薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
107(4) 318-322 (1987)

1,4-Benzodiazepine 系医薬品の酸性水溶液中における挙動 (第7報¹⁾)

Flurazepam の酸性水溶液中での Carbon 13

核磁気共鳴スペクトル

桑山知成,^a 加藤節子,^b 八代 有*,^b

東海通信病院薬剤科,^a 名古屋市立大学薬学部^b

The Behavior of 1,4-Benzodiazepine Drugs in Acidic Media. VII.¹⁾

Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Flurazepam in Acidic Aqueous Solution

TOMONARI KUWAYAMA,^a SETSUKO KATO^b and TAMOTSU YASHIRO*,^b

Department of Pharmacy, Tokai Teishin Hospital,^a 2-17-5, Matsubara,

Naka-ku, Nagoya, 460, Japan and Faculty of Pharmaceutical

Sciences, Nagoya City University,^b 3-1, Tanabe-dori,

Mizuho-ku, Nagoya, 467, Japan

(Received October 17, 1986)

Chemical species of flurazepam in an acidic aqueous solution (0.5 N DCl) were studied by means of carbon-13 nuclear magnetic resonance (¹³C-NMR) spectroscopy. Flurazepam was present in the form of a protonated iminium structure immediately after preparation of the solution, and subsequently underwent hydrolysis of the iminium moiety to give a ring-opened benzophenone structure, which was in equilibrium with the ring-closed iminium structure. The proportion of the benzophenone structure in the equilibrium solution was greater than that of the iminium structure. The carbon-13 signals of these compounds and of the corresponding aminobenzophenone derivatives isolated under strongly acidic conditions were assigned.

Keywords—flurazepam; benzodiazepine; acidic media; ¹³C-NMR

1,4-Benzodiazepine 系医薬品は抗不安、催眠導入、抗けいれん作用を有する薬物群として知られている。²⁾ 著者らはすでにこれら医薬品のうち代表的な化合物である benzodiazepine 系 (A) の diazepam, fludiazepam³⁾ 及び oxazolidine 環を有する benzodiazepinooxazole 系 (B) のうち oxazolam, cloxazolam, haloxazolam,⁴⁾ flutazolam,⁵⁾ 更に triazolobenzodiazepine 系 (C) の estazolam, alprazolam¹⁾ (Chart 1) を選び、溶出試験時にも想定される酸性水溶液条件下における構造変化及び加水分解過程について、主に ¹H, ¹³C-核磁気共鳴 (NMR) スペクトルを中心にして考察してきた。

benzodiazepines (A)

compounds	R
diazepam	H
fludiazepam	F

benzodiazepinooxazoles (B)

compounds	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
oxazolam	Cl	H	CH ₃	H
cloxazolam	Cl	H	H	Cl
haloxazolam	Br	H	H	F
flutazolam	Cl	CH ₂ CH ₂ OH	H	F

Chart 1

triazolobenzodiazepines (C)

compounds	R
estazolam	H
alprazolam	CH ₃

今回、新たに benzodiazepine 系 (A) のうち 1 位に diethylaminoethyl 基を置換した 7-chloro-1-[2-(diethylamino)ethyl]-5-(2-fluorophenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one; flurazepam (I) につき同一酸性条件下での化学構造上の変化を検討し、若干の知見が得られたので報告する。

I の酸性水溶液中における可逆的加水分解反応については猪爪ら⁶⁾ が紫外線吸収 (UV) スペクトル測定により、diazepine 環の開環型 (II) と閉環型 (III) の 2 種の存在を推測している。一方、 ^{13}C -NMR スペクトルによる構造解析は I のクロロホルム-*d* (CDCl_3) 中での帰属⁷⁾ のみで、酸性水溶液中における分子種の化学構造に関しては全く記載されていない。そこで本過程を同系列の fludiazepam の結果⁸⁾ と比較しながら、更に I の最終加水分解物 (IV) についても確認し、I の酸性水溶液中での加水分解反応過程を明確なものにした。

