

新 benzodiazepine 化合物 ethyl lofrazepate の中枢作用

鳥取大学医学部薬理学教室 (主任 君島健次郎教授)

田 辺 恭 子・木 下 ゆか子・徳 吉 公 司・祝 部 大 輔
麻 木 宏 栄・小 坂 俊 文・君 島 健 次 郎

benzodiazepine 化合物は鎮静, 筋弛緩, 抗けいれんなどの諸作用を有し, 今日では minor tranquilizer のなかでも最も主要な薬物となつて来た. 臨床では不安, 緊張, 不眠, 神経症, けいれん発作などに広く用いられており, chlordiazepoxide, diazepam, nitrazepam, medazepam, bromazepam, flurazepam, clorazepate など一連の化合物が知られている (Randall ら, 1960; 1965; 1968; Schallek ら, 1964; Zbinden ら, 1969; Hoffman ら, 1975; Sallé).

近年新しくフランス Clin-Midy 社で開発された一連の benzodiazepine 化合物のうち ethyl fluorchlorazepate (ethyl lofrazepate, 以下 CM 6912 と略す) は化学的には 7-chloro-2, 3-dihydro-3-ethoxycarbonyl-5 (2-fluorophenyl) 2-oxo-1H-benzodiazepine (図 1) で, 白色結晶性粉末, 他の benzodiazepine 化合物と同様水に不溶で, 鎮静作用よりも不安解消作用の方が優れているといわれ, 臨床的には神経症, ヒステリー, 抑うつ状態における不安, 不眠症

を伴う不安など, 肉体的症状の発現をとまらぬあらゆる種類の不安, アルコール中毒者の禁断症状や歯科口腔科における前処置薬として応用が期待される.

今回われわれは本薬とその主要代謝物の [CM]6913 および CM 7116 (図 1) 入手の機会を得たので, 動物実験によりその中枢作用について検討を加えた.

実験方法

実験動物:

dd 系マウス, Wistar 系ラットおよび成熟ウサギを使用した.

実験方法:

実験成績の各項において記す.

使用薬物:

CM 6912 (フランス Clin-Midy 社) は 0.2% CMC 懸濁液とし, 主として経口投与したが, 一部の実験では macrogol 400 に半溶解して腹腔内に応用した. なお主要代謝物である CM 6913 および CM 7116 も同様に用いた (これらの薬物は明治製薬株式会社より提供を受けた).

対照薬物としては diazepam と nitrazepam を使用した.

実験成績

1. 一般症状

a) マウス

CM 6912 0.5, 1, 2 および 5 mg/kg の経口投与では自発運動の減退はほとんどみられないが, 10 および 20 mg/kg の投与では鎮静状態が 20 分後より出現し, 時々動くがうずくまった状態が数時間続いた. 50 および 100 mg/kg の応用では翌朝まで鎮静症状が残ったが, 30 時間後には正常に回復した.

b) ラット

CM 6912 2~50 mg/kg を経口投与し 24 時間後まで観察した.

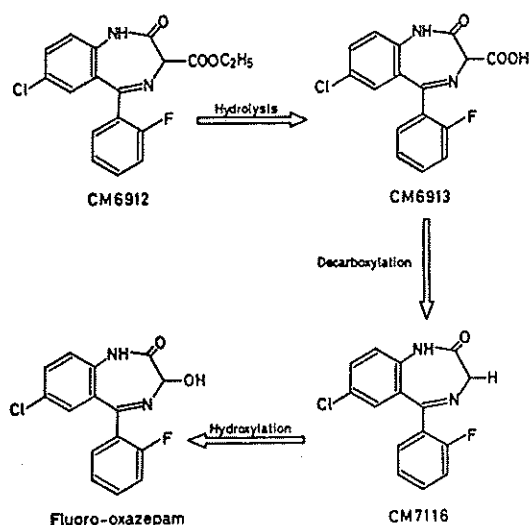


図 1. CM 6912 と主要代謝産物の CM 6913 および CM 7116 の化学構造

マウスと同様に 5 mg/kg までの応用では全身症状には変化が認められず, 10, 20 mg/kg の応用により 20~30 分後より軽い鎮静状態となり数時間続いた. 50 mg/kg の大量投与では少しよろけるような歩行失調がみられたがカタレプシー発現は認められなかつた. 24 時間後には対照とほとんど変らぬ状態に回復した.

c) ウサギ

5 mg/kg の腹腔内投与を行なった 5 例は 20~30 分後から少しおとなしくなるが, 筋弛緩はわずかに認められる程度で 2 時間後には正常に戻った. 10~20 mg/kg 応用の 5 例は 30 分頃より自発運動がやや減少し, じつと一カ所にうずくまることが多く, 筋緊張もやや低下するが, このような状態が数時間続いた. 30 mg/kg の 2 例は 30 分後頃より著明な歩行失調を示し, 鎮静状態, 筋緊張の低下など目立つたが, 横位となることはなかつた. 8 時間後にはほぼ回復した.

2. 自発運動

a) Animex による自発運動量の測定

1 群 6 匹のマウスを用いて自発運動量測定装置 (Animex activity meter) により CM 6912 2~10 mg/kg 経口投与の影響を調べた.

毎分の自発運動量をカウント数で表わしたものを図 2 に示すが, 対照群 (0.2% CMC 投与) に比べて (図 2 A), 2 mg/kg 投与群の運動量は, 時々 50 カウント前後の動きがみられるが, 投与後 1 時間から 6 時間にかけて減少が認められ (図 2 B), 10 mg/kg 投与群 (図 2 C) では 1 時間後より運動量の減少がみられたが, 5 時間後には回復傾向がみられた. 20 mg/kg 応用群 (図 2 D) は 1 時間後よりさらに強い自発運動の抑制が認められ 6 時間後まで続いた.

なお代謝産物の自発運動量に対する影響としては CM 7116 が CM 6913 より強く 1~20 mg/kg 経口投与 70 分後頃よりどの群でも強い抑制が認められ, 6 時間後も回復しなかつた.

これに対して diazepam 2 mg/kg, nitrazepam 2 mg/kg 投与では約 1 時間後頃から自発運動量の著明な減退が認められたが CM 6912 よりやや弱く, およそ 6 時間目頃から回復傾向を示した.

b) 回転棒試験 (rotarod test)

直径 3 cm, 毎分 16 回転する回転棒 (rotarod) を用い, 実験前日の 3 回の試行で毎回 3 分以上落下しなかつたマウスだけを選んでおく. このマウスを 1 群 10~20 匹とし, CM 6912 1~10 mg/kg 経口投与の影響を 3 時間後に調べた.

