich in Niere, Nebenniere, Pankreas und Leber. Die Serumkonzentrationen betragen nach oraler Gabe von 50 mg/kg Buformin-¹⁴C durchschnittlich 1.2 µg/ml und nach 150 mg/kg Metformin-¹⁴C 6.2 µg/ml. Gesunde Probanden eliminieren innerhalb von 36 Std durchschnittlich 63% der applizierten Dosis mit dem Harn. Metformin wird auch beim Menschen nicht metabolisiert. Aus der Ausscheidungsgeschwindigkeit mit dem Urin ergibt sich eine biologische Halbwertszeit des Biguanids von 2.8 Std. Die beim Tier und beim Diabetiker im Vergleich zu anderen Biguaniden schwächere blutzuckersenkende Wirkung von Metformin kann nicht mit einer geringeren Resorption erklärt werden. Sie ist auf eine geringere intrinsische Aktivität dieses Biguanids zurückzuführen.

Key-words: Biguanide, Metformin-¹⁴C, Buformin-¹⁴C, rat, mouse, man, metabolism, organ distribution, resorption, half-life time.

Über Resorption, Organverteilung und Metabolismus der antidiabetisch wirksamen Biguanide Buformin [1, 2, 4, 5, 6, 10, 42] und Phenformin [3, 4, 20, 30, 41] liegen eine Reihe von Untersuchungen vor. Dagegen sind unsere Kenntnisse über das Verhalten von Metformin im Organismus von Tier und Mensch noch lückenhaft. Nach Untersuchungen von COHEN und COSTEROUSSÉ [13] soll dieses Biguanid bei der Maus lediglich im Verdauungstrakt, in den Ausscheidungsorganen und in der Speicheldrüse nachweisbar sein.

DEBRY und CHERRIER [15] fanden bei Diabetikern nach oraler und subkutaner Gabe von Metformin nur einen geringen Teil der applizierten Dosis im Harn und Stuhl wieder. Diese Autoren und STERNE [37] nehmen an, daß das Biguanid im Organismus gespeichert oder zu Metaboliten abgebaut wird, die sich dem Nachweis entziehen. Da Buformin und Phenformin bei Maus [42], Ratte [1, 3, 20, 30, 41] und Meerschweinchen [20] in allen untersuchten Organen nachzuweisen sind und rasch eliminiert werden, prüften wir mit Hilfe von

radioaktiv markiertem Metformin, ob sich das Verhalten dieser Verbindung im Stoffwechsel tatsächlich von dem anderer Biguanide grundsätzlich unterscheidet.

Methodik

Radioaktive Synthese

Radioaktiv markiertes Metformin [22] und Buformin [1] wurden ausgehend von Bariumcarbonat- ^{14}C synthetisiert. Die spezifische Aktivität betrug $0.83 \mu\text{C}/\text{mg}$ bzw. $3.94 \mu\text{C}/\text{mg}$. Gegebenenfalls wurden die radioaktiv markierten Biguanide mit inaktivem Material verdünnt. Beide Verbindungen enthielten papierchromatographisch weniger als 2% radioaktive Verunreinigungen.

Papierchromatographie

Es wurde stets aufsteigend unter Verwendung des Papiers 2043b Mgl. der Fa. Schleicher und Schüll, Dassel, chromatographiert. Die folgenden papierchromatographischen Systeme wurden verwendet:

System 1: Pyridin/Amylalkohol/Wasser (7:7:6)

System 2: Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1)

Die Papierchromatogramme wurden entweder mit einem Radiopapierchromatographen (Fa. Prof. Dr. Berthold, Wildbad) ausgemessen oder zur Anfärbung der Biguanid-Flecken mit einer alkalischen Lösung von Nitroprussidnatrium-Kaliumhexazyanoferat-(III) [2] besprüht.

Messung der Radioaktivität

Die Radioaktivität der einzelnen Proben wurde in einem Flüssigkeitsszintillationszähler mit externem Standard (Fa. Packard, Tri-Carb, Modell 3214) bestimmt. Urin (0.1–1.0 ml) und Galle (0.1 ml) wurden nach Zusatz von 15 ml Cellosolve-Szintillator [12], Serumproben nach BLOOM und NELP [9] in einem Szintillator mit hoher Hyaminkonzentration gemessen. Da das Hyamin zum Teil auskristallisierte, wenn weniger als 1 ml Serum verwendet wurde, fügten wir bei geringeren Serumengen nur Szintillator A zu oder verdünnten das Serum vor dem Zusatz der Szintillatoren A und B mit Wasser auf 1 ml. Die Organe und der Kot wurden getrocknet und nach KALBERER und RUTSCHMANN [26] verbrannt. Magen, Dünndarm und Dickdarm wurden samt ihrem Inhalt zerkleinert und mit Wasser homogenisiert. Von den wäßrigen Suspensionen wurden dann aliquote Teile verbrannt. Der Löscheffekt der einzelnen Proben wurde an Hand einer Eichkurve berechnet, wobei es sich als notwendig erwies, für jeden Szintillator eine getrennte Eichkurve aufzustellen.

