

# ACTH와 Picrotoxin에 의한 血糖과 血漿 Corticosterone 値의 變動에 미치는 Chlordiazepoxide의 影響

高麗大學校 醫科大學 藥理學教室

金 永 規 · 申 萬 鍊

= Abstract =

## Influence of Chlordiazepoxide on the Changes of Blood Sugar and Plasma Corticosterone Level Induced by ACTH and Picrotoxin in Mice

Young Gyu Kim, M.D., Man Ryun Shin, M.D.

*Department of Pharmacology, College of Medicine, Korea University*

Marc et al. reported that diazepam increased plasma corticosterone level and Dasgupta et al. suggested that chlordiazepoxide(CDP) suppressed the adrenal response to ACTH.

In this paper, the influence of CDP on the changes of blood sugar and plasma corticosterone level induced by ACTH and picrotoxin were investigated in male mice.

The results obtained were summarized as follows;

- 1) The blood sugar and plasma corticosterone level were increased by CDP, ACTH, and picrotoxin, respectively.
- 2) The hyperglycemia induced by ACTH and picrotoxin were not affected by the CDP pretreatment.
- 3) The increase of plasma corticosterone level induced by ACTH was inhibited by the CDP pretreatment.
- 4) The increase of plasma corticosterone level appeared 30 minutes after picrotoxin injection was slightly enhanced, but the level of 120 minutes after picrotoxin injection was significantly inhibited by the CDP pretreatment.

### 緒 論

Benzodiazepine系 藥物들은 抗不安, 睡眠, 抗癲癇 및 알코홀 또는 睡眠藥의 禁斷症治療等に 가장 널리 사용되고 있는 向精神藥物<sup>1,2)</sup>들이나 이들의 作用機轉은 아직 確實하지 않다<sup>3,4)</sup>. Adrenocorticotropic hormone(ACTH)의 副腎皮質 hormone 合成 및 遊離作用이 chlordiazepoxide에 依하여 抑制되는 것 같다고

하며<sup>5)</sup> ACTH의 不安誘發作用<sup>6,8)</sup> 및 腦內 5-HT 代謝率의 亢進作用<sup>7,9)</sup>은 corticosterone과 chlordiazepoxide에 依하여 抑制<sup>8~10)</sup>된다고 한다. Benzodiazepine系 藥物의 抗不安作用의 機轉에 對하여도 分明치 않으나<sup>3,4,11,12)</sup>, 그들의 抗不安作用이  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)拮抗藥物인 bicuculline과 GABA 合成 抑制藥物인 thiosemicarbazide 前處置로 抑制되었다고 한다<sup>1,11,12)</sup>.

따라서 著者는 ACTH와 picrotoxin의 血糖 및 血漿 corticosterone 增加作用에 對한 chlordiazepoxide의 影響을 實驗 觀察하였다.

### 實驗材料 및 方法

實驗動物로는 一定한 飼料로 一週日 以上 飼育한 體重 20~30 g의 健康한 雄性 mouse를 使用하였다. 實驗에 使用된 mouse 群은 다음과 같이 區分하였다.

- ① 對照群
- ② Chlordiazepoxide (10 mg/kg) 注射群
- ③ ACTH (5 u/kg) 注射群
- ④ Picrotoxin (4 mg/kg) 注射群
- ⑤ Chlordiazepoxide (10 mg/kg) 前處置後 ACTH (5 u/kg) 注射群
- ⑥ Chlordiazepoxide (10 mg/kg) 前處置後 Picrotoxin (4 mg/kg) 注射群

藥物은 腹腔內에 注射하였고 各群마다 12~20마리의 mouse를 使用하였다.

#### ● 測定方法

A. 血糖: Mouse의 頸部를 切斷 採血하여 Nelson-Somogy 法<sup>14)</sup>에 따라서 測定하였다.

B. 血漿 Corticosterone: 血糖測定時와 같은 方法으로 oxalate 瓶에 採血한 後 3,000 r.p.m.으로 遠心分離하여 얻은 血漿 0.5 ml를 使用하여 Zenker-Bernstein 法<sup>15)</sup>에 따라서 Aminco-Bowman spectrophotofluorometer로 測定하였다.

● 本 實驗에 使用된 藥物은 다음과 같다.

Chlordiazepoxide (S.A.F. Hoffman-La Roche & Co. Ltd., Lot. No. B<sub>6</sub>-12048),

ACTH (Aromour Pharmaceutical Company, Lot. No. N10102),

Picrotoxin (Sigma Chemical Company, Lot. No. 66C-0209).