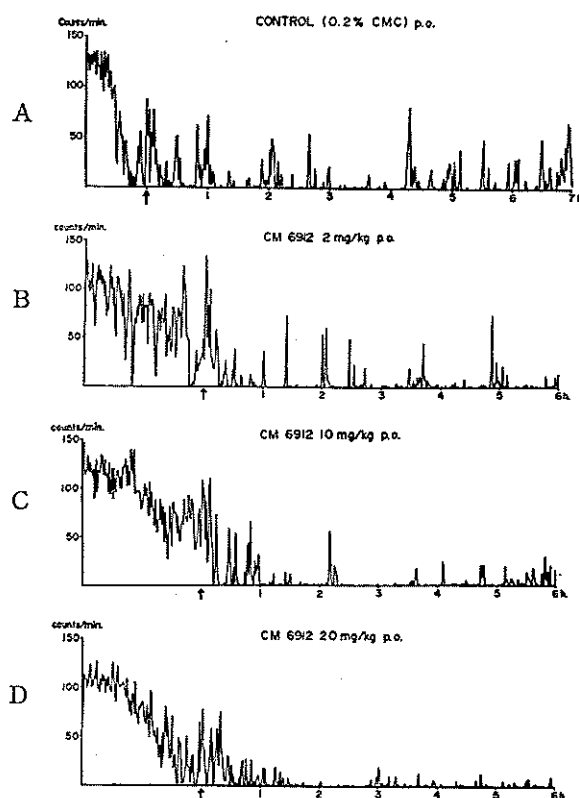


図 2. マウスの自発運動量に及ぼす CM 6912 の影響
A: 対照 (0.2% CMC),
B: CM 6912 2 mg/kg 経口投与,
C: CM 6912 10 mg/kg " ,
D: CM 6912 20 mg/kg " .
縦軸は毎分のカウント数, 横軸は時間. (分)

表 1. マウスの回転棒試験に及ぼす CM 6912 の影響

用量 (mg/kg)	例数	落下例数	
		投与前	3時間後
対 照	10	0	0
1	10	0	1
2	20	0	5
5	20	0	14
10	20	0	15

ED 50=3.4 (2.3-5.1) mg/kg

結果は表 1 に示すように, 用量に比例して落下例数の増加がみられ, マウスの半数が落下する ED 50=3.4 (2.3-5.1) mg/kg と計算された.

c) 懸垂試験 (traction test)

Courvoisier らの方法に従い, 水平に張つた針金に

表 2. マウスの懸垂試験に及ぼす CM 6912 の影響

用量 (mg/kg)	例数	落下例数							24時間
		1	2	3	4	5	6		
0.5	10	1	1(1)	1(1)	1(1)	1(1)	(1)	0	
1	10	2	2	3	3	3	3	0	
2	10	2	2	3	4	4	4	0	
5	10	4	4(1)	4(1)	5	5	5	0	
10	10	7	7	7	7	7	8	6	

ED 50=4.5 (2.1-9.9) mg/kg

diazepam ED 50=1.2 mg/kg

() 内は後肢をかけないで前肢でぶら下つたままの状態

マウスを前肢だけで懸垂させ、10秒以内に少なくとも1側の後肢を針金にかけた場合を正常とし、それ以外は後肢をかけないが、ぶら下つたままの状態と、把握がしきれなくて落下するものとに区別して観察記録した。実験は1群10匹のマウスを使用して行なつたが、結果は表2に示すようにCM 6912 0.5~10 mg/kg 経口投与後1~6時間にわたり落下するものが認められたが、この観察時間内での変化はほとんどなく6時間後まで同様な結果が得られた。最大作用時の2~3時間後の懸垂試験で50%が落下する ED 50=4.5 (2.1-9.9) mg/kg と計算された。なお大量の10 mg/kg 応用群では24時間後にも落下例が認められた。

これに対し対照薬 diazepam の ED 50=1.2 mg/kg で CM 6912 に比べ筋弛緩作用がやや強いといえる。

3. カタレプシー惹起作用

Koffer らの方法に準じて高さ6cmの水平棒にマウスの前肢のみかけさせ、その姿勢を30秒以上保持したものをカタレプシー陽性と判定した。なお水平棒は直径2.5mmの全属棒にすべり止めの糸を巻きつけて使用した。

1群10匹のマウスにCM 6912 0.5~50 mg/kg 経口投与3時間後にテストしたがどの用量でもカタレプシー発現例は認められなかつた。

4. 眼瞼下垂作用

1群10匹のマウスを用いCM 6912 1~50 mg/kg 経口投与後、経時的に眼瞼下垂の発現状態(1/4以上の眼瞼下垂をおこしたものを陽性とした)を調べたが、表3に示す如く、1, 2 mg/kg 群では2時間後から、5 mg/kg 以上の応用群では1時間後より6時間まで著明な眼瞼下垂が認められたが、10, 50 mg/kg 群で

表 3. マウスの眼瞼下垂に及ぼす CM 6912 の影響

用量 (mg/kg)	例数	眼瞼下垂陽性例					
		1	2	3	4	5	6時間
対照	10	0	0	0	0	0	0
1	10	0	1	3	6	7	7
2	10	0	6	8	7	9	10
5	10	1	3	6	8	8	8
10	10	3	8	10	10	10	10
50	10	2	10	10	10	10	10

特に強く現われた。これらの眼瞼下垂は翌朝にはすべて回復した(表3)。

5. 睡眠増強作用

a) pentobarbital 睡眠

川崎の方法に準じて18~23匹のマウスを用い、pentobarbital 35 mg/kg 腹腔内注射による睡眠開始時間および睡眠持続時間に対するCM 6912 1~10 mg/kg 経口投与の影響を調べた。

結果は表4に示すとおりで、睡眠開始時間は各群とも対照群の5.6分比べて3~4.1分とわずかに短縮されたが、有意差は認められなかつた。睡眠持続時間は対照群24.3分に対し少量のCM 6912 1 mg/kg 投与群でも約4倍と長くなり、2 mg/kg 以上の投与群では約5倍以上に延長して明らかな睡眠増強作用を示した。

b) ethanol 睡眠

1群20~28匹のマウスを用い、CM 6912 1~10 mg/kg 内服2時間後に20% ethanol 10 ml/kg 静

表 4. マウスの pentobarbital 睡眠時間に及ぼす CM 6912 の影響

用量 (mg/kg)	例数	睡眠時間 (分)	
		開始	持続
対 照	20	5.6±0.2	24.3±3.3
1	18	4.0±0.1	84.2±10.1
2	22	3.0±0.1	120.6±13.8
5	23	3.8±0.1	147.7±10.9
10	20	4.1±0.3	121.5±10.3

