薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
107 (10) 830-834 (1987)

1,4-Benzodiazepine 系医薬品の酸性水溶液中における挙動 (第9報¹⁾)

Flutazolam の加水分解生成物の中樞作用

八代 有,^{*}^a 桑山知成,^b 川面 博,^c 鈴木孝昌^c

名古屋市立大学薬学部,^{*a} 東海通信病院薬剤科,^b

三井製薬工業株式会社生物科学研究所^c

The Behavior of 1,4-Benzodiazepine Drugs in Acidic Media. IX.¹⁾ Effect of Hydrolyzate of Flutazolam on the Central Nervous System

TAMOTSU YASHIRO,^{*,a} TOMONARI KUWAYAMA,^b HIROSHI KAWAZURA,^c
and TAKAMASA SUZUKI^c

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University,^a 3-1, Tanabe-dori,

Mizuho-ku, Nagoya, 467, Japan, Department of Pharmacy, Tokai Teishin

Hospital,^b 2-17-5, Matsubara, Naka-ku, Nagoya, 460, Japan, and

Institute of Biological Science, Mitsui Pharmaceuticals Inc.^c

1900-1, Togo, Mobarashi, Chiba, 297, Japan

(Received March 17, 1987)

Effects of hydrolyzate (III·HCl) of Flutazolam (I) on the antianxiety, the anticonvulsion, the prolongation of the sleep, the muscle relaxation and the antihypoxia were compared with I in mice by the established methods.

It was demonstrated that III·HCl inhibited the anxiety and pentetrazol-induced convulsion, prolonged the thiopental-induced sleep, and produced the skeletal muscle relaxation and the protection against hypobaric-hypoxia. These potencies of III·HCl were equipotent to I. These results suggested that III·HCl might be able to be delivered in an injection form.

Keywords—flutazolam; flutazolam hydrolyzate; CNS effects; 1,4-benzodiazepine

10-Chloro-11b-(2-fluorophenyl)-2,3,5,6,7,11b-hexahydro-7-(2-hydroxyethyl)[1,4]benzodiazepino[5,4-b]oxazol-6-one; flutazolam (I) は 1,4-benzodiazepine 系抗不安薬であり、固体状態及び水溶液中いずれも安定で高い残存率²⁾を示す。

先の著者らの実験結果より、I は酸性水溶液中において Chart 1 のごとく iminium 構造 (II) を経て, benzo-

Chart 1

phenone 型化合物 (III) を与え, その塩酸塩である *N*-[4-chloro-2-(*o*-fluorobenzoyl)]phenyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-2-(2-hydroxyethylammonio)acetamide chloride (III·HCl) として単離できる.³⁾ また III は中性, アルカリ性水溶液中では再閉環反応を起こすことが判明している.⁴⁾ III·HCl は安定な化合物で水溶性であることが特徴的であり, benzodiazepine 系の注射剤の開発がほとんど進んでいない現況に着目し, その薬理効果について検討した.

Chart 2

実 験 の 部

実験に供した化合物は flutazolam (I) 及び I の加水分解生成物塩酸塩 (III·HCl) であり, 両化合物の抗不安作用, 抗痙攣作用, 睡眠延長作用, 筋弛緩作用及び低酸素に対する延命効果について比較検討した.

実験材料

動物は 5 週齢の ddY 系雄性マウス (静動協) を 1 群 10—20 匹使用した. III·HCl 及び I は 0.5% CMC saline 溶液に溶解又は懸濁し, 0.1 ml/10 g 当て腹腔内投与した. 薬物前処置時間はすべての実験項目において 30 分とした. なお III·HCl は塩基に換算して投与した.

実験方法

1) 抗不安作用 Aron ら⁵⁾ の 4 つ板法に従い, マウスを測定用ケージに入れ, その 15 秒後より 1 分間マウスが位置移動するごとに電気ショック (DC 100 V) を与えた. Control 群が受けた電気ショック数に対する薬物投与群のパーセンテージを求め, これから PD₂₀₀ (被ショック数を control 群の 2 倍にする用量) を直線回帰式により算出した.

2) 抗痙攣作用 Pentetrazol 100 mg/kg (正常マウスにおいて間代性痙攣が 100% 発現する用量) を腹腔内投与し, 以後 30 分間に発現する間代性痙攣の有無を観察した. Control 群に対する抑制率を求め Litchfield-Wilcoxon 法により ED₅₀ を算出した.

3) 睡眠延長作用 Thiopental-Na 40 mg/kg を尾静脈に 0.1 ml/10 s の割合で注入し, 正向反射の消失したマウスを背位姿勢で温板 (37°C) 上にのせ, 正向反射が回復するまでの時間を睡眠時間として測定した. Control 群の平均睡眠時間の 2 倍以上の睡眠時間を示した個体を睡眠延長作用陽性とし, Litchfield-Wilcoxon 法により ED₅₀ を算出した.

