ORIGINAL (1)

Diazepam の剤型および投与方法による
行動薬理学的効果の相違について

田 所 作 太 郎* 田 所 浪 子

(受付: 1971 年 1 月 8 日)

Disparities of Diazepam Effect Depending on its Preparation and
Administration Routes Investigated Behavioral
Pharmacologically in Rats

Sakutaro Tadokoro and Namiko Tadokoro

Department of Pharmacology, School of Medicine, Gunma University.
Maebashi, Japan

Effects of Diazepam on conditioned continuous avoidance response (CAR), conditioned discriminated avoidance response (DAR) and conditioned suppression (Estes-Skinner procedure) were investigated. As the diazepam preparations, Cercine Injection and Cercine Tablet (Takeda Pharmaceutical Co.) were used.

The potencies of diazepam effect varied according to the preparations and administration routes. 4.0–8.0 mg/kg of the injectable solution (Cercine Injection) given subcutaneously or intraperitoneally depressed the respondings in both CAR and DAR with a corresponding increase in the number of shock delivered. On the other hand, the same degree of this effect was obtained in the doses of 20.0–40.0 mg/kg of suspended solution of the tablet (Cercine Tablet) given orally.

Subcutaneous injection of 0.5–1.0 mg/kg selectively attenuated the conditioned suppression, but more than 2.0 mg/kg depressed even general responding. While 2.0 mg/kg of the tablet-suspension given orally was ineffective to attenuate the suppression, 10.0 mg/kg produced the same degree of the effect as 1.0 mg/kg given subcutaneously. Accordingly, when diazepam was administered subcutaneously or intraperitoneally, the effect was approximately 5–10 times potent independent of the schedules used, when compared with the oral administration.

The injectable preparation given orally showed the maximum effect much faster than the suspended solution of the tablet given in the same route, but the duration tended to be shorter.

Diazepam は代表的なマイナートランキライザー、あるいは筋弛緩薬として、現在临床上広範に

繁用されており、錠剤、カプセル、シロップおよび注射薬等が市販されている。しかしその剤型あるいは投与方法の違いによつて起こる薬効の差異

* 群馬大学医学部薬理学教室

については、ほとんど報告されていない。私達は動物実験ではあるが、市販の diazepam 注射剤および錠剤それぞれの皮下および腹腔内投与と経口投与の間には明らかな効果の相違が認められることを行動薬理学的に確認したので報告する。

実験動物および実験方法

実験動物は教室内で固形飼料（オリエンタル酵母 KK）を与えて、長年の間繁殖育成している Wistar 系の雄ラットであり、同一生後日数のラット 5 匹を 1 群とし、3 種類のオペラント条件づけに対し 1 群あて計 15 匹を使用した。条件づけ訓練の開始は生後 60～90 日であつた。条件回避スケジュール 2 種については、1 日 120～180 分間を、条件情動スケジュールについては 1 日 90～120 分間をそれぞれ 1 セッションとし、1～3 日間隔で反復訓練し、行動基線が十分安定してから薬物投与実験に供した。いずれのスケジュールにおいても、行動基線が確立するまでには 20～30 セッションの訓練を必要とした。スキナーボックスは防音箱内に納め、照明を一定にし、中の温度を 25°C 前後、湿度を 60～70% に保つた。行動制御用の諸装置はすべて別室に設置し、行動の肉眼的観察は TV モニターを介して行なつた。反応の記録のためには、Harvard 型の累積記録装置 (Ralph Gerbrands Co.) を用いた。

スケジュールの説明

1. シドマン型条件回避スケジュール¹⁾：ラットをスキナーボックスに入れ、6 秒間ごとに直流 65～100 V. の電流をステンレス製のグリッドに 0.4～0.6 秒間反復通じた。電気ショックに対するラットの感受性は個体差が著明であるため、ショックの強さについては 0.5～2 mA. の範囲内で、通電時に一瞬悲鳴をあげてよろめいたり、飛び上がった程度に適宜調節した。ボックスの壁面に突き出ているレバーをラットが 20g 以上の力で押すと、そのつど次に発来するショックは 7 秒間遅延されて回避され、押しつばなしは自動的に無効になるようにプログラムした。行動基線安定後における回避率は 90～95% で、レバー押し反応率には個体差があつたが、同一個体ではほぼ安定して

