

## Mechanismus der potentialkontrollierten Reduktion von 3-Hydroxy-1,4-benzodiazepinen an der Hg-Pool-Elektrode

Herbert Oelschläger\* und Fatma Inci Sengün

Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Frankfurt am Main,  
D-6000 Frankfurt/M., Georg-Voigt-Str. 14

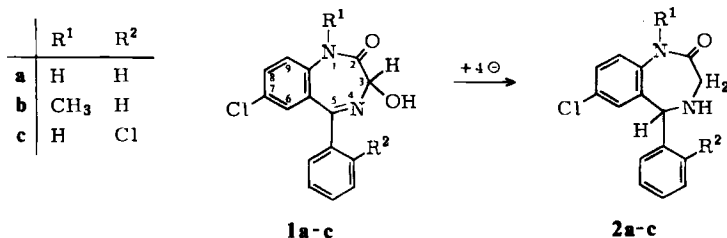
Eingegangen am 18. März 1975

Der Tranquilizer Lorazepam [1c, 7-Chlor-5-(2-chlorphenyl)-1,3-dihydro-3-hydroxy-2H-1,4-benzodiazepin-2-on] wird an der Hg-Pool-Elektrode sowohl in sauren als auch in alkalischen Puffern nach einem e-c-e-Mechanismus reduziert. Zunächst erfolgt 2elektronig die Reduktion der 4,5-N=C-Doppelbindung, danach als geschwindigkeitsbestimmender Schritt die Wasserabspaltung zum Aldimin 4c, das in Form seines stabileren Tautomeren 5c isoliert werden konnte, und abschließend dessen 2elektronige Reduktion.

**Mechanism of the Electroreduction of 3-Hydroxy-1,4-benzodiazepines at the Mercury Pool Electrode with a Controlled Potential**

The tranquilizer lorazepam [1c, 7-chloro-5-(2-chlorophenyl)-1,3-dihydro-3-hydroxy-2H-1,4-benzodiazepin-2-one] is reducible at the mercury pool electrode in acidic as well as in alkaline buffers. The reduction involves an e-c-e-mechanism. At first the 4,5-N=C double bond is reduced with consumption of two electrons, then follows elimination of water with formation of the aldimine 4c as the rate limiting step. This aldimine was isolated as its more stable tautomer 5c. Its reduction, with consumption of two further electrons, is the third step of the postulated e-c-e-mechanism.

Bei den Untersuchungen des polarographischen Verhaltens von drei als minor tranquilizer eingeführten 1,4-Benzodiazepinen, die am C-3 eine OH-Gruppe besitzen [Oxazepam (1a); Temazepam (1b); Lorazepam (1c)], hatten wir festgestellt<sup>1-5)</sup>, daß diese in



<sup>1)</sup> H. Oelschläger, J. Volke, G. T. Lim und R. Spang, Arch. Pharmaz. (Weinheim) **302**, 946 (1969).

<sup>2)</sup> H. Oelschläger, J. Volke, G. T. Lim und U. Bremer, Arch. Pharmaz. (Weinheim) **303**, 364 (1970).

<sup>3)</sup> J. Volke, H. Oelschläger und G. T. Lim, J. Elektroanal. Chem. **25**, 307 (1970).

<sup>4)</sup> H. Oelschläger und F. I. Sengün, Pharmazie **29**, 770 (1974).

<sup>5)</sup> H. Oelschläger und H.-P. Oehr, Pharm. Acta Helv. **49**, 179 (1974).

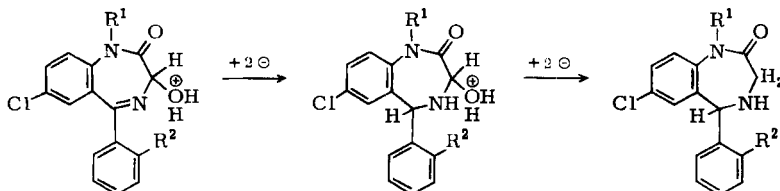
sauren Puffern an der Hg-Tropfelektrode unter Verbrauch von 4 Elektronen, in alkalischen Puffern ( $\text{pH} > 8.5$ ) dagegen unter Verbrauch von mehr als 2, aber weniger als 4 Elektronen reduziert werden. Der Elektronenverbrauch (s. Tab.) wurde für alle drei Substanzen unter völlig gleichen Bedingungen ermittelt, wobei zur Unterdrückung von Nicht-Faraday-Strömen den Puffern Gelatinelösung zugesetzt wurde.

