

Untersuchungen über den Einfluß von Phenyläthylbiguanid auf den Verlauf von Belastungsproben mit Insulin, Tolbutamid und Glucose bei Diabetes mellitus*

ARTUR CZYZYK und JANUARY ŁAWECKI

Aus der III. Medizinischen Klinik der Medizinischen Akademie in Warszawa
(Direktor: Prof. Dr. med. E. Kodjeszko)

Eingegangen am 13. September 1965

Zusammenfassung. In 5 Gruppen zu je 9-12 Probanden mit leichtem Diabetes mellitus, der keine Insulintherapie erforderte, wurden nachstehende Belastungsproben vor und während der Anwendung des Phenyläthylbiguanids ausgeführt: 1. Intravenöse Belastung mit 8 E. Insulin; 2. Intravenöse Belastung mit 1.0 g Tolbutamid; 3. Perorale doppelte Belastung mit 50 g Glucose; 4. Intravenöse Glucosebelastung unter Berechnung des Glucoseassimilationskoeffizienten; 5. Intravenöse Glucosebelastung wie oben, ausgeführt 90 Minuten nach peroraler Einnahme von 50 g Glucose. Die Blutzuckerkurven verliefen nach der Insulin- bzw. Tolbutamidverabreichung während der neuerlichen Belastung auf einem niedrigeren Niveau, wobei aber der prozentuelle Glucoseabfall keine Änderung erfuhr. Die Abnahme des anorganischen Phosphats, des Aminostickstoffs und des Leucins im Plasma, die normalerweise nach der Verabreichung von Insulin bzw. Tolbutamid eintritt, war bei gleichzeitiger Anwendung von Phenyläthylbiguanid etwas stärker. Die mittlere Blutzuckerkurve verlief nach doppelter Glucosebelastung während der zweiten Belastung bedeutend tiefer, wobei die Unterschiede der mittleren Glucosewerte in der 30. und 60. Minute der Untersuchung statistisch signifikant waren. Der Glucoseassimilationskoeffizient, der sowohl nüchtern als auch 90 Minuten nach peroraler Einnahme von 50 g Glucose bestimmt wurde, erfuhr unter dem Einfluß von Phenyläthylbiguanid keine merkliche Änderung. Die Verabreichung von Glucose allein rief hingegen einen deutlichen Anstieg des Glucoseassimilationskoeffizienten hervor. Die deutliche Änderung im Verhalten der Blutzuckerkurve nach peroraler Einnahme von Glucose bei unverändertem Wert des Glucoseassimilationskoeffizienten läßt wohl eine Wirkung von therapeutischen Gaben dieses Mittels beim Menschen im Bereich: Dünndarm-Leber vermuten. Gleichzeitig wurde eine gewisse Stärkung des Insulineffektes auf die Phosphorylierung und die Aminosäurenverwertung bei Anwendung dieser Mittel festgestellt.

The study of the effect of phenethylbiguanide on the responses to insulin, tolbutamide and glucose in diabetes mellitus.

Summary. Patients with mild diabetes that did not require insulin treatment were divided into 5 groups, each of 9 to 12 persons and one of the following tests performed on each before and during the administration of phenethylbiguanide: 1. the intravenous insulin tolerance test (8 u.); 2. the intravenous tolbutamide tolerance test (1.0 g); 3. the oral two-dose glucose tolerance test (2 × 50 g); 4. the intravenous glucose tolerance test, the coefficient of its assimilation being calculated; 5. the analogous intravenous test performed 90 min. after taking 50 g glucose by mouth. The glycemic curves obtained in the insulin and tolbutamide tolerance tests ran at somewhat lower levels during therapy; however, the rate of fall of blood sugar remained unchanged when expressed as percentage decrease. The decrease in plasma inorganic phosphate, amino nitrogen and free leucine usually found after the administration of insulin and tolbutamide was somewhat more marked when phenethylbiguanide was being given. The mean glycemic

curve was considerably lower during the oral two-dose glucose tolerance test carried out during the treatment, the differences between the mean blood glucose values at the 30th and 60th min of the test being statistically significant. The coefficient of glucose assimilation determined fasting and at 90 min after the oral glucose uptake of 50 g of glucose was not appreciably affected by the treatment with phenethylbiguanide, although the glucose administration as such distinctly increased the coefficient both before and during the treatment. The modification of oral glucose tolerance with unchanged assimilation coefficient might indicate that in the human, therapeutic doses of phenethylbiguanide exert their effect at the level of the small intestine and the liver. The effect of insulin on glucose phosphorylation and on the utilization of aminoacids also seemed to be enhanced by this drug.

Etude de l'effet de la phényéthylbiguanide sur les épreuves de tolérance à l'insuline, au tolbutamide et au glucose dans le diabète sucré.