いた。

本論文における回避数および反応数とその百分率については、今後すべて 10 分間当りの値をもつて示すこととする。

2. 弁別条件回避スケジュール²⁾：定期的に反復発来する電気ショックがレバー押し反応によつて回避される点は前述のスケジュールと同様であるが、このスケジュールにおいてはショックとショックの間隔を 10 秒とし、ショック前の 4 秒間、小型電灯をつけ同時にマイクロフォンからクリック音を流して警告刺激とした。この刺激提示中に起こつた最初のレバー押しによつて刺激は消滅し、同時にショックの発来は 11 秒間遅延する。このスケジュールで使用したショックとしては、50 c/s, 50～100 V., 0.5～2 mA. の電流をスクランブラーを介して各グリッド交互に一瞬間通した。行動基線確立後の回避率は 95～99% で、反応率はシドマン型スケジュールの場合に比し一般に低く、より安定していた。

3. 条件情動反応 (CER) スケジュール³⁾：まず食餌制限によつて自由摂食時の約 80% の体重にしたラットをスキナーボックスに入れ、レバーを 30 回押すたびに 0.07g の食餌錠を獲得できる定率強化スケジュール (FR30) の下で訓練した。つぎに 10 分間は FR 30 の下で食餌錠をとらせ (安全期)、つづいてレバーの上壁にセットした小電灯をつけ、同時に強い点滅灯を 5 分間明滅させその最後に 1 回、回避不能の電気ショックをかける (警告期)。このような 2 要素を反復するスケジュールの下でラットを十分訓練すると、一般に警告期における反応は著明に減少し、遂にほとんど停止したが、警告刺激の消滅後にはすぐに反応は再開された。本実験においては、このような条件づけ確立が良好の動物のみを選択使用している。図 1 は本スケジュール下の反応を累積記録した 1 例を示している。警告期に相当する部分はアンダーラインを附して明示されている。

使用した diazepam 製剤は、1 管 2.0ml 中に 10 mg を含有するセルシン注射液と、1 錠中 2.0mg 含有のセルシン錠 (いずれも武田薬工 KK⁴⁾) で

図1 条件情動反応の累積記録図。アンダーラインの部分は CER を，刺印は食餌錠による強化を示す

ある。注射剤は可能な限りそのままの形で投与したが，少量投与の場合は要に応じて 40 % propylene glycol で希釈して投与した。錠剤は水に難溶のため，1錠につき0.5ml の0.5% C.M.C. 溶液で懸濁液とし，カテーテルを用いて経口的に投与し，注射用には使用しなかつた。セルシン錠は C.M.C. 溶液中に投入すると数分以内で崩壊し，容易に懸濁液にすることができた。また同一用量，同一投与方法による diazepam 投与が一時期に偏しないよう各例無作為になるようにした。同一個体の投与は 5～7 日に 1 回の割合とし，投与前後少くとも 1 回あて，非経口投与の対照としては 40% propylene glycol を，経口投与のそれに

は常水あるいは 0.5% の C.M.C. 溶液を投与し，行動基線に変化のないことを確認した。1 用量の投与実験は 1 例につき 1～2 回であつた。

実験成績

1. シドマン型条件回避反応を指標とした場合一定量以上の diazepam を投与すると，回避反応は抑制され，同時にショック数は増加するが，その程度は投与量，投与方法により相違していた。図2は8.0mg/kg 皮下投与時の反応数とショック数について10分ごとに実数で示した一例である。Diazepam 投与の影響は明瞭で，条件回避反

