薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
110 (2) 133-138 (1990)

1,4-Benzodiazepine 系医薬品の酸性水溶液中における挙動 (第 15 報¹⁾)

11b メチル置換ベンゾジアゼピノオキサゾール系化合物の プロトン交換反応におけるイミニウム型構造の寄与²⁾

桑山知成,^a 黒野幸久,^b 沢辺博司,^b 加藤節子,^b
八代 有,^{*,b} 池田 憲^b

NTT 東海総合病院薬剤科,^a 名古屋市立大学薬学部^{*,b}

The Behavior of 1,4-Benzodiazepine Drugs in Acidic Media. XV.¹⁾ Contribution of Iminium Structure to the Proton Exchange Reaction of 11b-Methylbenzodiazepinooxazoles²⁾

Tomonari KUWAYAMA,^a Yukihiisa KURONO,^b Hiroshi SAWABE,^b
Setsuko KATO,^b Tamotsu YASHIRO^{*,b} and Ken IKEDA^b

Department of Pharmacy, NTT Tokai General Hospital,^a 2-17-5, Matsubara,
Naka-ku, Nagoya 460, Japan and Faculty of Pharmaceutical Science,
Nagoya City University,^b 3-1, Tanabe-dori,
Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan

(Received October 11, 1989)

2-Ethyl-11b-methyl-2,3,7,11b-tetrahydrooxazolo [3,2-*d*] [1,4] benzodiazepin-6 (5*H*)-one (Ie), its 2-phenyl derivative (If), and 1,3-dihydro-5-methyl-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-one (III) were synthesized to elucidate the contribution of the iminium structure (II) to the proton exchange reaction of 11b-methylbenzodiazepinooxazoles. The 11b-methyl protons of Ie and If and the 5-methyl protons of III were exchanged with deuterium in methanol-*d*₄ solution at 23°C. The exchange rates were accelerated in the presence of trifluoroacetic acid-*d*₁. Methanol solutions of Ie, If, and III had fluorescence due to such iminium structures as II and III·H⁺ of these compounds, and the fluorescence was not observed in the original (oxazolidine ring-closed) structures of I and III. Percentages of iminium form in methanol solution were estimated by using fluorescence intensity. There found a relationship between the magnitude of the exchange rates and the fluorescence intensity. These results indicate that benzodiazepinooxazoles (including Ie and If) have the iminium form to some extent in the solution and diastereoisomerization of oxazolam occurs *via* a similar iminium intermediate.

Keywords—11b-methylbenzodiazepinooxazole; iminium structure; oxazolidine ring; hydrogen exchange; kinetics; fluorescence; ¹H-NMR; diastereoisomerization; oxazolam

1,4-Benzodiazepine 系医薬品のうちジアゼピン環の 4,5 位にオキサゾリジン環を持つベンゾジアゼピノオキサゾール系医薬品 (oxazolam (Ia), haloxazolam (Ib)) は、オキサゾリジン環を開いたイミニウム型構造 (II) を經由して 11b 位でラセミ化を起こす機構が提出されている。その際 2 位に置換基が存在すれば diastereoisomer の混合物となる。^{3,4)} 著者らは前報⁵⁾において Ia の 11b 位のフェニル基の代わりにメチル基を導入した 11b-methyl-2,3,7,11b-tetrahydrooxazolo[3,2-*d*][1,4]benzodiazepin-6(5*H*)-one(Ic) 及び 2,11b-dimethyl-2,3,7,11b-tetrahydrooxazolo[3,2-*d*][1,4]benzodiazepin-6(5*H*)-one(Id) を合成し、それらのオキサゾリジン環開環体 (II) の構造について考察を行った。その過程において Ic, Id の 11b メチルプロトンはメタノール-*d*₄ 中で容易に重水素交換反応を起こすことが示唆された。11b メチルプロトンの重水素交換反応は溶液中で直接観測することができない II の存在を明示する 1 つの方法であり、この反応過程を知ることは薬物として用いられる Ia の異性化、Ib のラセミ化という一連のベンゾジアゼピノオキサゾール系医薬品の物性を知るうえで有用な知見となる。