4) 筋弛緩作用 あらかじめ, 動物を 40° の角度に保たれたスリガラス上におき, 5 秒以内に落下しない個体を選んで使用した. 薬物投与 30 分後に再び動物をスリガラス上に置き, 5 秒以内に落下する個体を筋弛緩作用陽性とした. 筋弛緩作用発現率を求め Litchfield-Wilcoxon 法により ED₅₀ を算出した.

5) 低酸素に対する延命効果 Nakanishi ら⁶⁾ の hypobaric hypoxia 法に従って, マウスを減圧低酸素下

TABLE I. Effect of III·HCl and I on the 4-Plate Test in Mice

Treatment	Dose (mg/kg, i.p.)	N	Number of shocks received (mean±S.E.)	% of control	PD ₂₀₀ ^{a)} (mg/kg i.p.)
Control		10	5.3±0.5	100	
III·HCl	0.1	10	5.9±0.8	111	0.53 (0.12—2.43) ^{b)}
	0.3	10	6.5±0.8	123	
	1	10	10.6±1.7 ^{c)}	200	
	3	10	19.9±0.8 ^{e)}	376	
I	0.1	10	4.6±0.8	87	0.46 (0.19—1.10) ^{b)}
	0.3	10	6.5±0.9	123	
	1	10	13.8±2.2 ^{d)}	260	
	3	10	21.2±2.4 ^{e)}	400	

a) The dose required to double the shock received of control. b) 95% confidence limits. c) $p < 0.05$, d) $p < 0.01$ and e) $p < 0.001$; significantly different from control (Student's t-test).

(210 mmHg) におき死亡までの時間を 10 分間測定した. Control 群の平均生存時間に対する薬物投与群のパーセンテージを求め, これから PD_{200} (生存時間を control 群の 2 倍にする用量) を直線回帰式により算出した.

実験成績

1) 抗不安作用 III·HCl 及び I は共にマウスの被電気ショック数を用量依存的に増加させた. その PD_{200} (被ショック数を control 群の 2 倍にする用量) は III·HCl で 0.53 mg/kg i.p., I で 0.46 mg/kg i.p. であり, 両者の抗不安作用の効力はほぼ同等であった (Table I).

2) 抗痙攣作用 III·HCl 及び I は共に pentetrazol による間代性痙攣を用量依存的に抑制した. その ED_{50} は III·HCl で 0.25 mg/kg i.p., I で 0.22 mg/kg i.p. であり, 両者の抗痙攣作用の効力はほぼ同等であった (Table II).

3) 睡眠延長作用 III·HCl 及び I は共に thio-pental-Na の睡眠時間を用量依存的に延長した. その ED_{50} は III·HCl で 2.25 mg/kg i.p., I で 1.70 mg/kg i.p. であり, 両者の睡眠延長作用の効力はほぼ同等であった (Table III).

4) 筋弛緩作用 III·HCl 及び I は共に用量依存的な筋弛緩作用を示した. その ED_{50} は III·HCl で 17.5 mg/kg i.p., I で 16.5 mg/kg i.p. であり, 両

TABLE II. Effect of III·HCl and I on Pentetrazol-induced Convulsion in Mice

Dose (mg/kg i.p.)	Incidence of prevention	
	III·HCl	I
0.125	3/10	2/10
0.25	5/10	5/10
0.375	—	8/10
0.5	7/10	9/10
1.0	8/10	9/10
ED_{50} mg/kg (95% C.L.)	0.25 (0.13—0.47)	0.22 (0.15—0.32)

C.L., Confidence limits.

TABLE III. Effect of III·HCl and I on Thio-pental-induced Sleep in Mice

Dose (mg/kg i.p.)	Incidence of prolongation	
	III·HCl	I
1.0	0/10	1/10
1.5	—	6/10
2.0	2/10	7/10
2.5	5/10	—
3.0	9/10	10/10
ED_{50} mg/kg (95% C.L.)	2.25 (1.83—2.77)	1.70 (1.40—2.06)

C.L., Confidence limits.

TABLE IV. Effect of III·HCl and I on Inclined Plane Test in Mice

Dose (mg/kg i.p.)	Incidence of positive	
	III·HCl	I
10	2/10	2/10
15	4/10	4/10
20	6/10	6/10
30	8/10	9/10
ED_{50} mg/kg (95% C.L.)	17.5 (13.2—23.2)	16.5 (12.7—21.5)

C.L., Confidence limits.