表 5. マウスの ethanol 睡眠に及ぼす CM 6912 の影響

用量 (mg/kg)	例 数	睡眠例数と発現率 (%)			
		2 倍	3 倍	4 倍	5 倍以上
対 照	43	4 (9)	3 (7)	1 (2)	0
1	20	5(25)	3(14)	2(10)	2(10)
2	21	8(38)	6(29)	6(29)	5(24)
5	28	22(79)	19(68)	17(61)	17(61)
10	28	18(64)	15(54)	14(50)	11(39)

ED 50=2.8 mg/kg

注して正向反射の回復時間を測定した。対照群 (20 % ethanol 単独の静注, 43 匹) の平均睡眠時間は 72.1 分であったが, この 2~5 倍以上の睡眠持続を示した例数とその発現率を示したのが表 5 である。CM 6912 1 および 2 mg/kg 応用群のなかで, 対照群の平均睡眠時間 (72.1 分) の 2 倍以上の睡眠をおこしたものの発現率は 25 および 38 % にみられ, いずれも対照群よりも増強された。CM 6912 を増量すると睡眠作用はさらに強く認められるが 10 mg/kg よりも 5 mg/kg 応用群の作用が強く現われた。

CM 6912 の ethanol 睡眠に対する作用強度を対照群の平均睡眠時間の 2 倍の持続を示した例数に基づいて 50 % 睡眠有効量を求めると ED 50=2.8 mg/kg と計算された。

6. 鎮痛作用

a) Haffner 法

1 群 6 匹のマウスを用いて, 実中研型鎮痛効果測定装置を用いて尾根部に圧刺激を加えた際の仮性疼痛反射 (biting, vocalization, head turning) の閾値を決定し, それに対する CM 6912 経口投与の影響を調

表 6. phenylquinone 法によるマウスの鎮痛効果

用量 (mg/kg)	例数	st. 出現率 (%)	1 匹当り st. 平均回数
対 照	80	100	41
0.5	10	100	50
1	10	90	37
2	20	75	16
5	20	70	14
10	20	85	15
20	20	75	13

べた。

結果は対照群 (0.2 % CMC) の閾値上昇率 91~110 % に対して CM 6912 10 mg/kg 群で 76 %, 20 mg/kg 群で 62 %, 50 mg/kg 群でも 82 % と対照群よりむしろわずかに閾値下降を示し, 鎮痛作用は全く認められなかった。これに対し対照薬の diazepam では 5 mg/kg 応用群で 112 %, 10 mg/kg 群で 132 % とわずかに閾値上昇を示した。

b) phenylquinone 法

Siegmund らの方法に従い, 1 群 10~20 匹のマウスを用い, CM 6912 0.5~20 mg/kg 経口投与 2~3 時間後の影響を調べたが, phenylquinone 0.02 % 液, 20 ml/kg の腹腔内注射後 15 分間に stretching 姿勢を示すものが 70~100 % 出現し鎮痛作用はほとんど認められなかった (表 6)。また対照薬の diazepam 2~20 mg/kg 経口投与でもほぼ全例に stretching 姿勢が出現し, 鎮痛作用は認められなかった。

7. 抗 tremorine 作用

tremorine 25 mg/kg (100 % 振せん量) を 1 群 10~20 匹のマウスに皮下注射しておこる振せんおよび自律症状 (流涎, 下痢, 眼脂など) に対する CM 6912 の影響を検討した。

結果は表 7 に示すように CM 6912 5~50 mg/kg の経口投与 (2~3 時間前処置) により振せんの発現例は用量に比例して抑制され, 実験例の 50 % に振せん消失の認められる ED 50=25 (19-34) mg/kg と計算された。なお自律神経症状に対する抑制作用はほとんど認められなかった。

一方対照薬の diazepam および nitrazepam の 50 % 振せん抑制量 ED 50=2.4 および 0.58 mg/kg と計算された。

表 7. マウスの tremorine 振せんに及ぼす CM 6912 の影響

用量 (mg/kg)	例数	振せん	自律症状		
			流涎	下痢	眼脂
対 照	40	40	36	16	25
5	10	10	10	10	10
10	20	16	20	20	18
30	20	9	20	18	15
50	20	5	20	20	12

ED 50=25 (19-34) mg/kg
 diazepam ED 50=2.4 (1.8-3.2) mg/kg
 nitrazepam ED 50=0.58 (0.39-0.87) mg/kg

表 8. マウスの最大電撃けいれんに及ぼす CM 6912, CM 6913 および CM 7116 の影響

用量 (mg/kg)	例数	TE 発現例数と TE 持続時間 (秒)		
		CM 6912	CM 6913	CM 7116
対 照	30	30(16.2)	30(16.2)	30(16.2)
10	20	20(13.4)	20(13.4)	18 (7.4)
15	20			10 (6.3)
20	20	19(11.0)	19(14.5)	8 (6.0)
35	20		15(10.9)	
40	20			1 (5.0)
50	20	17(11.3)	6 (8.3)	0
75	20		1 (4.0)	
100	20	7 (4.6)		

TE: tonic extensor 強直性伸展けいれん

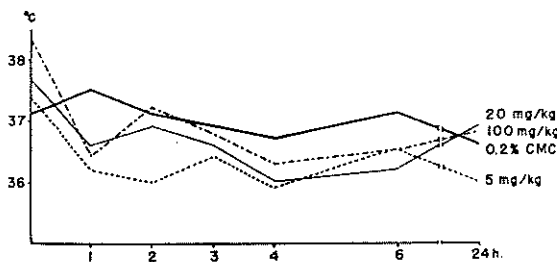


図 3. マウスの直腸温に及ぼす CM 6912 の影響
 太線: 対照 (0.2% CMC),
 点線: CM 6912 5 mg/kg,
 細線: CM 6912 20 mg/kg,
 破線: CM 6912 100 mg/kg.
 縦軸は体温, 横軸は時間経過。