Tierversuche

3 männliche Wistar-Ratten im Gewicht von 105–115 g erhielten nach 18stündigem Nahrungsentzug mit der Schlundsonde 100 mg/kg Metformin- ^{14}C ($18\text{--}24 \mu\text{C}/\text{kg}$). Nach der Applikation kamen die Tiere einzeln in Stoffwechsellkäfige. Urin und Kot wurden getrennt

gesammelt. Trinkwasser und Futter standen nach Versuchsbeginn *ad libitum* zur Verfügung. In gleicher Weise wurden 5 Mäuse (Stamm NMRI) behandelt, wobei aber Urin und Kot nicht von jedem Tier getrennt, sondern von allen 5 Mäusen zusammen aufgefangen wurde.

Die Ausscheidung von Metformin- ^{14}C mit der Galle untersuchten wir an 2 weiblichen Wistar-Ratten (360 bzw. 370 g). Nach 18stündigem Nahrungsentzug wurde den Tieren in Pentobarbital-Narkose (50 mg/kg i.v.) ein Polyvinylchlorid-Schlauch in den Gallengang eingebunden. Den Katheter führten wir durch die Rückenhaut nach außen und leiteten ihn in ein Plastikfläschchen von ca. 20 bis 25 ml Inhalt, das mit Tesafilm auf dem Rücken der Tiere befestigt worden war. Nach der Operation erhielten die Ratten 100 mg/kg ($4.0 \mu\text{C}/\text{kg}$) Metformin- ^{14}C mit der Schlundsonde verabfolgt.

Futter und Wasser standen *ad libitum* zur Verfügung. 5 und 24 Std nach Versuchsbeginn wurde die Galle mit einer Spritze aus dem Plastikgefäß zur Radioaktivitätsmessung entnommen. Bei einer Ratte löste sich der Gallengangkatheter während des Versuchs, so daß von diesem Tier nur 5 Std lang Galle gesammelt werden konnte.

Zur vergleichenden Bestimmung der Organverteilung erhielten je 6–8 Mäuse nach 18stündigem Nahrungsentzug 50 mg/kg ($147 \mu\text{C}/\text{kg}$) Buformin- ^{14}C bzw. 150 mg/kg ($108 \mu\text{C}/\text{kg}$) Metformin- ^{14}C oral verabfolgt. 2 Std später wurden die Tiere in Äthernarkose getötet. Die einzelnen Organe wurden herauspräpariert, getrocknet und in Sauerstoff-Atmosphäre verbrannt.

In einem weiteren Versuch bestimmten wir an 3 Probanden (Je., Kr. und Ha.) die renale Ausscheidungsgeschwindigkeit von Metformin- ^{14}C . Das Biguanid wurde in einer Kapsel nach dem Frühstück verabreicht. Die Dosis betrug bei der Versuchsperson Je. 200 mg ($25 \mu\text{C}$) und bei den Probanden Kr. und Ha. 300 mg ($10 \mu\text{C}$). Vor der Applikation entleerten die Versuchspersonen die Harnblase. Sie sammelten den Urin zunächst in 2stündigen und später in längeren Abständen.

Ergebnisse

1. Maus

Die Verteilung der Radioaktivität in den Organen der Maus 2 Std nach oraler Gabe von Buformin- ^{14}C und Metformin- ^{14}C zeigt Abb. 1. Die Biguanide wurden in einer Dosisrelation verabfolgt, die etwa ihrer blutzuckersenkenden Wirkung entspricht. Da die Konzentration im Gewebe des Metaboliten von Buformin (1-(3-Hydroxy-butyl)-biguanid (2)) nicht getrennt bestimmt wurde, beziehen sich die für Buformin angegebenen Werte auf das unveränderte Biguanid und das hydroxylierte Derivat. 2 Std nach der Applikation beträgt die durchschnittliche Konzentration von Buformin und Metformin im Serum $1.2 \pm 0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ bzw. $6.2 \pm 0.8 \mu\text{g}/\text{ml}$. Nach Metformin-Gabe finden sich die höchsten Organkonzentrationen in Niere, Nebenniere, Pankreas, Leber und Lunge; das epididymale Fett-

gewebe enthält nur wenig Radioaktivität. Die Konzentration von Metformin im Gehirn beträgt durchschnittlich $1.1 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$. Eine grundsätzlich gleiche Organverteilung zeigt Buformin. Die Konzentrationen in den Organen beider Biguanide verhalten sich im allgemeinen wie die verabreichten Dosen. Lediglich in Nebenniere, Herz, Milz und Leber wird weniger Metformin bzw. mehr Buformin gefunden als auf Grund des Dosisverhältnisses zu erwarten gewesen wäre. Die

Gabe von 100 mg/kg (24 $\mu\text{C/kg}$) Metformin- ^{14}C eliminierten die Tiere innerhalb von 24 Std durchschnittlich 77.2% der Dosis mit dem Urin und 8% mit dem Kot. Nach 48 Std befanden sich 85.1% der applizierten Radioaktivität im Harn und 10.8% in den Faeces. Das Papierchromatogramm des Urins zeigte nur einen radioaktiven Fleck, dessen Rf-Wert mit dem von unverändertem Metformin übereinstimmte (System 1: 0.32; System 2: 0.48).