図2 Diazepam 8.0 mg/kg 皮下投与時のレバー押し反応数とショック数の変化を示す1例（シドマン型条件回避スケジュール）

図3 Diazepam 錠剤の経口投与，皮下投与および注射剤の経口投与時の平均反応数とショック数の変化（シドマン型条件回避スケジュール）実線はレバー押し反応数，点線はショック数を示す。

TAB.=錠剤，INJ.=注射剤

応が効果指標として適当なことを示している。

図3は diazepam またはその溶媒投与後180分間の平均反応数およびショック数をセッションごとに連続的に図示した1例を示す。Diazepam を投与したセッションに選択的な変化が見られる。この例における注射剤3.0および4.0mg/kg の皮下投与時の反応数の減少とショック数の増加は、錠剤または注射剤40.0mg/kg 経口投与時より顕著である。すなわち、皮下投与の方が経口投与に比して10倍以上の効果を発現すると推定される。このような傾向は他の観察例でも認められた。さ

らに外観的にも、皮下投与時には2.0mg/kg ですでに軽度の運動失調が出現する例が見られたが、経口投与時には注射剤、錠剤の区別なく10.0mg/kg 以下では運動失調は出現しなかった。

2. 弁別条件回避反応を指標とした場合

このスケジュール下の条件回避行動もシドマン型回避反応の場合と同様 diazepam 投与によって著明な変化を示した。またこのスケジュールではより正確な回避率が得られ、さらに有効と無効の反応を区別しうるので解析には便利であった。

図4, 5および6は diazepam の皮下、腹腔内

図4 Diazepam 皮下投与時の回避率(左)と反応率(右)の時間的変化(弁別条件回避スケジュール)

図5 Diazepam 腹腔内投与時の回避率(左)と反応率(右)の時間的変化(弁別条件回避スケジュール)

図 6 Diazepam 錠剤および注射剤の経口投与時における回避率（左）と反応率（右）の時間的変化（弁別条件回避スケジュール）

および経口投与時それぞれの回避率（左）と反応率（右）の変化につき、5例5～10回の実験の平均値で経時的に示している。Diazepam 投与による変化には用量および投与方法によつて相違が見られる。すなわち、4.0mg/kg 以下の皮下または腹腔内投与時および錠剤20.0mg/kg 以下の経口投与時には回避率および反応率の一過性の低下が認められることがあつたが、投与180分後にはすべて対照値に復帰した。

一方8.0mg/kg の皮下および腹腔内投与時および錠剤40.0mg/kg の経口投与時にはいずれも著明な回避率と反応率の低下が認められ、投与後180分以内には回復の傾向を示さなかつた。このような条件回避反応の抑制が最大効果に達する時間については、皮下より腹腔内投与の方が速く、経口投与が最も遅い傾向があつた。注射剤40.0mg/kg 投与時の効果発現は意外に速く、90～180分後には回復傾向を示す例さえ認められた。

図 7 は diazepam またはその溶媒を投与してから180分間の平均回避率（上段）と平均反応率（下段）につき標準誤差と共にグラフで示したものである。2.0および4.0mg/kg の皮下および腹腔内投与時と錠剤および注射剤の20.0mg/kg 投与時の回避率は溶媒投与時の対照に比しいずれも有意の変化を示さなかつた。また diazepam 投与実験相互間にも有意の差はなかつた。

図 7 Diazepam の剤型および投与方法の相違による平均回避率（上）と平均反応率（下）の差異（弁別条件回避スケジュール）
I.P.=腹腔内投与, S.C.=皮下投与

4.0mg/kg の皮下および腹腔内投与時および錠剤20.0mg/kg 投与時の反応率は対照に比し有意 ($P < 0.05$) に減少したが、2.0mg/kg の皮下・腹

腔内投与時の反応率には有意差はなかった。また diazepam 投与と実験相互間にはいずれも有意差は認められなかった。

8.0mg/kg の皮下・腹腔内投与時と錠剤および注射剤の40.0mg/kg 経口投与時の回避率と反応率はすべて溶媒投与時に比し有意 ($P < 0.01$) の減少を示したが、これら相互間には有意差は認められなかった。