による影響を調べた。

結果は表 8 に示すが CM 6912 10~100 mg/kg 応用群では用量に比例して TE 消失例が増加し, TE の持続時間も同時に短縮しているが, 大量の 100 mg/kg 群でも 7 例に TE が出現し 50%有効量は求められなかつた。これに対し代謝産物の CM 6913 では 20 mg/kg 群から TE の消失例が認められ 75 mg/kg 群では 20 例中 19 例に TE 消失がみられた。また同じ代謝産物の CM 7116 ではさらに抗けいれん作用が強く, 10 mg/kg 群から TE 消失が現われ 50 mg/kg 応用群では全例とも TE が消失した。

b) pentetrazol けいれん法

pentetrazol 90 mg/kg をマウスに皮下注射すると 5~15 分後に最小けいれん (minimal full seizure, MF) をおこし, ときにくり返したり続いて飛び上ったり (jumping), ビーカー内を動きまわったり, もがく, などの興奮状態となり, 短時間の間代性けいれん (clonic convulsion, CL) をおこすものもあるが, 7~50 分後までに強直性屈曲けいれん (tonic flexor, TF) から強直性伸展けいれん (tonic extensor, TE) をおこしてほぼ全例死亡する。抗けいれん作用の判定は MF 以上のけいれん消失を指標とした。

CM 6912 および代謝産物 CM 6913 と CM 7116 の影響を 1 群 20 匹のマウスを用いて経口投与 2 時間後に検討した。結果は表 9 に示すように CM 6912 0.1 mg/kg 経口投与以上で, また代謝産物の両薬とも 0.05 mg/kg 投与以上で最小けいれん (MF) 以上の

8. 体温に対する作用

1 群 10 匹のマウスの直腸温をサーミスター温度計で経時的に測定し, これに対する CM 6912 の影響を調べた。結果は図 3 に示すように, CM 6912 5, 20 および 100 mg/kg 経口投与群では対照の 0.2% CMC 投与群と比べて ±0.9°C の範囲の変動を示し, とくに体温低下は認められず影響はなかつた。

9. 抗けいれん作用

a) 最大電撃けいれん法

1 群 20 匹のマウスを使用し, 角膜電極と Woodbury & Davenport の装置を用いて 50 mA, 0.2 秒の頭部通電を行ない, その際の強直性伸展けいれん (tonic extensor, TE) の消失を目標として CM 6912 および代謝産物の CM 6913 と CM 7116 の経口投与に

けいれん発現が用量の増加とともに減少しており抗けいれん作用が認められた。代謝産物の2薬では CM 6913 よりも CM 7116 の方が強い抗けいれん作用を示した。

c) bemegride けいれん法

bemegride 38 mg/kg (100 %けいれん発現量) をマウスに皮下注射すると前記の pentetrazol 法の場合とほぼ同様な経過で各種けいれんが発現し、82 %が TE をおこして死亡した。

1 群 20 匹のマウスを用い CM 6912 および代謝産物の影響をそれぞれ内服 2 時間後に bemegride 38 mg/kg 皮下注射して抗けいれん作用を検討した。結果は表 10 にまとめたが、各薬物とも 0.1 mg/kg 以上の投与により MF 以上のけいれん発現が抑制されており、

表 9. マウスの pentetrazol けいれんに及ぼす CM 6912, CM 6913 および CM 7116 の影響

用量 (mg/kg)	例数	MF 以上のけいれん 発現数と発現率 (%)		
		CM 6912	CM 6913	CM 7116
対 照	30	30(100)	30(100)	30(100)
0.05	20		16(80)	17(85)
0.07	20			16(80)
0.1	20	19(95)	17(85)	14(70)
0.2	20	17(85)	14(70)	7(35)
0.3	20		6(30)	5(25)
0.5	20	9(45)	3(15)	
0.7	20	4(20)		
1	20	2(20)		

MF: minimal full seizure 最小けいれん
(表 10 も同じ)

いずれも強い抗けいれん作用が認められた。

以上の最大電撃けいれん法, pentetrazol けいれん法および bemegride けいれん法によつて得られた結果と対照薬の diazepam および nitrazepam の作用を比較した成績を表 11 に示す。

なお 50 %抗けいれん量の ED 50 と 95 %信頼限界(カッコ内)は Litchfield & Wilcoxon の方法により計算した。

10. 階段試験 (staircase test) に及ぼす影響

Thiebot ら (1973, 1976) により抗不安薬の簡単な screening 法として紹介された staircase test による検討を行なった。

階段 (staircase) は図 4 に示す如く、それぞれの幅 20 cm, 高さ 6 cm, 長さ 15 cm の階段を 5 段組み立てた高さ 30 cm, 長さ 95 cm の木製の装置を用い、200 g 前後の成熟雄性 Wistar 系ラットを一番下の床に階段を背にして静かに置き、その後 3 分間のラット

表 10. マウスの bemegride けいれんに及ぼす CM 6912, CM 6913 および CM 7116 の影響

用量 (mg/kg)	例数	MF 以上のけいれん 発現数と発現率 (%)		
		CM 6912	CM 6913	CM 7116
対 照	50	50(100)	50(100)	50(100)
0.05	20	20(100)	20(100)	20(100)
0.1	20	18(90)	17(85)	17(85)
0.2	20	15(75)	14(70)	13(65)
0.3	20		12(60)	4(20)
0.5	20	9(45)	4(20)	0
1	20	2(10)		

表 11. マウスの各種けいれんに対する CM 6912 とその代謝産物の影響

薬 物	最大電撃けいれん ED 50 (95 %信頼限界) mg/kg	pentetrazol けいれん ED 50 (95 %信頼限界) mg/kg	bemegride けいれん ED 50 (95 %信頼限界) mg/kg
CM 6912	>50	0.45(0.38-0.54)	0.41(0.27-0.62)
CM 6913	40.0(32.8-48.8)	0.25(0.20-0.32)	0.27(0.21-0.34)
CM 7116	19.0(15.6-23.8)	0.14(0.11-0.18)	0.21(0.17-0.26)
diazepam	32 (28-37)	0.48(0.30-0.60)	0.94(0.73-1.20)
nitrazepam	46 (40-53)	0.36(0.29-0.46)	0.46(0.46-0.58)

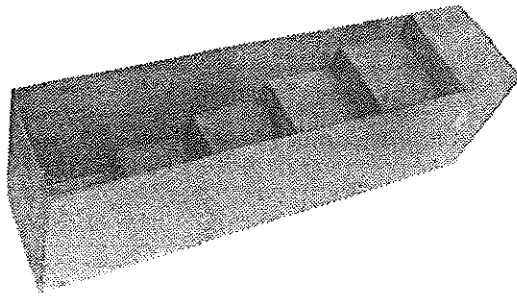


図 4. 階段試験 (staircase test) の装置

の立ち上り回数 (平均 10.5 回) と階段を昇る回数 (平均 5.5 回) を記録した。なお薬物は 0.2% CMC 懸濁液として 5 ml/kg の割合で腹腔内に注射し、30 分後にテストを行ないその影響を調べた。