Résumé. Cette étude porte sur cinq groupes, dont chacun compte 9 à 12 sujets, souffrant tous d'un diabète de type bénin et non insulino-dépendant. Avant et après l'administration de phényéthylbiguanide, notre évaluation a porté sur cinq épreuves: 1. La surcharge endoveineuse d'insuline (8 u.). 2. Le test endoveineux au tolbutamide (1.0 g); 3. la double surcharge perorale au glucose (2 × 50 g); 4. la surcharge au glucose par voie intraveineuse avec calcul du coefficient d'assimilation; 5. la répétition de la surcharge au glucose par voie intraveineuse 90 minutes après l'ingestion per orale de 50 g de glucose. Les profils glycémiques après insuline et tolbutamide se sont situés à un niveau légèrement plus bas après traitement au phényéthylbiguanide; pourtant, la pente de la dépression du glucose sanguin, exprimé en pour cent du taux initial, est restée la même. L'administration d'insuline et de tolbutamide a mené à la dépression habituelle des taux plasmatiques de phosphate inorganique, d'azote aminé et de leucine libre, et ceci de façon légèrement plus marquée après qu'avant le traitement. Le profil moyen de la glycémie durant la surcharge perorale double au glucose a été nettement plus bas durant le traitement, les différences entre les valeurs obtenues à la 30ème et 60ème minute étant statistiquement significatives. Les coefficients d'assimilation du glucose mesurés avant et 90 minutes après l'ingestion de 50 g de glucose n'ont pas été modifiés par le traitement à la phényéthylbiguanide, l'ingestion de glucose augmentant distinctement le coefficient dans les deux cas. Une modification de la courbe d'hyperglycémie provoquée par voie orale sans altération du coefficient d'assimilation du glucose pourrait indiquer que, chez l'homme, des doses thérapeutiques de phényéthylbiguanide peuvent exercer leur effet au niveau de l'intestin et du foie. Il semblerait également que cet agent augmente légèrement l'action de l'insuline sur la phosphorylation du glucose et sur l'utilisation des acides aminés.

* Nach dem Vortrag gehalten auf dem I. Kongreß der Europ. Gesellschaft für Diabetologie in Montecatini, am 22. April 1965.

In vivo durchgeführte tierexperimentelle Untersuchungen ließen eine Potenzierung der blutzucker-senkenden Wirkung des Insulins durch Verabreichung von Biguaniden feststellen; auch steigerte dieses Mittel den Einfluß des Insulins auf den Glucoseverbrauch durch das isolierte Nebenhodenfettgewebe der Ratte (CREUTZFELD u. Mitarb., 1961; SÖLING u. Mitarb., 1961; DAWEKE u. BACH, 1963; CREUTZFELDT u. Mitarb., 1963; CORREA u. MARQUES, 1964). Bei Diabetikern kann man durch Verabreichung von Biguaniden den täglichen Insulinbedarf durchschnittlich um 25–30% herabsetzen (POMERANZE u. Mitarb., 1957; SCHILLING, 1959; FAJANS u. Mitarb., 1960; CREUTZFELDT u. Mitarb., 1963; KODEJSZKO u. Mitarb., 1963; MEHNERT, 1964). Einen unmittelbaren Einfluß der Biguanidderivate auf den Verlauf der Insulin-Belastungsprobe beim Menschen, beurteilt aus dem Verhalten des Blutzuckerspiegels, konnte man indessen nicht nachweisen (SCHILLING, 1959; FAJANS u. Mitarb., 1960). Wir hielten es daher für angezeigt, diese Untersuchungen aufzunehmen, wobei wir nach der Insulininjektion außer dem Blutzuckerwert auch noch das Verhalten anderer Plasmakomponenten, welche der Einwirkung dieses Hormons unterliegen, nämlich des anorganischen Phosphats, des Aminostickstoffs und des freien Plasma-leucins bestimmten. Ähnliche Untersuchungen führten wir auch im Verlauf der intravenösen Tolbutamid-Belastungsprobe aus. Außerdem untersuchten wir den Einfluß von Biguanidderivaten auf den Verlauf der Glykämie nach zweimaliger peroraler Glucoseverabreichung (nach STAUB-TRAUOGOTT), sowie ihren Einfluß auf den Glucoseassimilationskoeffizienten bei rascher intravenöser Injektion dieses Zuckers (CONARD, 1955).

Untersuchungsmethoden

Die Untersuchungen wurden insgesamt an 50 Diabetikern durchgeführt, bei denen die Krankheit kurz vorher diagnostiziert worden war, einen leichten Verlauf hatte und keine Insulintherapie erforderte. Die Patienten waren zunächst diätetisch behandelt worden, wodurch eine deutliche, wenn auch nicht vollständige Besserung erzielt wurde. Bei drei mit Tolbutamid behandelten Patienten wurde das Medikament eine Woche vor Beginn der Untersuchung abgesetzt. In 5 Krankengruppen zu je 9–12 Personen wurden nachstehende Belastungsproben ausgeführt:

1. Intravenöse Belastung mit 8 E. Insulin. Fettleibige Personen erhielten 12 E. Insulin. Der Blutzucker wurde nüchtern und in Abständen von je 15 Minuten anderthalb Stunden hindurch gemessen; das Plasmaniveau des anorganischen Phosphats, des Aminostickstoffs und des freien Leucins bestimmten wir nüchtern, sowie in der 30. und 60. Minute nach der Insulininjektion.

2. Intravenöse Belastung mit 1.0 g Tolbutamid. Der Blutzucker wurde nüchtern und alle 30 Minuten 2 Stunden hindurch gemessen, der anorganische Plasma-phosphor und Plasma-Aminostickstoff nüchtern und

in der 60. und 120. Minute nach der Injektion des Mittels bestimmt.

3. Doppelte perorale Glucosebelastung mit zweimal je 50 g, wobei der Blutzucker je 30 Minuten viereinhalb Stunden hindurch gemessen wurde.

4. Intravenöse Glucosebelastung mit 0.33 g pro kg Körpergewicht, mit Berechnung des Glucoseassimilationskoeffizienten nach Conard (1955):

$$K = \frac{\log C_1 - \log C_2}{t_2 - t_1} \cdot \ln 10 \cdot 100 \text{ mg}/100 \text{ ml}/\text{min}$$

worin C_1 und C_2 die Blutzuckerwerte zur Zeit t_1 bzw. t_2 bedeuten.