Tab. Coulometrie von 1a–c in methanolischen Borat-Puffern

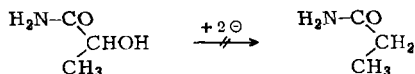
	Elektronenverbrauch bei	
	pH 8.52 (–1.3 V)	pH 10.5 (–1.4 V)
1a	4.04	3.24
b	3.62	3.00
c	3.80	3.36

Als Produkte bei der präparativen Elektrolyse (CPE-Verfahren: Controlled Potential Electrolysis) an Hg-Pool-Elektroden in methanolischem Acetatpuffer ( $\text{pH} 5.02$ ) erhielten wir die sogenannten Tetrahydroderivate 2 in Ausbeuten von 70–80%.

Zur Deutung des Reaktionsmechanismus nahmen wir zunächst an<sup>2)</sup>, daß sich der Verbrauch von  $4 \ominus$  in sauren Puffern additiv aus der zweielektronigen Reduktion der 4,5-Azomethingruppe und der zweielektronigen Reduktion des protonierten Hydroxyls ergibt:



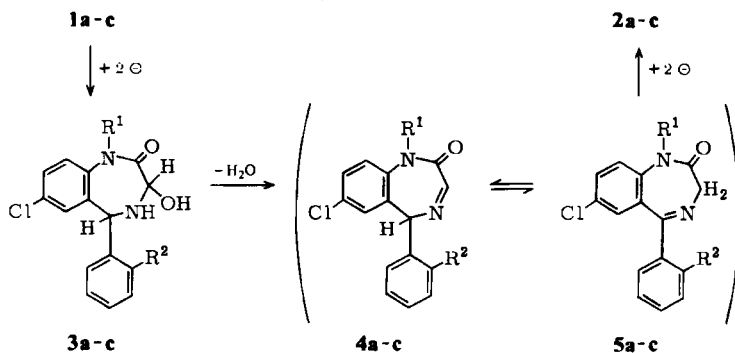
Da wir aber für die Annahme der Reduktion eines durch Nachbargruppen aktivierten Hydroxyls aus der polarographischen Literatur keine Hinweise fanden und auch unsere in dieser Richtung angelegten Experimente, z. B. die Reduktion von Milchsäureamid, dessen N–C–C-Gruppierung



als vergleichbarer Strukturausschnitt des Diazepinringes angesehen werden kann, negativ verliefen, hatten wir frühzeitig die Vermutung geäußert, daß u. U. ein anderer Mechanismus (e-c-e) für die Reduktion in alkalischen Puffern diskutiert werden müsse<sup>4,5)</sup>, der gegebenenfalls auch für die Reduktion in sauren Puffern bestimmend sein konnte. Danach wäre die erste zweielektronige Reaktion die Reduktion der 4,5-N=C-Doppelbindung. Das entstandene Dihydroderivat 3 spaltet im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt Wasser unter Bildung des Aldimins 4 ab. 4 wird als solches, oder in Form seines stabileren Tautomeren 5, zweielektronig reduziert.

Das nach Aufnahme von  $2 \ominus$  gebildete 1,3,4,5-Tetrahydro-2H-1,4-benzodiazepinderivat 3 kann als cyclischer Aldehydammoniak, ebenso wie das Imin, pH-abhängig in verschiedenen Richtungen<sup>6)</sup> weiterreagieren, wobei auch polarographisch inaktive Produkte entstehen können. Dadurch dürfte sich zwanglos der geringere Elektronenverbrauch ( $< 4 \ominus$ ) in alkalischen Puffern erklären.

<sup>6)</sup> G. Spiegelberger in Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl, Müller), Bd. XI/1, Stickstoffverbindungen II, S. 73, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1957; M. M. Sprung, Chem. Rev. 26, 297 (1940).