### 實驗成績

#### A) 血糖에 對한 實驗

(1) 對照群: Saline (0.1 ml/10 g)을 mouse에 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血糖値는 各各 86.5±8.1, 79.3±8.8 및 77.4±4.9 mg%로서 正常血糖値 78.25±6.0 mg%에 比하여 別 變化를 볼 수 없었다 (Table 1).

(2) Chlordiazepoxide 注射群: Chlordiazepoxide 10 mg/kg을 mouse에 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血糖値는 各各 123.0±7.2, 101.2±7.0 및 80.8±10.5 mg%로서 對照群의 血糖値에 比하여 各各 42.2%, 27.6% 및 4.4%의 增加를 보였으며 30分의 增加는 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1).

(3) ACTH 注射群: ACTH 5 u/kg을 mouse에 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血糖値는 各各 137.3±12.5, 102.8±3.5 및 77.3±7.1 mg%로서 對照群의 血糖値에 比하여 各各 58.7%, 29.6% 및 -0.1%의 增加를 보였으며 30分 및 60分의 增加는 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1).

(4) Chlordiazepoxide 前處置後 ACTH 注射群: Chlordiazepoxide 10 mg/kg을 mouse에 注射한 後 30分

Table 1. Changes of blood sugar level induced with ACTH, picrotoxin and chlordiazepoxide in mice

Medication	Min. after injection		30		60		120	
	Blood sugar (mg%)		M.±S.E.	Incr. %	M.±S.E.	Incr. %	M.±S.E.	Incr. %
Control	86.5±8.1				79.3±8.8		77.4±4.9	
Chlordiazepoxide	123.0±7.2			42.2 p<0.01	101.2±7.0	27.6	80.8±10.5	4.4
ACTH	137.3±12.5			58.7 p<0.01	102.8±3.5	29.6 p<0.05	77.3±7.1	-0.1
ACTH after chlordi.	160.7±14.9			85.8 p<0.01	104.3±10.9	31.5	84.0±7.8	8.5
Picrotoxin	145.5±15.2			68.2 p<0.01	110.2±8.1	39.0 p<0.05	72.4±4.4	6.5
Picrotoxin after chlordi.	176.4±14.7			103.9 p<0.01	116.4±6.0	46.8 p<0.01	74.0±8.7	4.5

Normal blood sugar level: 78.25±6.0 mg%

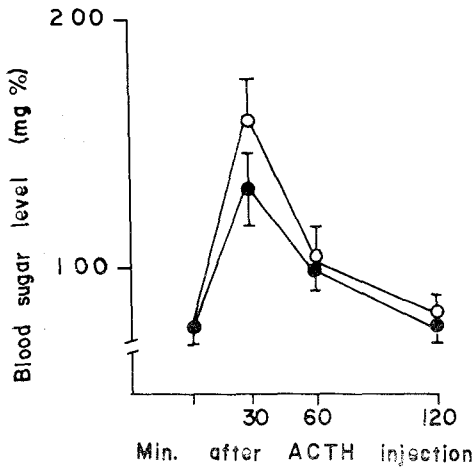


Fig. 1. Influence of CDP on the hyperglycemic effect of ACTH in mice.

Control: ●—●—●  
 CDP premedication: ○—○—○  
 Vertical bar: standard error

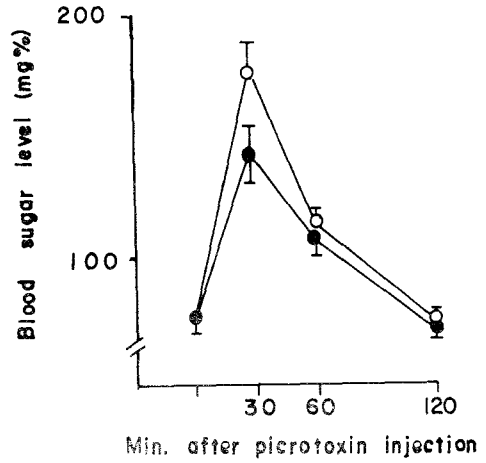


Fig. 2. Influence of CDP on the hyperglycemic effect of picrotoxin in mice.