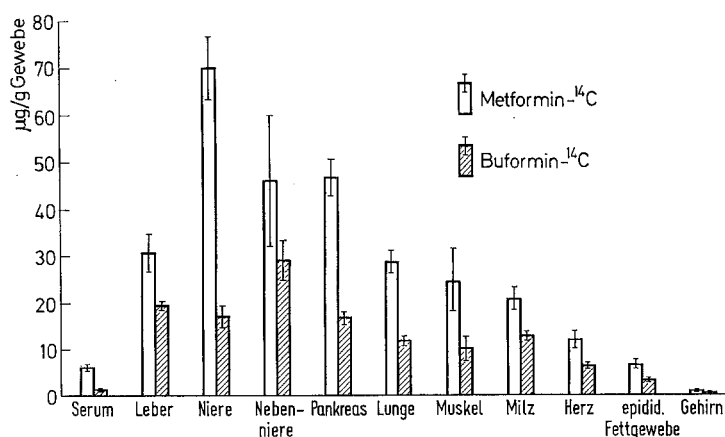


Abb. 1. Verteilung der Radioaktivität in den Organen der Maus 2 Std nach oraler Gabe von 150 mg/kg Metformin- ^{14}C oder 50 mg/kg Buformin- ^{14}C . Die gemessene Radioaktivität wurde auf μg Metformin oder Buformin pro g Feuchtgewicht umgerechnet. Die Höhe der Säulen entspricht den Mittelwerten $\pm s_x$ von 6–8 Tieren

Tabelle 1. Radioaktivität im Magen-Darm-Trakt und in der Leber bei Mäusen 2 Std nach oraler Gabe von Buformin- ^{14}C und Metformin- ^{14}C . Mittelwerte $\pm s_x$ von jeweils 6 Tieren

Substanz	% der applizierten Aktivität			
	Magen	Dünndarm	Dickdarm	Leber
Buformin- ^{14}C (50 mg/kg)	3.4 ± 0.4	15.5 ± 1.1	5.5 ± 1.0	1.9 ± 0.1
Metformin- ^{14}C (150 mg/kg)	1.1 ± 0.3	16.9 ± 1.7	5.6 ± 2.2	0.8 ± 0.08

Tabelle 2. Ausscheidung der Radioaktivität mit Urin und Kot bei Ratten nach oraler Applikation von 100 mg/kg Metformin- ^{14}C

Tier	% der applizierten Aktivität				Gesamtauscheidung
	Urin		Kot		
	0–24 Std	24–48 Std	0–24 Std	24–48 Std	
A	57.3	3.7	19.6	12.3	92.9
B	70.0	2.0	21.6	7.6	101.1
C	73.1	5.4	14.1	5.4	98.4
Mittelwert	66.8	3.7	18.4	8.4	97.5

Leber enthält 2 Std nach oraler Gabe von Metformin bzw. Buformin $0.8 \pm 0.08\%$ bzw. $1.9 \pm 0.1\%$ der verabreichten Radioaktivität. Die Magen-Darm-Passage beider Biguanide erfolgt mit etwa der gleichen Geschwindigkeit (Tabelle 1).

In einem weiteren Versuch wurde an Mäusen die Ausscheidung von Metformin bestimmt. Nach oraler

2. Ratte

Innerhalb der ersten 24 Std nach oraler Applikation von 100 mg/kg (18–24 $\mu\text{C/kg}$) Metformin- ^{14}C an Ratten werden durchschnittlich 66.8% der Dosis renal und 18.4 mit dem Kot ausgeschieden. Nach 48 Std beträgt die Gesamtausscheidung 97.5% (Tabelle 2). Im Urin läßt sich radiopapierchromatographisch nur unver-

ändertes Metformin nachweisen. Die Rattengalle enthält 5 und 24 Std nach oraler Applikation von 100 mg/kg Metformin- ^{14}C weniger als 1% der applizierten Radioaktivität. Die Tiere waren nur vorübergehend narkotisiert und wurden nicht in einem Restriktionskäfig gehalten. Daher kann eine verminderte Resorption infolge einer Beeinflussung der Peristaltik durch Narkose [16, 25] oder Stress [8] als Ursache der geringen Ausscheidung des Biguanids mit der Galle ausgeschlossen werden. Gegen eine Stress-Einwirkung spricht auch der während des Versuchs gleichbleibende Gallenfluß (0.8 – 1.2 ml/Std).

3. Mensch

Die Ausscheidung von Metformin- ^{14}C durch die Nieren wurde an 3 Versuchspersonen gemessen. Die Probanden eliminierten nach oraler Gabe des Biguanids innerhalb von 36 Std 61.5, 61.5 und 66.3% der applizierten Radioaktivität mit dem Urin. Auftragen der renalen Ausscheidungsgeschwindigkeit gegen die Zeit im halblogarithmischen Raster ergibt für Metformin eine durchschnittliche biologische Halbwertszeit (t_{halb}) von 2.8 Std (Abb. 2). Nahezu den gleichen Wert für

