

# Experimental Studies on the Anticonvulsant Effect of Sodium Valproate on Focal and Generalized Seizure Discharges Induced by Electrical Stimulation in Different Necortical Areas and Hippocampus in Rabbits

|       |   |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: jpn<br>出版者:<br>公開日: 2017-10-04<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者:<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/2297/7820">http://hdl.handle.net/2297/7820</a>               |

# 血中濃度定常状態下での家兎新皮質と海馬における 電気刺激による焦点発作波と電気ショックによる 全般発作波に対する Sodium Valproate の 効果に関する実験的研究

金沢大学医学部神経精神医学教室 (主任: 山口成良教授)

広 瀬 茂 宏

(昭和60年8月10日受付)

Valproic acid (VPA) の抗てんかん効果を調べる目的で、体重 2.5~3.5 kg の雄の成熟家兎 70 匹を用いて実験を行った。ハロセン麻酔下で手術を行い、塩酸ソボクラリンで非動化して人工呼吸下で実験を行った。一侧の視覚領、運動領および海馬を順に電気刺激して各部位の焦点発作波を誘発した後、VPA を投与して再び同一条件で刺激を行いその効果を、VPA を投与しないで同様な刺激を行った群と比較した。また別の群では両側の前頭頭蓋骨に植え込んだスクリュウ電極間の通電による電気ショック (ES) で全般発作波を誘発してから、VPA の投与を行い、再び刺激してその効果を VPA を投与しないで同様な刺激を繰り返した群と比較した。VPA の投与は pharmacokinetics の理論に基づき、初期静脈注入と連続注入を併用して行い、一定の血中濃度を保った定常状態下で実験を行った。各発作波に対する投与後短時間の効果とその発作波抑制のための有効血中濃度を検討し、さらに投与後短時間での非有効血中濃度域で長時間一定の血中濃度を保って発作波抑制効果の経時的変化を調べた。その結果、焦点発作波では、VPA 投与 30 分後では視覚領および運動領では 1000~1200  $\mu\text{g/ml}$  の濃度範囲で、海馬では 300~500  $\mu\text{g/ml}$  の濃度範囲で発作波抑制効果が見られた。しかし投与 30 分後での非有効血中濃度範囲から 250  $\mu\text{g/ml}$  の値を選びこの値で一定の血中濃度を保って経時的変化を見たところ投与後 30 分では効果が見られないが、2 時間後あるいは 4 時間後には発作波抑制効果が出現し、時間経過とともに増強する傾向が各焦点発作波において見られ、また視覚領および運動領よりも海馬により強く発作波抑制効果が見られた。ES による全般発作波に対しては VPA 投与 30 分後では 100~1200  $\mu\text{g/ml}$  の範囲では発作波抑制効果は見られず、また 250  $\mu\text{g/ml}$  と 500  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で投与後 4 時間まで変化を観察したが発作波抑制効果は見られなかった。以上の結果から、VPA の抗てんかん効果の有効血中濃度は一定のものではなく VPA が血中に出現してからの時間によって異なり、また各発作型によっても異なる可能性を示唆した。

---

**Key words** sodium valproate, seizure discharge, serum level, time delay of action, pharmacokinetics.

---

Valproic acid (VPA) は、Burton<sup>1)</sup>によって初めて合成され主に bismuth salt の調剤のための溶媒として用いられていた。Meunier ら<sup>2)</sup>が khellin の溶媒として VPA を用いその溶解液が pentylenetetrazol で誘発された発作に対して抑制効果があることを発見し、その後の研究で抗てんかん作用が溶媒として用い

た VPA によるものであることが明らかになった。VPA のナトリウム塩である sodium valproate を Carraz ら<sup>3)</sup>が初めて臨床に用い、次第に各国で用いられるようになり、今日抗てんかん薬としては臨床最上重要な薬物の 1 つと考えられている。

VPA の臨床適用としては、原発全般発作 (primary

Abbreviations: Am, nucleus anteromedialis thalami; Amg, amygdala; ES, electroshock; Hpc, hippocampus; L, left; MC, motor cortex; NC, nucleus caudatus; RF, reticular formation; R, right; VC, visual cortex; VPA, valproic acid.

generalized seizures) に最も効果があり<sup>4)~7)</sup>、とりわけ欠伸発作に有効である<sup>8)~12)</sup>と考えられている。一方部分発作 (partial seizures) にも効果があるという報告<sup>4)13)</sup>や、Lennox syndrome の発作に効果があったという報告<sup>14)</sup>、さらにてんかん発作重積状態に効果があったという報告<sup>15)~17)</sup>も有り、VPA の抗てんかん作用スペクトルについては今後も検討されるべき点が多い。現在抗てんかん薬は、治療有効血中濃度を考慮しつつ投与されるのが一般化しており、抗てんかん薬の血中濃度と発作抑制効果との間には強い相関関係があると考えられている<sup>18)~20)</sup>。しかし VPA ではその血中濃度と発作抑制効果とのあいだに明確な相関が無いという報告<sup>21)~24)</sup>や明確な相関が無いことを示唆する報告<sup>10)25)~29)</sup>があり、さらに Lockard ら<sup>30)</sup>が報告した、VPA の投与を中止した後血中から VPA が消失した後も発作抑制効果が認められるといういわゆる carry over effect や、Rowan ら<sup>31)</sup>の VPA の発作抑制効果が、VPA の投与後血中濃度がピークに達した時点より数時間遅れて発現すると言っている。以上、VPA では、抗てんかん作用スペクトル、血中濃度と発作抑制効果との関係など検討すべき点が多い。そこで今回家兎を用い、部分発作モデルとしての視覚領、運動領及び海馬における焦点発作波と全般発作モデルとしての電気ショック (ES) による全般発作波に対する VPA の発作波抑制効果を調べた。そして VPA の投与は pharmacokinetics (薬物動態学) の理論に基づいて血中濃度が一定の定常状態が得られるように行い、この定常状態下で血中濃度別に各々の発作波に効する抑制効果の検討と、さらに一部の家兎については一定の血中濃度のもとでの発作波抑制効果の経時変化を観察した。

## 対象および方法

### I. 対象

対象として 2.5~3.5 kg の雄の成熟した家兎 70 匹を使用した。

### II. 実験方法

#### 1. 手術

手術はハロセン麻酔及び 1% の塩酸リドカインの局所麻酔を併用して行った。まず気管切開して気管カニューレを挿入した後、塩酸ツボクラリンの静脈内注射により動物を非動化して、気管カニューレに入工呼吸器を接続して人工呼吸下で実験を行った。ただし、手術終了後は麻酔は止め、30 分後の麻酔の影響が無くなったと思われる時点より実験を開始した。

実験は焦点発作波の群と ES の群とに大きく 2 つに分けて行った。まず動物を成茂科学器械研究所社製の脳定位固定装置 (RA-5) に取り付け、頭皮を切開して頭蓋骨を露出して焦点発作波群については、刺激部位にあたる頭蓋骨を穿孔し、Rose ら<sup>32)</sup>の map に準じて左側の運動領及び海馬の皮質表面に刺激用及び記録用とした電極を置き、左側の背側海馬には同様の電極を Ridge<sup>33)</sup>の map に準じて stereotaxic に刺入した。電極挿入後は頭蓋骨の穿孔部分を歯科用セメントで埋めて密閉するとともに電極を固定した。この刺激用及び記録用とした電極は、記録用とした直径 0.3 mm で先端のみを露出したエナメルコーティングタングステン線に刺激用とした直径 0.2 mm 先端 0.5 mm 露出したエナメルコーティングステンレススチール線 2 本を極間を 0.5 mm として接着剤アロンアルファを用いてはりあわせた 3 本からなるものを用いた。また、記録電極として直径 2 mm のステンレススチールのスクリュウ電極を Rose の map に準じて右側運動領及び視覚領の硬膜上に植え込んだ。また、一部の家兎には記録用として右側の扁桃核、尾状核、視床内側前核にも深部電極を Ridge の map に準じて stereotaxic に刺入した。一方 ES 群には、刺激用として直径 0.3 mm のスクリュウ電極を両側の前頭頭蓋骨下の硬膜上に植え込んだ。さらに記録用としてスクリュウ電極を両側の運動領および視覚領の硬膜上に植え込み、さらに左側の視床内側核および脳幹網様体に記録用深部電極を刺入した。

麻酔の開始から実験終了までの所要時間は最長で約 8 時間である。実験中は動物の生理的条件の変化を見めために瞳孔反射と直腸温の測定を頻回に行い、また心電図記録、さらに数匹の家兎では左大腿動脈にカテーテルを挿入して血圧測定および動脈血ガス分析を行った。また採血後は適宜電解質液の輸液を行った。記録中の動物の痛みを除去するために、固定装置に取り付け開始時と、その 2 時間後、4 時間後の計 3 回、固定装置のイアーボールによる圧迫箇所には 1% の塩酸リドカインによる局所麻酔を行った。実験終了後は脳を摘出し、10% のホルマリン液に浸して固定して連続切片を作りニッスル染色を行って、深部電極の位置を組織学的に確認した。

#### 2. 電気刺激

刺激装置として日本光電製電気刺激装置 (SEN-3201) を用い、記録電極からの脳波導出は、日本光電製 13 チャネル脳波計 (EEG-4214) を用いて記録した。

電気刺激は、焦点発作波群では刺激の条件は電流値 0.1~3 mA、パルス幅 0.5 msec、周波数 50 Hz、刺激の持続時間は 3 秒で、電流値のみを変えて行った。ま

ず、視覚領、運動領、海馬の順に焦点部位別に焦点発作波誘発閾値を電流値のみを変えて調べた。刺激は発作波が誘発されない時は次の刺激まで3分間の時間を置き、いったん発作波が誘発された場合は、次の部位の刺激までに発作波消失後5分間の時間を置いた。このようにして各焦点部位での発作波誘発閾値を調べた後、ひき続きその閾値の1.5倍の電流値をそれぞれの部位における刺激の電流値の強度として用いて、視覚領、運動領、海馬の順序で刺激して発作波を誘発した。その後すぐにVPAの投与を開始して、その30分後に初回刺激時と同一の条件、同一の順序で刺激して発作波の持続時間および発作波パターンの変化を調べた。発作終了後直ちに、あらかじめ露出しておいた左側の頸静脈から血液を採取して血清中のVPA濃度を測定した。また別の家兎5匹を用いてControl群として、投与群と同様な方法で各焦点部位で発作波を誘発した後、VPAを投与せずにその30分後に刺激して発作波持続時間と発作波パターンの変化を観察してControlとした。