実験の部

試料 実験に用いた I (Lot No. A704261) は日本ロッシュ株式会社、fludiazepam (Lot No. K32) は住友製薬株式会社から提供を受けた標品を使用した。

測定装置 ^1H -NMR スペクトルは日本電子 JNM-MH-100 あるいは JNM-FX-100 を用い 100 MHz で測定した。 ^{13}C -NMR スペクトルは日本電子 JNM-FX-100 を用い、25 MHz で測定した。赤外線吸収 (IR) スペクトルは日本分光 JASCO-IRA-2、融点は柳本微量融点測定装置で測定した (未補正)。

NMR スペクトルの測定 測定溶媒が CDCl_3 の場合は試料約 30 mg、0.5 N 塩酸-*d* (DCI) の場合は試料約 20 mg を 0.4 ml に溶解して調製し、 0°C 又は 23°C で測定した。 CDCl_3 溶媒ではテトラメチルシラン (TMS) を内部基準、0.5 N DCI 溶媒では外部基準として使用した。 ^{13}C -NMR の FT 条件は、スペクトル幅 6000 Hz、パルス間隔 2s、パルス角 38° (パルス幅 5 μs)、使用データ点 8 K、積算回数 2000—20000 を用いた。化学シフトは TMS に対する δ 値 (ppm) で示し、*J* 値はヘルツ (Hz) で表した。

5-Chloro-2-[2-(diethylamino)ethylamino]-2'-fluorobenzophenone (IV) I 200 mg を 10% HCl 10 ml に溶解し、 80°C で 7 h 攪拌。10% NaOH で中和しベンゼン抽出。抽出液を水洗、乾燥 (MgSO_4) 後溶媒を減圧溜去すると黄色油状物として IV 140 mg (85.2%) を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{film}} \text{ cm}^{-1}$: 3315 (NH), 1620 (CO)。IV を $\text{Et}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$ で処理し塩酸塩 ($\text{IV} \cdot \text{HCl}$) とした。黄色針状晶 mp $140\text{--}144^\circ\text{C}$ (lit.,⁸⁾ mp $134\text{--}143^\circ\text{C}$)。Anal. Calcd $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClFN}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$: C, 59.23; H, 6.02; N, 7.27. Found: C, 59.05; H, 5.96; N, 7.03.

5-Chloro-2'-fluoro-2-methylaminobenzophenone (V) Fludiazepam 70 mg を 10% HCl 5 ml に溶解し 80°C で 5 h 攪拌。10% NaOH で中和し析出する結晶を濾取。EtOH から再結晶して V 53 mg (86.8%) を得た。黄色針状晶、mp $121\text{--}122.5^\circ\text{C}$ 。Anal. Calcd $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{ClFNO}$: C, 63.76; H, 4.21; N, 5.31. Found: C, 63.67; H, 4.22; N, 5.08. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3320 (NH), 1625 (CO)。

結果及び考察

DCI 中における ^1H -NMR スペクトル変化

I を 0.5 N DCI に溶解し、 ^1H -NMR スペクトルを測定すると経時的なスペクトル変化が観測された。このうち特徴的な変化は δ 3.72 のシグナル強度の増加である。このシグナルは室温条件下では溶解直後に出現し、その後増量し、変化終了時にはほぼ 2H 分のシグナル強度を与えた。またそのシフト位置は fludiazepam の開環型構造の 3 位メチレンの値⁹⁾ とよく一致する。この結果から構造 II から III への変換が考えられる (Chart 2)。

