岡山醫學會雜誌第四百四十九號

昭和2年6月30日發行

OKAYAMA-IGAKKAI-ZASSHI

Jg. 39, Nr. 6 (Nr. 449), Juni 1927

原 著

Studien über das Phlorhizin. (IV. Mitteilung)

Von

Keizo Misaki.

Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium, Okayama

(Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu).

Eingegangen am 28. Februar 1927.

Dass die Glykosurie bei Phlorhizinzufuhr auf der Permeabilitätsänderung der Niere für den Zucker beruht, ist allgemein anerkannt.

In den vorigen Mitteilungen habe ich berichtet, dass ein Atom Phlorhizin in methylalkoholischer Lösung zwei Atome Brom addiert und dass ich schöne kristallisierende Dibromphlorhizin (1925)¹⁾ erhalten habe.

Aus dem Dibromphlorhizin wurde durch Bromspaltung die neue Substanz Hexabromphloretin (1926)²⁾ und durch Alkalispaltung zwei neue Substanzen Bromphloretinsäure und Bromphlorin (1925)³⁾ hergestellt. Aus den Daten hervorgeht, dass die Spaltungsprodukte des Phlorhizins, Phloretin und Phlorin, glykosurisch wirken; dagegen Phloretinsäure und Phlorogluzin nicht, habe ich darauf hingewiesen, dass die glykosurische Wirkung des Phlorhizins auf der Bindungsweise der Phlorhizinkomponenten zu beruhen scheint. Deswegen habe ich versucht, die Bromatome des Dibromphlorhizins durch eine andere Atomgruppe zu substituieren, damit ich das Wesen der glykosurischen Wirkung des Phlorhizins in chemischem Sinne einsehen kann. Aber leider ist es mir misslungen, weil das Dibromphlorhizin durch irgend eine Behandlung leicht in seine Komponente Bromphloretin und Zucker gespalten worden ist.

Betreffs der glykosurischen Wirkung habe ich in vorigem Versuch (1925)⁴⁾ bewiesen, dass dieselbe durch Bromierung bedeutend erleichtert wird, da ja bei einer Injektion von 0.2 gm Phlorhizin der Harn des Kaninchens nach 10 Stunden noch 2.12% Zucker enthält, während bei einer von 1 gm Dibromphlorhizin der Harn schon nach 10 Stunden ganz frei von Zucker ist.

Betreffs der Untersuchung der glykosurischen Wirkung von Phlorhizinderivaten habe ich auch Halogenderivat wie Dijodphlorhizin in den Kreis der Beobachtung gezogen.

In diesem Sinne habe ich in Methylalkoholische Lösung von Phlorhizin eine berechnete Menge Jod unter Abkühlung gebracht und schönes kristallisierendes Dijodphlorhizin hergestellt. Aus diesem Dijodphlorhizin wurde durch Bromspaltung anstatt Jodphloretin Hexabromphloretin gewonnen. Aus diesem Befund kann man sehen, dass Dijodphlorhizin im Verhältniss zu Dibromphlorhizin sehr labil ist, dass bei der Behandlung mit Brom die Jodatome des Dijodphlorhizins mit den Bromatomen ausgetauscht wurden, und dass weiter durch das überschüssige Brom das Hexabromphloretin gewonnen wurde. Bei der Alkalisplaltung des Dijodphlorhizins erhielt man jodfreie Phloretinsäure. Das weist darauf hin, dass das Dijodphlorhizin gegen Alkalien wie Baryt viel unbeständiger ist als Dibromphlorhizin.

In Bezug auf die glykosurische Wirkung habe ich bewiesen, dass das Dijodphlorhizin auch glykosurisch wirkt, und dass diese Wirkung auch wie die des Dibromphlorhizins viel schwächer ist als die des Phlorhizins selbst. Durch diese Tatsachen ist man zu der Ansicht gekommen, dass die glykosurische Wirkung des Phlorhizins durch die teilweise Bromierung und Jodierung stark herabgesetzt wird. Auch bei dem Dijodphlorhizin ist es mir nicht gelungen, einige Substitutionsprodukte zu erhalten, weil das Dijodphlorhizin labiler gegen Chemikalien ist als das Dibromphlorhizin.

Experimenteller Teil.