5. Intravenöse Glucosebelastung wie oben, ausgeführt 90 Minuten nach der peroralen Einnahme von 50 g Glucose, also während einer erhöhten Insulinausschüttung ins Blut.

Diese Belastungsproben wurden bei denselben Personen zweimal, vor und während der Phenyläthylbiguanidbehandlung ausgeführt: in der Gruppe 1 und 2 wurde das Medikament in einer Dosis von 100 mg pro die 14 Tage hindurch, in den Gruppen 3, 4, 5 in einer Gabe von 150 mg pro die 3 Tage hindurch verabreicht, wobei in allen Gruppen am Tage der zweiten Belastung 1 Stunde vor der Probe die ganze Tagesdosis des Mittels eingegeben wurde. Die „wahre“ Glucose im Kapillarblut wurde nach der Methode von KING und GARNER, der Aminostickstoff im Oxalatplasma nach RUSSEL (FRAME u. Mitarb., 1943; RUSSEL, 1944), das anorganische Phosphat im Heparinplasma nach FISKE und SUBBAROW bestimmt (alles Doppelbestimmungen). Nach Behandlung des Oxalatplasmas mit Aceton im Verhältnis 1:2 wurden die freien Aminosäuren mittels eindimensionaler absteigender Papierchromatographie in der Lösung Isopropanol:Eisessig:Wasser = 70:15:15, sowie gleichzeitig mittels zweidimensionaler absteigender Papierchromatographie in Phenol:Wasser = 4:1 und Butanol:Eisessig:Wasser = 4:1:5 getrennt. Die einzelnen Flecke wurden in 70%igem, mit Kupfersulfat gesättigtem Äthylalkohol ausgewaschen und die Farbintensität des Eluates in Mikroküvetten von 5 cm Länge im Pulfrich-Photometer (Filter S_{53}) abgelesen (IYER, 1955). In dem vorliegenden Bericht wurde das zahlenmäßige Verhalten des freien Leucins (zusammen mit dem Isoleucin) berücksichtigt, da diese Aminosäure nach Insulininjektion am stärksten abfällt (MANCHESTER u. YOUNG, 1958; CZYZYK, 1961). Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte mit der Angabe des mittleren Fehlers dargestellt.

Untersuchungsergebnisse

Als Ergebnis der Verabreichung von Phenyläthylbiguanid erhielten wir eine weitere Besserung der diabetischen Stoffwechsellage. Der Nüchtern-Blutzuckerwert sank bei 22 Personen, die 14 Tage hindurch das Medikament erhalten hatten, im Mittel von $153 \pm 10.8 \text{ mg}\%$ auf $127.3 \pm 6.0 \text{ mg}\%$, bei 28 Personen, die das Mittel 3 Tage hindurch in einer höheren Dosis

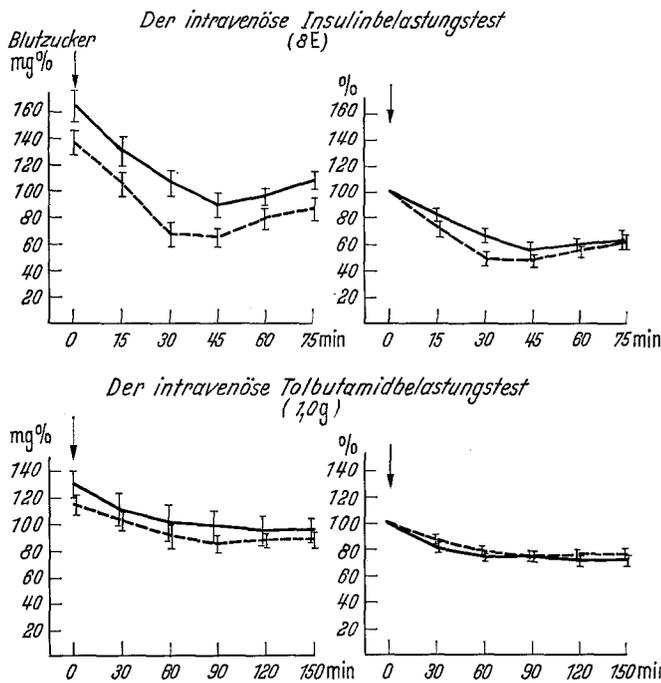


Abb. 1. Blutzuckerkurvenverlauf nach intravenöser Insulin- und Tolbutamid-Belastung bei Diabetikern vor (ausgezogene Linie) und nach 14-tägiger Behandlung mit 100 mg Phenyläthylbiguanid pro Tag (gestrichelte Linie). Am Tage des zweiten Versuches wurde 1 Stunde vor der Belastung die ganze Tagesdosis des Biguanids gegeben

erhielten, von 117.6 ± 4.3 mg% auf 107.7 ± 4.0 mg% ab. In der ersten Gruppe der Probanden traten schwache Nebenerscheinungen, wie Nachgeschmack und leichte Schmerzen im Oberbauch bei 2 Personen,

in der zweiten Gruppe bei ca. der Hälfte der Kranken auf. Bei 2 Patienten stellte sich Erbrechen ein; diese Personen wurden in der vorliegenden Zusammenstellung nicht aufgenommen.