CM 6912 の 1~8 mg/kg までの量では階段を昇る回数は対照に比べて明らかに増加を示すが、16 mg/kg 投与では階段を昇る回数は対照とほぼ同程度で、32 mg/kg 投与では減少を示した。

一方立ち上り回数は 2~8 mg/kg 投与により明らかな減少を示すが、16~32 mg/kg の大量を投与しても減少の程度は 8 mg/kg 応用の際とほぼ同様であった (図 5)。

このようなパターンは他の benzodiazepine 化合物である nitrazepam や bromazepam と同様な傾向を示すが、階段を昇る回数の増加および立ち上り回数の減少は上記薬物に比べかなり弱かった。

なお代謝物である CM 6913 および CM 7116 につい

ても同様の傾向が認められたが、立ち上り回数の減少率は CM 7116 が最も大きかった (図 5)。

11. 脳波に及ぼす影響

あらかじめ皮質 3 カ所 (前頭部, 側頭部, 後頭部) および皮質下 3~4 カ所 (視床, 視床下部, 中脳網様体, 背側海馬, 扁桃核) に双極電極を植込んだ無麻酔ウサギを用い、脳波学的検討を行なった。

a) 自発脳波

CM 6912 5 mg/kg の腹腔内投与および経口投与を行なった 4 例中 1 例は 60 分後に至るまで全く変化は認められず、他の 3 例は 10 分後から 40 分頃まで皮質脳波の速波成分の減少あるいは皮質脳波の高振幅徐波化が認められた。

10 mg/kg 投与の 4 例中 2 例は 60 分後まで変化は認められず、他の 2 例はそれぞれ 5~10 分後、25~35 分後より皮質脳波の高振幅徐波化が認められ、60~70 分頃より回復に向った (図 6)。

なおこのような脳波変化は腹腔内応用でも経口投与でもほぼ同様であった (図 7)。

b) 中脳網様体刺激による覚醒反応

中脳網様体上行賦活系 (reticular ascending activating system) を 100 Hz, 1 msec, 0.5-2.5 V の矩形波で刺激すると、皮質脳波には低振幅の非同期化 (desynchronization) がみられる。これに対する CM 6912 の影響を調べたが、10 mg/kg を経口投与した 3 例中 1 例は影響がみられず、他の 2 例は 20~60 分に至る間覚醒反応の軽度抑制が認められた (図 8)。

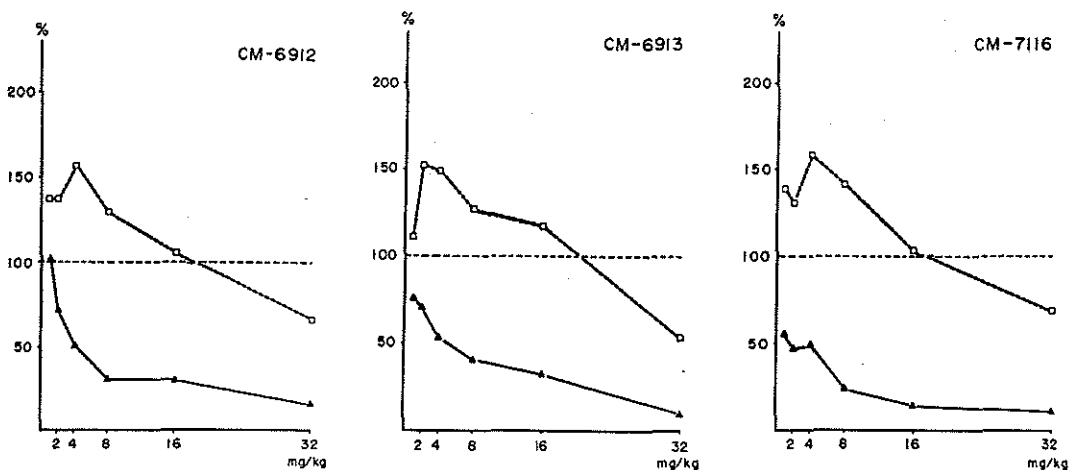


図 5. ラットの階段試験に及ぼす CM 6912 および代謝物の影響

実線：立ち上り回数,
点線：階段を昇る回数,
縦軸は反応率 (%), 横軸は薬用量.

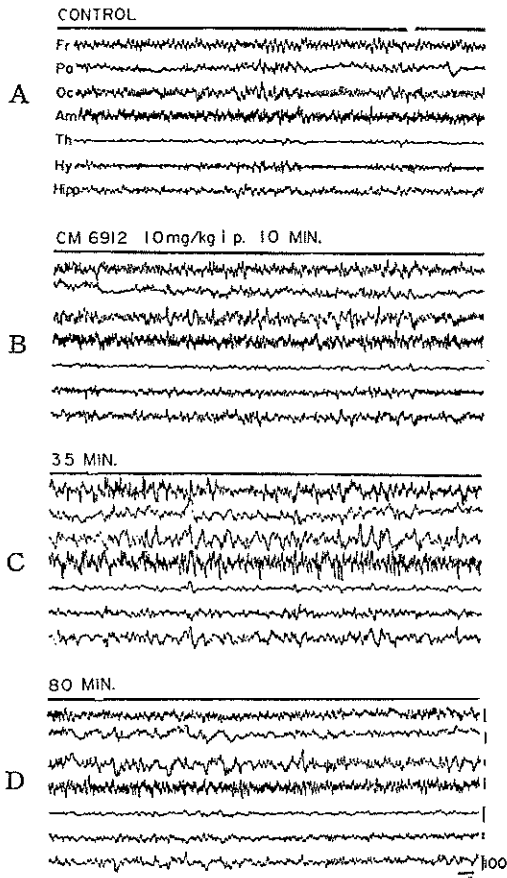


図 6. 自発脳波に及ぼす CM 6912 の影響

- A : 対照,
 B : CM 6912 10 mg/kg 腹腔内投与10分後,
 C : 35分後,
 D : 80分後.

脳波は上から前頭, 側頭, 後頭部, 扁桃核, 視床, 視床下部, 海馬の誘導.

c) 音刺激による覚醒反応

脳波誘導中のウサギに一定のブザー音を 10 秒間与えると, 皮質の低振幅速波化と海馬覚醒波の出現が認められる.