一方ES群では、予備実験として家兎3匹を用い、1%塩酸リドカインの局所麻酔下で両側の前頭頭蓋骨に本実験と同様なスクリュウ電極を植え込み、非動化せずに透明なプラスチック製の行動観察箱で動ける状態にして電極コードを接続して、電流値のみを変えて両電極間に通電し、家兎が転倒し強直間代けいれんの起こる閾値の電流値を3匹について調べ、その値の平均値の2倍の電流値を本実験の刺激の電流強度として用いた。その値は50mAで、周波数60Hz、パルス幅0.5msec、持続は3秒間である。本実験では家兎28匹を用い非動化してこの刺激条件を用いて発作波を誘発した後、VPAの投与を開始してその2時間後再び同条件で刺激して発作波持続時間と発作波パターンの変化を観察した。またControl群として5匹の家兎を用い、初回刺激の後、VPAを投与しないで2時間後に再び刺激して発作波持続時間と発作波パターンの変化を観察した。2時間の間隔をおいて刺激したのは、発作後抑制期 (postictal refractory period)<sup>34)</sup>を考慮に入れたためである。

### 3. 薬物投与と血中濃度測定

VPAの投与は、血中濃度を一定とした定常状態とするため、pharmacokineticsの理論に基づき初期静脈注入 (loading dose) と微量注入装置による連続注入 (infusion dose) を併用した。VPAの静注量はone compartment modelによる解析から得られた消失速度定数 (rate of elimination)  $0.018 \text{ min}^{-1}$  と、分布容量 (distribution volume)  $200 \text{ ml/kg}$  の値を用いて、目標血中濃度を  $M \mu\text{g/ml}$ 、家兎の体重を  $W \text{ kg}$  とした

場合、連続注入量  $I = M \times 200 \times 0.018 \div W (\mu\text{g/min})$ 、初期静脈注入量  $L = I \div 0.018 (\mu\text{g})$  を算出した。初期静脈注入と連続注入は、それぞれ左右の耳静脈より行い、連続注入には夏目製作所製KN式微量注入器を使用した。VPAは協和発酵工業社製のsodium valproate原末 (LOT 40322-00) を蒸留水に溶解して用いた。血清中のVPA濃度は蛍光偏光免疫抗体法 (Fluorescence polarization immunoassay) によるダイナボット社製のTDX analyzerを使用して測定した。

### 4. 血中のVPA濃度一定とした定常状態下でのVPAの発作波抑制効果の経時的変化

焦点発作波群、ES群ともに一部の家兎を用い、一定の血中濃度を保ったまま焦点発作波群では初回刺激から30分後、2時間後、4時間後に刺激をおこない、ES群では初回刺激から2時間後、4時間後に刺激を行い発作波の経時的変化を観察した。またControlとして焦点発作波群、ES群それぞれ5匹の家兎を用いVPAを投与せずに、同様に刺激を行って変化を観察した。

### 5. 統計処理

2回目刺激のときの発作波持続時間におけるControl群とVPA投与群との間の比較では各の平均値を分散分析で検定し、有意差が見られた場合にはさらにDuncan法により多重比較を行った。VPAの血中濃度を一定とした定常状態下での発作波抑制効果の経時的変化を調べたものについては焦点発作波群ではt検定を行い比較したが、ES群については分散分析をおこなった。

## 成 績

### I. 濃度別でのVPAの発作波抑制効果の比較

図1は各焦点部位とESにおける2回目刺激のときの発作波持続時間を、初回刺激の時の発作波持続時間に対する百分率の平均値と標準偏差で示してある。各焦点部位のControlは5匹の家兎を用いた。初回刺激の後、VPAを投与しないで30分後に2回目刺激を行ったときの発作波持続時間を、初回刺激の時の持続時間に対する百分率の平均値と標準偏差で示してある。これらをControlとして、VPA投与群では図に示した各濃度範囲でそれぞれ8匹の家兎を用い、初回刺激の直後よりVPAの投与を開始した。投与開始30分後に再度刺激した時の発作波持続時間を、初回刺激の時の持続時間に対する百分率の平均値と標準偏差で示してある。ES群ではControl群として5匹用い、VPA投与群では各濃度域にそれぞれ7匹用いた。すべて初回刺激から2時間後に刺激した時の発作波持続時間を、初回刺激の時の持続時間に対する百分率の平均値

と標準偏差で示してある。

まず焦点発作波については、VPA を投与しない Control 群では海馬 (Hippocampus) が最も大きい発作波持続時間の延長を示す傾向が見られたが有意差は見られなかった。Control 群と VPA 投与群の比較では、視覚領 (Visual Cortex) および運動領 (Motor Cortex) においては、VPA の血中濃度が 100~700  $\mu\text{g/ml}$  の濃度範囲では有意な抑制効果は見られなかった。しかし 1000~1200  $\mu\text{g/ml}$  の高濃度の範囲では有意な発作波抑制効果が見られた。海馬では、100~300  $\mu\text{g/ml}$  の範囲ですでに短縮する傾向を示し、300~500  $\mu\text{g/ml}$ , 500~700  $\mu\text{g/ml}$  と 1000~1200  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で Control 群と比較して発作波持続時間の有意な短縮が見られた。しかし有意な短縮が見られたこれらの 3 つの濃度範囲間ではそれぞれ有意な差は見られず、300~700  $\mu\text{g/ml}$  の範囲と 1000~1200  $\mu\text{g/ml}$

の範囲で VPA の血中濃度の上昇に伴う発作波抑制効果の増強は見られなかった。

次に ES 群では VPA 投与 2 時間後、血中濃度が 100~700  $\mu\text{g/ml}$  と 1000~1200  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で VPA 投与群と Control 群との間に発作波持続時間の短縮率に有意差は見られなかった。また VPA 投与群で各濃度範囲の群のあいだでも有意差は見られなかった。

図 2 は視覚領を局所電気刺激して誘発した焦点発作波の、VPA の投与前後での発作波パターンと発作波持続時間の変化を示した 1 例である。同一家兎での VPA 投与前の初回刺激時のものと VPA の投与開始後 30 分、VPA の血中濃度が 203.0  $\mu\text{g/ml}$  のもとでのものである。刺激の電流値は 0.8 mA で、パルス幅 0.5 msec、周波数 50 Hz、刺激時間 3 秒で同一強度の刺激が行われている。VPA 投与 30 分後、発作波持続時間は軽度延長している。

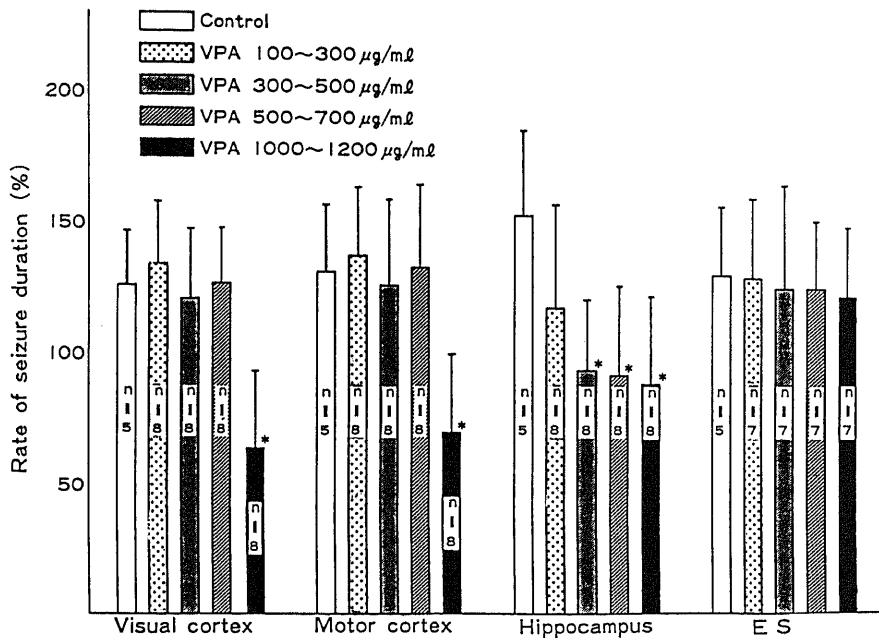


Fig. 1. The antiepileptic effect of VPA on the afterdischarge duration in several serum ranges. Each value represents the rate of seizure duration, being expressed as percent of the first afterdischarge durations. The afterdischarges were induced 30 min after the first seizure discharges in the visual cortex, motor cortex and hippocampus, and 2 hrs after the first seizure discharges in ES groups (the groups of generalized seizure discharges induced by maximal electroshock). "Control" indicates the rate of seizure discharge duration induced in the control rabbit groups which were never administered VPA throughout experiments. Each value represents a mean rate of seizure durations with the standard deviation (vertical bar). The suppression of seizure discharges were obtained under lower serum ranges of VPA in the hippocampus than the visual cortex and motor cortex. VPA produced no significant decrease in the afterdischarge duration of ES groups. \* $P < 0.05$  vs Control.