In vorliegender Studie haben wir versucht, den postulierten Mechanismus experimentell am Beispiel der Reduktion von **1c** zu beweisen. Dafür war das Auffinden des Aldimins **4c** bzw. seines Tautomeren **5c** bei der Reduktion in sauren und alkalischen Puffern von entscheidender Bedeutung. Bei der präparativen Reduktion von Lorazepam (**1c**) bei kontrolliertem Potential ( $-1.2$  bzw.  $-1.4$  V) in einem methanolischen Acetatpuffer (pH 5.5) bzw. in einem methanolischen Boratpuffer (pH 10.0) konnte **5c** nachgewiesen bzw. erhalten werden. Bei der schneller verlaufenden Reduktion im sauren Puffer war nur ein DC-Nachweis, aber keine Isolierung möglich, während aus dem alkalischen Puffer bei Ende der Elektrolyse noch 15% **5c** isoliert werden konnten. Die fortlaufende DC-Analyse der Reduktionsansätze ergab, daß die Reduktion nur in sauren Puffern einheitlich im Sinne des e-c-e-Mechanismus erfolgt, denn es wurden außer **1c** lediglich **5c** und das Tetrahydroderivat **2c** beobachtet. In alkalischen Puffern fallen dagegen neben noch zwei weitere unbekannte Substanzen mit wesentlich kleineren  $hR_F$ -Werten an.

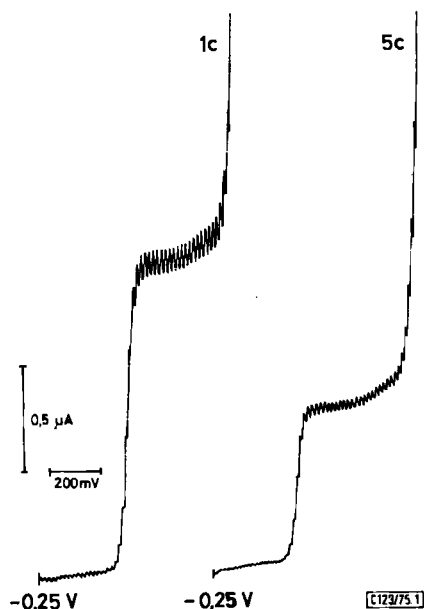


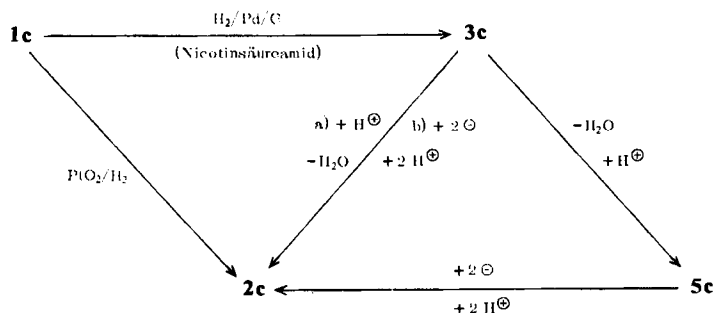
Abb. *i*-*E*-Kurven von **1c** und **5c**

Das bekannte **5c**<sup>7)</sup> [7-Chlor-5-(2-chlorphenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on] wurde durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel isoliert. Seine Struktur wurde zusätzlich durch IR-, NMR- und Massenspektrum gesichert. Im IR-Spektrum ist die C=N-Absorption bei  $1610\text{ cm}^{-1}$  charakteristisch, die in dem Spektrum der Tetrahydroderivate fehlt. Im NMR-Spektrum ist das Resonanzsignal der C-3-Methylengruppe bei  $\delta = 4.5\text{ ppm}$  beweisend und im Massenspektrum mit hoher Intensität der  $M^+$ -Peak ( $m/e = 305$ ).

Ein weiterer Beweis für die Struktur **5c** war das Verhalten der isolierten Substanz bei der Reduktion an der Hg-Pool-Elektrode. Sie konnte bei  $-1.2\text{ V}$  in einem methanolischen Acetatpuffer unter Verbrauch von  $2\ominus$  zum bekannten Tetrahydroderivat **2c** reduziert werden.

Die Abb. zeigt die *i-E*-Kurven von **1c** und **5c** in  $0.1\text{ N HCl}$  (mit  $10\%$  DMF), beide Substanzen in  $10^{-4}\text{ M}$  Konzentration.  $i_d$  ist bei **1c** doppelt so groß wie bei **5c**,  $E_{1/2}$  (in  $0.1\text{ N HCl}$ ) von **1c** liegt bei  $-0.62\text{ V}$  und von **5c** bei  $-0.58\text{ V}$ .