これに対し CM 6912 10 mg/kg を経口投与したものが 3 例あるが, 1 例は 20~40 分後まで覚醒反応の軽度抑制, 他の 2 例は 30~60 分に至るまで覚醒反応の抑制が認められたが, 90 分後には元に戻った (図 9).

d) 視床正中核刺激による漸増反応

視床汎投射系 (diffuse thalamic projecting system) に対する影響を調べるため, 視床正中核 (N. centralis medialis) を 6-8 Hz の低周波で 5~7 秒間刺激すると, 皮質に漸増反応 (recruiting res-

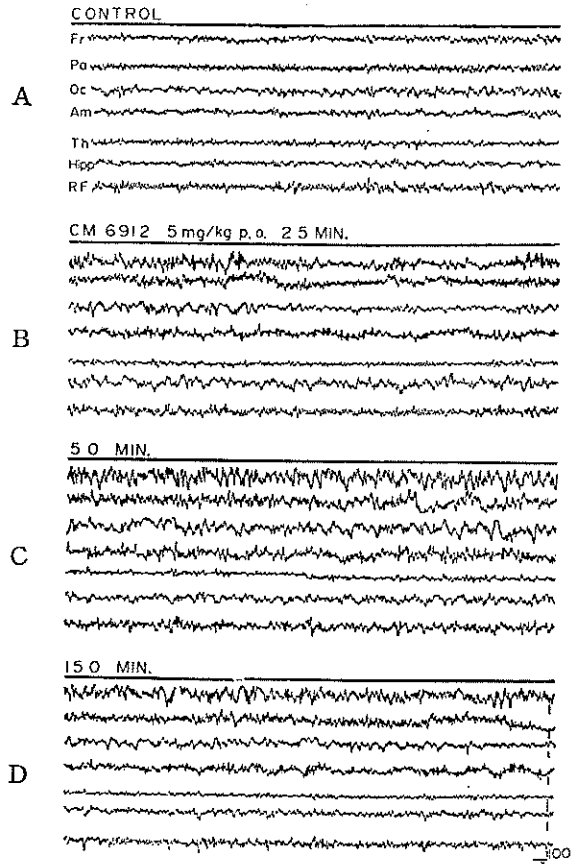


図 7. 自発脳波に及ぼす CM 6912 の影響

- A : 対照,
 B : CM 6912 5 mg/kg 経口投与 25 分後,
 C : 50 分後,
 D : 150 分後.

脳波は皮質 3 カ所と扁桃核, 視床, 海馬, 中脳網様体の誘導.

ponse) の出現がみられる.

これに対し CM 6912 の 5-10 mg/kg を経口投与したものが 3 例あるが, 120 分後に至るまで全く影響が認められなかった.

e) 海馬後放電

背側海馬を 100 Hz, 1 msec, 1~5 V の矩形波で 5~7 秒間刺激すると, 海馬誘導に spike & wave など種々の形の特有な海馬発作性放電が出現し他の誘導にも波及する.

CM 6912 5 mg/kg を応用した 2 例は 60 分後に至るまで後放電には全く変化がなく, 10 mg/kg を応用した 3 例でも 180 分後に至るまで後放電の短縮や増強は認められなかった (図 10).

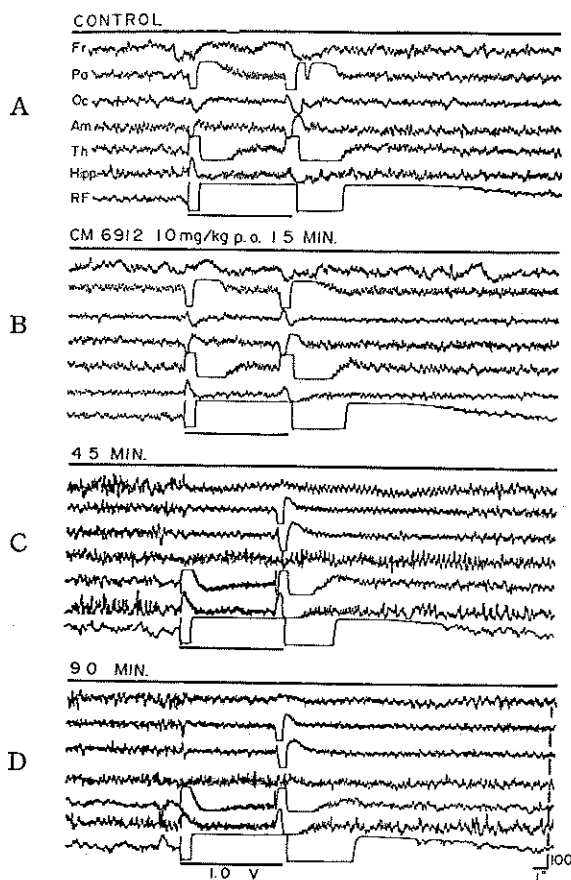


図 8. 中脳網様体刺激による覚醒反応に対する CM 6912 の影響

- A : 対照, (下線のところで1.0 V刺激)
- B : CM 6912 10mg/kg 経口投与15分後,
- C : 45分後,
- D : 90分後.

脳波は皮質3カ所と扁桃核, 視床, 海馬, 中脳網様体の誘導.

考 察

新しい benzodiazepine 化合物である lofrazepate (CM 6912) は chlorazepate (Tranxene) や lorazepam と同じ基本骨格を持ち, 各種の不安状態に対して oxazepam より優れた効果を示し, また動物実験においては筋弛緩作用や鎮静作用は弱く, pentetazol けいれんに対する抗けいれん作用は oxazepam や chlorazepate より強力であるといわれている (Clin-Midy 社資料).

