

Enantioselektive Katalysen, 135. Mitt. [1]. Stereoselektive Hydrierung von Folsäure und 2-Methylchinoxalin mit optisch aktiven Rhodium(I)-Phosphan-Komplexen

Henri Brunner* und Sabine Rosenboem

Institut für Anorganische Chemie, Universität Regensburg, D-93040 Regensburg, Deutschland

Zusammenfassung. Bei der Hydrierung der C=N-Doppelbindungen des Pyrazinrings von Folsäure zu 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure entsteht an C6 des Pterinsystems ein neues Asymmetriezentrum. Mit auf Kieselgel immobilisierten optisch aktiven Rhodium(I)-Phosphan-Katalysatoren läßt sich die Hydrierung in wäßriger Lösung stereoselektiv steuern. Der höchste Diastereomerenüberschuß von etwa 40% *de* ergibt sich mit (–)-*BPPM*-haltigen Katalysatoren. Die Hydrierung des Biomoleküls Folsäure gelingt in wäßriger Lösung auch homogen mit Rhodium(I)-Phosphan-Katalysatoren, deren Liganden Sulfonsäuregruppen bzw. Polyetherreste enthalten. Die homogenen Hydrierungen verlaufen allerdings gegenüber den heterogenen Katalysen langsamer und mit etwas reduzierten Diastereoselektivitäten. Die Hydrierung von 2-Methylchinoxalin ist ein Modellsystem für die Folsäure-Reduktion. Die üblichen Rhodium(I)-Phosphan-Katalysatoren ergeben nur geringe Enantiomerenüberschüsse.

Keywords. Enantioselectivity; Diastereoselectivity; Hydrogenation; Folic acid; Leucovorin; 2-Methylquinoxaline; Rhodium(I) catalysts.

Enantioselective Catalyses CXXXV [1]. Stereoselective Hydrogenation of Folic Acid and 2-Methylquinoxaline with Optically Active Rhodium(I)-Phosphane Complexes

Summary. In the hydrogenation of the C=N double bonds of the pyrazine ring of folic acid to 5,6,7,8-tetrahydrofolic acid a new asymmetric center is formed at C6 of the pteridine system. With rhodium(I) catalysts made from optically active phosphanes, which are immobilized on silical gel, the hydrogenation in aqueous solution can be controlled stereoselectively. The highest diastereomeric excess of *ca.* 40% is obtained with (–)-*BPPM* containing catalysts. The hydrogenation of the biomolecule folic acid in aqueous solution is also possible homogeneously with rhodium(I)-phosphane catalysts, the ligands of which contain sulfonic acid groups and polyether fragments. The homogeneous hydrogenations proceed slower and with somewhat reduced diastereoselectivities compared to the heterogeneous catalyses. The hydrogenation of 2-methylquinoxaline is a model system for the reduction of folic acid. The usual rhodium(I)-phosphane catalysts afford only small enantioselectivities.

* Corresponding author

Einleitung

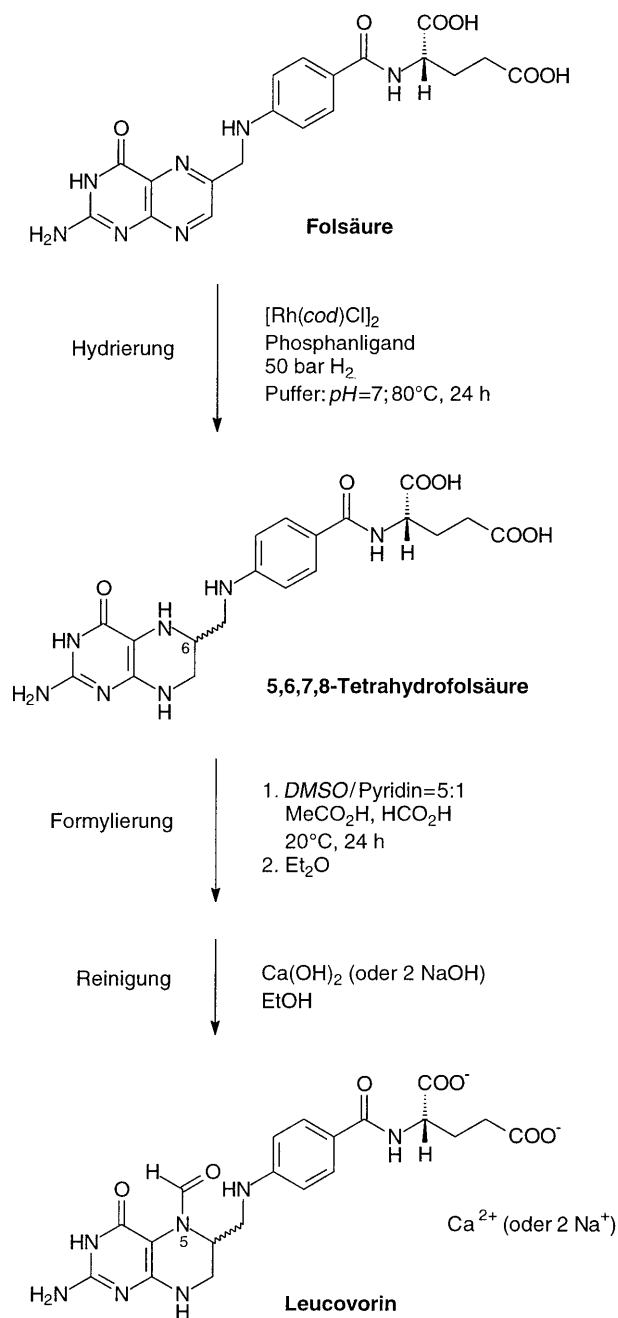
Das Vitamin Folsäure wird im Körper enzymatisch zu 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure (im folgenden als Tetrahydrofolsäure bezeichnet) reduziert, die im Stoffwechsel als C1-Überträger eine große Rolle spielt [2]. Bei der enzymatischen Reduktion entsteht das neue Stereozentrum an C6 des Pterinsystems stereospezifisch in (*S*)-Konfiguration. Das 5-Formylderivat der Tetrahydrofolsäure wird in Form des Ca^{2+} -Salzes (Handelsname Leucovorin) als *rescue agent* bei der Chemotherapie von Darmkrebs mit Methotrexat eingesetzt. Methotrexat hemmt die Folsäure-reduzierenden Enzyme und bringt damit den C1-Stoffwechsel (und das rasche Krebswachstum) zum Erliegen. Durch Leucovorin-Gabe wird in den Patienten ein gewisser Minimalstoffwechsel aufrecht erhalten [3, 4].