Wenn auch die absoluten Nüchtern-Blutzuckerwerte bei Wiederholung der Belastung stets niedriger waren, so blieb der prozentuelle Wert der Blutzuckersenkung sowohl nach Insulin- als auch nach Tolbutamid-Verabreichung unverändert. Auch eine längere Anwendung des Medikaments änderte nach intravenöser Injektion von Insulin den Verlauf der Glykämie nicht. Infolge der Verabreichung von Phenyläthylbiguanid erhielten wir nur eine Verschiebung der Blutzuckerkurven auf ein niedrigeres Niveau, wobei aber weder die blutzuckersenkende Wirkung des Insulins noch die des Tolbutamids signifikant verstärkt wurde. Die Senkung des Plasmaspiegels des anorganischen Phosphats, des Aminostickstoffs und des freien Leucins war hingegen bei Wiederholung der Insulingabe stärker. Dieser Unterschied war nicht groß und statistisch nicht signifikant, was aber wohl durch die geringe Anzahl der untersuchten Personen bedingt sein könnte. Man beobachtet ihn nämlich auch beim Vergleich beider Tolbutamid-Belastungsproben.

Einen deutlichen Unterschied im Verlauf der Blutzuckerkurven stellten wir hingegen vor und während der Verabreichung von Phenyläthylbiguanid nach doppelter peroraler Glucosebelastung fest. Die mittlere Blutzuckerkurve verlief während der neuerlichen Be-

Tabelle 1. Insulin- und Tolbutamid-Belastungen bei Diabetikern vor und unter der Behandlung mit Phenyläthylbiguanid

Art des Belastungstestes	Abfall des Anorg. Plasma-Phosphats in %				Abfall des Plasma-Aminostickstoffs in %				Abfall des freien Plasma-Leucins in %		
	Nüchternwert in mg%	30 Min.	60 Min.	120 Min.	Nüchternwert in mg%	30 Min.	60 Min.	120 Min.	Nüchternwert in mg%	30 Min.	60 Min.
Insulin-belastungstest (8 E. i. v.) n = 10											
1. Kontrollversuch	3.17 ±0.21	28.6 ±6.2	25.4 ±5.9	—	5.25 ±0.16	7.2 ±1.5	13.1 ±1.9	—	3.08 ±0.21	14.0 ±4.3	23.6 ±4.0
2. Phenyläthylbiguanidbehandlung	3.25 ±0.25	35.6 ±3.6	32.1 ±5.6	—	5.68 ±0.27	10.7 ±2.0	17.6 ±2.3	—	3.05 ±0.4	16.1 ±2.9	28.4 ±1.6
Tolbutamid-Belastungstest (1,0 g i. v.) n = 10											
1. Kontrollversuch	2.86 ±0.17	—	15.1 ±3.6	9.8 ±3.5	5.14* ±0.16	—	10.4 ±2.0	11.7 ±2.1	—	—	—
2. Phenyläthylbiguanidbehandlung	2.58 ±0.22	—	17.8 ±4.7	10.4 ±3.4	5.59* ±0.25	—	15.2 ±4.7	13.6 ±3.4	—	—	—

* n = 8.

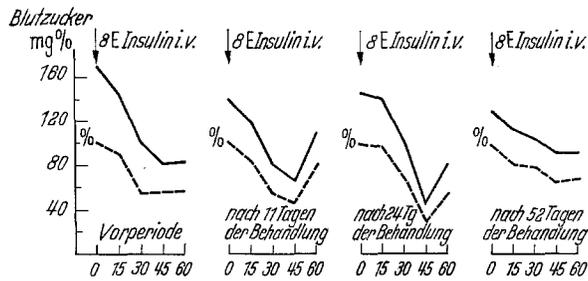


Abb. 2. Blutzuckerkurvenverlauf nach intravenösen Insulin-Belastungen bei einem Diabetiker (C.K.) während der längeren Behandlung mit Phenyläthylbiguanid

lastung bedeutend tiefer, wobei die Unterschiede der mittleren Blutzuckerwerte in der 30. und 60. Minute des Versuches statistisch signifikant waren. Dieser Unterschied der mittleren Blutzuckerwerte nahm in der späteren Versuchsphase ab.

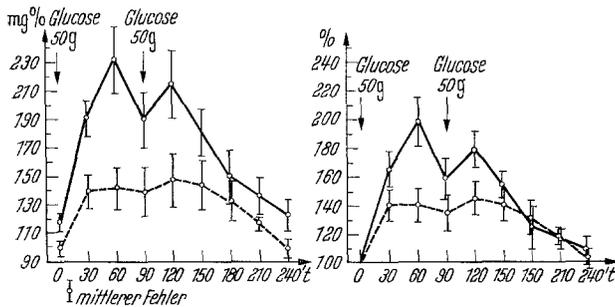


Abb. 3. Blutzuckerkurvenverlauf nach doppelter peroraler Glukose-Belastung bei Diabetikern vor (ausgezogene Linie) und nach 3-tägiger Behandlung mit 150 mg Phenyläthylbiguanid pro Tag (gestrichelte Linie). Am Tage des zweiten Versuches wurde 1 Stunde vor der Belastung die ganze Tagesdosis des Biguanids gegeben

Der Glucoseassimilationskoeffizient, sowohl nüchtern berechnet als auch 90 Minuten nach peroraler Verabreichung von 50 g Glucose, erfuhr unter dem Einfluß einer Phenyläthylbiguanidgabe keine signifikante Änderung. Besonders beachtenswert war hier die Tatsache, daß die Verabreichung von Glucose allein einen Anstieg des Mittelwertes dieses Koeffizienten zur Folge hatte (Insulinausschüttung ins Blut).