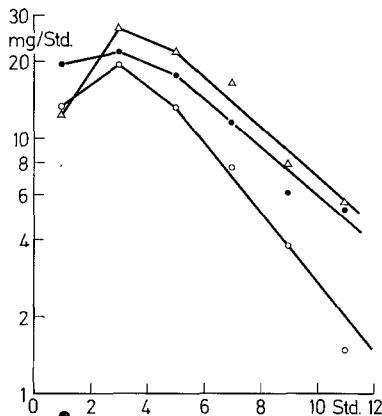


Abb. 2. Ausscheidungsgeschwindigkeit von Metformin- ^{14}C mit dem Urin beim Menschen. Der Proband Je. (O—O; $t_{\text{halb}} = 2.2$ Std) erhielt 200 mg, die Versuchspersonen Ha. (Δ — Δ ; $t_{\text{halb}} = 3.1$ Std) und Kr. (●—●; $t_{\text{halb}} = 3.0$ Std) bekamen 300 mg Metformin- ^{14}C verabreicht

t_{halb} (3.0 Std) erhält man durch analoge graphische Darstellung der jeweils im Organismus noch verbleibenden Substanzmenge (Abb. 3).

Diskussion

COHEN und COSTEROUSSÉ [13] fanden bei der Autoradiographie der Ganztierschnitte von Mäusen nach oraler Gabe von 10 mg/kg (0.86 bis 0.96 μC pro Maus) Metformin- ^{14}C lediglich im Magen-Darm-Trakt sowie in Niere, Harnblase und Speicheldrüse nennenswerte Mengen von Radioaktivität. In der Leber war während der gesamten Versuchsdauer kein Metformin nachzuweisen. Andererseits enthält die Leber von Ratten nach Gabe von Phenformin- ^{14}C bis zu 32% [20, 41] und nach Buformin- ^{14}C bis zu 4.6% [1] der applizierten

Radioaktivität. Außerdem konnte KANEKO [27] in der Rattenleber nach oraler bzw. subkutaner Applikation von 100 mg/kg Metformin- ^{14}C 24.3 bzw. 19.2 μg Metformin pro g Gewebe nachweisen. Wir untersuchten daher — mit einer anderen Methodik als sie von COHEN und COSTEROUSSÉ [13] angewandt worden war — erneut die Organverteilung von Metformin bei der Maus und verglichen diese mit der Gewebekonzentration nach Gabe von Buformin- ^{14}C . Die blutzuckersenkende Wirkung beider Biguanide verhält sich bei der Maus

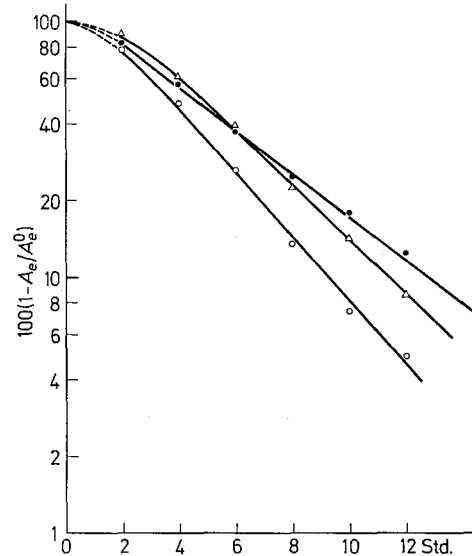


Abb. 3. Im Organismus verbleibende Radioaktivität in Prozent der applizierten Dosis nach oraler Gabe von Metformin- ^{14}C . Der Proband Je. (O—O; $t_{\text{halb}} = 2.3$ Std) erhielt 200 mg, die Versuchspersonen Ha. (Δ — Δ ; $t_{\text{halb}} = 3.0$ Std) und Kr. (●—●; $t_{\text{halb}} = 3.5$ Std) bekamen 300 mg des radioaktiven Biguanids

nach oraler Gabe wie etwa 0.3 : 1 [17, 35]. Um ein Bild über die Konzentration in den Organen nach gleichstark blutzuckerwirksamen Dosen zu gewinnen, verabfolgten wir daher 150 mg/kg Metformin- ^{14}C und 50 mg/kg Buformin- ^{14}C .

Die Untersuchungen zeigen, daß beide Biguanide eine ähnliche Organverteilung aufweisen. Die höchsten Biguanid-Konzentrationen finden sich in Niere, Pankreas, Leber und Lunge. Die Blut-Hirn-Schranke ist für die stark basischen Verbindungen schlecht durchgängig, und dementsprechend enthält das Gehirn nur wenig Radioaktivität. Auch im epididymalen Fettgewebe ist die Biguanid-Konzentration wegen des stark polaren Charakters der Verbindungen gering (Abb. 1). Die Unterschiede zu den Befunden von COHEN und COSTEROUSSÉ [13] dürften darauf zurückzuführen sein, daß in diesen Untersuchungen die angewandten Radioaktivitätsmengen zu klein oder die Expositionszeiten der Schnitte zu kurz waren, um das Biguanid mit der wenig empfindlichen Methode der Ganztier-Radiographie in den Organen nachzuweisen.