I. Herstellung des Dijodphlorhizins.

25 g gereinigtes, kristallwasserfreies, ganz getrocknetes Phlorhizin wurden in 125 cc von über geglühtem Kupfersulfat destilliertem Methylalkohol gelöst und 27 g durch Sublimation gereinigtes Jod in methylalkoholischer Lösung, unter Kühlung bei -5° — -10°C . und unter starkem Schütteln, tropfenweise zugefügt. Die Lösung färbte sich schmutzig violett. Nach dreistündigem Stehen dieser Lösung in Kältemischung wurde das vier fache Volumen eiskalten Wassers zugesetzt. Da schieden sich schöne, in gelbe Nadeln kristallisierende Massen aus. Die rohe Ausbeute betrug ca. 34 g. Die rohe Substanz wurde in möglichst wenig Methylalkohol gelöst, auf ca. 40°C . erwärmt und unter Zusatz von warmem (40°C) Wasser, bis keine Trübung in der Lösung mehr stattfand, umkristallisiert. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus lauwarmem Methylalkohol erhält man schöne gelbe Nadeln. Die Substanz löst sich

leicht in Methylalkohol und Essigäther, aber nicht in Aether, Chloroform, Benzol, Tetrachlorkohlenstoff und Schwefelkohlenstoff. In Wasser ist sie in der Hitze nur schwer löslich. Gegen Millonssches Reagens, Eisenchloridlösung und alkoholische Vanillinsalzsäurelösung verhält sie sich ähnlich wie Dibromphlorhizin. Durch Veraschung mit Sodasalpeterminischung wurde die Anwesenheit des Jodes in der Substanz mittelst der Salpetersäure und des Chloroforms festgestellt. Getrocknet in Vakuum von 80°—90C. schmilzt sie, unter Sinterung bei 125°C, bei 173°C. In 0.8%-iger methylalkoholischer Lösung ist die Drehung -0.38° woraus sich die spec. Drehung ergibt

$$\alpha_D^{14^\circ} = \frac{0.38 \cdot 100}{1 \cdot 0.8} = -47.5.$$

Analyse (T. Saiki):

0.1776 g Substanz gaben 0.2662 g CO₂ und 0.0536 g H₂O

C H J O	Berechnet	C 36.62%,	H 3.22%
	Gefunden	C 36.73%,	H 3.57%

Diese Daten stimmen gut mit der Zusammensetzung eines Dijodphlorhizins C₂₁H₂₂J₂O₁₀ überein.

II. Bromspaltung an Dijodphlorhizin.

Durch diese Spaltung hoffte ich einerseits dieselben Produkte zu erzielen, die in meinem früheren Experiment bei Dibromphlorhizin unter gleichen Umständen auftraten, andererseits den Zucker Gehalt des Dijodphlorhizins quantitativ zu bestimmen, um den oben angeführten Analysenwert zu bestätigen. Aber die Spaltung an Dijodphlorhizin ist wider Erwarten ganz anders verlaufen, und ich habe dabei aus einem durch 6 Atome Brom versetzten Körper Hexabromphlorethin und d-Glukose erhalten und zwar letztere fast quantitativ gewonnen. Hierdurch habe ich festgestellt, dass das Dijodphlorhizin ein Mol d-Glukose als seinen Komponenten enthält. Diese Tatsache stimmt recht gut mit den oben erwähnten Analysenwert überein. Hierbei ist zu bemerken, dass das überschüssige Jod keine spaltende Wirkung auf das Dijodphlorhizin hat.

Methodik.

2.0286 g Dijodphlorhizin wurden in einen gut getrockneten Scheidetrichter eingetan, mit genau 100.0 cc mit Aether gesättigtem Wasser versetzt und darauf wurden 100.0 cc mit Wasser gesättigter Aether zugegeben. Dann wurde allmählich

Brom unter starkem Schütteln eingetropft, bis die Substanz sich vollständig aufgelöst hatte.

Die wässrige Lösung wurde mehrmals mit erneutem Aether geschüttelt bis sie ganz wasserklar blieb. Die wässrige Lösung dreht in 2-dm Rohr $+0.58^\circ$, woraus sich die Prozente in Glukose 0.5131% : 0.5131 g Glukose ergeben.

Eine Reduktionsbestimmung nach Bertrand:

20.0 cc von 10-fach verdünnter wässriger Lösung ergaben 22.8 mg Cu, woraus sich der Zuckergehalt in totaler Lösung 0.56 g d-Glukose ergibt. Aus diesem Ergebnis kann man wohl sehen, dass die berechnete Zuckermenge (0.5306 g d-Glukose aus 2.0286 g Dijodphlorhizin) durch die Bromspaltung fast quantitativ gefunden wird.