本薬物の各種中枢作用を検討した今回の実験結果は, 全身症状および自発運動量の抑制作用は diazepam と同等あるいはそれより弱く, 回転棒試験や懸

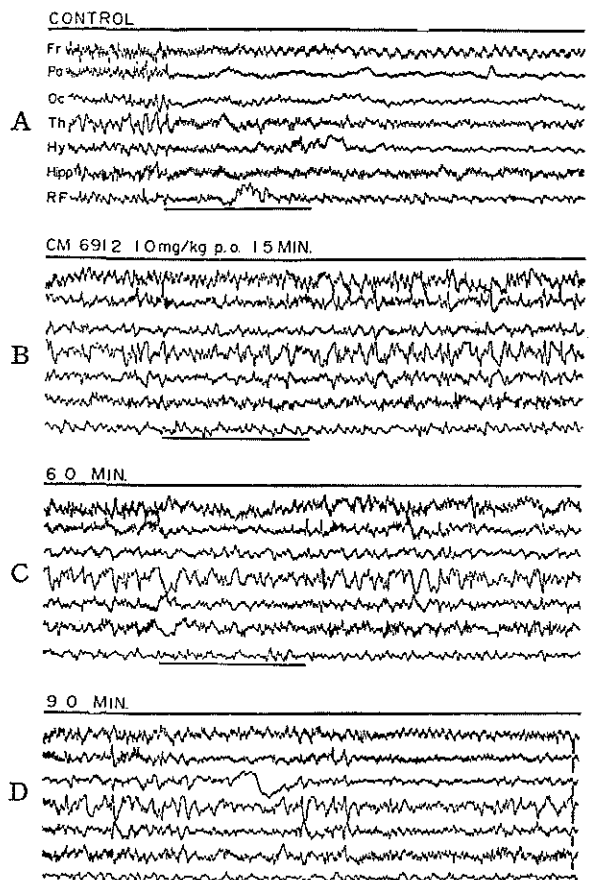


図 9. 音刺激による覚醒反応に対する CM 6912 の影響

- A : 対照 (下線のところでブザー),
- B : CM 6912 10mg/kg 経口投与15分後,
- C : 60分後,
- D : 90分後.

脳波は皮質3カ所と視床, 視床下部, 海馬, 中脳網様体の誘導.

垂試験などの協調運動に対する抑制作用も diazepam よりやや弱い程度であり, また睡眠増強作用も有するがとくに他の benzodiazepine 化合物に比べて強いものではなく, 鎮痛作用や体温下降作用を示さないことも他の benzodiazepine 化合物の場合とほぼ同様であつた. なおマウスにおいて用量の増加とともに眼瞼下垂陽性例の増加がみられたが, 今回の実験において neuroleptics の示すようなカタレプシー惹起作用は全く認められず, 睡眠増強作用のあることなどから考えると, この眼瞼下垂作用は筋弛緩作用や睡眠増強作用と関係があるものと思われる.

benzodiazepine 化合物の特徴といえる抗けいれん作用については表 11 に示すごとく, 最大電撃けいれ

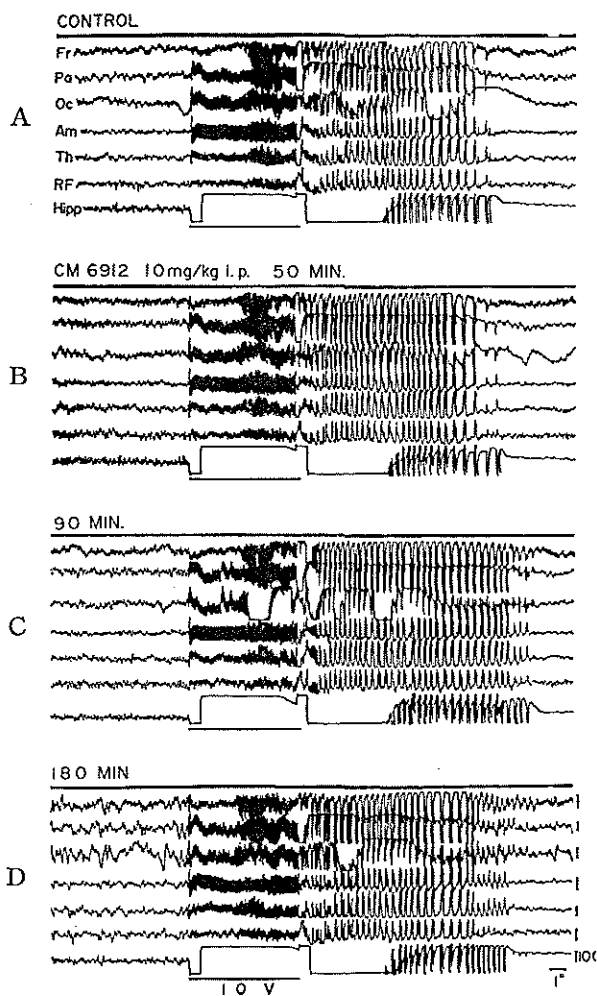


図 10. 海馬後放電に及ぼす CM 6912 の影響

- A : 対照 (1.0 V 刺激による後放電と他部位への波及),
 B : CM 6912 10 mg/kg 腹腔内投与 50 分後,
 C : 90 分後,
 D : 180 分後.

脳波は上から皮質 3 カ所と扁桃核, 視床, 中脳網様体, 海馬の誘導.

んに対しては CM 6912 およびその代謝物のうちでは CM 7116 が最も強く, 対照薬の diazepam や nitrazepam よりかなり強い作用を示し, また pentetrazol および bemegride によるけいれんの抑制作用も CM 7116 > CM 6913 > CM 6912 の順に強く, これらの結果から CM 6912 の抗けいれん作用は diazepam と同等もしくはそれより強く, 代謝物のうち CM 7116 は両対照薬より 3~4 倍強い抗けいれん作用を有することが明らかとなった.

このような pentetrazol や bemegride けいれんに

対する benzodiazepine 化合物の抗けいれん作用がそのまま抗不安作用の強さを示すものではないとしても (松本), 抗不安薬の簡単な screening 法といわれる階段試験 (staircase test) の結果などと考え合わせると (君島ら), 本薬およびその代謝物の抗不安作用についてはかなりの期待が持てるものと思われる.

さらに今回の脳波実験の結果は, 自発脳波の高振幅徐波化, 中脳網様体刺激や音刺激による皮質覚醒反応の抑制などが目立ち, 海馬後放電や漸増反応に対する抑制作用は認められなかったが, このような脳内作用機序は現在強い抗不安薬として臨床応用されている bromazepam の脳波作用 (君島ら) とほぼ同様であった.

以上のように, 各種中枢作用を検討した今回の CM 6912 の実験結果から, 本薬は抗不安薬としての臨床効果に期待の持てる薬物と考えられる.