Der Versuch einer kombinierten peroralen und intravenösen Glucosebelastung stellt gewissermaßen eine Zusammenfassung der vorherigen Untersuchun-

Tabelle 2. Verlauf der intravenösen Glucosebelastungsteste bei Diabetikern unter der Phenyläthylbiguanid-Behandlung

	Glucoseassimilationskoeffizient K · 10 ⁻² mg/100 ml/Min	
	nüchtern n = 9	90 Min. nach peroraler Gabe von 50 g Glucose n = 9
Kontrollversuche unter der Phenyläthyl- gibuanid- Behandlung	0.80 ± 0.11	1.31 ± 0.10
	0.75 ± 0.07	1.24 ± 0.11

gen dar. Die Verabreichung des Phenyläthylbiguanids bewirkte in der ersten Phase der Untersuchung einen deutlichen Abfall des Blutzuckerwertes nach peroraler Glucoseabgabe; im zweiten Teil der Untersuchung hingegen war nach intravenöser Injektion von Glucose kein Einfluß auf den Verlauf der Glykämie festzustellen.

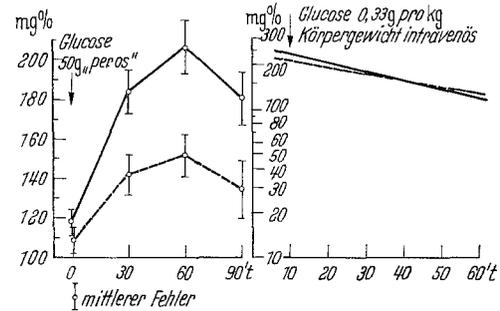


Abb. 4. Mittlere Blutzuckerkurve nach doppelter — peroraler und intravenöser Glucose-Belastung bei Diabetikern vor (ausgezogene Linie) und nach 3-tägiger Behandlung mit 150 mg Phenyläthylbiguanid pro Tag (gestrichelte Linie). Am Tage des zweiten Versuches wurde 1 Stunde vor der Belastung die ganze Tagesdosis des Biguanids gegeben

Besprechung der Ergebnisse

Der Wirkungsmechanismus der Biguanidderivate auf den Kohlehydratstoffwechsel ist noch nicht endgültig geklärt. Es wurde festgestellt, daß diese Mittel die Atmungsprozesse der Zelle hemmen, wobei dieser Effekt auf die Hemmung der Cytochromoxydase (WILLIAMS u. Mitarb., 1957; STEINER u. WILLIAMS, 1958), der Bernsteinsäureoxydase (WICK u. Mitarb., 1958), beziehungsweise der anderen Oxydationsstufen im Krebszyklus (UNGAR u. Mitarb., 1960) zurückgeführt wurde; auch die Unmöglichkeit der Verwertung der bei der Elektronenwanderung im System: NAD-FAD-Cytochrome-Cytochromoxydase entstehenden energiereichen Verbindungen zur Synthese ATP wurde dafür verantwortlich gemacht (HOLLUNGER, 1955; KRUGER u. Mitarb., 1960). Ferner wurde die Hypothese aufgestellt, daß die Biguanide direkt die Glucoseoxydation im Pentosephosphatzyklus hemmen (DITTSCHUNEIT u. Mitarb., 1961). Infolge dieser Veränderungen kommt es zu einer Steigerung der anaeroben Glykolyse und zu einer Hemmung der Glykogensynthese, was einen Abfall der Glykämie, einen Anstieg des Pyruvats und des Lactats im Blut, eine Verminderung des Leberglykogengehalts und eine Abnahme des Sauerstoffbedarfs in den Zellen bedingt (Aufhebung des Pasteureffektes) (POMERANZE u. Mitarb., 1957; CLARKE u. FORBATH, 1960; CRAIG u. Mitarb., 1960; FAJANS u. Mitarb., 1960; BUTTERFIELD u. Mitarb., 1961). Diese Veränderungen beobachtet man allerdings bei hohen Konzentrationen der Biguanide, die die nach therapeutischen Gaben im Gewebe bestehende Konzentration bedeutend übersteigen (TRANQUADA, 1961). Ferner stellte man eine Abhängigkeit zwischen den durch die Biguanidderivate hervorgerufenen Veränderungen und der Konzentration des