すなわち、本スケジュールにおける diazepam の投与方法による効果の相違を大ざっぱに見積ると、非経口投与と経口投与の間には少くとも5倍の差があると推定される。また注射剤と錠剤の経口投与時の効果を比較すると、注射剤の作用発現は速く、持続時間が短いように思われた。

3. 条件情動反応 (CER) を指標とした場合

図8および図9は CER におよぼす各種用量の diazepam の皮下投与時と錠剤の経口投与時の影響について検討した1例の累積記録図を示してい

図8 Diazepam 皮下投与皮下投与時における CER の変化を示す累積記録図の1例

図9 Diazepam 錠剤の経口投与時における CER の変化を示す累積記録図の1例

る。アンダーラインで示す警告期は、最上段の溶媒投与の対照にあつては、すべてがほぼ一直線となり著明な反応抑制あるいは停止を表わしている。すなわち CER の確立を示しているが、この CER は diazepam 投与によつて著明に変化する。図8の例では1.0mg/kg の皮下投与時に最も顕著な CER 阻止が発現している。2.0mg/kg の皮下投与時には一時的ではあるが安全期における反応まで抑制され、4.0mg/kg では投与後90分以上におよぶ著明な全般的抑制が認められ CER に対する効果が不明瞭となつている。

図9に示す錠剤の経口投与実験においては、2.0 mg/kg 投与では CER にはほとんど変化が認められず、10.0mg/kg で皮下に1.0mg/kg を投与した場合に匹敵する典型的な CER 阻止が発現している。

図10は diazepam の皮下投与および錠剤の経口投与の影響につき用量と投与後90分間の反応率の

図10 Diazepam 皮下投与時と経口投与時の CER の変化を示す警告期の平均反応率 (上) と安全期の平均反応率 (下)

相関性について、5例の平均値で標準誤差と共に示したグラフである。このさいの警告期の反応は安全期の反応に対する百分率であらわし、安全期の反応については、投与前45分間の安全期の反応に対する百分率であらわしている。

警告期の反応率 (上段) は1.0mg/kg 皮下投与時に最も高く、2.0mg/kg 以上ではそれより低下する。一方経口投与時には2.0~10.0mg/kg の範囲内では用量にほぼ比例する上昇傾向を示し、この用量範囲内ではピークに到達しないことを表わしている。安全期の反応率 (下段) については4.0mg/kg 皮下投与時にのみ有意 ($P < 0.01$) の減少が認められた。すなわち diazepam の投与によって投与前より反応が確実に低下したのは、本実験条件下では4.0mg/kg 皮下投与時のみであったのである。

CER に対する影響を指標として皮下投与と経口投与の効果を比較すると前者の場合の方が10倍近く顕著であると考えられる。

考 察

薬物の効果については、ヒト特に病人に投与したさいの臨床的観察によつて確認するのが理想であるが、向精神薬の臨床効果を客観的、定量的に観察するには困難な面が多い。一方動物実験による検討には客観性があるとはいえ、観察指標が臨床効果のいずれの側面を物語るかを考えると問題は複雑である。その点、基礎—臨床の緊密な情報交換が望ましいと思う。本論文の意図の一つもここにある。

最近十数年間における行動薬理学の発展はめざましく、薬物の微妙な中枢作用の研究に有力な手段を提供し、向精神薬開発に果たした役割は実に大きい。行動薬理学の主流は Thompson & Schuster⁵⁾ が主張するように、学習によつて生じた動物行動に対する薬物効果の検討にあるが、本実験で使用した条件回避および条件情動反応のスケジュールはいずれもその基本的手技であり、同類の方法で種々の向精神薬の作用が追及され、詳細な総説が多数発表されている^{6) 7) 8) 9) 10) 11) 12) 13)}。