YOH [42] hatte bei Mäusen nach oraler und subkutaner Gabe von Buformin- ^{14}C eine relativ hohe Kon-

zentration des Biguanids in den Nebennieren festgestellt. Dies konnten wir bestätigen. Auch sonst stimmen die von uns beobachteten Organkonzentrationen gut mit den von YOŦ [42] mitgeteilten überein. Lediglich im epididymalen Fettgewebe fand YOŦ [42] eine 3–4fach höhere Konzentration von Buformin als wir. Nach Metformin-Gaben sind die Konzentrationen in den einzelnen Organen, entsprechend der dreifach höheren Dosierung, 2–3mal höher. Nur in der Milz und in der Leber ist das Verhältnis der Biguanid-Konzentrationen mit 1.6:1 kleiner und im Serum mit 5:1 größer als aufgrund der Dosisrelation von 3:1 zu erwarten gewesen wäre. Dies bedeutet, daß die im Vergleich zu Buformin schwächere blutzuckersenkende Wirkung von Metformin nicht mit einer geringeren Resorption erklärt werden kann. Eine ausreichende Resorption von Metformin geht außerdem daraus hervor, daß Mäuse das Biguanid innerhalb von 48 Std durchschnittlich zu 85% und Ratten zu 71% mit dem Urin ausscheiden und nur geringe Mengen im Kot auftreten. Nahezu die gleiche Eliminationsrate beobachtete auch KANEKO [27] an Ratten. Eine weitgehende Metabolisierung als Erklärung für die relativ geringe Blutzuckerwirksamkeit von Metformin kann ebenfalls ausgeschlossen werden, da der Urin von Mäusen und Ratten nur unverändertes Biguanid enthält. Die im Vergleich zu Buformin und Phenformin schwächere blutzuckersenkende Wirkung von Metformin ist daher auf eine geringere intrinsische Aktivität¹ dieses Biguanids zurückzuführen. Die Rattengalle enthält nach 24 Std weniger als 1% der applizierten Radioaktivität.

Da in diesen Versuchen die Galle nach außen abgeleitet wurde, kann nicht ausgeschlossen werden, daß die Resorption von Metformin aus dem Darm durch das Fehlen der Galle gestört wurde und damit weniger markierte Substanz in das Blut und dementsprechend auch in die Galle gelangte als beim intakten Tier. Eine solche indirekte Beeinflussung der biliären Elimination des Biguanids ist aber unwahrscheinlich, da sich am intakten Tier nach subkutaner Injektion von Metformin-¹⁴C nur wenig Radioaktivität im Magen-Darm-Kanal nachweisen läßt und diese außerdem zum größten Teil auf eine Sekretion des Biguanids aus dem Blut in das Lumen des Intestinal-Traktes zurückzuführen sein dürfte [27, 41].

Eine ähnlich geringe biliäre Elimination wie Metformin zeigt auch Buformin [1, 36], während Phenformin zu 5–12% mit der Galle ausgeschieden wird [3].

Die Serumkonzentration beträgt bei Mäusen 2 Std nach der Applikation von 50 mg/kg Buformin durchschnittlich 1.2 µg/ml. Eine deutliche Blutzuckersenkung wird aber bei der Maus erst nach einer mindestens 4mal höheren Dosis und einem dementsprechend höheren Blutspiegel beobachtet. Bei Ratten wurden nach oraler Gabe von 50 mg/kg Buformin Plasmaspiegel von

5 µg/ml gemessen [1]. Im menschlichen Serum dagegen ist die Konzentration von Buformin nach therapeutisch wirksamen Dosen des Biguanids 10mal kleiner [4, 10]. Da im allgemeinen bei reversibel wirkenden Pharmaka gleichhohe Plasmaspiegel unabhängig von der Spezies zu einem gleichstarken pharmakologischen Effekt führen, die Wirkung also letztlich nicht von der Dosis, sondern von der Konzentration im Plasma abhängt [11], ist es wahrscheinlich, wie an anderer Stelle ausführlicher dargestellt wird [7], daß sich der Wirkungsmechanismus der Biguanide bei Tier und Mensch unterscheidet. Diese Annahme wird weiterhin dadurch gestützt, daß beim normalen Tier eine Blutzuckersenkung in der Regel erst mit Biguanid-Dosen zu erzielen ist, die im toxischen Bereich liegen (vgl. die Übersicht bei [5]), und daß diabetische Tiere auf Biguanide inkonstant reagieren [14, 23, 35, 38–40], während beim Menschen Biguanide nur beim Diabetiker zu einem deutlichen Blutzuckerabfall führen, der Stoffwechselgesunde aber selbst nach hohen Biguanid-Dosen keine Blutzuckersenkung zeigt [18, 19, 24, 28, 29, 32, 33 u. a.].

PIGNARD [34] fand im Harn von Diabetikern mindestens 50% der applizierten Dosis von Metformin. DEBRY und CHERRIER [15] andererseits konnten nach oraler Gabe von 2 g Metformin lediglich bei einem von 5 Diabetikern mehr als 50% der Dosis im Urin nachweisen. Die übrigen Patienten eliminierten nur 11–38% des eingenommenen Biguanids durch die Nieren. Die Ausscheidung erfolgte verzögert und war erst nach 2 bis 4 Tagen abgeschlossen. Der Stuhl enthielt nur Spuren des Biguanids. Da auch nach subkutaner Applikation nur ein Teil der verabreichten Verbindung im Harn auftrat, vermuten die Autoren, daß Metformin im Organismus gespeichert oder aber zu Metaboliten abgebaut wird, die sich dem Nachweis entziehen. Wir fanden im Harn von gesunden Menschen nach Gabe von radioaktivem Metformin durchschnittlich 63% der applizierten Dosis, und zwar ausschließlich als unverändertes Metformin. Da es unwahrscheinlich ist, daß sich der Stoffwechsel eines Pharmakons beim Diabetiker von dem beim gesunden Menschen wesentlich unterscheidet, möchten wir die von unseren Ergebnissen abweichenden Befunde von DEBRY und CHERRIER [15] auf die zu geringe Empfindlichkeit der von diesen Autoren verwendeten analytischen Methode zurückführen.