Control: ●—●—●  
 CDP premedication: ○—○—○  
 Vertical bar: standard error

Table 2. Changes of plasma corticosterone level induced with ACTH, picrotoxin and chlordiazepoxide in mice

Medication	30		60		120	
	M. ± S.E.	Incr. %	M. ± S.E.	Incr. %	M. ± S.E.	Incr. %
Control	259.7 ± 20.6		205.0 ± 24.1		219.0 ± 24.3	
Chlordiazepoxide	340.0 ± 61.8	30.9	245.5 ± 22.4	19.8	207.0 ± 18.3	-5.5
ACTH	714.3 ± 48.4	175.1 p < 0.01	704.4 ± 81.9	243.6 p < 0.01	546.6 ± 49.3	149.6 p < 0.01
ACTH after chlordi.	582.3 ± 39.4	124.2 p < 0.01	321.8 ± 40.3	57.0 p < 0.05	287.0 ± 45.7	31.1
Picrotoxin	502.0 ± 58.7	93.3 p < 0.01	620.0 ± 98.1	202.4 p < 0.01	558.6 ± 61.0	155.1 p < 0.01
Picrotoxin after chlordi.	587.0 ± 62.0	126.0 p < 0.01	640.7 ± 57.0	212.5 p < 0.01	303.0 ± 63.4	38.4

Normal plasma corticosterone level: 197.5 ± 22.3 ng/ml  
 C.S.: corticosterone

에 ACTH 5 u/kg 을注射하여 30, 60 및 120分後에測定한 血糖値는 各各 160.7 ± 14.9, 104.3 ± 10.9 및 84.0 ± 7.8 mg%로서 對照群의 血糖値에 比하여 各各 85.8, 31.5 및 8.5%의 增加를 보여 30分의 增加는 統計學的으로 有意義하였으며 (Table 1), ACTH 注射群의 血糖値에 比하여는 17.0, 1.5 및 8.7%의 增加를 보였으나 統計學的인 有意性은 不 可 知 數 矣 (Fig. 1).

(5) Picrotoxin 注射群: Picrotoxin 4 mg/kg 를 mouse 에 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血糖値는 各各 145.5 ± 15.2, 110.2 ± 8.1 및 72.4 ± 4.4 mg%로서 對照群의 血糖値에 比하여 各各 68.2%, 39.0% 및

6.5%의 增加를 보였으며 30分 및 60分의 增加는 統計學的으로 有意義하였다 (Table 1).

(6) Chlordiazepoxide 前處置後 picrotoxin 注射群: Chlordiazepoxide 10 mg/kg 을 mouse 에 注射한 後 30分에 picrotoxin 4 mg/kg 을 注射하고 30, 60 및 120分後에 測定한 血糖値는 各各 176.4 ± 14.7, 116.4 ± 6.0 및 74.0 ± 8.7 mg%로서 對照群의 血糖値에 比하여 各各 103.9, 46.8 및 4.5%의 增加를 보여 30分 및 60分의 增加는 統計學的으로 有意義하였으며 (Table 1), picrotoxin 注射群의 血糖値에 比하여는 21.2%, 5.6% 및 2.2%의 增加를 보였으나 統計學的인 有意性은 不

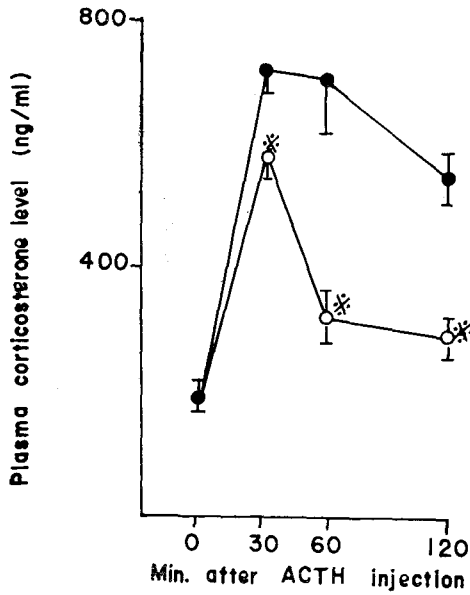


Fig. 3. Influence of CDP on the increase of plasma corticosterone level induced with ACTH in mice.  
Control: ●—●—●  
CDP premedication: ○—○—○  
Vertical bar; standard error  
\*: statistical significance