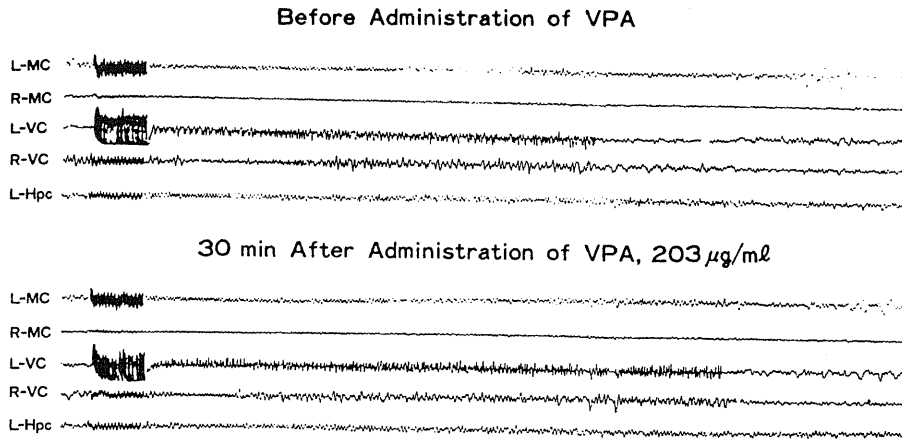


Fig. 2. Afterdischarges in the visual cortex induced before and after the administration of VPA. After the administration of VPA, the afterdischarge duration was slightly prolonged under 203.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$  serum level of VPA. L, left ; R, right ; MC, motor cortex ; VC, visual cortex ; Hpc, hippocampus.

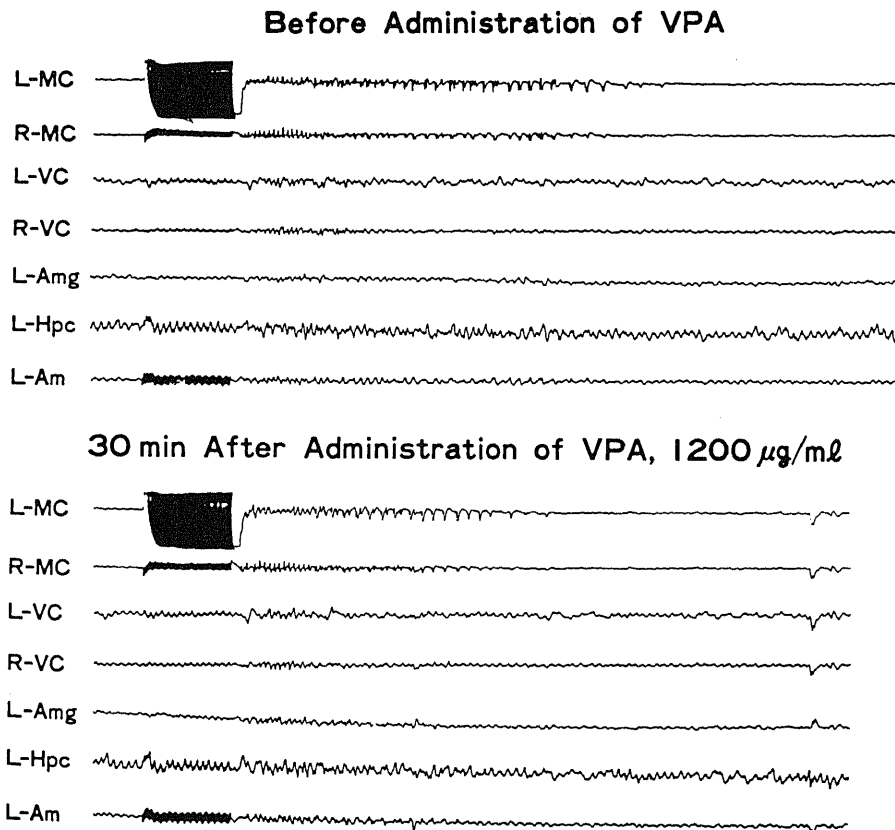


Fig. 3. Afterdischarges in the motor cortex induced before and after the administration of VPA. After the administration of VPA the afterdischarge duration was slightly reduced under 1200.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$  serum level of VPA. L, left ; R, right ; MC, motor cortex ; VC, visual cortex ; Amg, amygdala ; Hpc, hippocampus ; Am, nucleus anteromedialis thalami.

図3は運動領刺激による、VPA投与前後における焦点発作波の変化を示した1例である。刺激の電流値は1.5mAで、VPAの血中濃度は1200.0 $\mu$ g/mlである。VPA投与30分後で発作波持続時間は軽度短縮している。

図4は海馬刺激の1例である。刺激の電流値は0.1mAで、VPAの血中濃度は700.0 $\mu$ g/mlである。VPA投与後発作波持続時間は軽度短縮している。

図5はESによる全般発作波をVPAの投与前後で示した1例である。刺激の電流値は50mA、周波数60

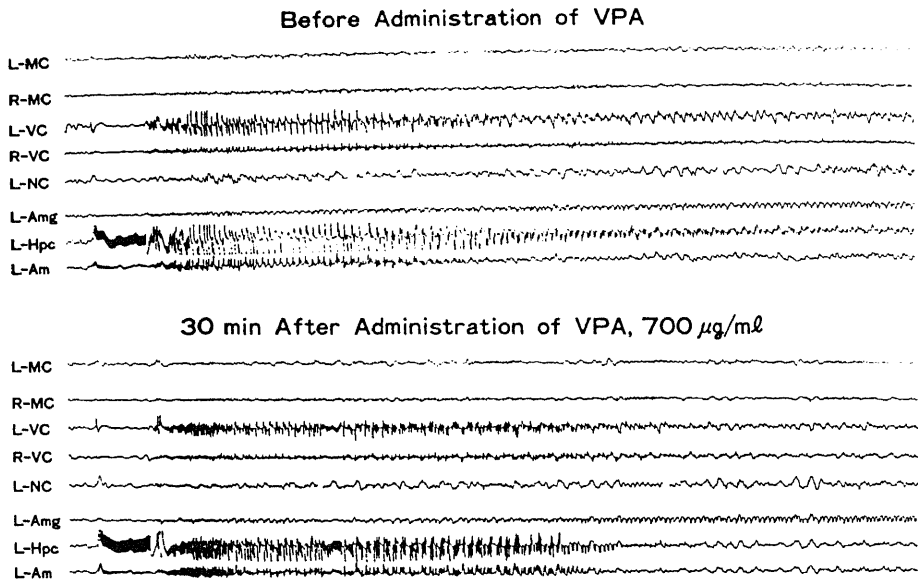


Fig. 4. Afterdischarges in the hippocampus induced rabbit before and after the administration of VPA. After the administration of VPA, the afterdischarge duration was slightly reduced under 700.0 $\mu$ g/ml serum level of VPA. L, left; R, right; MC, motor cortex; VC, visual cortex; NC, nucleus caudatus; Amg, amygdala; Hpc, hippocampus; Am, nucleus anteromedialis thalami.

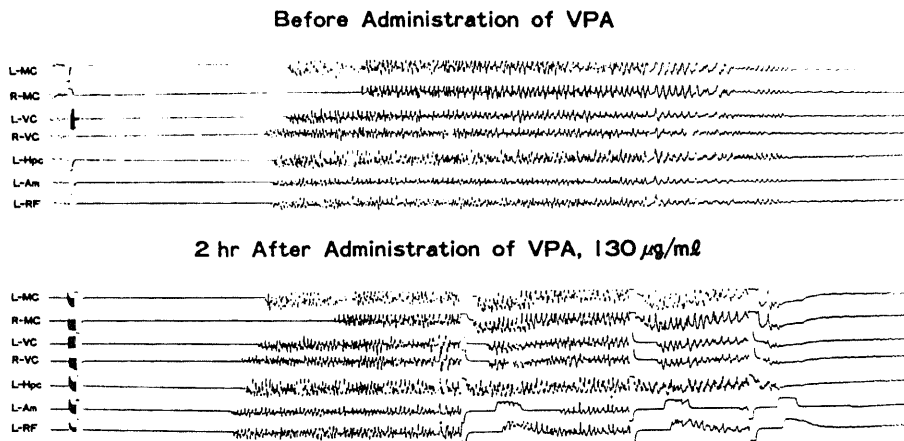


Fig. 5. Afterdischarges induced by the maximal electroshock. After the administration of VPA, afterdischarges were not reduced under 130.0 $\mu$ g/ml serum level of VPA. L, left; R, right; MC, motor cortex; VC, visual cortex; Hpc, hippocampus; Am, nucleus anteromedialis thalami; RF, reticular formation.

Hz, パルス幅 5 msec, 刺激時間 3 秒である。VPA の血中濃度は 130.0  $\mu\text{g/ml}$  である。ES により各部位に同期して発作波が誘発されている。VPA 投与 2 時間後、発作波持続時間はほとんど変化していない。発作波の振幅が軽度増大している。

II. 血中の VPA を一定とした定常状態下での

VPA の発作波抑制効果の経時的变化について

次に VPA 投与後 30 分での各焦点発作波の抑制効果の見られなかった血中濃度範囲と投与後 2 時間での ES による発作波の抑制効果の見られなかった血中濃度範囲の中から、焦点発作波群では 250  $\mu\text{g/ml}$ , ES 群では 250  $\mu\text{g/ml}$  と 500  $\mu\text{g/ml}$  の値を選びこれらの値ではほぼ一定に血中濃度を保って、発作波抑制効果の経時的变化を VPA の投与後 4 時間にわたって調べた。焦点発作波群では 6 匹, ES 群では 250  $\mu\text{g/ml}$  と 500  $\mu\text{g/ml}$  にそれぞれ 5 匹と 3 匹の家兎を用いた。

図 6 は視覚領における焦点発作波の持続時間の経時的变化を示した。各回の発作波持続時間を、初回刺激の時の発作波持続時間に対する百分率の平均値と標準偏差で示してある。Control は 5 匹の家兎を用い初回刺激の後 VPA を投与せずに 30 分後, 2 時間後, 4 時間後に刺激したときの発作波持続時間を、初回刺激の

時の発作波持続時間に対する百分率の平均値と標準偏差で示した。VPA 投与群では 6 匹の家兎を用い, VPA の血中濃度を 250  $\mu\text{g/ml}$  にほぼ一定に保って各時間で刺激した場合の経時的变化を示した。VPA 投与 30 分後, 2 時間後では Control 群と比較して有意な差は見られないが, 4 時間後では短縮し有意差が見られた。

図 7 は同様な方法で行った運動領での結果を示した。視覚領と類似の傾向を示し, VPA の投与開始 30 分後, 2 時間後では有意な差は見られず, 4 時間後に有意な短縮を示した。