しかし、得られるスペクトルが極めて複雑であり、これ以上の帰属は困難なため、次の ^{13}C -NMR スペクトル

Chart 2

を用いる方法によった。

DCI 中における ^{13}C -NMR スペクトル変化

0.5 N DCI 中における I の ^{13}C -NMR の部分スペクトルを Fig. 1 に示した。このうち Fig. 1-A は 0°C の条件下溶解直後、Fig. 1-B は 23°C の条件下溶解直後、Fig. 1-C は 23°C の条件下 ^1H -NMR スペクトルで変化が終了したことを確認した後に測定を開始して得られたスペクトルである。

I のスペクトル変化は室温条件下で速やかに起こるので、まず 0°C の条件下のスペクトル (Fig. 1-A) について調べた。低磁場領域にみられる 4 本のシグナルのうち、 δ 174.5 は I の 4 位窒素に重水素付加した II における特徴的なイミニウム炭素 (C-5) による。³⁾ また他の 3 本のシグナルは Table I のように帰属でき、他に低磁場領域にはシグナルが認められない。したがって、溶液中に存在する分子種はイミニウム構造 (II) のみであることが明らかである。

次に反応段階のスペクトル (Fig. 1-B) の低磁場部分には Fig. 1-A で観測された C-2, C-5 炭素シグナル以外に δ 194.7 と δ 169.7 にシグナルがみられ、II の構造変化が考えられる。このうち δ 194.7 は明らかにベンゾフェノンカルボニル炭素によるものであり、 δ 169.7 はアミドカルボニル炭素に帰属できる。更に高磁場領域にも 5 本の新しく生じた分子種によるシグナルを与える。これらの帰属に関しては、fludiazepam の環開裂に伴うシフト変化³⁾ を参考にした。すなわち fludiazepam は環開裂によりアミド窒素に直結したメチル炭素が 1 ppm の低磁場シフト、ジアゼピン環を構成していたメチレン炭素が 10 ppm の高磁場シフトを起こすことから、 δ 42.3 と δ 44.8 はそれぞれ C-3, C-12 炭素によるものである。

以上より新たに生成した分子種はただ一種類であり、ベンゾフェノンカルボニル炭素シグナルの存在から、II のイミニウム部分が加水分解し、ジアゼピン環の開いたベンゾフェノン型構造 (III) をよく支持している。

変化終了後のスペクトル (Fig. 1-C) では Fig. 1-B で観測された構造 III によるシグナルが優勢で II は非常に強度の弱いシグナルを与えた。0.5 N DCI 中における II と III のシグナルはこれ以上の変化を示さない。更に Fig. 1-C のスペクトルを与える溶液を中和抽出すると母化合物 I のみが得られる。したがって、本溶液中では II と III が可逆的平衡状態にあり、この 2 種の分子種のうちジアゼピン環を開いた構造 III が優位に存在している。また III の炭素シグナルは各々 1 種類で

TABLE I. ^{13}C -NMR Spectral Data for Flurazepam^{a)}

Carbon	I ^{b, c)}	II ^{d)}	III ^{e)}
C- 2	168.5	168.7	169.7
C- 3	56.6	51.3	42.3
C- 5	166.3	174.5	194.7
C- 6	128.2	134.8 ^{f)}	133.0 ^{f)}
C- 7	131.0	133.4	136.4 ^{g)}
C- 8	132.5	138.8	133.4 ^{f)}
C- 9	124.3	126.2	126.4 ^{h)}
C-10	138.4	142.2	138.1
C-11	132.1	126.9	137.1 ^{g)}
C- 1'	126.6 (11.7)	119.5 (10.3)	126.0 (10.3)
C- 2'	160.3 (249.8)	161.7 (253.5)	162.1 (253.5)
C- 3'	116.2 (21.2)	118.4 (20.5)	118.2 (21.8)
C- 4'	132.7 (7.3)	139.8 (10.3)	137.9 (10.3)
C- 5'	124.8 (2.9)	126.9	126.5 ^{h)}
C- 6'	131.1	134.2 ^{f)}	133.2 ^{f)}
C-12	41.8	44.8	46.0
C-13	48.0	49.7	49.1
C-14	47.0	49.0	49.6
C-15	8.4	9.2	9.5

a) The $^{13}\text{C}^{19}\text{F}$ coupling constants, in Hz, are given in parentheses. b) Assignment made by literatures.^{7b)} c) In CDCl_3 . d) In 0.5 N DCI at 0°C . e) In 0.5 N DCI at 23°C . f, g, h) Assignments may be reversed in each column.