そこで、重水素交換反応における II の寄与をさらに詳細に解明するため、今回新たに 2 位置換基の異なる

11b メチル置換誘導体 2-ethyl 及び 2-phenyl-11b-methyl-2,3,7,11b-tetrahydrooxazolo[3,2-d][1,4]-benzodiazepin-6(5H)-one (それぞれ **Ie** 及び **If**) とオキサゾリジン環を持たない 1,3-dihydro-5-methyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one (**III**)⁶⁾ を合成した. これらについてメタノール-*d*₄ 中における酸存在下での交換速度の変化と 11b メチルプロトン交換反応に及ぼす置換基の影響を, 主に ¹H-核磁気共鳴 (NMR) スペクトルを使って検討した. 更に **II** の持つ蛍光特性⁷⁾を利用してその存在量を見積り, 11b メチルの重水素交換速度と比較することにより, 11b メチル化合物 (**Ic**—**f**) の溶液中における平衡状態について若干の知見を得たので報告する.

Chart 1

実験の部

測定装置 ¹H-NMR スペクトルは日本電子 JNM-FX-100 を用い 100 MHz で測定した. 蛍光スペクトルは島津 RF-520, 赤外線吸収 (IR) スペクトルは日本分光 IRA-2, 融点は柳井微量融点測定装置で測定した (融点は未補正).

NMR スペクトルの測定 試料 10 mg を 0.4 ml のクロロホルム-*d* (CDCl₃) 又はメタノール-*d*₄ (CD₃OD) に溶解し, 23°C で測定した. 化学シフトはテトラメチルシランに対する δ 値 (ppm) で示し, *J* 値は Hz で表した. 多重線の表示は s (singlet), d (doublet), m (multiplet) 及び br (broad) と略記した.

プロトン交換反応速度の測定 試料溶液の ¹H-NMR スペクトルを一定時間ごとに測定した. 得られたスペクトルの芳香族プロトンシグナルを基準シグナルとして求めた 11b メチルプロトンシグナルの残存量の対数を時間に対してプロットし, その直線の傾きから速度定数を算出した. 酸又は塩基存在下での交換反応速度測定の際には, 酸としてトリフルオロ酢酸-*d*₁ (TFA-*d*₁), 塩基としてトリエチレンジアミン (TED) を用いた. 試料に対して 4.0 当量までの任意の量を加えた溶液のスペクトル変化から速度定数を算出した.

擬 1 次反応速度定数 *k* は次式から得た.

$$\log \left(\frac{4}{3} \cdot \frac{11b\text{-methyl H signal}}{\text{aromatic H signal}} \right) = -\frac{k}{2.303} t + \text{constant} \quad (1)$$

ここで, 11b-methyl H signal は 11b メチルプロトンシグナルの積分強度, aromatic H signal は芳香族プロトンシグナルの積分強度である. 試料が **III** の場合には式 (1) の 11b-methyl H signal のかわりに 5 メチルプロトンシグナルの積分強度を使って算出した.

蛍光スペクトルの測定 試料をメタノールに溶解し, それぞれの化合物について 1.0×10⁻³ M の溶液を調製した. この溶液を 10 倍希釈して蛍光スペクトルを測定した. 酸又は塩基存在下におけるスペクトル測定の際には, TFA とトリエチルアミン (TEA) をそれぞれ 1.0×10⁻³ M までの任意の濃度になるように加えた. 測定は励起波長 350 nm, 蛍光波長 400—600 nm, 25°C で行った.