Medikaments im Medium fest. In kleiner Dosis begünstigen die Biguanidderivate die Glukoseoxydation durch das Nebenhodenfettgewebe der Ratte; in größerer Konzentration hingegen hemmen sie diesen Prozeß (SCHÄFER u. MEHNERT, 1962; DAWEKE u. BACH, 1963; MEHNERT, 1964; CORREA u. MARQUES, 1964). Es wurde auch gezeigt, daß die erwähnten Mittel die physiologische Wirkung kleiner Mengen von Insulin auf den Glucoseverbrauch durch das Fettgewebe verstärken, die Wirkung höherer Gaben dieses Hormons hingegen hemmen (DAWEKE u. BACH, 1963). Zu widersprechenden Ergebnissen führten Untersuchungen an eviszerierten und nephrektomierten Versuchstieren. Bei Ratten wurde die blutzuckersenkende Wirkung von Butylbiguanid nur in Gegenwart von Insulin beobachtet (CREUTZFELDT u. Mitarb., 1961), während bei Kaninchen nach ausschließlicher Verabreichung dieses Biguanidderivates ein erhöhter Verbrauch von Glucose, von Aminostickstoff und Fettsäuren erzielt wurde, was darauf hindeuten kann, daß die besprochenen Mittel auf den „aktiven“ Transport der erwähnten Metaboliten in das Zellinnere einen unmittelbaren Einfluß haben (MOHNIKE, 1963; LIPPMANN, 1963 u. 1964). Während der isolierten Perfusion des Unterarmes beim Menschen wurde unter dem Einfluß des Phenyläthylbiguanids eine Senkung der Permeabilitätsschwelle für Glucose in das Gewebe und eine Potenzierung der Insulinwirkung auf dieses Phänomen festgestellt (BUTTERFIELD u. WHICHELOW, 1962). In der Literatur finden sich nur wenige Berichte, die den Verlauf der Belastungsprobe mit Insulin bzw. mit Glucose während der Behandlung von Diabetes mellitus mit Biguanidderivaten betreffen, wobei die einzelnen Beobachtungen meistens nur kleine, wenige Patienten umfassende Gruppen behandeln (POMERANZE u. Mitarb., 1957; SCHILLING, 1959; CRAIG u. Mitarb., 1960; FAJANS u. Mitarb., 1960; GUTSCHE, 1960; BUTTERFIELD u. Mitarb., 1961). Sowohl SCHILLING (1959) als auch FAJANS u. Mitarb. (1960) stellten keine Potenzierung der blutzuckersenkenden Wirkung des Insulins durch Biguanidderivate fest. Was die perorale Doppelbelastung mit Glucose anlangt, so fand GUTSCHE (1960) bei 21 Altersdiabetikern, welche mit Butylbiguanid behandelt waren, eine Erniedrigung der Glykämie während der zweiten Belastung im Mittel um 12%, allerdings ohne Modifikation des diabetischen Kurvenverlaufs. Im Vergleich zu den eigenen Untersuchungen handelte es sich aber in diesen Versuchen um Patienten mit deutlich höheren mittleren Blutzuckerwerten, wobei alle Probanden in einer Gruppe, unabhängig von dem Ergebnis der Biguanidbehandlung, erfaßt wurden. Bemerkenswert ist aber in GUTSCHE'S Untersuchungen eine Abflachung des ersten Gipfels der Blutzuckerkurve nach doppelter peroraler Glucosebelastung bei 6 stoffwechselgesunden Versuchspersonen, welche vorher 14 Tage hindurch Butylbiguanid in einer Dosis von 150–200 mg pro Tag bekamen (GUTSCHE, 1960). Auch in den Mitteilungen anderer Verfasser verliefen die mittleren Blutzuckerkurven nach peroraler Glucosegabe wäh-

rend der Verabreichung von Biguanidderivaten niedriger als die Kontrollkurven; mit Rücksicht auf die geringe Anzahl der Probanden in den einzelnen Gruppen kann man diese Unterschiede nicht einwandfrei beurteilen (POMERANZE u. Mitarb., 1957; SCHILLING, 1959; FAJANS u. Mitarb., 1960; BUTTERFIELD u. Mitarb., 1961). In unseren Untersuchungen stellten wir keine Potenzierung der hypoglykämisierenden Wirkung des Insulins durch Biguanidderivate fest, wobei wir diese Erscheinung sowohl in Bezug auf das exogene als auch auf das endogene Insulin beobachteten, das nach der Verabreichung von Tolbutamid bzw. Glucose in erhöhter Konzentration im Blut auftritt. Gleichzeitig legen aber Untersuchungen, die das Verhalten von anorganischem Phosphat, von Aminostickstoff und von freiem Leucin im Plasma betreffen, die Vermutung nahe, daß unter dem Einfluß des Phenyläthylbiguanids andere Insulineffekte stärker eintreten, wie etwa der Einfluß auf die Phosphorylierung und auf den Aminosäurenverbrauch. Die Frage steht jedoch weiterhin offen, ob es sich dabei um eine Wirkung der Biguanidderivate durch Vermittlung des Insulins handelt, oder aber ob dies eine unmittelbare Wirkung ist, wie etwa der „aktive“ Transport in das Innere der Zelle (MOHNIKE, 1963; LIPPMANN, 1964). Beachtenswert ist der festgestellte Unterschied im Verlauf der Blutzuckerkurve nach peroraler und intravenöser Verabreichung von Glucose während einer Phenyläthylbiguanidbehandlung. Unsere Beobachtungen über das Verhalten des K-Wertes während der Biguanidbehandlung stehen in Übereinstimmung mit der Mitteilung von MADISON und UNGER (1960), welche nach Verabreichung von Phenyläthylbiguanid keinen Anstieg des Unterschiedes zwischen arteriellem und venösem Blutzuckerwert fanden. Die deutliche Abflachung der Blutzuckerkurve nach doppelter peroraler Glucosegabe, insbesondere die Abflachung der ersten Kurvenspitze bei unverändertem Glucoseassimilationskoeffizienten könnte entweder durch die Einwirkung von Phenyläthylbiguanid auf die gastrointestinale Motilität, auf die intestinale Glucoseabsorption oder auch auf die Glucoseabgabe durch die Leber gedeutet werden. CREUTZFELDT u. Mitarb. (1962) fanden nach subkutaner Injektion der hohen Dosen von Butylbiguanid bei Ratten eine mäßige Verlängerung der Magenentleerungszeit. Allerdings weist der in eigenen Versuchen festgestellte Blutzuckerkurvenverlauf mit zwei ange deuteten Kurvenspitzen und einer deutlichen Senkung des Blutzuckerspiegels gegen Ende der Belastung darauf hin, daß die Verlangsamung der Magenentleerung keinen wesentlichen Einfluß auf die gefundene Modifikation des Blutzuckerkurvenverlaufes ausüben kann. Die Untersuchungen über den Einfluß des Phenyläthylbiguanids auf die Glucoseabgabe durch die Leber beim Menschen haben zu keinem einheitlichen Ergebnis geführt (TRANQUADA u. Mitarb., 1960). Die Deutung der Abflachung der Blutzuckerkurve nach peroraler Glucosegabe durch die Störung der Glucoseabsorption im Dünndarm scheint somit besonders