図 8 は海馬での結果を示した。VPA を投与しない Control 群では繰り返し刺激による発作波持続時間の延長効果が視覚領や運動領よりも強い傾向が見られた。VPA 投与群では投与開始 30 分後では Control 群と有意な差は見られないが 2 時間後, 4 時間後には短縮し有意差が見られた。VPA 投与群での 2 時間後と 4 時間後のものあいだでは有意差は見られなかった。

図 9 は ES による発作波持続時間の経時的变化を初回刺激から 2 時間後, 4 時間後について示した。血中濃度 250  $\mu\text{g/ml}$  の群では VPA を投与しない Control 群と比較して僅かに短縮する傾向を示したが, 2 時間

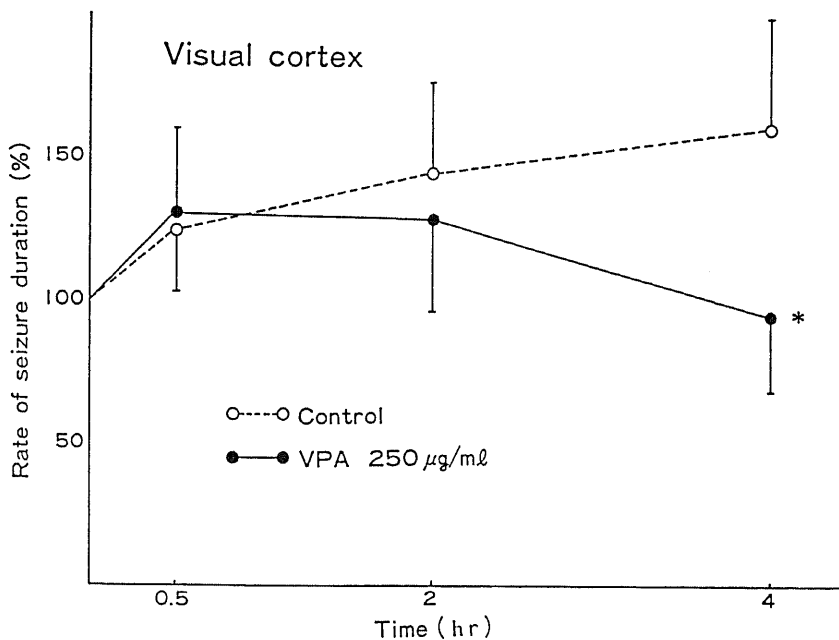


Fig. 6. Anticonvulsant effect of VPA on the afterdischarge duration in the visual cortex and the change of effect in time course. VPA serum levels were maintained steadily at 250  $\mu\text{g/ml}$ . Afterdischarge duration was plotted as percent of the first afterdischarge duration. Each value represents a mean rate of seizure duration with the standard deviation (vertical bar). Four hours after the administration of VPA, seizure duration was decreased significantly. \* $P < 0.05$  vs Control.



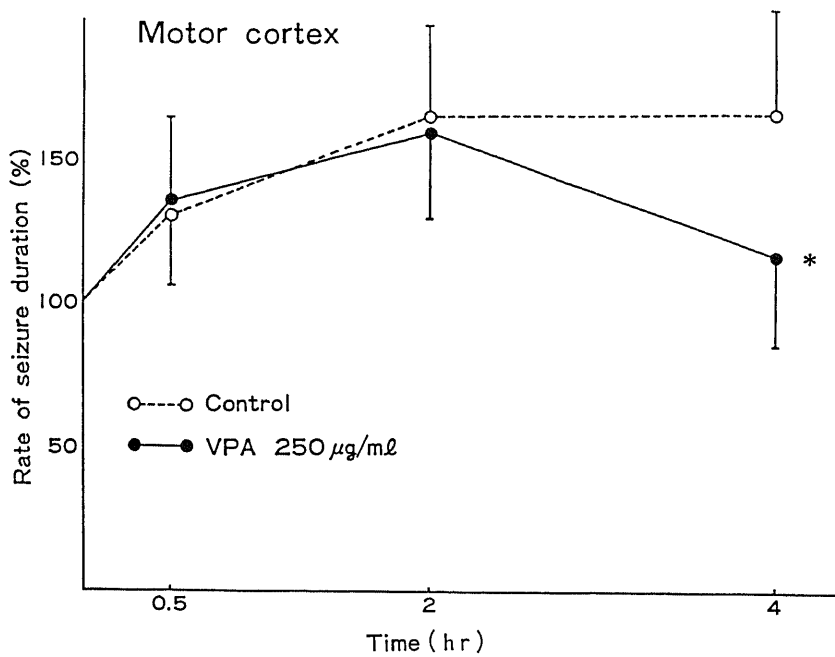


Fig. 7. Anticonvulsant effect of VPA on afterdischarge duration in the motor cortex and the change of effect in time course. VPA serum levels were maintained steadily at 250 µg/ml. Four hours after the administration of VPA, seizure duration was decreased significantly. \* $P < 0.05$  vs Control.

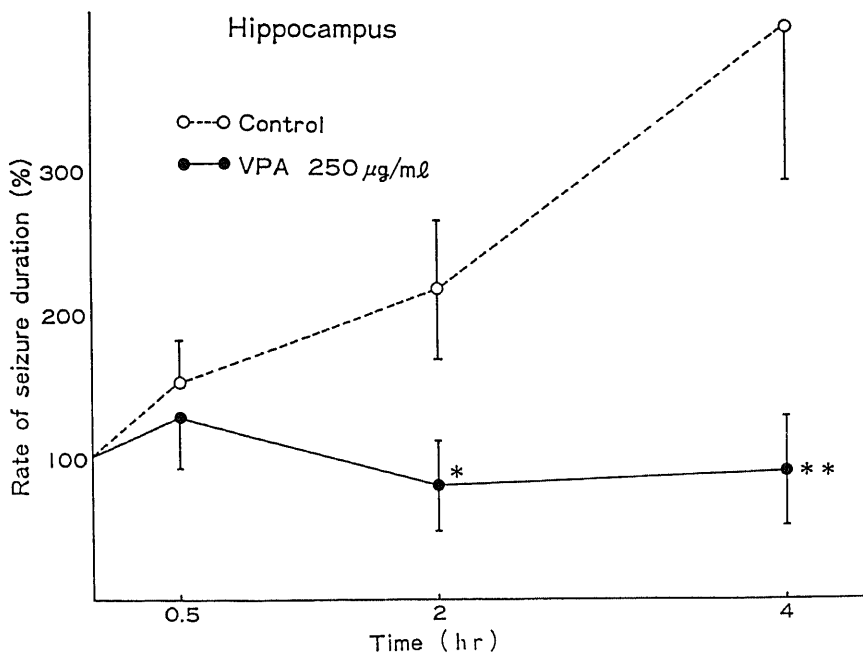


Fig. 8. Anticonvulsant effect of VPA on afterdischarge duration in the hippocampus and the change of effect in time course. VPA serum levels were maintained steadily at 250 µg/ml. Two hours and 4 hours after the administration of VPA, seizure duration was decreased significantly. \* $P < 0.05$  vs Control, \*\* $P < 0.01$  vs Control.

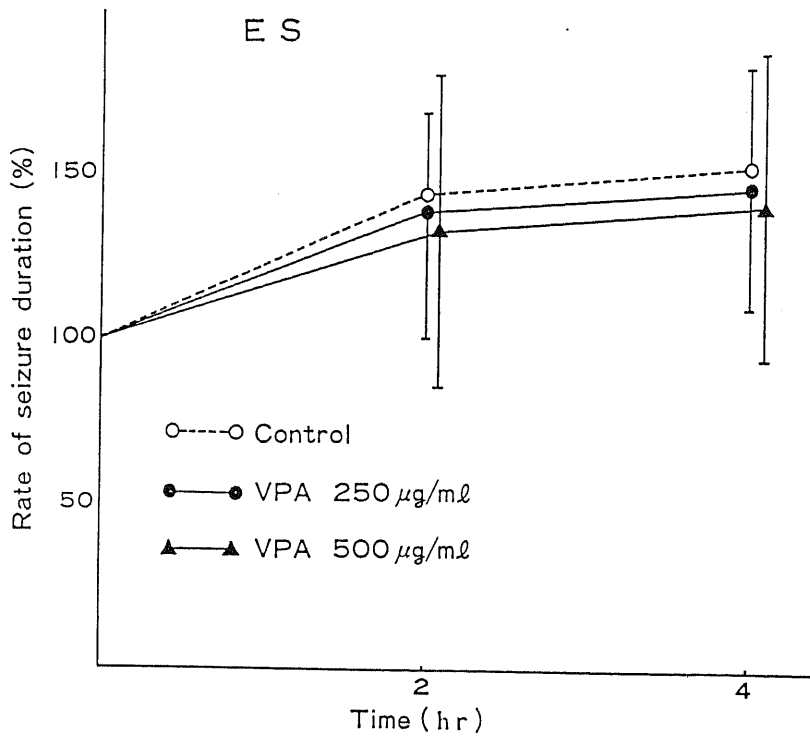


Fig. 9. Anticonvulsant effect of VPA on seizure duration of generalized seizure discharges and the change of effect in time course. VPA serum levels were maintained steadily at 250µg/ml in 5 rabbits and 500µg/ml in 3 rabbits. VPA produced no significant decrease in seizure duration even at 4 hrs'administration under 250µg/ml and 500µg/ml.