2-Ethyl-11b-methyl-2,3,7,11b-tetrahydrooxazolo[3,2-d][1,4]benzodiazepin-6(5H)-one (Ie**)** 1-Amino-2-butanol 4.70 g を 10 ml のジメチルホルムアミドに溶解し, 氷冷, 攪拌下 *N*-(2-acetylphenyl)-2-bromoacetamide 5.40 g を少量ずつ加える. 氷冷下で 20 min 更に室温下 3 h 攪拌する. 反応液を氷水中に加えクロロホルム抽出する. クロロホルム層を水洗後 MgSO₄ で乾燥. 溶媒を減圧下溜去し, 得られる淡黄色油状物にエタノールを加え 2 h 還流する. 反応後溶媒を減圧下溜去し, 析出する結晶をエーテルから再結晶して **Ie** 1.85 g (33.2%) を得た. 無色針状晶, mp 127—129.5°C. Anal. Calcd C₁₄H₁₈N₂O₂: C, 68.27; H, 7.37; N, 11.37. Found: C, 68.39; H, 7.53; N, 11.46. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3180 (NH), 1690 (CO). ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 9.12 (br s, 1H, NH), 7.56—7.84 (m, 1H, H₈), 6.92—7.36 (m, 3H, H₉₋₁₁), 3.84—4.32 (m, 1H, H₂), 2.36—3.64 (m, 4H, H_{3,5}), 1.40—1.88 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.56 (s, 3H, 11b-CH₃), 0.98 (t, 3H, CH₂CH₃, *J*=8.0 Hz).

2-Phenyl-11b-methyl-2,3,7,11b-tetrahydrooxazolo[3,2-d][1,4]benzodiazepin-6(5H)-one (If**)** **Ie** の場合と同様な合成法により *N*-(2-acetylphenyl)-2-bromoacetamide と 1-phenyl-2-aminoethanol から結晶性化合物として **If** (58.5%) を得た. 無色柱状晶 (エタノールから再結晶), mp 185—187°C. Anal. Calcd C₁₈H₁₈N₂O₂: C, 73.45;

H, 6.16; N, 9.52. Found: C, 73.41; H, 6.04; N, 9.34. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3200 (NH), 1680 (CO). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 9.04 (br s, 1H, NH), 7.64–8.00 (m, 1H, H_8), 6.94–7.56 (m, 8H, H_{9-11} , 2-phenyl H), 4.94–5.38 (m, 1H, H_2), 2.58–3.64 (m, 4H, $\text{H}_{3,5}$), 1.66, 1.68 (2s, 3H, 11b- CH_3).

1,3-Dihydro-5-methyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one (III) *N*-(2-Acetylphenyl)-2-bromoacetamide 1.0 g をアセトニトリル 60 ml に溶解し、炭酸アンモニウム 5.0 g を加え、室温下 50 h 攪拌する。反応後反応液を濾過し、残渣をアセトニトリルで洗い、ろ液と合わせ減圧濃縮する。析出した結晶をエタノールから再結晶して **III** 140 mg (20.6%) を得た。無色針状晶, mp 181–182.5°C (lit.,^{6b}) mp 184°C). Anal. Calcd $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$: C, 68.95; H, 5.79; N, 16.08. Found: C, 69.06; H, 5.91; N, 15.87. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3200 (NH), 1672 (CO), 1630 (C=N). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.08–7.68 (m, 4H, aromatic H), 4.12 (s, 2H, H_8), 2.48 (s, 3H, CH_3).

結果と考察

Ie, If 及び III の合成

Ie, If に関しては前報⁵⁾と同様な方法で *N*-(2-acetylphenyl)-2-bromoacetamide と 1-amino-2-butanol 又は 1-phenyl-2-aminoethanol から反応中間物質のアミノアルコール体を得た。これを分子内閉環させて目的化合物 Ie, If を合成した。得られた化合物の $^{13}\text{C-NMR}$ データを Table I にまとめた。Ie, If はいずれも diastereoisomer に基づく異性体の混合物で存在し、オキサゾリジン環構造の 11b 炭素に帰属できるシグナルが 95 ppm 付近に観測される^{5,8)}ことからジアゼピノオキサゾール環構造を確認した。