suggestiv. Die bisherigen Versuche haben in dieser Hinsicht keine eindeutige Antwort gegeben. Wenn BIRO u. Mitarb. (1961) unter dem Einfluß des Phenyläthylbiguanids eine markante Verminderung der intestinalen Glucoseabsorption bei Ratten fanden, so stellten CREUTZFELDT u. Mitarb. (1962) bei Anwendung von Butylbiguanid diesen Effekt nur in geringem Grade fest. Quantitative Untersuchungen über die Einwirkung von Phenyläthylbiguanid auf die Glucoseabsorption im Dünndarm beim Menschen liegen nicht vor. Da es sich hier um einen aktiven Transportprozeß handelt, welcher vom ATP-Gehalt in den Dünndarmzellen abhängt, ist eine spezifische Störung dieses Prozesses durch bestimmte Biguanidderivate durchaus denkbar. Der Zusammenhang zwischen dieser eventuellen Störung und dem therapeutischen Effekt der Biguanide beim Diabetes mellitus stellt natürlich ein anderes Problem dar.

Schlußfolgerungen

1. Der Verlauf der Blutzuckerkurve erfuhr nach intravenöser Belastung mit Insulin bzw. mit Tolbutamid unter dem Einfluß der Verwendung von Phenyläthylbiguanid eine Senkung als Ganzes, während aber der Prozentsatz der Blutzuckersenkung unverändert blieb.

2. Die nach Verabreichung von Insulin bzw. Tolbutamid beobachtete normale Senkung des anorganischen Phosphats, Aminostickstoffs und des freien Leucins im Plasma erhöhte sich unmerklich bei gleichzeitiger Verabreichung von Phenyläthylbiguanid.

3. Die einer peroralen einfachen und doppelten 50 g-Glucosebelastung entsprechende Blutzuckerkurve erfuhr bei Anwendung von Phenyläthylbiguanid eine deutliche und statistisch signifikante Erniedrigung, wobei diese Erniedrigung in der 1. Stunde der Untersuchung eintritt.

4. Der Glucoseassimilationskoeffizient, der nüchtern und 90 Minuten nach peroraler Einnahme von 50 g Glucose bestimmt wurde, erfuhr unter dem Einfluß der Anwendung von Phenyläthylbiguanid keine wesentliche Änderung, während die Verabreichung der Glucose allein indessen einen deutlichen Anstieg des Wertes dieses Koeffizienten zur Folge hatte.

5. Die Änderung des Blutzuckerkurvenverlaufs nach peroraler Glucosegabe bei unverändertem Glucoseassimilationskoeffizienten läßt wohl eine Wirkung von therapeutischen Dosen von Biguaniden im Bereich: Dünndarm — Leber vermuten.

Wir möchten der Firma Winthrop für die Überlassung von Phenyläthylbiguanid (Dibotin) und der Firma Hoechst für die Bereitstellung von Tolbutamid (Rastinon) zur intravenösen Applikation unseren Dank aussprechen.

Literatur

BIRO, L., T. BANYASZ, M. B. KOVACS und M. BAJOR: Die Wirkung des Phenyläthylbiguanids auf die Glucoseabsorption. *Klin. Wschr.* **39**, 760—762 (1961).

- BUTTERFIELD, W. J. H., I. Fry KELSEY and J. M. WHICHELOW: The hypoglycemic action of phenformin. *Studies in diabetics after short-term therapy. Lancet* **1961 II**, 563—567
- , and J. M. WHICHELOW: Effect of phenformin on glucose metabolism in peripheral tissues. *Diabetes* **11**, 281—286 (1962).
- CLARKE, D. W., and N. FORBATH: The effects of phenformin on the isolated rat diaphragm. *Diabetes* **9**, 167—169 (1960).
- CONARD, V.: *Mesure de l'assimilation du glucose. Bases théorétiques et applications cliniques. Acta med. belg.* Ed. Bruxelles, 1955.
- CORREA, P. R., and M. MARQUES: Influence of phenethylbiguanid (DBI) concentration in medium upon isolated fat tissue activity. *Metabolism* **13**, 496—498 (1964).
- CRAIG, J. W., M. MILLER, H. WOODWARD jr. and E. MERK: Influence of phenethylbiguanide on lactic, pyruvic and citric acids in diabetic patients. *Diabetes* **9**, 186—193 (1960).
- CREUTZFELDT W., U. DEUTICKE und H. D. SÖLING: Potenzierung der Wirkung von exogenem Insulin durch N-(4-Methylbenzolsulfonyl)-N'-butylcarbamid und N₁-n-Butylbiguanid beim eviszerierten Tier. *Klin. Wschr.* **39**, 790—795 (1961).
- , H. D. SÖLING, A. MOENCH, E. RAUCH und M. BOL: Die Wirkung von N₁-n-Butylbiguanid (W 37) und N₁-B-Phenyläthylbiguanid (W 32) auf den Alloxan- und Phlorizin-Diabetes und die intestinale Glucoseabsorption von Ratten. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **244**, 31—47 (1962).
- — and Z. ZARDÁY: The combined use of insulin, tolbutamide and biguanides in the treatment of diabetes mellitus. Clinical significance and experimental findings. *Metabolism* **12**, 264—277 (1963).
- CZYZYK, A.: Über das Verhalten des Aminostickstoffs und der freien Aminosäuren im Plasma beim Diabetes mellitus. *Z. ges. inn. Med.* **16**, 196—203 (1961).
- DAWEKE, H., and J. BACH: Experimental studies on the mode of action of biguanides. *Metabolism* **12**, 319—332 (1963).
- DITSCHUNEIT, H., W. LOTZ, W. FRITSCHE und E. F. PEIFFER: Über den Wirkungsmechanismus blutzuckersenkender Biguanide. *4^{ème} congrès de la F. I. D.* Ed. Médecine et Hygiène, Genève, 1961, S. 740—743.
- FAJANS, S. S., J. A. MOORHOUSE, H. DOORENBOS, L. H. LOUIS and J. W. CONN: Metabolic effects of phenethylbiguanide in normal subjects and diabetic patients. *Diabetes* **9**, 194—201 (1960).
- FRAME, E. G., J. A. RUSSELL and A. E. WILHELMI: The colorimetric estimation of amino nitrogen in blood. *J. biol. Chem.* **149**, 255—270 (1943).
- GUTSCHE, H.: Beeinflussung des Staub-Traugott-Effektes bei Biguanidbehandlung, in F. BERTRAM und G. MICHAEL, Internationales Biguanid-Symposium, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1960, S. 102—110.
- HOLLUNGER, G.: Guanidines and oxidative phosphorylations. *Acta pharmacol.* **11**, 1—84 (1955).
- IYER, G. J. N.: Estimation of free amino acids in normal human plasma by paper chromatography. *Indian J. med. Res.* **43**, 189—193 (1955).
- KODEJSZKO, E., W. OKNINSKI and L. KARWOWSKA-STAUZER: Leczenie cukrzycy pochodnymi biguanidu. *Pol. Tyg. lek.* **18**, 4—8 (1963).
- KRUGER, F. A., T. G. SKILLMAN, G. J. HAMWI, R. C. GRUBBS and N. DANFORTH: The mechanism of action of hypoglycemic guanidine derivatives. *Diabetes* **9**, 170—179 (1960).
- LIPPMANN, H. G.: Die Wirkung von N₁-n-Butylbiguanid (H 224) auf den Blutzpiegel von Glucose, anorganischem Phosphat, Alpha-Aminostickstoff, Kalium- und