Aus der ätherischen Lösung habe ich durch dieselbe Methode wie bei Dibromphlorhizin schöne Nadelkristalle erhalten. Der Kristall wurde aus dem warmen Methylalkohol unter Zusatz von Wasser umkristallisiert. Dadurch habe ich schwach violettrot gefärbte, lange seidenglänzende Nadeln erhalten. Der Kristall ist leicht löslich in Alkohol, Eisessig, Aceton, Essigäther und Amylalkohol. In heissem Wasser ist er leicht löslich, schwer aber in kaltem Wasser, Chloroform und Benzol. Er ist bromhaltig, aber enthält nicht Jod. Sm. P. $149^\circ - 150^\circ\text{C}$.

Analyse (T. Saiki):

0.1706 g Substanz gaben 0.1469 g CO_2 und 0.0258 g H_2O

$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_6\text{Br}_6$	Ber.	C	24.06%,	H	1.08%
	Gef.	C	24.49%,	H	1.69%

Diese Daten bewiesen, dass die Substanz Hexabromphlorethin ist.

III. Alkalisplaltung an Dijodphlorhizin.

12 g Dijodphlorhizin wurden in 160 cc 12.5% salpetrigesäurefreier Lösung von Bariumhydroxyd gelöst und auf den siedenden Wasserbade ca. 9 Stunden unter Rückflusskühler erhitzt. Das bräunlich schwarz gefärbte Reaktionsgemisch wurde mit 10%-iger Schwefelsäure auf Kongo angesäuert und die Fällung von Bariumsulfat abfiltriert. Das Filtrat wurde in Scheidetrichter mit erneutem Aether mehrmals unter Schütteln extrahiert.

Aus der ätherischen Lösung habe ich beim Verdunsten in Zimmertemperatur eine ölige Substanz erhalten, die aus heissem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert werden kann. Die Substanz kristallisiert aus heissem Wasser in prachtvollen lange Säulen, sie ist nicht jodhaltig, aber zeigt deutlich die Millonssche Reaktion.

Sie löst sich leicht in Aether, Alkohol und in heissem Wasser, aber schwer in kaltem Wasser, Chloroform und Benzol. In Sodalösung ist sie unter CO_2 -entwicklung löslich. Sm. P. 128°C .

Elementalanalyse ergab folgenden Wert.

0.1060 g Substanz gaben 0.2520 g CO_2 und 0.0534 g H_2O

$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	Ber.	C	65.02%,	H	6.06%
	Gef.	C	64.83%,	H	6.16%

Die Analysenwerte stimmen recht gut mit der Zusammensetzung einer p-Oxyphenylpropionsäure überein.

Den anderen Komponenten Phlorin aus der wässerigen Lösung zu isolieren, ist mir leider misslungen.

IV. Physiologische Wirkung des Dijodphlorhizins.

In der vorigen Mitteilung habe ich berichtet, dass die glykosurische Wirkung des Phlorhizins durch Bromierung sehr stark herabgesetzt wird. Der Zuckergehalt des Blutes bei der Injektion des Dibromphlorhizins ist weder vermehrt noch vermindert wie bei der des Phlorhizins.

Da habe ich das Dijodphlorhizin untersucht, ob es auch in gleichem Grad glykosurisch wirkt wie das Dibromphlorhizin bei dem Kaninchen, damit ich einen Einblick in das Wesen des glykosurisch wirkenden Phlorhizins erhalte.

Versuch:

0.2—0.8 g Dijodphlorhizin wurden einem Kaninchen in Suspension in 20 cc Olivenöl subcutan injiziert und der Harn wurde nach 6 Stunden durch Katheterisierung untersucht. Der Zuckergehalt im Harn wurde durch die Reduktionsprobe und Polarisation festgestellt. Zur Kontrolle habe ich immer vor dem Versuch in gleicher Weise den Zucker im Harn untersucht. Den Zuckergehalt des Blutes habe ich nach Bangsches Methode bestimmt.

Wie aus dem Versuch I ersichtlich ist, ist der Harn bei der Injektion des 0.2 g Dijodphlorhizins zuckerhaltig und erst nach 12 Stunden ganz frei von Zucker. Aber bei der Injektion des 0.5—0.8 g Dijodphlorhizins ist der Zucker im Harn auch nach 12 Stunden noch nachweisbar.

Versuch I. bei Dijodphloreizin.