Die Reduktion von Folsäure zu Tetrahydrofolsäure kann durch heterogene Hydrierung an Platinoxid oder Palladium in verschiedenen Lösungsmitteln (Eisessig [5], Trifluoressigsäure [6], Ameisensäure [6]) oder durch Umsetzung mit Dimethylaminoboran [7] bzw. Natriumborant [8] erreicht werden. Bei der technischen Leucovorin-Synthese entstehen beide möglichen Stereoisomere der Tetrahydrofolsäure, die natürliche (*6S,S*)-Form und die unnatürliche (*6R,S*)-Form, etwa im Verhältnis 1:1. (*6S,S*)- und (*6R,S*)-Tetrahydrofolsäure sind Diastereomere, da die im Molekül vorhandene Glutaminsäure (*S*)-Konfiguration hat. Es gibt Hinweise darauf, daß die unnatürliche (*6R,S*)-Form nur langsam metabolisiert wird, sich im Zentralnervensystem anreichert und langfristig zu Intoxikationen führt [9]. Trotzdem wird in den Krankenhäusern weltweit überwiegend auch heute noch das 1:1-Gemisch der Stereoisomeren von Leucovorin eingesetzt, denn die Trennung der beiden bei der technischen Synthese entstehenden (*6S,S*)- und (*6R,S*)-Diastereomeren ist schwierig und aufwendig [10, 11]. Die stereospezifische Synthese des physiologisch wirksamen (*6S,S*)-Isomeren von Leucovorin ohne die Notwendigkeit, das unnatürliche (*6R,S*)-Isomere abtrennen und beseitigen zu müssen, ist ein lohnendes Ziel. Diastereomerenreines (*6S,S*)-Leucovorin ist in einigen Ländern als Medikament bereits zugelassen. Es ist zu erwarten, daß es das Diastereomeregemisch bald verdrängen wird.