一方, **III** は菅沢ら⁹⁾の diazepam 誘導体の合成法を参考にして *N*-(2-acetylphenyl)-2-bromoacetamide をアセトニトリル中炭酸アンモニウムで処理し、アミノ化と分子内閉環により, mp 181–182.5°C (lit.,^{6b}) 184°C) の無色針状晶として得られた。IR スペクトルは 1675 cm^{-1} と 1630 cm^{-1} にそれぞれアミドカルボニル基とイミノ基の吸収を示した。また CDCl_3 中における $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルは δ 170.2 及び δ 172.1 にシグナルが認められる。これらはそれぞれアミドカルボニル、イミン炭素シグナルに帰属できることから, **III** の構造は確実である。

プロトン交換反応速度

Ie, If の 11b メチルプロトンは Ic, Id と同様⁵⁾にメタノール- d_4 中において速やかな重水素交換反応を起こすことを $^1\text{H-NMR}$ スペクトルの経時変化から確認した。一方メタノール- d_4 中における **III** の 5 メチルプロトンは δ 2.46 にシグナルを与え, 11b メチルベンゾジアゼピノオキサゾール系化合物に比較するとゆっくりとシグナル強度が減少した。5 メチル基のプロトンシグナル以外は変化しないので, この部分のプロトンのみが溶媒中の重水素と交換を起こすものと考えた。

これら Ie, If 及び **III** のメタノール- d_4 中における重水素交換反応はいずれもみかけ上 1 次反応的に進んだ。その速度定数を Table II にまとめた。

重水素交換反応に及ぼす酸の影響

重水素交換反応はイミニウム型構造 (II) を経由し

Chart 2

TABLE I. $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral Data (δ in ppm) for Ie and If in CDCl_3 at 25 MHz

Carbons	Compounds	
	Ie	If
C-2	76.8	77.0
C-3	58.4, 59.6	61.3, 62.2
C-5	54.5	54.3, 54.5
C-6	170.8, 171.7	170.5, 171.7
C-11b	95.4, 95.8	96.2, 97.1
2- CH_2CH_3	26.7	—
2- CH_2CH_3	10.1, 10.2	—
11b- CH_3	27.3, 28.2	26.4, 28.9

TABLE II. Hydrogen Exchange Rate Constants of 11b-Methylbenzodiazepinooxazoles and **III** in Methanol- d_4 at 23°C

Compound	$k \times 10^2$ min^{-1}	Correlation coefficient	$t_{1/2}$ min
Ic ^{a)}	7.0	0.999	9.9
Id ^{a)}	1.6	0.999	43
Ie	1.4	0.997	49
If	1.7	0.997	42
III	6.2×10^{-2}	0.998	1.1×10^3

a) Reported previously.⁵⁾

て起こることが前報⁵⁾で示唆された。また Chart 2 で示す平衡状態は酸を添加することにより右側へ移動し、分子種 II の存在量が増加する。¹⁰⁾ この変化により重水素交換反応が促進されることが予想される。このことをより明確にするために、II の構造に類似した III を使って交換反応に及ぼす酸の影響について検討した。

III に対して酸の濃度を变化させて得られた交換反応速度定数を Table III にまとめた。III のメタノール- d_4 中における交換速度定数 ($6.2 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$) は Ic, Id のそれ (Table II) に比較すると著しく小さいが、酸の添加により急激に増大した。酸として TFA- d_1 を 0.4 当量添加した場合、その速度定数は無添加の場合と比較して 160 倍大きく、Ic のメタノール- d_4 中の交換速度よりも大きかった。酸の添加量を 1 当量より多くすると交換速度は幾分遅くなる傾向が認められた。酸の代わりに塩基として TED を 2 当量加えた系では、交換速度定数 ($5.6 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$) はほとんど変化しなかった。

このように交換反応は酸により著しく促進された。III は構造上 I からオキサゾリジン環を除いた骨格を有しており、4 位窒素にプロトンが付加することにより II と類似のイミニウム型構造 ($\text{III} \cdot \text{H}^+$) を与える。また酸添加量の増加は溶液中の $\text{III} \cdot \text{H}^+$ の存在量を増大させる。このことは III の 4 位窒素にプロトン付加した $\text{III} \cdot \text{H}^+$ が交換反応に必要な分子種であることを示している。