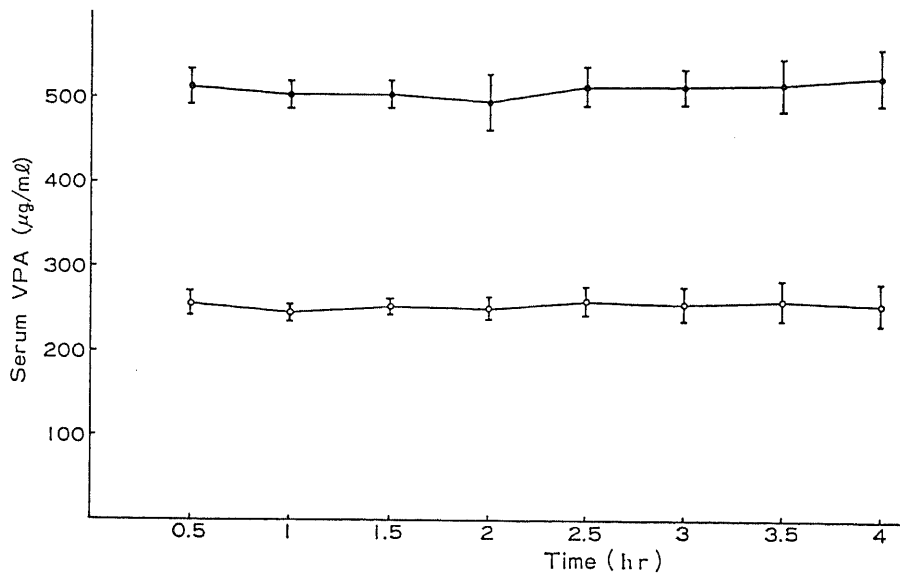


Fig. 10. Steady serum concentrations of VPA maintained during 4 hours in loading dose and infusion doses. ○—○ and ●—●: Respectively, serum levels of 250µg/ml and 500µg/ml were aimed as target levels on the basis of pharmacokinetics in 11 and 3 rabbits. Each dot represents mean level of VPA with the standard deviation (vertical bar).

後、4時間後ともに発作波持続時間の短縮率に有意差は見られなかった。血中濃度 500  $\mu\text{g/ml}$  の群においても Control 群と比較して短縮する傾向を示したが、各時間ともに有意差は見られず、また 250  $\mu\text{g/ml}$  群と比較して僅かに短縮する傾向を示したが有意差は見られなかった。

図 10 は VPA 投与後 4 時間まで発作波の変化を示らべた上記の図 6 から図 9 の 14 匹の家兎における血中 VPA 濃度の経時的変化を示した。投与後 30 分おきに採血して得られた値の平均値と標準偏差を 250  $\mu\text{g/ml}$  を目標としたもの 11 匹、500  $\mu\text{g/ml}$  を目標としたもの 3 匹についての結果を示した。多少の変動は見られるが、ほぼ目的とした値が得られている。

### 考 察

動物実験モデルに対する抗てんかん薬の効果を調べる場合に、抗てんかん作用効果と血中の抗てんかん薬濃度との相関を調べた報告はいくつか見られるが<sup>35)~39)</sup>、しかしこれらは、抗てんかん薬の一回投与あるいは数回に分けての投与によるものであり pharmacokinetics の理論に基づいた投与を行い一定の血中濃度の定常状態下で実験した報告<sup>40)~41)</sup>は少ない。

今回の研究では抗てんかん薬として VPA を用い、一定の血中濃度を保った定常状態下で各発作波に対する短時間の効果とその有効血中濃度の検討をし、さらに一部の濃度域では長時間一定の血中濃度を保って抗てんかん効果の経時的変動を検討したが、VPA につきこのような条件のもとで実験した報告は過去には見られないため、主としてこれらの点につき考察する。

#### I. Pharmacokinetics の理論にもとずき VPA を投与して、一定の血中濃度の定常状態下で実験を行った意義について

Löscher ら<sup>42)</sup>がマウスに VPA を経口投与した場合 5 分から 30 分後に VPA の血中濃度がピークに達し、脳内の VPA 濃度は血中濃度の約 20% であるが、血中 VPA 濃度のピーク時と同時に脳内濃度のピークが達成されると報告し、Lacolle ら<sup>27)</sup>はラットの経口投与で投与後早期より血中濃度と脳内濃度との間に平行な関係が成立していることを報告している。Ichimura ら<sup>43)</sup>は家兎に VPA の静脈内投与を行い数分以内に血中濃度と脳内濃度との間に平衡が成立して平行な関係にあることを報告している。これらの報告から VPA の脳内濃度は血中濃度と平行な関係にある<sup>44)</sup>と考えられる。さらに Löscher ら<sup>45)</sup>がラットで VPA を 1 日につき 225 mg/kg の割合で浸透圧ミニポンプで皮下に 14 日間にわたって持続注入を

行ったが、この期間 VPA の脳内への蓄積は見られなかったと報告している。したがって pharmacokinetics の理論に基づき VPA を投与して一定の血中濃度が維持できれば、一定の脳内濃度が維持できると考えられる。過去の VPA の投与を行った実験では、VPA の一回投与あるいは数回に分けての投与であり、これらの投与方法では経時的に血中濃度が変動している。すなわち脳内の VPA 濃度が変動している条件下で実験をしていることになる。しかし今回の方法を用いれば脳内濃度が一定となり、変動するパラメーターを一つ減らすことができ、実験条件を簡略化することによって VPA の効果や作用メカニズムを研究する上でデータの解釈が容易になると考えられる。

#### II. 焦点発作波に対する VPA の発作波抑制効果について

まず VPA の投与開始後 30 分での焦点発作波に対する VPA の効果では、発作波持続時間の短縮率は視覚領および運動領では血中濃度 100~700  $\mu\text{g/ml}$  の範囲では Control と有意差は無く、1000~1200  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で有意な短縮が見られた。海馬では 100~300  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で Control と有意差が無く、300~700  $\mu\text{g/ml}$  と 1000~1200  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で有意な短縮が見られた。このように VPA が発作波抑制効果を示したのはかなりの高濃度であり、人間で抗てんかん効果の有効血中濃度が 50~100  $\mu\text{g/ml}$  であると言われている<sup>46)~52)</sup>その濃度範囲とはかなり相異している。過去の動物実験の報告では、Van Duijn ら<sup>38)</sup>がネコの bemegride で誘発した tonic clonic seizure に対して VPA を静脈内投与した場合投与後 5 分での発作抑制の有効血中濃度が 300~500  $\mu\text{g/ml}$  であると報告し、Lacolle ら<sup>27)</sup>は、ラットを用い pentetrazole で誘発した発作に対して VPA 経口投与後 60 分での有効血中濃度が 400  $\mu\text{g/ml}$  であったと報告している。また Howe ら<sup>53)</sup>はラットを用いた実験で、最大電気ショック (maximal electroshock) による発作に対して、VPA を経口投与してその 60 分後での後肢の強直伸展と前肢の強直伸展を抑制するための VPA 血中濃度がそれぞれ 224  $\mu\text{g/ml}$  以上と 530  $\mu\text{g/ml}$  以上であったことを報告している。これらの報告からも VPA 投与後短時間ではかなりの高濃度が発作抑制に必要であることがわかる。そこで次に今回の実験では VPA の静脈内投与開始後 30 分での各焦点発作波すべてに対して発作波抑制に非有効血中濃度域であった 100~300  $\mu\text{g/ml}$  の範囲から 250  $\mu\text{g/ml}$  の濃度を選びこの値で血中濃度を一定に保って VPA の発作波抑制効果の経時的変動を調べた。その結果をまとめると、視覚領では投与開始後 2 時間で Control と比較して

発作波持続時間は短縮する傾向を示し、4時間後では有意に短縮した。運動領では30分後と2時間後ではControlと比較して有意差は見られなかったが、4時間後では有意な短縮を示した。海馬では30分後では有意差は見られなかったが2時間後、4時間後とも有意な短縮を示し、4時間後では2時間後と比較して、Control群とVPA投与群との発作波持続時間の短縮率の差が増大している。このように今回の実験では時間の経過によるVPAの発作波抑制効果の発現が見られさらに時間の経過とともに増強する傾向が見られた。同一血中濃度のもとであっても投与開始後30分と2時間後あるいは4時間後では発作波抑制効果に差異が見られるということは、VPAの抗てんかん効果に対する有効血中濃度は一定の定まったものでは無く、VPAが血中に出現してから時間によって異なってくるということを示唆するものである。VPAの投与後の効果発現までの時間の遅れについては、Rowanら<sup>31)</sup>が17歳の光過敏性てんかんの女性に600mgのVPAを1回経口投与して、投与後3時間で血中濃度はピークに達しそのピーク時からさらに2時間後にVPAの発作抑制効果が発現したことを報告している。今回の結果はVPAの効果発現に時間的遅れがあるという点でRowanらの報告と符合するものと考えられる。またWalterら<sup>54)</sup>がマウスを用い、pentylenetetrazol, picrotoxin および bicuculline の各薬物で誘発したそれぞれの発作と最大電気ショック(maximal electroshock)により誘発した発作に対してVPAの急性投与と慢性投与を行い、いずれの発作に対しても慢性投与で1日につき2回繰り返して投与した場合に、血中のVPA濃度は急性の1回投与時と変わらないにもかかわらず発作抑制効果の増強が見られたことを報告している。この報告は血中濃度を経時的にモニターし、一定の血中濃度を保つてのVPAの効果の変動を調べたものではないが、今回の実験の時間の経過とともにVPAの発作抑制効果が増強するという結果に相通じるものと考えられる。

このようなVPAの効果発現までの時間的遅れや時間経過とともに効果が増強するという現象については他の抗てんかん薬には報告が見られない。この現象の説明としてまず考えられるのはVPAの脳内への移行速度の問題がある。血中から脳内への移行に時間を要するために効果発現のための有効な脳内濃度に達するまでに時間の遅れを生じ、そのためにVPAの効果発現の遅れや時間経過による効果の増強が見られるという考えである。しかしこの考えは、Löscherら<sup>42)</sup>のマウスを用いた実験や、Levy<sup>26)</sup>のモンキーでの実験、さらにIchimuraら<sup>43)</sup>の家兎での実験で、VPAが急速に脳

内に移行することが示されているため、当てはまらない。また脳内に移行したVPAが脳内組織のタンパクと結合することによりVPAの脳内での蓄積が起るとすれば、このために時間経過とともにVPAの脳内濃度の上昇が起こり時間経過とともに効果の発現や増強が起こるということが考えられる。しかしVPAは脳タンパクには結合せず<sup>55)</sup>、またVPAの持続投与によってもVPAは脳内に蓄積しないことが示されている<sup>45)</sup>ためこの考えは否定される。