Aus den Werten der kumulativen Ausscheidung von Metformin mit dem Harn ist zu ersehen, daß die renale Elimination des Biguanids nach 24 Std größtenteils abgeschlossen ist (Tabelle 3). Eine biliäre Ausscheidung spielt bei Biguaniden nur eine untergeordnete Rolle [1, 3]. Da die Verbindungen ferner im Organismus nicht bis zu CO₂ abgebaut werden [1, 20], kann der im Harn auftretende Anteil der verabreichten Substanz mit der Resorptionsquote gleichgesetzt werden. Buformin wird beim Menschen zu 80–90% resorbiert [6, 10, 21]. Die im Vergleich hierzu nur wenig geringere Resorption von Metformin (durchschnittlich 65%) ver-

¹ intrinsische Aktivität = „intrinsic activity“ = die einer Substanz eigentümliche, von der Resorption, dem Metabolismus usw. unabhängige, pharmakologische Aktivität.

mag die etwa 10mal schwächere blutzuckersenkende Wirkung des Biguanids nicht zu erklären. Der Wirkungsunterschied muß daher auch beim diabetischen Menschen auf einer geringeren intrinsischen Aktivität des Metformin beruhen.

Tabelle 3. Kumulative Ausscheidung (mg) mit dem Harn beim Menschen nach oraler Gabe von 200 mg (Vp. Je.) oder 300 mg (Vpn. Kr. u. Ha.) Metformin-¹⁴C

Sammelperiode (Std)	Versuchspersonen		
	Je.	Kr.	Ha.
0—2	26.2	38.4	25.8
2—4	64.6	81.0	78.9
4—6	91.0	116.1	122.4
6—8	106.4	139.2	155.1
8—10	114.0	151.5	171.0
10—12	117.0	162.0	182.1
12—24	122.4	181.5	195.3
24—36	123.0	184.5	198.9

Die renale Ausscheidung eines Pharmakons läßt sich gemäß der Beziehung

$$Ae = \frac{k_{22}}{k_2} Ab^0 (1 - e^{-k_2 t}) \quad (\text{Gleichung 1})$$

beschreiben [31]. In Gleichung 1 ist Ae die Menge des zum Zeitpunkt t eliminierten Pharmakons, Ab^0 die Menge des zum Zeitpunkt $t = 0$ im Organismus vorhandenen Arzneimittels, k_{22} die Geschwindigkeitskonstante der Elimination mit dem Urin und k_2 die Summe der Geschwindigkeitskonstanten aller Eliminations-Prozesse. Da andererseits

$$Ae^0 / Ab^0 = k_{22} / k_2 = f \quad (\text{Gleichung 2})$$

ist, wobei Ae^0 die Gesamtmenge des verabreichten Pharmakons darstellt, die mit dem Urin ausgeschieden wird, läßt sich durch Einsetzen von Gleichung 2 in Gleichung 1 k_{22} eliminieren und man erhält

$$Ae = Ae^0 (1 - e^{-k_2 t}) \quad (\text{Gleichung 3})$$

Dementsprechend ist die Ausscheidungsgeschwindigkeit

$$\frac{dAe}{dt} = k_2 Ae^0 e^{-k_2 t} \quad (\text{Gleichung 4})$$

und

$$\log \frac{dAe}{dt} = -\frac{k_2 t}{2.303} + \log k_2 Ae^0 \quad (\text{Gleichung 5})$$

Durch Auftragen von $\frac{dAe}{dt}$ im halblogarithmischen Netz erhält man eine Gerade mit der Neigung $-\frac{k_2}{2.303}$, d.h., die Eliminationskonstante eines Pharmakons kann allein aus der Ausscheidung der Verbindung mit dem Urin ermittelt werden. Voraussetzung hierfür ist allerdings, daß sich das Arzneimittel so verhält, als ob es sich in einem Ein-Kompartiment-System verteilt [43, 44].

Aus Abb. 2 ergibt sich k_2 für die Versuchspersonen Je., Ha. und Kr. zu 0.31, 0.22 bzw. 0.23 Std⁻¹. Dies entspricht einer durchschnittlichen Eliminationsge-

schwindigkeit von 25% pro Std oder gemäß der Beziehung

$$t_{\text{halb}} = \frac{0.693}{k_2}$$

einer biologischen Halbwertszeit von 2.8 Std.