Vollständig abgesichert wurde der postulierte e-c-e-Mechanismus noch durch Synthese und Reaktionen des bisher unbekanntes 4,5-Dihydrolorazepam (**3c**) (Sicherung der Struktur durch IR-, NMR- und Massenspektrum), das durch Hydrierung von **1c** mit einem durch Nicotinsäureamid<sup>8)</sup> partiell inaktivierten Pd/C-Katalysator gewonnen wurde<sup>9)</sup>. Diese Verbindung spaltete bei  $20^\circ\text{C}$  im Acetatpuffer (pH 4.2) rasch Wasser ab und ergab in mehr als 80proz. Ausbeute das dem Imin tautomere **5c**, das bei  $-1.2\text{ V}$  in einem methanolischen Acetatpuffer in ca. 70proz. Ausbeute zu **2c** reduziert werden konnte. Selbstverständlich lieferte das 4,5-Dihydrolorazepam auch bei der Reduktion an einer Hg-Pool-Elektrode in methanolischem Acetatpuffer ohne Isolierung von **5c** nur das Tetrahydroderivat **2c**.



Wir danken dem *Fonds der Chemischen Industrie*, Frankfurt/M., für finanzielle Förderung dieser Studie und Herrn *O. Schreiber* für umsichtige Mitarbeit. F. I. Sengün dankt der *Alexander-von-Humboldt-Stiftung*, Bad Godesberg, für ein zweijähriges Forschungsstipendium.

<sup>7)</sup> Hoffmann-La Roche & Co. (Erf. E. Reeder, L. H. Sternbach, O. Keller und N. Steiger), Schweiz. Pat. 408 029 (28. Febr. 1966) [C. A. **66**, 55 532 (1967)].

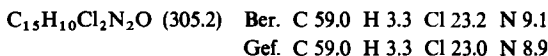
<sup>8)</sup> K. Kindler, H. Oelschläger und P. Henrich, Chem. Ber. **86**, 167 (1953).

<sup>9)</sup> Bei der Reduktion von **1c** mit  $\text{PtO}_2$ <sup>10)</sup> in Methanol erhielt man dagegen 88% **2c**.

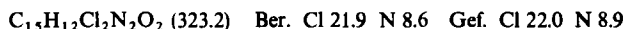
<sup>10)</sup> H. Oelschläger, J. Volke und H. Hoffmann, Collect. Czech. Chem. Commun. **31**, 1264 (1966).

## Experimenteller Teil

1. 7-Chlor-5-(2-chlorphenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on (**5c**) durch elektrochemische Reduktion (CPE-Verfahren) von **1c**: 321 mg (1.00 mmol) **1c** wurden in 90 ml Methanol und 90 ml methanolischem Borat-Puffer (pH 10.38) gelöst und bei  $-1.4$  V an einer gerührten Hg-Elektrode (18 ml Hg, Oberfläche  $36 \text{ cm}^2$ ) unter Durchleiten von  $\text{N}_2$  mit einer Graphitelektrode als Anode elektrolysiert. Das Potential der Arbeitselektrode gegenüber einer Ag/AgCl-Bezugselektrode wurde durch einen Potentiostaten (Modell 463 der Fa. Amel, Mailand/Italien) konstant gehalten. Der Verlauf der Elektrolyse wurde mit Hilfe von in zeitlichen Abständen registrierten Strom-Spannungs-Kurven kontrolliert. Die Reduktion war nach ca. 6 h beendet. Das Methanol wurde i. Vak. entfernt und das Rohprodukt durch doppelte präparative Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten (Schichtdicke 2 mm) mit Methylchlorid/Methanol (9 + 1) isoliert und gereinigt. **5c** zeigte den höchsten  $\text{hR}_F$ -Wert (70), ihm folgte das Tetrahydroderivat **2c** ( $\text{hR}_F$  60) und unverändertes **1c** ( $\text{hR}_F$  51). Die getrennten Substanzen eluierte man vom Sorptionsmittel mit Methanol. **5c** wurde aus wäßrigem Methanol umkristallisiert: farblose Kristalle vom Schmp.  $195 - 196^\circ\text{C}$ , Ausb. 45.5 mg (15%).