つぎに考えられるのはVPAの抗てんかん作用がVPAによる直接的作用によってではなくVPAの代謝産物(metabolite)によるという考えである。投与されたVPAが代謝されて生ずる代謝産物のうちで、抗てんかん作用を持つものとして2-propyl-2-pentenoic acid (2-en-VPA), 2-propyl-3-pentenoic acid, 2-propyl-4-pentenoic acid, 3-hydroxy-2-propylpentenoic acid, 4-hydroxy-2-propylpentenoic acid, 5-hydroxy-2-propylpentenoic acid, 3-oxo-2-propylpentenoic acidそして2-propylglutaric acidが報告されている<sup>56)~58)</sup>、これらのうちで2-en-VPAがVPA投与中に有意に脳内濃度の上昇を示したことがマウスで報告されている<sup>59)60)</sup>。そしてLöscherら<sup>45)</sup>によりラットやマウスを用いた実験でVPAの持続投与により、VPAの脳内への蓄積は見られないが2-en-VPAが時間とともに蓄積することが認められ、さらにマウスでの実験で2-en-VPAの抗てんかん効力は全脳内濃度で計算してVPAの1.29倍であることが報告されている。したがってVPAの代謝産物がVPAの抗てんかん効果に大きな役割を担っているとすれば、VPAの投与開始後、代謝産物が効果発現のための有効脳内濃度に達するまでに要する時間がVPA投与後効果発現までの時間の遅れとなり、さらに代謝産物の脳内への蓄積によるその脳内濃度の上昇によって抗てんかん効果が時間経過とともに増強することも説明し得ると考えられる。投与開始後30分で比較的高濃度でのみ発作抑制効果が見られた点については、血中のVPA濃度が高くなればそれだけVPAの代謝産物も増加しその結果発作抑制効果が見られることにも考えられる。しかしVPA投与後のごく早期でその代謝産物の脳内濃度が極めて低いと考えられる状態で抗てんかん効果が見られたという報告<sup>26)45)60)</sup>があり、VPAそれ自体によっても抗てんかん効果が発現することも考えられる。したがって脳内でのVPA自体による抗てんかん効果は存在するが、しかしその効果は比較的弱くかなりの高濃度でのみその効果が見られることになるという可能性が考えられる。

一方、海馬では300~500 µg/ml, 500~700 µg/ml,

1000~1200  $\mu\text{g/ml}$  のそれぞれの濃度範囲で発作波抑制効果が見られたが、これらの各濃度範囲間では有意差は見られなかった。このことはこれらの濃度範囲では、血中濃度の上昇にともなって発作波抑制効果の増強が見られないことを示している。この結果は、VPA の発作波抑制効果が VPA あるいはその代謝産物の直接の作用によるとしても、その効果は VPA の投与後短時間では時間による制約があり、濃度のみには依存しないということを示唆するものである。

そこで最後に考えられるのは、VPA の発作波抑制効果の発現が VPA あるいはその代謝産物による直接の作用によるのではないという可能性である。VPA あるいはその代謝産物が神経伝達物質のレセプターに変化を引き起こしてその伝達性を変えたり、神経細胞膜に作用してイオンに対する膜の透過性を変えたり、あるいは神経伝達物質の代謝にかかわる酵素に変化を引き起こしたりなどといった二次的あるいは間接的な作用により発作波抑制効果が発現される可能性がある。この二次的あるいは間接的な変化に要する時間が VPA の効果発現の時間の遅れとなるという考えである。しかし、いずれにしても VPA の抗てんかん効果の作用メカニズムについては現在のところ確定されてはおらず現時点では明確な結論を出すことはできない。

次に VPA の焦点発作波に対する抑制効果で各焦点部位による効果の差異については、投与開始後 30 分では海馬において発作波抑制効果が VPA の血中濃度が 300~500  $\mu\text{g/ml}$  の領域において見られ、これは視覚領や運動領における発作波抑制のための有効血中濃度よりも低い値である。また VPA の血中濃度 250  $\mu\text{g/ml}$  のもとの経時的な効果においても時間の経過とともに海馬では、視覚領や運動領よりもより強い発作波抑制効果を示す傾向が見られた。このような部位での効果の差が生じる原因として考えられることは、VPA やその代謝産物の脳内濃度において脳内の各部位による濃度差があることによる可能性が考えられる。Ciesielski ら<sup>61)</sup>が放射性同位元素でラベルした VPA をラットに投与して VPA の脳内での分布を調べた研究では、VPA は脳内に均等には分布せず、新皮質と海馬とでは海馬の方が濃度が高いことを報告している。この放射性同位元素による測定では VPA とその代謝産物の濃度の区別がなされていないが、Löscher ら<sup>49)</sup>はラベルしない VPA を用いて犬とラットで VPA とその代謝産物の脳内の部位別の濃度を測定している。その報告では VPA とその代謝産物ともに脳内各部位で濃度差があり、VPA では 1 回静脈内投与あるいは静脈内持続投与で、後頭皮質については測定されていないが、前頭皮質と海馬とでは前頭皮質が濃度が高い

ことを報告している。一方、代謝産物では 2-en-VPA のみが検出され前頭皮質と海馬とでは海馬の方が濃度が高く、また長時間持続投与により前頭皮質より海馬により高濃度に 2-en-VPA が蓄積する傾向が見られている。したがって VPA あるいはその代謝産物の脳内各部位での濃度差によって各焦点部位における抗てんかん効果の差異が生じていることが示唆される。

### III. ES による発作波に対する VPA の抑制効果について

今回の実験では ES により誘発した発作波に対して、投与開始後 30 分における各濃度範囲で VPA の発作波抑制効果は認められなかった。また VPA の血中濃度 250  $\mu\text{g/ml}$  と 500  $\mu\text{g/ml}$  のもとの 4 時間までの効果を調べたが、有意な発作波抑制効果は認められなかった。このように効果が見られなかった原因としてまず考えられることは、今回検討した各濃度範囲は ES による発作波抑制のための有効血中濃度に達していなかったという可能性が考えられる。投与開始後 30 分で最高 1200  $\mu\text{g/ml}$  で効果が認められていないので、これ以上のかなりの高濃度を要することが示唆される。Van Duijn ら<sup>39)</sup>がネコの bemegride で誘発した強直間代発作に対して VPA を皮下に投与した実験で、VPA 投与により発作の閾値の上昇は見られたが発作の臨床経過は不変で発作の持続時間が軽度延長したことを報告している。今回の実験は発作の誘発方法、動物種、VPA の投与方法のいずれもこの報告とは異なっているが、VPA が強直間代発作に対して発作の閾値は上げるが、発作の持続時間に対しては短縮作用がないとすれば、VPA の血中濃度が有効濃度に達していない場合や刺激強度が相対的に高い場合には今回の様に発作波抑制効果が見られないことになる可能性がある。すなわち ES の刺激強度として 3 匹の家兎を用い最大発作誘発域値を求めその 2 倍の電流値を刺激強度として用いたが、この刺激強度が強過ぎたために今回の血中濃度域では閾値を上げるまでには至らなかったという可能性が考えられる。あるいは、今回は長時間投与は 250  $\mu\text{g/ml}$  と 500  $\mu\text{g/ml}$  の濃度で、最長 4 時間までしか検討しなかったが、これ以上の長時間持続投与を行うか、あるいは 1200  $\mu\text{g/ml}$  以下の濃度域においてもこれらの値より高い濃度で長時間投与を行えば効果が見られた可能性も考えられる。

最後に考えられることは、VPA は ES による発作に対しては臨床上の発作抑制効果は存在するが、脳波上には発作波抑制効果を表さないという可能性である。つまり、過去の ES による発作に対して VPA の効果を調べた実験はすべてその効果の判定を臨床発作症状に対して行っている。今回の実験では発作波に対する

効果を検討するため動物を非動化して脳波の観察のみを行い臨床発作自体に対する効果については観察していない。したがって臨床上は発作抑制効果が出現しているかもしれないが、脳波上には発作抑制効果としては見られないという可能性が考えられる。周藤ら<sup>62)</sup>はマウス、ラット、家兎での最大電撃けいれん法によって誘発した発作に対して VPA の効果を臨床発作症状で検討しているが、VPA 投与により、強直性伸展けいれんは消失しても強直性屈曲けいれんは消失しないなどといった発作症状の軽減は見られるものの、発作が完全に消失しないものがほとんどであることを報告している。今回の実験においても発作は完全には抑制されないが臨床発作症状になんらかの効果があった可能性は否定できない。

#### IV. 臨床的意義について

発作波抑制効果を調べた今回の実験から、焦点発作波では VPA が血中に出現してから効果発現までに時間の遅れ (time delay) があり、さらに VPA の血中濃度を一定に保っていても経時的に効果の増強 (augmentation) が見られる。したがって VPA の発作波抑制効果発現のための有効血中濃度は投与後の時間によって異なり、投与後短時間では高濃度を必要とし長時間後ではこれより低濃度であることが示された。VPA の発作波抑制効果が臨床上の発作抑制効果に通じるものと一応仮定すれば、これらの結果から VPA の抗てんかん効果の指標は単に血中濃度だけではなく VPA が血中に出現してからの経過時間数が重要であると言える。つまり VPA の投与を行う際の目標とする VPA の血中濃度は VPA の投与を開始してからの経過時間によって異なり、投与後短時間では比較的高濃度を必要とし長時間後ではより低濃度でよいということになる。近年 status epilepticus にも VPA による治療を試みた報告が見られる<sup>15)~17)</sup>が、VPA の効果発現に time delay があり、短時間での効果発現のためには高濃度を要するという今回の実験結果が臨床にも当てはまるとすれば、VPA による status epilepticus の初期投与に際しては 50~100  $\mu\text{g/ml}$  という通常の有効血中濃度<sup>40)~52)</sup>を目標とすることは適切ではないと言える。VPA は他の抗てんかん薬と比較して副作用が少ないことが報告<sup>4)63)</sup>されており、最高血中濃度が 2120  $\mu\text{g/ml}$  を記録し重篤な副作用を示さなかった症例の報告<sup>64)</sup>もあるが、status epilepticus に対する急速大量投与は今後検討に値するものと思われる。ES により誘発した発作波については発作波抑制効果は通常濃度では見られず、また焦点発作波については各焦点部位により投与後短時間での効果と時間経過による効果とにおいて部位による発作波抑制効果に差異が見