Gleichung 3 läßt sich umformen in

$$\ln \left(1 - \frac{Ae}{Ae^0} \right) = -k_2 t = 2.303 \log \left(1 - \frac{Ae}{Ae^0} \right) \quad (\text{Gleichung 6})$$

und dementsprechend kann k_2 auch durch semilogarithmische Darstellung des nicht ausgeschiedenen Metformin in % gegen die Zeit ermittelt werden (Abb. 3). Man erhält so für k_2 einen Wert von 0.23 Std⁻¹.

Für geschickte technische Assistenz danken wir Herrn WILHELM FREYMARK und Herrn WOLFGANG JENTSCH.

Literatur

- BECKMANN, R.: Resorption, Verteilung im Gewebe und Ausscheidung von 1-Butyl-biguanid-[¹⁴C]-hydrochlorid. *Arzneimittel-Forsch.* **15**, 761—764 (1965).
- Zum biologischen Abbau von 1-Butyl-biguanid-[¹⁴C]-hydrochlorid (Silubin-[¹⁴C]). *Arch. int. Pharmacodyn.* **160**, 161—172 (1966).
- Über die Resorption und den biologischen Abbau von 1-(β -Phenäthyl)-biguanid (Phenformin). *Diabetologia* **3**, 368—376 (1967).
- The fate of biguanides in man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **148**, 820—832 (1968).
- Zur Pharmakodynamik der Biguanide. In: K. Oberdisse, H. Daweke und G. Michael, 2. Internationales Biguanid-Symposium, Düsseldorf 1967, S. 3—13. Stuttgart: Thieme 1968.
- , u. G. HÜBNER: Zur Pharmakokinetik von 1-Butyl-biguanid-hydrochlorid und einer Retard-Form dieser Substanz. *Arzneimittel-Forsch.* **15**, 765—770 (1965).
- Biguanide, Experimenteller Teil. In: H. MASKE, *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag. In Vorbereitung.
- Unveröffentl. Untersuchungen.
- BLOOM, P.M., and W.B. NELP: A method for beta counting of large samples of plasma by liquid scintillation. *J. Lab. clin. Med.* **65**, 1030—1033 (1965).
- BOTTERMANN, P., A. SOUVATZOGLOU u. U. SCHWEIGART: Blutspiegel und Ausscheidung von Buformin-¹⁴C beim Menschen nach intravenöser Gabe. In: K. Oberdisse, H. Daweke und G. Michael, 2. Internationales Biguanid-Symposium, Düsseldorf 1967, S. 14—19. Stuttgart: Thieme 1968.
- BRODIE, B.B., and W.D. REID: Some pharmacological consequences of species variation in rates of metabolism. *Fed. Proc.* **26**, 1062—1070 (1967).
- BRUNO, G.A., and J.E. CHRISTIAN: Determination of carbon — 14 in aqueous bicarbonate solutions by liquid scintillation counting techniques. Application to biological fluids. *Analyt. Chem.* **33**, 1216—1218 (1961).
- COHEN, Y., et O. COSTEROUSSE: Étude autoradiographique chez la souris d'un antidiabétique oral, le NN diméthylbiguanide marqué au carbone 14. *Thérapie* **16**, 109—120 (1961).
- CREUTZFELDT, W., H.D. SÖLING, A. MOENCH, E. RAUH u. M. BOL: Die Wirkung von N_{1,n}-Butylbiguanid (W 37) und N₁, β -Phenyläthylbiguanid (W 32) auf den Alloxan- und Phlorrhizin-Diabetes und die intestinale Glucoseabsorption von Ratten. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac.* **244**, 31—47 (1962).