TABLE V. Effect of III·HCl and I on Survival Time of Mice Subjected to Hypoxia

Treatment	Dose (mg/kg i.p.)	N	Survival time (mean $\pm$ S.E.)	% of control	$PD_{200}^{a)}$ (mg/kg i.p.)
Control		20	151.8 $\pm$ 15.2	100	
III·HCl	1	10	188.5 $\pm$ 28.0	124	5.53 (3.51—8.70) ^{b)}
	3	10	245.0 $\pm$ 34.2 ^{c)}	161	
	10	10	281.0 $\pm$ 36.8 ^{d)}	185	
	30	10	493.0 $\pm$ 51.6 ^{e)}	325	
I	1	10	169.0 $\pm$ 16.8	111	5.31 (3.34—8.44) ^{b)}
	3	10	237.5 $\pm$ 44.2	156	
	10	10	385.0 $\pm$ 51.6 ^{d)}	254	
	30	10	451.0 $\pm$ 59.5 ^{e)}	297	

a) The dose required to double the survival time of control. b) 95% confidence limits. c) $p < 0.05$, d) $p < 0.01$ and e) $p < 0.001$; significantly different from control (Student's t-test).

IV

Compounds	R ₁	R ₂	R ₃
a: oxazolam	Cl	CH ₃	H
b: cloxazolam	Cl	H	Cl
c: haloxazolam	Br	H	F

V

R ₁	R ₂	R ₃
a: Cl	CH ₃	H
b: Cl	H	Cl
c: Br	H	F

Chart 3

TABLE VI. Effect of III·HCl and I on the Central Nervous System

Drug	Antianxiety PD ₂₀₀	Anticonvul- sion ED ₅₀	Prolongation of sleep ED ₅₀	Muscle relaxation ED ₅₀	Antihypoxia PD ₂₀₀
III·HCl	0.53 (0.12—2.43)	0.25 (0.13—0.47)	2.25 (1.83—2.77)	17.5 (13.2—23.2)	5.53 (3.51—8.70)
I	0.46 (0.19—1.10)	0.22 (0.15—0.32)	1.70 (1.40—2.06)	16.5 (12.7—21.5)	5.31 (3.34—8.44)

Values represent the mg/kg i.p. and 95% confidence limits are given in parentheses.

者の筋弛緩作用の効力はほぼ同等であった (Table IV).

5) 低酸素に対する延命効果 III·HCl 及び I は共に用量依存的な減圧低酸素に対する延命効果を示した。その PD₂₀₀ (生存時間を control 群の 2 倍にする用量) は III·HCl で 5.53 mg/kg i.p., I で 5.31 mg/kg i.p. であり, 両者の低酸素に対する延命効果の効力はほぼ同等であった (Table V).

考 察

抗不安薬である flutazolam (I) の加水分解生成物塩酸塩 (III·HCl) の抗不安作用, 抗痙攣作用, 睡眠延長作用, 筋弛緩作用及び低酸素に対する延命効果について I と比較検討し, その結果を Table VI に要約した。III·HCl はこれらの作用において I とほぼ同等の活性を示した。このことは Chart 3 に示したアミド窒素に置換基を持たない benzodiazepinooxazole 系化合物 (IV) の加水分解生成物 (V)⁷⁾ では母化合物に比べて薬理作用⁸⁾が劣るのは対照的である。更に III·HCl は水溶性を有する点でも極めて興味深い。

III·HCl は酸性条件下ではそのままの形で存在し, 中性及びアルカリ性の条件下では閉環して I に変換することが既に判明している。^{3,4)} 今回の実験では薬物を腹腔内に投与した。腹腔内の pH は中性付近であること, 及び III·HCl と I の活性がほぼ同等であったことから, III·HCl が腹腔内において急速に I に変換して吸収されている可能性も考えられる。

III·HCl は生体内においては, 強酸の胃液中以外で III·HCl として存在することは考えられず, 腹腔内に投与された III·HCl が生体内で閉環し, I に変換されて薬理作用を発現したものと推察する。

以上の結果から III·HCl の注射製剤としての可能性が示唆された。

引 用 文 献

- 1) 第 8 報: Y. Kurono, K. Kamiya, T. Kuwayama, Y. Jinno, T. Yashiro, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3831 (1987).
- 2) 伊藤 昭, 内山武夫, 管根幸則, 春口つや子, *医薬品研究*, **9**, 787 (1978).
- 3) T. Kuwayama, T. Yashiro, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4528 (1985).
- 4) T. Kuwayama, Y. Kurono, T. Muramatsu, T. Yashiro, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 320 (1986).

-
- 5) C. Aron, P. Simon, C. Larousse, J. R. Boissier, *Neuropharmacology*, **10**, 459 (1971).
 - 6) M. Nakanishi, H. Yasuda, T. Tsumagari, *Life Sciences*, **13**, 467 (1973).
 - 7) 桑山知成, 八代 有, 薬誌, **104**, 607 (1984).
 - 8) T. Miyadera, A. Terada, M. Fukunaga, Y. Kuwano, T. Kamioka, C. Tamura, H. Takagi, R. Tachikawa, *J. Med. Chem.*, **14**, 520 (1971).