Fig. 1. The Aliphatic and Carbonyl Carbon Region of the ^{13}C -NMR Spectra of Flurazepam in 0.5 N DCI at 23°C

A) 0 h (measured at 0°C), B) 0 h, C) 3 h.

あり, fludiazepam, flutazolam でみられたアミドの回転異性体⁹⁾ (Chart 3) は存在しない. Flutazolam の開環型化合物では 2 種の回転異性体のうちアミドカルボニル基とアニリン窒素に直結したメチレンが *cis* 配座のものが優位に存在する.⁵⁾ このことから, アミド部分の構造が類似した III も *cis* 配座を取るものと推定した.

II 及び III の炭素シグナルの帰属

Table I に 0.5 N DCl 中における II と III, CDCl₃ 中における I の ¹³C-NMR データをまとめた. 芳香族炭素シグナルの帰属は 2' 位に置換したフッ素と炭素との結合定数とフッ素置換によるシフト効果,¹⁰⁾ I の有機溶媒中でのデータ,⁷⁾ 及び fludiazepam のシフト値⁸⁾ を参考にした.

II の炭素シグナルを I の場合と比較すると II の C-3, C-11, C-1' は I の場合に比べて高磁場シフトしている. C-3 は 4 位窒素のイミニウム型構造により, また C-11 と C-1' はイミニウム炭素 (C-5) の影響をうけて高磁場シフトしたものである. これら以外の II の炭素シグナルは I に比べていずれも低磁場シフトしている. このうち C-11 と C-1' のパラ位炭素である C-8 と C-4' は 8 ppm と他に比べて大きく低磁場シフトし, そのほか fludiazepam の場合とすべてに同様な変化が認められた.

次に III の炭素シグナルをみてみると, δ 126.0 は ²J_{CF} の値をもつ 4 級炭素であり C-1' に帰属できる. この結果は II から III への構造変化に伴い, C-1' が 6.5 ppm の低磁場シフトを起こすことを示している. 同様なシフトは C-11 にも観測されるものと考え, δ 137.1 又は δ 136.4 のいずれかの 4 級炭素が C-11 によるものである. これらのシフト値の変化並びに C-3 の高磁場シフトはいずれも II の加水分解反応によるイミニウム構造の消失により説明できる.

最終加水分解物 (IV) の炭素シグナルの帰属

Table II に I の最終加水分解物 (IV) と IV に構造の類似した fludiazepam の最終加水分解物 (V) の ¹³C-NMR データをまとめた. これら加水分解物はいずれも I 又は fludiazepam を 10% HCl 中加熱処理することにより得た.

加水分解物は両者とも δ 194.0 付近にベンゾフェノンカルボニル炭素によるシグナルを与える. また C-10 炭素シグナルはアミド構造が加水分解されることにより III の場合に比べ著しい低磁場シフトを起こす. このシフト位置は 0.5 N DCl 中でも同様であった. 一方, C-10 のオルト, パラ位炭素 (C-7, C-9, C-11) はいずれも高磁場シフトするが, 2'-fluorophenyl 基のシフト値の変化はほとんど認められない.