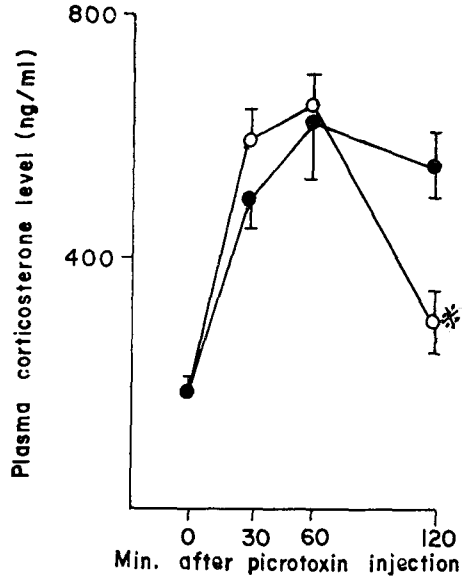


Fig. 4. Influence of CDP on the increase of plasma corticosterone level induced with picrotoxin in mice.  
Control: ●—●—●  
CDP premedication: ○—○—○  
Vertical bar; standard error  
\*: statistical significance

수 없었다(Fig. 2).

### B) 血漿 Corticosterone 에 對한 實驗

(1) 對照群: Saline (0.1 ml/10 g) 을 mouse 에 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血漿 corticosterone 値는 各各 259.7±20.6, 205.0±24.1 및 219.0±24.3 ng/ml 로서 正常血漿 corticosterone 値인 197.5±22.3ng/ml 에 比하여 注射後 30分에는 增加하는 傾向을 보였으나 큰 變化는 볼 수 없었다(Table 2).

(2) Chlordiazepoxide 注射群: Chlordiazepoxide 10 mg/kg 을 mouse 에 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血漿 corticosterone 値는 各各 340.0±61.8, 245.5±22.4 및 207.0±18.3 ng/ml 로서 對照群의 corticosterone 値에 比하여 各各 30.9%, 19.8% 및 -5.5%의 增加를 보였으나 統計學的으로 有意義한 增加는 볼 수 없었다(Table 1).

(3) ACTH 注射群: ACTH 5 u/kg 를 mouse 에 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血漿 corticosterone 値는 各各 714.3±48.4, 704.0±81.9 및 546.6±49.3 ng/ml 로서 對照群에 比하여 各各 175.1%, 243.6% 및 149.6%의 增加를 보였으며 이들은 모두 統計學的으로 有意義하였다(Table 2).

(4) Chlordiazepoxide 前處置後 ACTH 注射群:

Chlordiazepoxide 10 mg/kg 를 mouse 에 注射한 後 30分에 ACTH 5 u/kg 를 注射하고 30, 60 및 120分 後에 測定한 血漿 corticosterone 値는 各各 582.3±39.4, 321.8±40.3 및 287.0±45.7 ng/ml 로서 對照群의 血漿 corticosterone 値에 比하여 各各 124.2%, 57.0% 및 31.1%의 增加를 보여 30分 및 60分의 增加는 統計學的으로 有意義하였으며 (Table 2), ACTH 注射群의 血漿 corticosterone 値에 比하여는 各各 18.5%, 54.3% 및 47.5%의 減少를 보여 30分, 60分 및 120分의 減少는 모두 統計學的으로 有意義하였다(Fig. 3).

(5) Picrotoxin 注射群: Picrotoxin 4 mg/kg 를 注射한 後 30, 60 및 120分에 測定한 血漿 corticosterone 値는 各各 502.0±58.7, 620.0±98.1 및 558.6±61.0 ng/ml 로서 對照群의 血漿 corticosterone 値에 比하여 各各 93.3%, 202.4% 및 155.1%의 增加를 보여 30分, 60分 및 120分의 增加가 모두 統計學的으로 有意義하였다(Table 2).

(6) Chlordiazepoxide 前處置後 picrotoxin 注射群: Chlordiazepoxide 10 mg/kg 를 mouse 에 注射한 後 30分에 picrotoxin 4 mg/kg 를 注射하고 30, 60 및 120分 後에 測定한 血漿 corticosterone 値는 各各 587.0±62.0, 640.7±57.0 및 303.0±63.4 ng/ml 로서 對

照群의 血漿 corticosterone 値에 比하여 各各 126.0%, 212.5% 및 38.4%의 增加를 보여 30分, 60分의 增加는 統計學的으로 有意義하였으며 (Table 2), picrotoxin 注射群의 血漿 corticosterone 値에 比하여 各各 16.9%, 3.3% 및 45.8%의 增加를 보여 120分의 增加는 統計學的으로 有意義하였다 (Fig. 4).