一般に動物実験による行動薬理学的効果と臨床効果との間に平行関係が認められている向精神薬は多い。しかし、実験成績やその意味づけのすべてが一致しているわけではなく、また schedule-induced behaviors に関する基本的な実験心理学的概念も未だ統一されていない。そのため現在、向精神薬の作用機序の解釈に混乱が生じているように思われる。特に条件情動反応 (条件抑制反応) については多くの問題が提起されている。この方法を最初に報告した Estes & Skinner³⁾ は、警告刺激に一致する反応抑制、すなわち CER の発生機序は不快刺激に対する不安によると推測した。そのため、このスケジュールによつて不安度の定量的測定が可能となると考えられ注目を集めた。事実、抗不安作用を有すると考えられている薬物の中には CER を選択的に阻止するものが多い。しかしその後に行なわれた多数の追試は必ずしも

不安を表わす適切な指標にはならないことを示した。その経緯については Kelleher & Morse^{10) 12)} によって詳しく総説されている。

しかしながら、一般的中枢抑制薬や meprobamate, benzodiazepine 誘導体等の投与により CER は著明に影響されることは事実であり、私達の経験によると本実験と同一スケジュール下で発生したラットの CER はヒトの常用量より低い用量の (0.1mg/kg) の diazepam 皮下投与によって鋭敏に変化する。また 0.1~1.0 mg/kg の間では比較的明瞭な用量-反応関係を示し、その効果は投与後24時間には完全に消失し、行動基線に復帰する。2.0mg/kg 以上の皮下投与時には、本実験結果でも明らかなように用量に比例した全般的な行動抑制が生じ、CER 阻止効果は不明瞭となる。以上の事実から私達は、注意深く行動基線を確認しながら薬物投与を行う限り、CER は薬理学的には有用な効果指標となりうると考えている。

さて、diazepam は minor tranquilizer に属する代表的薬物であり、major tranquilizer や一般的中枢抑制薬とは相違した特性を持つと考えられる。この特性は種々のスケジュール下の行動に対する効果を多角的に検討することによって把握されるものと思う。本実験結果にも示されるように、条件回避反応の抑制と CER 阻止それぞれの効果発現に必要な用量間には比較的明確な隔たりが認められることも diazepam の特性の一つと考えられる。このように効果発現量を異にする条件行動のいずれの変化をとりあげても、diazepam の効果はその剤型によるより投与方法によつて著明に相違することが明かである。大ざっぱに見積ると非経口投与の方が経口投与時に比し、5~10倍強力で、最大効果到達時間も速いと考えられる。皮下と腹腔内投与の間にも若干の差異が認められたが経口投与時との差異に比較すると僅少である。

剤型による相違については、注射剤を経口投与した場合の最大効果発現時間が錠剤の経口投与時に比較して極めて迅速であり、かつ作用持続時間

も短い傾向が認められた。これは恐らく注射剤に使用している溶媒の影響が大きいと想像されるが、何故持続時間に著明な差異が生ずるのか不明である。

一般に経口投与時より非経口投与時の方が薬物の作用は顕著であるといわれている。しかしその程度は吸収の遅速、分布、生体内変化、排泄等に依存しているゆえ、薬物一つ一つについて前臨床的検討が行なわれるべきである。しかし、従来は中毒作用や致死効果のみを指標にして論じられていることが多く、残念ながら実際の常用量に近い用量についての検討は少い。本実験における投与量は臨床上の常用量に近接しており、かつ市販の剤型を用いて比較検討している点では参考になると思う。ただ同時に血中あるいは組織内の diazepam 濃度やその運命について検討する余裕がなかったのは残念である。