Nr.	Körpergewicht in Kg.	Reaktion des Harns	Menge des Harn in ccm.	Trommeters u. Nylanders probe	Drehung in 2-dm Rohr bei 6/5-Verdünnung	als Zuckergehalt in %	Dijodphlorhizin in g.	Bemerkungen.
1	3.020	alkal.	56	+	0.21	0.22	0.2	Jod spur (+) Nach 12 St. Zuckerfrei.
2	"	"	41	+	0.77	0.80	0.5	Jod stark (+). Nach 12 St. Harn 20 cc Zuckerfrei.
3	2.250	"	44	+	0.69	0.73	0.5	Jod (+) Nach 12 St. Harn 29 cc Zucker (+)
4	3.020	"	61	+	0.88	0.92	0.8	Jod (+) Nach 12 St. Harn 30 cc 0.18% Zucker
5	1.630	"	50	+	0.76	0.80	0.5	Jod (+) Nach 12 St. Harn 31 cc 0.052% Zucker

Versuch II. bei Phloroizin.

1	3.025	alkal.	68	+	1.12	1.17	0.8	Nach 12 St. Harn 34 cc 0.222% Zucker.
2	"	"	62	+	0.84	0.90	0.5	Nach 12 St. Harn 29 cc 0.19% Zucker.
3	"	"	61	+	0.64	0.67	0.2	Nach 12 St. Harn Zuckerfrei

Wenn man die Versuche I und II vergleicht, sieht man, dass der Zuckergehalt im Harn 6 Stunden nach der Injektion viel geringer bei Dijodphlorhizin als bei Phlorhizin ist. Trotzdem Dijodphlorhizin eine unbeständige Verbindung ist, wird die glykosurische Wirkung des Phlorhizins durch die Addierung von Jod stark herabgesetzt. Aber diese die glykosurische Wirkung herabsetzende Eigenschaft der Jodaddierung wirkt viel schwächer als die der Bromierung.

Tabelle II. Zuckergehalt des Blutes von Kaninchen bei der Injektion des Dijodphlorhizins.

Nr.	Körpergewicht in Kg	Jodphlorhizin gm	Blutzuckergehalt (%)							
			vor	1/2	1	2	3	4	5	6
1	3.020	0.5	0.097	0.119	0.099	0.101	0.095	0.095	0.099	0.097
2	2.250	0.5	0.088	0.110	0.089	0.089	0.091	0.092	0.087	0.089
3	3.020	0.8	0.095	0.118	0.098	0.094	0.094	0.095	0.096	0.096

Aus der Tabelle II kann man sehen das der Zuckergehalt des Blutes bei Injektion des Dijodphlorhizins wie bei Phlorhizin und Dibromphlorhizin unverändert bleibt.

Literatur:

Misaki, The Journal of Biochemistry, 5, 1 (1925). Misaki, The Journal of Biochemistry, 5, 9 (1925). Misaki, The Journal of Biochemistry, 5, 9 (1925). Misaki, The Journal of Biochemistry, 5, 287 (1925).

内 容 大 意

「フロリチン」糖尿作用ニ就テ 第四報告

岡山醫科大學醫化學教室 (主任清水教授)

御 前 慶 造

「フロリチン」糖尿ハ腎臟ノ糖通過力ノ變化ニ起因スルモノナルコトハ現今一般ノ承認スル所ナリ。著者ハ前ニ「フロリチン」ノ糖尿作用ハソノ構子ノ結合方法ノ如何ニヨルモノナラントノ見解ノ下ニコレガ作用本態ノ研究ヲ企テ一分子ノ「フロリチン」ニ一定條件ノ下ニ二分子ノ臭素ヲ作用セシメ二臭素「フロリチン」ヲ得、コノモノハ過剰ノ臭素ニヨリー分子ノ葡萄糖ト六臭素「フロレチン」ニ分解シ又「アルカリ」分解ニヨリテ「ブロームフロレチン」酸ト「ブロームフロリ」トヲ得タリ。之ヲ動物ニ注射スルニ殆ド糖尿作用ヲ用セザルヲ認メ之ヲ報告セリ。

更ニ一分子ノ「フロリチン」ニ二分子ノ沃度ヲ作用セシメ二沃度「フロリチン」ヲ得之ヲ過剰ノ「ブローム」ニヨリ分解シテ沃度ノ代リニ「ブローム」ノ餡入セル六臭素「フロレチン」ト葡萄糖ヲ得又「アルカリ」ニテ分解シ沃度ヲ含有セザル「フロレチン」酸ヲ得タリ、之ヲ動物ニ注射セルニソノ糖尿作用ハ「フロリチン」ニ比シテ遙ニ弱ク血糖ニ對シ殆ド影響スル所ナキヲ認メタリ。