## 考 察

Corticotropin-releasing hormone (CRH) neuron의 機能은 acetylcholine과 5-HT에 依하여 亢進되며, noradrenaline과 GABA에 依하여 抑制되는데, 이때 GABA는 CRH neuron의 negative feedback interneuron의 神經傳導物質<sup>16, 17)</sup>이다. Benzodiazepine系 藥物들은 대체로 GABA樣作用을 나타낸다<sup>18, 19)</sup>고 하며, picrotoxin은 代表的인 GABA拮抗藥物中の 하나로서<sup>20)</sup> 中樞神經系에 作用하여 交感神經系의 흥분을 일으키며<sup>21, 22)</sup>, 副腎皮質의 glucocorticoid分泌亢進<sup>13)</sup>과 血糖增加<sup>13, 21, 22)</sup> 등의 作用을 나타낸다.

또한 ACTH는 adenylyl cyclase의 活性化를 增加시키므로 肝과 骨格筋에서 糖原의 分解를 促進하여 脂肪組織에서는 脂肪酸의 遊離를 增加시킨다<sup>23, 24)</sup>.

따라서 著者は 우선 ACTH와 picrotoxin에 依한 血糖增加에 미치는 chlordiazepoxide의 影響을 觀察하였던 바, ACTH, picrotoxin 및 chlordiazepoxide 모두가 血糖을 顯著히 增加시켰으며, ACTH와 picrotoxin의 增加作用은 chlordiazepoxide에 依하여 影響을 받지 않았다. 즉 本敎室의 申等<sup>13)</sup>이 報告한 ACTH 및 picrotoxin의 血糖增加作用에 對한 diazepam의 上昇作用을 chlordiazepoxide에서는 볼 수 없었다.

이는 diazepam이 抗不安作用과 筋弛緩作用에 있어서 chlordiazepoxide보다 約 5倍 強力하다는 점<sup>25)</sup>에 비추어 생각할 때 興味있는 知見으로 思料된다.

Butler等<sup>26)</sup>은 chlordiazepoxide 注射後 血漿 cortisol 値가 減少되었다고 하였고, Dasgupta<sup>27)</sup> 등은 ACTH에 依한 eosinopenia誘發을 chlordiazepoxide가 抑制하였는데 이는 chlordiazepoxide가 ACTH의 副腎皮質의 hormone合成, 遊離를 抑制함으로써 나타나는 것 같다고 하였으며, Marc等<sup>27)</sup>은 diazepam이 rat의 血漿 corticosterone을 顯著히 增加시켰다고 報告하였다.

따라서 著者は ACTH와 picrotoxin의 血漿 corticosterone 增加作用에 對한 chlordiazepoxide의 影響

을 觀察하였다. 그 結果 Marc等의 報告<sup>27)</sup>와는 달리, chlordiazepoxide는 血漿 corticosterone 値를 增加시키는 傾向을 보였고, diazepam에 對한 申等<sup>13)</sup>의 報告에서와 같이 chlordiazepoxide에 依하여 ACTH의 血漿 corticosterone 値 增加作用은 顯著히 抑制되었으며, picrotoxin의 血漿 corticosterone 增加作用에 있어서 picrotoxin 注射後 30分의 增加는 chlordiazepoxide에 依하여 더욱 上昇되는 傾向을 보였으나 picrotoxin 注射後 120分의 增加는 顯著히 抑制되었다. 이와같은 成績은 picrotoxin이 視床下部—腦下垂體系의 ACTH遊離作用外에 部分的으로 中樞性交感神經系 興奮作用에 依하여 血漿 corticosterone 値를 增加시킬 수 있다는 報告<sup>28)</sup>에 비추어 볼 때 興味로운 知見으로 思料된다.

## 結 論

ACTH와 picrotoxin의 雄性 mouse의 血糖 및 血漿 corticosterone 增加作用에 미치는 chlordiazepoxide의 影響을 實驗觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. ACTH, picrotoxin 및 chlordiazepoxide는 血糖을 顯著히 上昇시켰다.
2. ACTH와 picrotoxin의 血糖增加作用은 chlordiazepoxide前處置로 影響을 받지 않았다.
3. Chlordiazepoxide는 血漿 corticosterone 値를 增加시키는 傾向을 보였으며 ACTH와 picrotoxin은 血漿 corticosterone 値를 顯著히 增加시켰다.
4. ACTH의 血漿 corticosterone 增加作用은 chlordiazepoxide에 依하여 顯著히 抑制되었으나 picrotoxin의 增加作用에 있어서는 picrotoxin 注射後 30分 値는 더욱 上昇되는 傾向이었으며 注射後 120分 値는 顯著히 抑制되었다.