られた。視覚領、運動領および海馬のそれぞれの部位で誘発した発作波が部分発作の実験モデルとしてそれぞれ異なった発作型を表すものと仮定すれば、これらの結果は、発作抑制のための有効血中濃度は発作型によりさらに投与後の経過時間によりそれぞれ異なることになり、各発作型により異なった VPA の投与法を試みる必要があることを示唆するものである。動物での実験結果を直ちに人間に適用することはできないが、以上の結論は VPA を人間での臨床に応用する上で示唆に富むものとして意義深いと考える。

## 結 論

VPA の抗てんかん効果を調べる目的で家兎を用いた動物実験を行った。部分発作モデルとしての視覚領、運動領及び海馬における焦点発作波と全般発作モデルとしての ES による全般発作波に対して VPA の発作波抑制効果を検討した。VPA の投与は pharmacokinetics の理論にもとづいて行い、一定の血中濃度を保った定常状態下で、各発作波に対する投与後短時間の効果とその有効血中濃度を検討し、さらに一部の濃度域では長時間一定の血中濃度を保って発作波抑制効果の経時的変化を調べた。その結果、焦点発作波では VPA 投与後一定の血中濃度のもとで発作波抑制効果発現までに時間の遅れが見られ、さらに経時的に抑制効果の増強が見られた。そして VPA の発作波抑制のための有効血中濃度は投与後の時間によって異なり、投与後短時間では高濃度を必要とした。また焦点発作波の誘発された部位により発作波抑制効果に差異が見られ、視覚領及び運動領より海馬により強く発作波抑制効果が見られた。一方、ES により誘発した発作波に対しては通常濃度では発作波抑制効果は見られなかった。

## 謝 辞

稿を終わるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師山口成良教授に心からの謝意を表するとともに、御助言、御指導をいただいた金沢大学医学部神経精神医学教室の地引逸亀博士、並びに共同研究者の窪田孝博士に心から感謝いたします。さらに抗てんかん薬の血中濃度測定にあたって御協力いただいた倉田孝一博士、並びに木戸日出喜博士と VPA の投与法について御指導いただいた金沢大学医学部付属病院薬剤部の市村、横川両先生に心から感謝いたします。また本研究は厚生省神経疾患研究委託費「難治性てんかんの成因と治療に関する研究」84-05 の援助を受けたことを付記して謝意を表します。

なお本論文の要旨は第 18 回日本てんかん学会 (宇都宮) において発表した。

## 文 献

- 1) **Burton, B. S.** : On the propyl derivatives and decomposition products of ethylacetoacetate. *Am. Chem. J.*, **3**, 385-395 (1882).
- 2) **Meunier, H., Carraz, G., Meunier, Y., Eymard, P. & Aimard, M.** : Proprietes pharmacodynamiques de l'acide n-dipropylacetique. I. Proprietes antiepileptiques. *Therapie*, **18**, 435-438 (1963).
- 3) **Carraz, G., Fau, R., Chateau, R. & Bonnin, J.** : First clinical trials of the antiepileptic activity of n-dipropylacetic acid. *Ann. Med. Psychol.*, **122**, 577-584 (1964).
- 4) **Simon, D. & Penry, J. K.** : Sodium dipropylacetate (DPA) in the treatment of epilepsy. A review. *Epilepsia*, **16**, 549-573 (1975).
- 5) **Richens, A. & Ahmad, S.** : Controlled trial of sodium valproate in severe epilepsy. *Br. Med. J.*, **3**, 255-256 (1975).
- 6) **Pinder, R. M., Brogden, R. N., Speight, T. M. & Avery, G. S.** : Sodium valproate: A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in epilepsy. *Drugs*, **13**, 81-123 (1977).
- 7) **Hassan, M. N., Laljee, H. C. K. & Parsonage, M. J.** : Experience in the treatment of resistant cases of epilepsy with sodium valproate (Epilim), p23-39. *In* N. J. Legg (ed.), *Clinical and Pharmacological Aspects of Sodium Valproate (Epilim) in the Treatment of Epilepsy*, MCS Consultants, Tunbridge Wells, 1976.
- 8) **Sato, S., White, B. G., Penry, J. K., Dreifuss, F. E., Sackellares, J. C. & Kupferberg, H. J.** : Valproic acid versus ethosuximide in the treatment of absence seizures. *Neurology (N. Y.)*, **32**, 157-163 (1982).
- 9) 鈴木昌樹・丸山 博・石橋泰子・小川昭之・関亨・星野道男・前川喜平・余語毅男・佐藤倚男 : 小児てんかんに対する Sodium dipropylacetate と Ethosuximide の二重盲検法による検討 - 純粹小発作を中心として - . *医学のあゆみ*, **82**, 470-488 (1972).
- 10) **Jeavons, P. M. & Clark, J. E.** : Sodium valproate in treatment of epilepsy. *Br. med. J.*, **2**, 584-586 (1974).
- 11) **Coulter, D. L., Wu, H. & Allen, R. J.** : Valproic acid therapy in childhood epilepsy. *J. Am. med. Ass.* **244**, 785-788 (1980).
- 12) **Jeavons, P. M., Clark, J. E. & Maheshwari, M. C.** : Treatment of generalized epilepsies of childhood and adolescence with sodium valproate ("Epilim"). *Dev. Med. Child Neurol.*, **19**, 9-25 (1977).
- 13) **Turnbull, D. M., Rawlins, M. D., Weightman, D. & Chadwick, D. W.** : A comparison of phenytoin and valproate in previously untreated adult epileptic patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, **45**, 55-59 (1982).
- 14) **Vassella, F., Rudeberg, A., Da Silva, V. & Pavlincova, E.** : Doppeltblind-Untersuchung über die antikonvulsive Wirkung von Phenobarbital und Valproat beim Lennox-Syndrom. *Schweiz. med. Wschr.*, **108**, 713-716 (1978).
- 15) **Manhire, A. R. & Espir, M.** : Treatment of status epilepticus with sodium valproate. *Br. med. J.*, **3**, 808 (1974).
- 16) **Barnes, S. E. Bland, D., Cole, A. P. & Evans, A. R.** : The use of sodium valproate in a case of status epilepticus. *Dev. Med. Child Neurol.*, **18**, 236-238 (1976).
- 17) **Vajda, F. J. E., Mihaly, G. W., Miles, J. L., Donnan, G. A. & Bladin, P. F.** : Rectal administration of sodium valproate in status epilepticus. *Neurology*, **28**, 897-899 (1976).
- 18) **Buchthal, F. & Lennon-Buchthal, M.** : Diphenylhydantoin: Relation of anticonvulsant effect to concentration in serum, p193-209. *In* D. M. Woodbury, J. K. Penry, & R. P. Schmidt (ed.), *Antiepileptic Drugs*, Raven Press, New York, 1972.
- 19) **Kuut, H. & Penry, J. K.** : Usefulness of blood levels of antiepileptic drugs. *Arch. Neurol.*, **31**, 283-288 (1974).
- 20) **Sherwin, A. L. & Robb, J. P.** : Ethosuximide: Relation to plasma levels to clinical control, p443-448. *In* D. M. Woodbury, J. K. Penry & R. P. Schmidt (ed.), *Antiepileptic Drugs*, Raven Press, New York, 1972.
- 21) **Wulff, K., Flachs, H., Wurtz-Jorgensen, A. & Gram, L.** : Clinical pharmacological aspects of valproate sodium. *Epilepsia*, **18**, 149-157 (1977).
- 22) **Briant, R. H., Wallis, W. E. & Foote, S. E.** : Sodium valproate (Epilim) in epilepsy: a trial. *N. Z. med. J.*, **88**, 679-682 (1978).
- 23) **Ojemann, L. M., Wilensky, A. J. & Lovely, M. P.** : A follow up on the experience with valproic acid in patient with intractable seizures of varied