1 当量以上の酸の添加で速度定数が若干小さくなる機構については、目下のところ検討中である。

Id について III と同様に交換速度に及ぼす酸濃度の影響を調べた。その結果を Table IV に示した。酸濃度の上昇に伴い交換反応が促進され、酸の濃度が 1 当量の条件では今回用いた方法で測定不可能なほど速くなった。このように Id は酸を添加することにより交換反応が促進された。この原因は Chart 2 における平衡状態が右側にかたより交換反応の活性種である II が増加するために交換が速くなるものと考えられる。

これらの結果から III と Id のプロトン交換反応は類似の反応活性種であるイミニウム型中間体を經由することが確認できた。

蛍光スペクトル法によるイミニウム型構造の検出と存在量の算出

11b メチルベンゾジアゼピノオキサゾール系化合物のプロトン交換速度はオキサゾリジン環上に置換基を持たない Ic が最も大きく 2 位に置換基が存在する化合物群ではいずれも小さかった (Table II)。この化合物間の交換速度差は溶液中の II の存在量の差が原因と考え、この点について検討を加えた。

Fig. 1 に種々の濃度の TFA 存在下及び塩基存在下での Id のメタノール溶液中の蛍光スペクトルを示した。また蛍光波長 460 nm での蛍光強度と酸濃度のプロットを Fig. 2 に示した。酸性条件下では酸濃度が増加するに伴って蛍光強度も大きくなっている。しかし酸濃度が $2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 以上では蛍光スペクトルはほとんど変化しなくなった。これらの変化は、酸の添加量を増すと II の存在量がしだいに増加し、ある値以上の酸濃度ですべて II に変化する過程に対応している。一方塩基を添加した場合には、その濃度にかかわらず蛍光を全く示さなかった (Fig. 1 のスペクトル 6)。これらの条件下での蛍光スペクトル変化は、他の 11b メチルベンゾジアゼピノオキサゾール系化合物についても同様に観測された。

TABLE III. Effects of TFA- d_1 Concentration on Hydrogen Exchange Rate Constants of III in Methanol- d_4 at 23°C

Concentration of TFA- d_1 equivalent	$k \times 10^2 \text{ min}^{-1}$	Correlation coefficient	$t_{1/2} \text{ min}$
0.0	6.2×10^{-2}	0.998	1.1×10^8
0.4	10	0.998	6.8
1.0	12	1.000	6.0
2.0	7.3	0.998	9.5
3.0	3.5	0.999	20
4.0	2.9	0.997	24
(2.0) ^{a)}	5.6×10^{-2}	0.998	1.2×10^8

a) Concentration of triethylenediamine. $[\text{III}]_0 = 1.44 \times 10^{-1} \text{ M}$

TABLE IV. Effects of TFA- d_1 Concentration on Hydrogen Exchange Rate Constants of Id in Methanol- d_4 at 23°C

Concentration of TFA- d_1 equivalent	$k \times 10^2 \text{ min}^{-1}$	Correlation coefficient	$t_{1/2} \text{ min}$
0.0	1.6	0.999	43
0.2	6.9	0.998	10
0.4	11	1.000	6.3
0.6	13	0.994	5.3
0.8	ca. 17	—	ca. 4.0
1.0	ca. 24	—	ca. 3.0

$[\text{Id}]_0 = 1.08 \times 10^{-1} \text{ M}$

Fig. 1. Effects of TFA Concentration on Fluorescence Emission Spectra of Id in Methanol Exited at 350 nm

Concentration of Id was 1×10^{-4} M. 1, 0 M; 2, 4×10^{-5} M; 3, 7×10^{-5} M; 4, 1×10^{-4} M; 5, 2×10^{-4} M; 6, $0.4-2.0 \times 10^{-4}$ M of triethylamine (TEA).