2. 7-Chlor-5-(2-chlorphenyl)-3-hydroxy-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on (**3c**): 321 mg (1.00 mmol) **1c** wurden in 25 ml Methanol über 190 mg Pd/C (10proz.) unter Atmosphärendruck bei Raumtemp. hydriert. Zum Katalysator wurden vor Zugabe von **1c** 8 mg Nicotinsäureamid in 5 ml Methanol gegeben und 5 min geschüttelt. Die  $\text{H}_2$ -Aufnahme erfolgte relativ langsam, erst nach 2 h war 1 mol  $\text{H}_2$  aufgenommen worden. Die Hydrierung wurde dann abgebrochen und das Katalysatorfiltrat vom Lösungsmittel befreit. Es hinterblieben gelbliche Kristalle. Nach einmaliger präparativer Schichtchromatographie auf Kieselgel (Schichtdicke 2 mm) mit Methylchlorid/Methanol (9 : 1) zeigte das Chromatogramm als Substanz mit dem größten  $\text{hR}_F$ -Wert das Tetrahydroderivat **2c** ( $\text{hR}_F$  73), ihm folgten **3c** ( $\text{hR}_F$  65) und **1c** ( $\text{hR}_F$  59). **3c** wurde mit Methanol/Aceton/ $\text{H}_2\text{O}$  (8 : 1 : 1) eluiert. Es hinterblieben 36 mg (9.9%) gelbliche Kristalle vom Schmp.  $169 - 172^\circ\text{C}$  (ohne Umkristallisation!). Die Identifizierung erfolgte durch IR-, NMR- und Massenspektrum. – IR (KBr, Perkin-Elmer 221):  $3275 \text{ cm}^{-1}$  (scharfe NH-Streckschwingung). – Massenspektrum:  $\text{M}^+ \text{ m/e} = 323$ . –  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]$ DMSO):  $\delta = 3.55$  ppm (NH), 6.55 (5-H).



3. **5c** aus **3c**: 60 mg (0.20 mmol) **3c** wurden in 20 ml Acetatpuffer (pH 4.22) suspendiert und 20 min gerührt. Anschließend wurde mit 1 N NaOH auf pH 9.00 eingestellt und das entstandene Produkt mit Äther extrahiert. Nach Abdampfen des Äthers erhielt man 82% **5c** vom Schmp.  $193 - 194^\circ\text{C}$ , das ohne weitere Reinigung für die Spektrometrie und den CPE-Versuch eingesetzt wurde.

4. 7-Chlor-5-(2-chlorphenyl)-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on (**2c**) durch elektrochemische Reduktion (CPE-Verfahren) von **5c**: 71.2 mg (0.25 mmol) **5c** wurden in 25 ml Methanol und 25 ml methanolischem Acetatpuffer, der 10% Wasser enthielt, gelöst und bei  $-1.2$  V an einer gerührten Hg-Elektrode (9 ml Hg) unter Durchleiten von  $\text{N}_2$  mit einer Graphitelektrode als Anode (analog 1) elektrolysiert. Nach etwa  $1\frac{1}{2}$  h war die Reduktion beendet. Das Methanol wurde i. Vak. entfernt, der Rückstand mit 50 ml Wasser versetzt, das in Wasser schwerlösliche Reduktionsprodukt abfiltriert und aus 75proz. Methanol umkristallisiert: Ausb. 56.8 mg (70%), Schmp.  $230 - 231^\circ\text{C}$  (Lit.<sup>11)</sup>  $235 - 237^\circ\text{C}$ ).

<sup>11)</sup> Hoffmann-La Roche Inc. (Erf. E. Reeder und L. H. Sternbach), US-Pat. 3344 183 (26. Sept. 1967) [C. A. 68, 95869 (1968)].

5. *Coulometrie von 1a–c und 5c*: 0.05 mmol der betreffenden Substanz wurden in den angegebenen Puffern unter Zugabe von 20 ml Methanol gelöst und an einer gerührten Hg-Pool-Elektrode (9 ml Hg) unter Durchleiten von N<sub>2</sub> elektrolysiert (Potentiostat Modell 463; Amel, Mailand/Italien). Als Potential wurde das des beginnenden Grenzstromes gewählt und als Anode eine Graphitelektrode verwendet. Der Verlauf der Elektrolyse wurde mit Hilfe von in zeitlichen Abständen registrierten *i-E*-Kurven kontrolliert (Bezugsselektrode Ag/AgCl). Die Reduktionen waren nach etwa 100 min beendet. Die Restströme betragen 0.5–0.3 µA.

6. *Polarographie*: Die gleichspannungspolarographischen Untersuchungen wurden mit dem Polarographen PO 4 der Fa. Radiometer, Kopenhagen/Dänemark, in normaler Anordnung unter Verwendung einer Ag/AgCl-Bezugsselektrode durchgeführt.

[123/75]