- types previously treated with standard anti-convulsants. *Neurology*, **29**, 604 (1979).
- 24) **Schobben, F., Van Der Kleijn, E. & Vree, T.**: Therapeutic monitoring of valproic acid. *Ther. Drug Monitoring*, **2**, 61-71 (1980).
- 25) **Patry, G. & Naquet, R.**: Action de l'acide dipropylacetique chez le Papio papio photosensible. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **49**, 568-572 (1970).
- 26) **Levy, R. H.**: CSF and plasma pharmacokinetics: Relationship to mechanisms of action as exemplified by valproic acid in monkeys, p191-200. *In* J. S. Lockard & A. A. Ward, Jr. (ed.), *Epilepsy*, Raven Press, New York, 1980.
- 27) **Lacolle, J. Y., Ferrandes, B. & Eymard, P.**: Profile of anticonvulsant activity of sodium valproate. Role of GABA, p162-167. *In* H. Meinardi & A. J. Rowan (ed.), *Advances in Epileptology*, Swets & Zeitlinger, Amsterdam, 1978.
- 28) **Lance, J. W. & Anthony, M.**: Sodium valproate the management of intractable epilepsy: Comparison with clonazepam. *Proc. Aust. Assoc. Neurol.*, **12**, 55-60 (1975).
- 29) **Harding, G. F. A., Herrick, C. E. & Jeavons, P. M.**: A controlled study of the effect of sodium valproate on photosensitive epilepsy and its prognosis. *Epilepsia*, **19**, 555-565 (1978).
- 30) **Lockard, J. S. & Levy, R. H.**: Valproic acid: Reversibly acting drug? *Epilepsia*, **17**, 477-479 (1976).
- 31) **Rowan, A. J., Binnie, C. D., Warfield, C. A., Meinardi, H. & Meijer, J. W. A.**: The delayed effect of sodium valproate on the photoconvulsive response in man. *Epilepsia*, **20**, 61-68 (1979).
- 32) **Rose, M. & Rose, S.**: Die Topographie der Architektonischen Felder der Grosshirnrinde am Kaninchenschädel. *J. Physiol. Neurol.*, **45**, 264-276 (1933).
- 33) **Ridge, J. W.**: The stereotactic dissection of the excised rabbit brain. *J. Neurochem.*, **11**, 765-778 (1964).
- 34) **Tess, K. H. & Herberg, L. J.**: Permanent reduction in seizure threshold resulting from repeated electrical stimulation. *Exp. Neurol.*, **37**, 347-359 (1972).
- 35) **Bustamante, L., Lueders, H., Pippenger, C. & Goldensohn, E. S.**: The effect of phenytoin on the penicillin-induced spike focus. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **48**, 90-97 (1980).
- 36) **Lockard, J. S., Uhler, V., Ducharme, L. L., Farquhar, J. A. & Huntsman, B. J.**: Efficacy of standard anticonvulsants in monkey model with spontaneous motor seizures. *Epilepsia*, **16**, 301-317 (1975).
- 37) **Wada, J. A., Osawa, T., Sato, M., Wake, A., Corcoran, M. E. & Troupin, A. S.**: Acute anticonvulsant effects of diphenylhydantion, phenobarbital and carbamazepine; A combined electroclinical and serum level study in amygdaloid kindled cats and baboons. *Epilepsia*, **17**, 77-88 (1976).
- 38) **Van Duijn, H. & Beckmann, M. K. F.**: Dipropylacetic acid (Depakine) in experimental epilepsy in the alert cat. *Epilepsia*, **16**, 83-90 (1975).
- 39) **Albertson, T. E., Peterson, S. L., Stark, L. G. & Baselt, R. C.**: Valproic acid serum levels and protection against kindled amygdaloid seizures in the rat. *Neuropharmacology*, **20**, 95-97 (1981).
- 40) **窪田 孝**: 家兔の大脳皮質各領野での焦点発作波に対する Diphenylhydantoin の血中濃度からみた抑制効果比較 — てんかん原性と発作抑制効果との関連 —. *十全医会誌*, **91**, 939-951 (1982).
- 41) **山口成良・地引逸龜・窪田 孝・広瀬茂宏**: 抗てんかん薬の治療有効血中濃度の実験的研究. *神経進歩*, **27**, 589-598 (1983).
- 42) **Löscher, W. & Esenwein, H.**: Pharmacokinetics of sodium valproate in dog and mouse. *Arzneimittel Forsch.* **28**, 782-787 (1978).
- 43) **Ichimura, F., Deguchi, Y., Yokogawa, K. & Yamana, I.**: Physiologically based pharmacokinetics for valproic acid in rabbits. *Int. J. Pharm.* (in press).
- 44) **Chapman, A., Keane, P. E., Meldrum, B. S., Simiand, J. & Vernieres, J. C.**: Mechanism of anticonvulsant action of valproate. *Prog. Neurobiol.*, **19**, 315-359 (1982).
- 45) **Löscher, H. & Nau, H.**: Distribution of valproic acid and its metabolites in various brain areas of dogs and rats after acute and prolonged treatment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **226**, 845-854 (1983).
- 46) **Meinardi, H., Hauke, M. F. J. & Van Beveren, J.**: Sodium di-n-propylacetate, estimation of effective serum levels. *Pharm. Weekbl.*, **109**, 45 (1974).



- 47) **Schobben, F., Vree, T. B. & Van Der Kleijn, E.**: Pharmacokinetics, metabolism and distribution of 2-n-propyl-pentanoate and the influence of salicylate comedication, p271-277. *In* H. Meinardi & A. J. Rown (ed.), *Advances in Epileptology*, Swets & Zeitlinger, Amsterdam, 1977.
- 48) **Jeavons, P. M.**: Monotherapy with sodium valproate, p43-50. *In* M. Dam, L. Gram, B. Pedersen & H. Orum, *Danish Epilepsy Society* (ed.), *Valproate in the Treatment of Seizures*, Hvidovre Hospital, Hvidovre, 1981.
- 49) **Chard, C. R.**: A simple method for the determination of Epilim in serum, p89-91, *In* Legg (ed.), *Clinical and Pharmacological Aspects of Sodium Valproate (Epilim) in the Treatment of Epilepsy*, MCS Consultants, Tunbridge Wells, 1976.
- 50) **Loiseau, P., Brachet, A. & Henry, P.**: Concentration of dipropylacetate in plasma. *Epilepsia*, **16**, 609 (1975).
- 51) **Vajda, F., Morris, P., Drummer, O. & Bladin, P.**: Studies on sodium valproate- a new anticonvulsant, p92-100. *In* Legg (ed.), *Clinical and Pharmacological Aspects of Sodium Valproate (Epilim) in the Treatment of Epilepsy*, MCS Consultants, Tunbridge Wells, 1976.
- 52) **Bruni, J., Wilder, B. J., Bauman, A. W. & Willmore, L. J.**: Clinical efficacy and long-term effects of valproic acid therapy on spike and wave discharges. *Neurology*, **30**, 42-46 (1980).
- 53) **Howe, G. M., Howe, S. J., Tulloch, I. F. & Walter, D. S.**: Relation between plasma concentration of valproic acid and its anticonvulsant and behavioural effects in rats. *Br. J. Pharmacol.*, **73**, 231-232 (1981).
- 54) **Walter, D. S., Boardman, S. P., Harry, E. J. R., Howe, G. M., Lead, S. & Smith, M. H.**: The comparative effects of single or multiple doses of sodium valproate on mouse anticonvulsant activity, plasma and brain valproate concentrations and brain GABA, p359. *In* J. A. Wada & F. K. Penry (ed.), *Advances in Epileptology*, 10th Epilepsy International Symposium, Raven Press, New York, 1980.
- 55) **Goldberg, M. A. & Todoroff, T.**: Brain binding of anticonvulsants: Carbamazepine and valproic acid. *Neurology*, **30**, 826-831 (1980).
- 56) **Weissman, D., Simler, S., Ciesielski, L. & Mandel, P.**: Variations de la teneur en GABA de certaines zones du cerveau de la souris sous l'effet de l'acide propyl-2-pentene-2-oïque. *C. R. Soc. Biol.*, **172**, 707-712 (1978).
- 57) **Schäfer, H., Lührs, R. & Reith, H.**: Chemistry, pharmacokinetics and biological activity of some metabolites of valproic acid, p103-110. *In* S. I. Johanessen, P. L. Morselli, C. E. Pippenger, A. Richens, D. Schmidt & H. Meinardi (ed.), *Antiepileptic Therapy: Advances in Drug Monitoring*, Raven Press, New York, 1980.
- 58) **Löscher, W.**: Anticonvulsant activity of metabolites of valproic acid. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **249**, 158-163 (1981).
- 59) **Löscher, W. & Nau, H.**: Valproic acid: Metabolite concentrations in plasma and brain, anticonvulsant activity, and effects on GABA metabolism during subacute treatment in mice. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **257**, 20-31 (1982).
- 60) **Nau, H. & Löscher, W.**: Valproic acid: Brain and plasma levels of the drug and its metabolites, anticonvulsant effects and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) metabolism in the mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **220**, 654-659 (1982).
- 61) **Ciesielski, L., Maitre, M., Cash, C. & Mandel, P.**: Regional distribution in brain and effect on cerebral mitochondrial respiration of the anticonvulsive drug n-dipropylacetate. *Biochem. Pharmacol.*, **24**, 1055-1058 (1975).
- 62) **周藤勝一・西垣 夫**: Sodium-dipropylacetate の薬理学的研究 - 抗けいれん作用および一般薬理学作用 -. *応用薬理*, **4**, 937-947 (1970).
- 63) **Noronha, M. J. & Bevan, P. L. T.**: A literature review of unwanted effects with Epilim, p61-65. *In* Legg (ed.), *Clinical and Pharmacological Aspects of Sodium Valproate (Epilim) in the Treatment of Epilepsy*, MCS Consultants, Tunbridge Wells, 1976.
- 64) **Mortensen, P. B., Hansen, H. E., Pedersen, B., Hartmann-Andersen, F. & Husted, S. E.**: Acute valproate intoxication: Biochemical investigations and hemodialysis treatment. *Int. J. Clin. Pharmacol., Therapy and Toxicology*, **21**, 64-68 (1983).

**Experimental Studies on the Anticonvulsant Effect of Sodium Valproate on Focal and Generalized Seizure Discharges Induced by Electrical Stimulation in Different Neocortical Areas and Hippocampus in Rabbits** Shigehiro Hirose, Department of Neuropsychiatry, School of medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 — J.Juzen Med.Soc., **94**, 829—845 (1985)

**Key words:** sodium valproate, seizure discharge, serum level, time delay of action, pharmacokinetics.

#### Abstract

Experiments were made on 70 adult male rabbits weighing from 2.5 to 3.5kg to study the anticonvulsant effect of sodium valproate (VPA) on focal and generalized seizure discharges under steady serum levels. Surgical operations were carried out under halothane anesthesia. Rabbits were paralyzed with d-tubocurarine chloride and artificially ventilated throughout the experiments, and were divided into 2 major groups: one with focal seizure and the other with generalized seizure. In the former, focal seizure discharges were induced by electrical stimulation to the visual cortex, motor cortex and dorsal hippocampus in the same rabbit in order before and after the administration of VPA; in the latter, generalized seizure discharges were induced by a maximal electroshock before and after the administration of VPA. VPA was administered intravenously in loading dose and infusion dose to keep the serum level steady on the basis of pharmacokinetics. Serum levels of VPA were measured by fluorescence polarization immunoassay. Anticonvulsant effects of VPA on the duration and pattern of afterdischarges were examined by comparing the VPA-administered rabbits with the control rabbits which were stimulated using the same procedure without administration of VPA.

Thirty min after the onset of the injection of VPA, the duration of afterdischarges in the visual cortex, motor cortex and hippocampus was suppressed under VPA serum levels of 1000~1200, 1000~1200, and 300~500 $\mu$ g/ml, respectively. The duration of generalized seizure discharges was not affected under VPA serum levels of 100~1200 $\mu$ g/ml at 2 hrs' administration. Under VPA serum level of 250 $\mu$ g/ml, a decrease in the duration of afterdischarges was observed in the visual and motor cortices at 4 hrs' administration, and at 2 hrs' administration in the hippocampus; thereafter, these anticonvulsant effects of VPA were further augmented as time elapsed, although serum VPA levels were unchanged. Generalized seizure discharges were not affected even at 4 hrs' administration of VPA under 250 $\mu$ g/ml and 500 $\mu$ g/ml.

The present study suggests that the suppressive range of VPA serum levels for focal seizure discharges depends upon the sites of the lesion; the antiepileptic action of VPA tends to augment with the lapse of time after administration of VPA.