## 參 考 文 獻

- 1) Goodman, L.S., Gilman, A.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 5th ed., p.436, MacMillan Publishing Co., 1980.
- 2) Iversen, L.L., Iversen, S.D., Snyder, S.H.: *Handbook of Psychopharmacology*. 13:299, Plenum Press, 1978.
- 3) Costa, E., Greengard, P.: *Advances in Biochemical Psychopharmacology*. 14:1, Raven Press, N.Y., 1975.

- 4) Lipton, M.A., DiMascio, A., Killam, K.F.: *Psychopharmacology-A Generation of Progress*. p.1349, Raven Press N.Y., 1978.
- 5) Dasgupta, S.R., Mukherjee, B.P.: *Effect of chlordiazepoxide on eosinopenia of stress in rabbits*. *Nature(Lond)*, 213:199, 1977.
- 6) Weiss, J.M., McEwen, B.S., Silva, M.T., Kalkut, M.: *Pituitary adrenal alterations and fear responding*. *Am. J. Physiol.*, 218:864, 1970.
- 7) File, S.E., Vellucci, S.V.: *Studies on the role of ACTH and 5-HT in anxiety, using an animal model*. *J. Pharm. Pharmacol.*, 30:105, 1978.
- 8) File, S.E., Vellucci, S.V., Wendlandt, S.: *Corticosterone: an anxiogenic or anxiolytic agent?*. *J. Pharm. Pharmacol.*, 31:300, 1979.
- 9) De Wied, D., de Jong, W.: *Drug effects and hypothalamic-anterior pituitary function*. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 14:389, 1974.
- 10) Stein, L., Wise, C.D., Berger, B.D.: *The Benzodiazepines*, p.299, Raven Press, N.Y., 1973.
- 11) Cook, L., Sepinwall, J.: *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, p.1, Raven Press, 1975.
- 12) Iversen, L.L., Iversen, S.D., Snyder, S.H.: *Handbook of Psychopharmacology*. 13:345, Plenum Press, N.Y., 1978.
- 13) 申玉, 申萬鍊：ACTH, M.E.S. 및 PicROTOXIN에 의한 血糖과 血漿 Corticosterone 値의 變動에 미치는 Diazepam의 影響. 高麗大論文集. 17:23, 1980.
- 14) Nelson, N.: *A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose*. *J. Biol. Chem.*, 153:375, 1944.
- 15) Zenker, N., Berstein, D.E.: *The estimation of small amounts of corticosterone in rat plasma*. *J. Biol. Chem.*, 231:695, 1958.
- 16) Iversen, L.L., Iversen, S.D., Snyder, S.H.: *Handbook of Psychopharmacology*. 13:109, Plenum Press, N.Y., 1978.
- 17) Johnes, M.T., Hillhouse, E., Burden, J.: *Frontiers in Neuroendocrinology*. 4:195, Raven Press, N.Y., 1976.
- 18) Guidotti, A., Toffano, G., Costa, E.: *An endogenous protein modulates the affinity of GABA and benzodiazepine receptors in rat brain*. *Nature(Lond)*, 275:553, 1978.
- 19) Guidotti, A.: *Psychopharmacology-A Generation of Press*, p.1349, Raven Press, N.Y., 1978.
- 20) Johnston, G.A.R.: *Neuropharmacology of amino acid inhibitory neurotransmitters*. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 18:269, 1978.
- 21) 張雲燮：電座擊擊이 家兔血糖量에 미치는 影響. 最新醫學, 3:445, 1960.
- 22) 全普權：PicROTOXIN의 過血糖作用에 對한 몇 藥物의 影響. 大韓藥理學雜誌, 14:55, 1978.
- 23) Harper, H.A. et al.: *Review of Physiological Chemistry*, 16th ed., p.462, 1977.
- 24) Lang, U., Karlaganis, G., Vogel, R., Schwyzer, R.: *Hormone-receptor interaction, Adrenotropic hormone binding site increase in isolated fat cells by phenoxazones*. *Biochemistry*, 13:2626, 1974.
- 25) Aviado, D.M.: *Krantz and Carr's Pharmacologic Principles of Medical Practice*, 8th ed., p. 208, The Williams & Wilkins Comp., 1971.
- 26) Butler, P.W.P., Besser, G.M., Steinberg, H.: *J. Endocr.*, 40:391, 1968.
- 27) Marc, V., Morselli, P.L.: *Effect of diazepam on plasma corticosterone levels in the rat*. *J. Pharm. Pharmacol.*, 21:784, 1969.