Fig. 2. Effects of TFA Concentration on Fluorescence Intensity of Id

これら Fig. 1 と 2 の結果から, Id のメタノール溶液中にはわずかに II が存在しており Chart 2 に示すような平衡状態にあるものと考えられる. 酸添加に伴う蛍光スペクトルの変化を使ってメタノール溶液中における IIId の存在量を次のようにして算出した. Fig. 2 において 2.0×10^{-4} M 以上の酸濃度で蛍光強度が一定となる領域では Id はすべてイミニウム型で存在するものと考えられる. この時の蛍光強度で酸濃度ゼロの蛍光強度を割ることによりメタ

ノール中における IIId の存在量を求めた (Table V). この値から II の存在量は Ic ($R_2=H$) が最も多く, 2 位に置換基がある化合物群ではいずれも減少することがわかった. 置換基の種類による II の存在量の変化は少なかった. 最も小さな値を示す Ie では Ic の約 40% であった. III について同様な方法でイミニウム型構造の存在量を算出した. 得られた値は 2 位に置換基を持つ I の場合よりも更に小さい値であった.

このように蛍光強度測定に基づいて求めた II の存在量は, 交換反応速度の大きさ (Table II) と相関性を有することが明らかであり, 交換速度が大きな化合物はイミニウム型構造の存在量が多いという推定を確かなものにすることができた.

結 論

以上の結果から 11b メチルベンゾジアゼピノオキサゾール系誘導体は溶液中において I と II が平衡状態にあることが, 前報⁹⁾の知見と合わせて明確にできた. また溶液中における構造 II の存在量を蛍光強度測定法により見積ることができた. 同一の基本骨格を持つ Ia, Ib についても同様な平衡状態が考えられ, 本研究結果はこれらの異性化及びラセミ化の過程に対して提出されている機構を支持するものと思われる.

謝辞 本研究に際し, 元素分析を測定していただいた名市大薬学部 内藤敏子嬢及び御理解, 御援助をいただいた NTT 東海総合病院 佐部利正美薬剤科部長はじめ薬剤科の方々に深謝致します.

TABLE V. Percent of Iminium Form (II) in Methanol

Compound	Percent of II
Ic	5.99
Id	3.25
Ie	2.48
If	2.91
III	1.65

引用文献及び注

- 1) 第 14 報: Y. Kurono, H. Sawabe, T. Kuwayama, T. Yashiro, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 193 (1990).
- 2) 本論文の一部は日本薬学会第 107 年会で発表, 京都, 1987 年 4 月.
- 3) a) T. Miyadera, A. Terada, M. Fukunaga, Y. Kawano, T. Kamioka, C. Tamura, H. Takagi, R. Tachikawa, *J. Med. Chem.*, **14**, 520 (1971); b) T. Miyadera, A. Terada, C. Tamura, M. Yoshimoto, R. Tachikawa, *Ann. Rep. Sankyo Res. Lab.*, **28**, 1 (1976).
- 4) Y. Okada, T. Takebayashi, M. Hashimoto, S. Kasuga, S. Sato, C. Tamura, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1983**, 784; Y. Okada, T. Takebayashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 3787 (1988); Y. Okada, T. Takebayashi, S. Sato, *ibid.*, **37**, 5 (1989).
- 5) 桑山知成, 加藤節子, 黒野幸久, 八代 有, 池田 憲, 薬誌, **108**, 641 (1988).
- 6) a) C. S. Bell, J. S. Childress, U. S. Patent 3714145 (1973) [*Chem. Abstr.*, **78**, 111379 (1973)]; b) A. V. Bogatskii, S. A. Andronati, V. I. Minkin, L. E. Nivorozhkin, V. S. Yureva, T. I. Korotenko, Y. S. Katrenko, *Vopr. Stereokhim.*, **7**, 3 (1978).
- 7) M. Ikeda, T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3810 (1982).
- 8) 2 位置換基と 11b メチル基との位置関係から生ずる *cis*, *trans* 異性体による.
- 9) T. Sugawara, M. Adachi, T. Toyoda, K. Sasakura, *J. Heterocyclic Chem.*, **16**, 445 (1979).
- 10) Y. Kurono, T. Kuwayama, K. Kamiya, T. Yashiro, K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1633 (1985).
- 11) 川添 豊, 前田満和, “化学の領域増刊,” Vol. 107, 南江堂, 東京, 1975, pp. 78—89.