ま と め

1. マウス, ラット, ウサギにおける一般症状は CM 6912 5 mg/kg までの応用では変化はないが, 10 mg/kg 以上を用いると鎮静状態から筋緊張の低下がみられ 50~100 mg/kg の大量でこれらの影響は翌朝まで残った.
2. Animex activity meter によるマウスの自発運動量は CM 6912 により抑制されたが, 作用発現は diazepam, nitrazepam より早い.
3. マウスの回転棒試験, 懸垂試験による CM 6912 の筋弛緩作用は diazepam よりやや弱い.
4. マウスの pentobarbital, ethanol 睡眠に対し増強作用を有するが, 他の benzodiazepine に比べてくに強いものではない.
5. マウスにおける鎮痛作用はほとんどみられない.
6. マウスの抗 tremorine 作用は diazepam, nitrazepam の 1/10~1/40 であった.
7. マウスの体温低下作用はない.
8. マウスの抗けいれん作用は, 最大電撃けいれん法では CM 6912 は diazepam, nitrazepam よりやや弱い, 代謝物 CM 7116 はそれらより強い. また pentetrazol けいれん法では CM 6912 の作用は diazepam, nitrazepam とほぼ同等であるが, 代謝物はやや強い抗けいれん作用を有する. さらに bemegride けいれん法では diazepam, nitrazepam よりやや強い.
9. ラットの階段試験より立ち上り回数の抑制が目立ったことから抗不安作用を有すると思われる.

10. ウサギによる脳波学的検索から、自発脳波は diazepam よりも徐波をおこす作用は弱い。海馬後放電に対してとくに抑制例を認めなかつたが、覚醒反応に対し抑制作用を示した。

以上のごとく CM 6912 は弱い鎮静、筋弛緩作用と抗不安作用をもち、抗けいれん作用は中等度であつた。

文 献

- 1) Clin-Midy : Clin-Midy 社資料 (未発表).
- 2) Courvoisier, S., Ducrot, R. and Julou, I.: Psychotropic Drugs. Garattini, S. and Ghetti, V. Ed. pp. 373-391, Elsevier, Amsterdam, 1957.
- 3) Haffner, F. : Experimentelle Prüfungsechmerzstellender Mittel. Deut. med. Woch. 55, 731-733, 1929.
- 4) Hoffman, D. J., Chun, A. H. C. : GLC determination of plasma drug levels after oral administration of chlorazepate potassium salts. J. pharm. Sci. 64, 1668-1671, 1975.
- 5) 川崎洋助 : Methylhexabital 麻酔に対する A-minohexan の影響. 米子医学雑誌 8, 175-180, 1957.
- 6) 君島健次郎, 祝部大輔 : Stair Case Test に対する各種向精神薬の影響. 精神神経薬理シンポジウム 6, 27-34, 1980.
- 7) 君島健次郎, 山崎迪代, 田辺恭子, 小椋 力 : 新 benzodiazepine 誘導體 bromazepam の中枢作用. 米子医学雑誌 23, 107-116, 1972.
- 8) Koffer, K.B., Berney, S. and Hornykiewicz, O. : The role of the corpus striatum in neuroleptic- and narcotic-induced catalepsy. Europ. J. Pharmacol. 47, 81-86, 1978.
- 9) Litchfield, J. T. and Wilcoxon, F. : Simplified method of evaluation dose-effect experiments. J. Pharmacol. 96, 99-113, 1949.
- 10) 松本秀憲 : Pentetrazol および bemegride により惹起される異常脳波およびけいれんの特徴. 米子医学雑誌 32, 334-349, 1981.
- 11) Randall, L. O., Schallek, W., Heise, G. A., Keith, E. F. and Bagdon, R. E. : The psychosedative properties of methamino-diazepoxide. J. Pharmacol. 129, 163-171, 1960.
- 12) Randall, L. O., Schallek, W., Scheckel, C., Bagdon, R. E. und Rieder, J. : Zur Pharmakologie von Mogadon einem Schlafmittel mit neuartigem Wirkungsmechanismus. Schweiz. med. Wochenschr. 95, 334-337, 1965.
- 13) Randall, L. O., Schallek, W., Scheckel, C., Banziger, R.F. und Moe, R.A. : Pharmakologie des neuen Psychopharmakons 7-chlor-2, 3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-1H-1, 4-benzodiazepin (Ro 5-4556). Arzneimittel Forschung 18, 1542-1545, 1968.
- 14) Sallé, J. : Expertise pharmacologique et toxicologique du chlorazepate dipotassique. Clin-Byla 社資料 (未発表).
- 15) Schallek, W., Zabransky, F. and Kuenn, A. : Effect of benzodiazepines on central nervous system of cats. Arch. int. Pharmacodyn. 149, 467-483, 1964.
- 16) Siegmund, E., Cadmus, R. and Lu, G. : A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 95, 729-731, 1957.
- 17) Thiebot, M. H., Soubrie, P., Simon, P. et Boissier, J. R. : Dissociation de deux composantes du comportement chez le rat sous l'effet de psychotropes, application à l'étude des anxiolytiques. Psychopharmacologia 31, 77-90, 1973.
- 18) Woodbury, L. A. and Davenport, V. D. : Design and use of a new electroshock seizure apparatus, and analysis of factors-altering seizure threshold and pattern. Arch. int. Pharmacodyn. 92, 97-107, 1952.
- 19) Zbinden, G. and Randall, L. O. : Pharmacology of benzodiazepines; laboratory and clinical correlation. Adv. Pharmacology. Garattini, S. and Shore, P. A. Ed. vol. 5, pp. 213-291, Academic Press, N. Y., 1967.

ABSTRACT

Central nervous actions of ethyl lofrazepate,
a new benzodiazepine derivative

Kyoko TANABE, Yukako KINOSHITA, Koji
TOKUYOSHI, Daisuke HOURI, Koei ASAGI,
Toshifumi KOSAKA and Kenjiro KIMISHIMA

Department of Pharmacology, Tottori Univer-
sity School of Medicine, Yonago, Japan

The effects of ethyl lofrazepate on the central nervous system were analysed in mice, rats and rabbits. Diazepam and nitrazepam were used as control materials.

Ethyl lofrazepate showed inhibitory effects on spontaneous motor activities, rotarod test, traction test, staircase test, maximal electroshock convulsive test and pentetrazol- or beme-gride-induced convulsion.

Despite the absence of analgesic and hypo-

thermic potencies, anti-tremorinic effect and potentiating effect on duration of sleep elicited by pentobarbital were observed.

Following intraperitoneal or oral administration of ethyl lofrazepate to rabbits with chronically implanted electrodes, electroencephalographic properties in spontaneous EEG such as slow waves with high amplitudes in the neocortex were not evident.

The arousal responses by the stimulation of the midbrain reticular formation were slightly inhibited, but seizure discharges induced by stimulation of the dorsal hippocampus and the recruiting response induced by stimulation of the diffuse thalamic projecting system were not inhibited.

Based on these results obtained, the central nervous actions of ethyl lofrazepate were discussed.

受付 (1981—11—7)