このように, III から IV への加水分解反応が進行すると IV の C-10 炭素シグナルは明瞭に区別で

IV: R=CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂
V: R=CH₃

Chart 4

Chart 3

TABLE II. ¹³C-NMR Spectral Data for IV and V in CDCl₃^{a)}

Carbon	IV	V
C- 5	194.0	194.4
C- 6	133.9	133.8
C- 7	118.2 ^{b)}	118.0 ^{b)}
C- 8	135.5	135.7
C- 9	113.4	112.9
C-10	150.2 (150.0) ^{c)}	151.3
C-11	118.4 ^{b)}	118.5 ^{b)}
C- 1'	128.4 (16.1)	128.9 (16.0)
C- 2'	158.9 (249.1)	158.9 (249.1)
C- 3'	116.1 (22.0)	116.2 (20.5)
C- 4'	131.8 (8.8)	131.9 (7.3)
C- 5'	124.3 (2.9)	124.3 (2.9)
C- 6'	129.6 (4.4)	129.6 (4.4)
C-12	41.2	—
C-13	51.3	—
C-14	47.1	—
C-15	11.9	—
NCH ₃	—	29.5

a) The ¹³C¹⁹F coupling constants, in Hz, are given in parentheses. b) Assignments may be reversed in each column. c) In 0.5 N DCl.

きる位置にシフトする。本条件下でのスペクトルは δ 150.0 付近にシグナルを与えないことから溶液中に IV は生成していないものと考えられる。

以上の結果より、I は 0.5 N DCl 中において、分子種 II 及び III が可逆的平衡状態にあり、このうち単一な構造をもつ III が優位に存在する。更に溶液中には最終加水分解物 (IV) を含まないことが確実となった。

このように I は酸性水溶液中で diazepine 環の開環した化合物 III を主に生成する。同様な変化は薬物内服後の胃内酸性条件下でも起こりうるものと思われる。しかし、III は pH の増大により母化合物 I を再成するので、この変化過程は I のバイオアベイラビリティに影響する可能性は少ないものと推察される。

謝辞 本研究に際し有益な御助言を賜りました名古屋市立大学薬学部 池田 憲教授及び黒野幸久博士に深謝いたします。また実験の一部に協力を得ました同大学 内藤敏子薬学士並びに試料の提供をいただいた日本ロッシュ株式会社、住友製薬株式会社に感謝します。

引用文献

- 1) 第6報: T. Kuwayama, T. Yashiro, Y. Kurono, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2994 (1986).
- 2) G. A. Archer, L. H. Sternbach, *Chem. Rev.*, **68**, 747 (1968); T. Blair, G. A. Webb, *J. Med. Chem.*, **20**, 1206 (1977); L. H. Sternbach, *ibid.*, **22**, 1 (1979).
- 3) T. Kuwayama, T. Yashiro, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 5503 (1985).
- 4) 桑山知成, 八代 有, *薬誌*, **104**, 607 (1984).
- 5) T. Kuwayama, T. Yashiro, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4528 (1985).
- 6) N. Inotsume, M. Nakano, *Int. J. Pharm.*, **6**, 147 (1980).
- 7) a) S. P. Singh, S. S. Parmar, S. A. Farnum, V. I. Stenberg, *J. Heterocycl. Chem.*, **15**, 1083 (1978); K. -A. Kovar, D. Linden, E. Breitmaier, *Arch. Pharm.*, **314**, 186 (1981); A. Patra, A. K. Mukhopadhyay, A. K. Mitra, A. K. Acharyya, *Org. Magn. Reson.*, **15**, 99 (1981); b) H. -H. Paul, H. Sapper, W. Lohmann, H. -O. Kalinowski, *ibid.*, **19**, 49 (1982).
- 8) J. A. F. de Silva, N. Strojny, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1303 (1971).
- 9) M. B. Robin, F. A. Bovey, H. Basch, "The Chemistry of Amides," ed. by J. Zablicky, Wiley, New York, N. Y. 1970, pp. 1-72.
- 10) J. B. Stothers, "Carbon-13 NMR Spectroscopy," Academic Press, New York, N. Y. and London, 1972, p. 197; G. C. Levy, G. L. Nelson, "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists," Wiley-Interscience, New York, 1972, p. 81, 100.