DeSilva ら¹⁴⁾ はヒトに10mg の diazepam を経口的あるいは筋肉内に投与した場合の血中濃度の消長を観察し、経口投与時の血中濃度は1時間後に最高に達し、その半減期は2~3時間であるが、筋肉内投与時には15分で最高になり、半減期は前者にはほぼ等しいと報告している。Diazepam の効果に関するヒトとラットの種差についての詳細は不明であるが、以上の結果はヒトにおいても投与方法によつて効果発現のパターンが異なる可能性を示唆するものと思う。特に注射剤使用時における作用の発現が強いことを考慮すると実際の使用に当つては年齢や患者の状態によつて加減する必要があるのではなからうか。また chlordiazepoxide や diazepam の比較的大量投与時には依存が起こるといわれている^{15) 16)} が、この面にも配慮が必要ではないかと考えられる。

総括ならびに結論

ラットのシドマン型条件回避反応、弁別条件回避反応および FR 30 食餌強化行動下における Estes-Skinner 法による条件情動反応に及ぼす市販の diazepam 注射剤および錠剤の効果を比較検討した。

Diazepam の効果やその発現時間は剤型や投与

方法によつて相違する。すなわち、注射剤と錠剤それぞれを経口的に投与した場合の最大効果の発現時間は著明に相違し、前者において著しく速く、作用持続時間も短い。注射剤を腹腔内投与した場合の最大効果発現時間は皮下投与時より速い傾向がある。

投与方法による diazepam の効果の相違は特に著しく、いずれのスケジュールにおいても非経口投与時の効果は経口投与時のそれと比較し5～10倍強力である。

スケジュールのプログラミングに当り、装置の作製其他に助力された群馬大学医学部学生金沢義彦、大橋京一、村田稔3氏に対し厚く御礼申し上げる。

引用文献

- 1) Sidman, M.: Avoidance Behavior. Operant Behavior Ed. by W. K. Honig. pp. 448-498, Appleton-Century-Croft. New York, (1966).
- 2) Hoffman, H. S.: The Analysis of Discriminated Avoidance. 同上, pp. 499-530(1966).
- 3) Estes, W. K. & B. F. Skinner: Some Quantitative Properties of Anxiety. J. exp. Psychol., **29**, 390-400(1941).
- 4) 日本医師会医薬品カード, 分類番号, 1.3(1971).
- 5) Thompson, T. & C. S. Schuster: Behavioral Pharmacology. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J., U. S. A. 1968.
- 6) Hunt, H. F.: Methods for Studying the Behavioral Effects of Drugs. Ann. Rev. Pharmacol. **1**, 125-144(1961).
- 7) Dews, P. B. & W. H. Morse: Behavioral Pharmacology. Ann. Rev. Pharmacol. **1**, 145-174(1961).
- 8) Cook, L. & R. T. Kelleher: Effects of Drugs on Behavior. Ann. Rev. Pharmacol. **3**, 205-222(1963).
- 9) Cook, L.: Effects of Drugs on Operant Conditioning. Animal Behaviour and Drug Action, A Ciba Foundation Symposium, pp. 23-43, J & A. Churchill, Ltd. London, (1964).
- 10) Kelleher, R. T. & W. H. Morse: Escape Behavior and Punished Behavior. Federation Proceedings **23**, 808-817(1964).
- 11) Gollub, L. R. & J. V. Brady: Behavioral Pharmacology. Ann. Rev. Pharmacol. **5**, 235-262(1965).
- 12) Kelleher, R. T. & W. H. Morse: Determinants of the Specificity of Behavioral Effects of Drugs. Ergebnisse der Physiologie Bd. **60**, 1-56, 1968.
- 13) 小林司: 新精神薬理学, 医学書院, 東京(1968).
- 14) DeSilva, J. A., B. A. Koechlin & G. Bader: Blood Level Distribution Patterns of Diazepam and its Major Metabolite in Man. J. Pharmaceutical Scie. **55**, 692-702(1966).
- 15) Goodman, L. S. & Gilman, A.: The Pharmacological Basis of Therapeutics. MacMillan Co. New York, (1965).
- 16) Clark, W. G. & del J. Giudice: Principles of Psychopharmacology. Academic Press, New York, (1970).