15. DEBRY, G., et F.-P. CHERRIER: Étude du mode d'excrétion du NN diméthyl-biguanide chez le diabétique adulte. *Thérapie* **20**, 351—358 (1965).
16. DIEDEREN, W., and R. KADATZ: On testing for oral efficacy in animal experiments. *Med. exp.* **11**, 95—98 (1964).
17. DUVAL, D.: Contribution à l'étude de l'action hypoglycémisante des biguanides. Thèse Doctorat en Pharmacie. Paris, 1960.
18. FAJANS, S.S., J.A. MOORHOUSE, H. DOORNBOS, L.H. LOUIS, and J.W. CONN: Metabolic effects of phenethylbiguanide in normal subjects and in diabetic patients. *Diabetes* **9**, 194—201 (1960).
19. GUTSCH, H.: Die Wirkung von oral gegebenem Biguanid und Sulfonylharnstoff hinsichtlich eines Suchtestes für den latenten Diabetes mellitus. *Arzneimittel-Forsch.* **11**, 1127—1130 (1961).
20. HALL, H., G. RAMACHANDER, and J.M. GLASSMAN: Tissue distribution and excretion of phenformin in normal and diabetic animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **148**, 601—611 (1968).
21. HALLER, H., u. S.E. STRAUZENBERG: Ein Beitrag zur Methodik der Bestimmung von Biguaniden, Kreatinin und Kreatin im Harn. *Ärzt. Forschung* **20**, 415—419 (1966).
22. HERBERT, M., et L. PICHAT: Synthèse du chlorhydrate de diméthyl-1,1-guanylguanidine ¹⁴C-2,4 (diméthyl-1,1 biguanide). *Bull. Soc. chim. France* **42**, 21—22 (1960).
23. HOUSSAY, B.A., and J.C. PENHOS: Acción hipoglucemiante de la fenetildiguanida. *Rev. Soc. argent. Biol.* **34**, 53—63 (1958).
24. JAHNKE, K., H. DAVEKE, H. LIEBERMEISTER, W. SCHILLING u. D. GRÜNEKLEE: Über den Einfluß von Buformin auf das Verhalten von Gewicht und Stoffwechselmetaboliten bei Fettsüchtigen mit und ohne Störung der Glukosetoleranz. In: K. Oberdisse, H. Daweke und G. Michael, 2. Internationales Biguanid-Symposium, Düsseldorf 1967, S. 82—93. Stuttgart: Thieme 1968.
25. KADATZ, R., and G. BEISENHERZ: Absorption and activity of 2,6-bis-(Diethanolamino)-4,8-dipiperidinopyrimido-(5,4-d) pyrimidine (RA 8) following enteric administration. *Arch. int. Pharmacodyn.* **158**, 389—402 (1965).
26. KALBERER, F., u. J. RUTSCHMANN: Eine Schnellmethode zur Bestimmung von Tritium, Radiokohlenstoff und Radioschwefel in beliebigem organischem Probenmaterial mittels des Flüssigkeits-Scintillations-Zählers. *Helv. chim. Acta* **44**, 1956—1966 (1961).
27. KANEKO, T.: Studies on the mode of action of hypoglycemic biguanides. *J. Jap. Soc. Int. Med.* **52**, 78—95 (1965).
28. MADISON, L.L., and R.H. UNGER: Effect of phenformin on peripheral glucose utilization in human diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes* **9**, 202—206 (1960).
29. MICHEL, W.: Akute Belastungen mit Biguaniden bei Gesunden und Diabetikern. In: F. Bertram und G. Michael, Internationales Biguanid-Symposium, Aachen 1960, S. 111—116. Stuttgart: Thieme 1960.
30. MURPHY, P.J.: Metabolic and spectral studies on B-phenethyl-biguanide. San Diego, California: Master's Thesis San Diego State College 1964.
31. NELSON, E.: Kinetics of drug absorption, distribution, metabolism, and excretion. *J. Pharm. Sci.* **50**, 181—192 (1961).
32. OTTO, H.: Untersuchungen mit Phenyläthylbiguanid (DBI) bei stoffwechselgesunden Menschen. In: F. Bertram und G. Michael, Internationales Biguanid-Symposium, Aachen 1960, S. 97—101. Stuttgart: Thieme 1960.
33. PETRIDES, P., u. P. SCHRÄPLER: Experimentelle Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Buformin. *Klin. Wschr.* **44**, 1209—1212 (1966).
34. PIGNARD, P.: Dosage spectrophotométrique du N-N-diméthyl biguanide dans le sang et l'urine. *Ann. Biol. clin.* **20**, 325—333 (1962).
35. PROSKE, G., G. OSTERLOH, R. BECKMANN, F. LAGLER, G. MICHAEL u. H. MÜCKTER: Tierexperimentelle Untersuchungen mit blutzuckerwirksamen Biguaniden. *Arzneimittel-Forsch.* **12**, 314—318 (1962).
36. SÖLING, H.D., D. MOSHAGEN, E. SKUTELLA, P. KNEER u. W. CREUTZFELDT: Die Wirkung von N₁,n-Butylbiguanid auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber normaler und alloxandiabetischer ketotischer Ratten. *Diabetologia* **3**, 318—330 (1967).
37. STERNE, J.: The present state of knowledge on the mode of action of the antidiabetic diguanides. *Metabolism* **13**, 791—798 (1964).
38. —, et D. DUVAL: Effets hypoglycémisants de la N-N-diméthyl-diguanide. In: K. Oberdisse und K. Jahnke, Diabetes mellitus, III. Kongreß der Internationalen Diabetes-Vereinigung, Düsseldorf 1958, S. 443—452. Stuttgart: Thieme 1959.
39. TOCUS, E.C., and M. CAVALLO: Production of diabetes mellitus in mice with alloxan. *Fed. Proc.* **20**, 192 (1961).
40. UNGAR, G., L. FREEDMAN, and S.L. SHAPIRO: Pharmacological studies of a new oral hypoglycemic drug. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **95**, 190—192 (1957).
41. WICK, A.N., C.J. STEWART, and G.S. SERIF: Tissue distribution of C¹⁴-labeled Beta-phenethylbiguanide. *Diabetes* **9**, 163—166 (1960).
42. YOH, Y.-J.: Distribution of n-butylbiguanide-¹⁴C hydrochloride in mouse tissues. *Jap. J. Pharmacol.* **17**, 439—449 (1967).
43. WAGNER, J.G. and J.I. NORTHAM: Estimation of volume of distribution and half-life of a compound after rapid intravenous injection. *J. Pharm. Sci.* **56**, 529—531 (1967).
44. RIEGELMANN, S., J.C.K. LOO, and M. ROWLAND: Shortcomings in pharmacokinetic analysis by conceiving the body to exhibit properties of a single compartment. *J. Pharm. Sci.* **57**, 117—123 (1968).

Dr. R. BECKMANN
 Chemie Grünenthal GmbH
 519 Stolberg/Rhld.
 Zweifaller Straße