- Calcium-Ionen stoffwechselgesunder und diabetischer Hunde. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. **245**, 451—456 (1963).
- Verteilungsräume für Glucose, Glucoseanaloge, Alpha-Aminostickstoff und freie Fettsäuren unter der Wirkung von N₁-n-Butylbiguanid am eviscerierten, nephrektomierten Tier. Acta biol. med. german. **12**, 104—125 (1964).
- MADISON, L.L., and R. H. UNGER: Effect of phenformin on peripheral glucose utilization in human diabetic and nondiabetic subjects. Diabetes **2**, 202—206 (1960).
- MANCHESTER, K.L., and F.G. YOUNG: The effect of insulin on incorporation of amino acids into protein of normal diaphragma in vitro. Biochem. J. **70**, 353—358 (1958).
- MEHNERT, H.: Experimentelle und klinische Untersuchungen mit oralen Antidiabetica vom Typ der Biguanide. Fortschr. Med. **22**, 277—282 (1964).
- MOHNKE, G.: L'étude du mécanisme d'action des dérivés de la guanidine. Journées Annuelles de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu **4**, 101—105 (1963).
- POMERANZE, J., H. FUJII and G.T. MOURATOFF: Clinical report of a new hypoglycemic agent. Proc. Soc. exp. Biol. **95**, 193—194 (1957).
- RUSSELL, J.A.: Note on the colorimetric determination of amino nitrogen. J. biol. Chem. **156**, 467—468 (1944).
- SCHÄFER, G., und H. MEHNERT: Vergleichende Untersuchungen von Biguaniden auf die Glucoseoxydation am epididymalen Fetthanhang der Ratte und am subkutanen Fettgewebe des Menschen. Klin. Wschr. **40**, 654—655 (1962).
- SCHILLING, I.: Über die orale Behandlung des Diabetes mellitus mit Biguaniden. I. und II. Mitteilung. Z. ges. inn. Med. **14**, 705—711 u. 753—759 (1959).
- SÖLING, H.D., F. ANDREU-KERN, H. WERCHAU und W. CREUTZFELDT: Die Wirkung einer Kombination von N₁-beta-Phenyläthylbiguanid (DBI, W 32) mit Insulin und Tolbutamid (D 860) auf den Stoffwechsel des Meerschweinchen. Klin. Wschr. **39**, 1080—1083 (1961).
- STEINER D.F., and R.H. WILLIAMS: Respiratory inhibition and hypoglycemia by biguanide and decamethylenediguanidine. Biochim. biophys. Acta **30**, 329—340 (1958).
- TRANQUADA, R.E., Ch. KLEEMAN and J. BROWN: Some effects of phenethylbiguanide on human hepatic metabolism as measured by hepatic vein catheterization. Diabetes **9**, 207—214 (1960).
- The mechanism of action of phenethylbiguanide. 4^{ème} congrès de la F.I.D., Ed. Médecine et Hygiène, Genève, 1961, S. 716—717.
- UNGAR, G., S. PSYCHOYOS and H. A. HALL: Action of phenethylbiguanide, a hypoglycemic agent, on tricarboxylic acid cycle. Metabolism **9**, 36 (1960).
- WICK, A.N., E.R. LARSON and G.S. SERIF: Site of action of phenethylbiguanide, a hypoglycemic compound. J. biol. Chem. **233**, 296—298 (1958).
- WILLIAMS, R.H., J.M. TYBERGHEIN, P.M. HYDE and R.L. NIELSEN: Studies related to the hypoglycemic action of phenethylbiguanide. Metabolism **6**, 311—319 (1957).

Doc. Dr. med. ARTUR CZYZYK
Warszawa/Polen
ul. Koszykowa 14 m. 4.