Ergebnisse und Diskussion

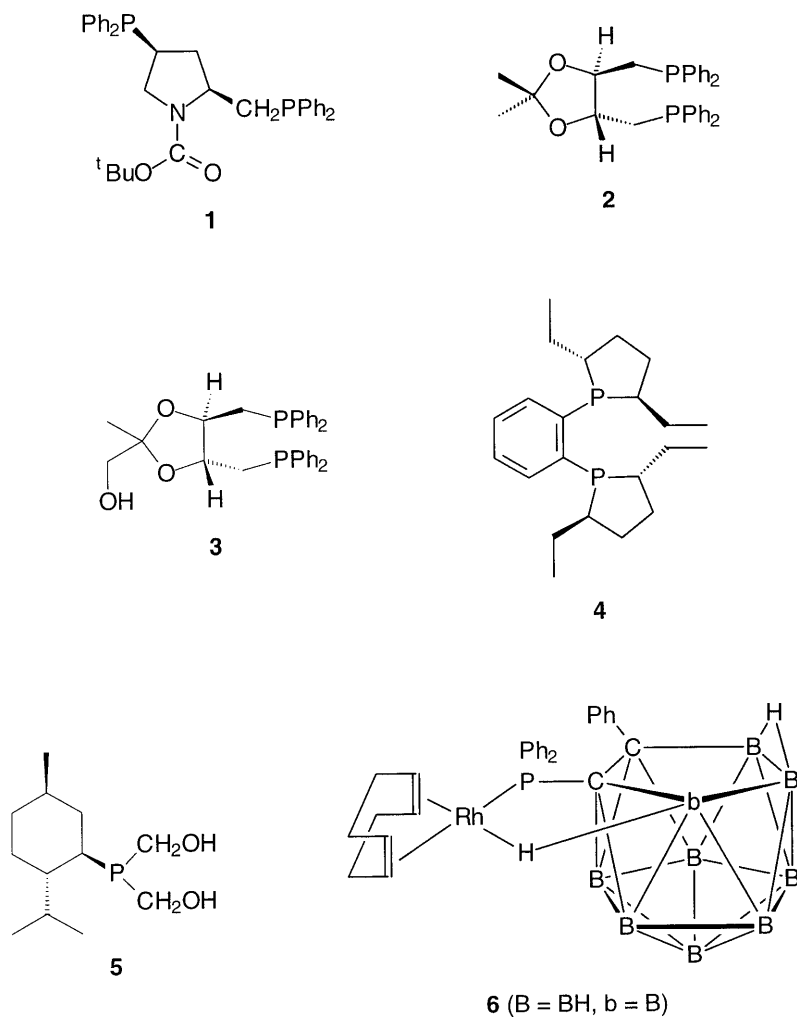
Heterogene Hydrierung von Folsäure

Die Hydrierung von Folsäure mit auf Kieselgel heterogenisierten homogenen Katalysatoren auf der Basis optisch aktiver Rhodium(I)-Phosphan-Komplexe wurde bereits in früheren Veröffentlichungen beschrieben [11, 12] (Schema 1). Der heterogene Katalysator wird durch 15-minütiges Rühren von $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$ und eines Chelatphosphans, wie (–)-*BPPM* (**1**, [13]) oder (–)-*DIOP* (**2**, [14]) (Schema 2), in Methylenchlorid in Gegenwart von Kieselgel hergestellt. Dabei entsteht zunächst ein gelöster gelber Komplex, der innerhalb von Minuten unter Entfärbung der Lösung auf das Trägermaterial aufzieht. In der wäßrigen Lösung, in der die Hydrierung des Biomoleküls Folsäure erfolgt, ist dieser Katalysator unlöslich. Zur Hydrierung werden Folsäure, Natriumhydroxid und Phosphatpuffer hinzugefügt. Die Hydrierung wird in einem Autoklaven bei 50 bar Wasserstoffdruck und 80°C in 24 h durchgeführt. Die licht- und luftempfindliche Tetrahydrofolsäure wird in



Schema 1

DMSO/Pyridin mit Methylformiat formyliert. Nach der Zugabe von Ethanol wird das gelb gefärbte Produkt 5-Formyltetrahydrofolsäure mit Ether ausgefällt und abfiltriert. Am farblosen Filtrat erkennt man, daß das Produkt vollständig isoliert wurde. In der Literatur wird eine Reinigung durch Umkristallisation bzw. Umfällung aus NaOH/EtOH empfohlen [12]. Um Leucovorin zu erhalten, wird aus Ca(OH)₂/EtOH umkristallisiert.



Schema 2

Da die Reproduktion der in der Literatur [12] beschriebenen Katalysen nicht zu den angegebenen Stereoselektivitäten führte, wurde die Aufarbeitung der Reaktionsgemische genauer untersucht [15]. Dabei stellte sich heraus, daß durch den abschließenden Reinigungsschritt eine Anreicherung des (6*S,S*)-Isomeren stattfand. Durch wiederholtes Umkristallisieren einer Probe von (6*S,S*)/(6*R,S*)-5-Formyltetrahydrofolsäure konnte der Diastereomerenanteil des (6*S,S*)-Isomeren in 6 Schritten von 39.1 auf 87.3% *de* erhöht werden (Tabelle 1).

Tabelle 1. Anreicherung von (6*S,S*)-Tetrahydrofolsäure durch wiederholtes Umkristallisieren einer Probe von (6*S,S*)/(6*R,S*)-Tetrahydrofolsäure (2.5 cm³ 0.1 M NaOH und 15 cm³ EtOH je 100 mg Substanz)

Probe	Rohprodukt	1	2	3	4	5	6
<i>de</i> (<i>S</i>) (%)	39.1	52.8	59.2	66.0	74.3	81.9	87.3

Tabelle 2. Reinigung von Proben aus dem Standardansatz mit $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2/(-)\text{-BPPM}$ (**1**) durch Kristallisation und Fällung; je 50 mg Rohprodukt wurden in 1.3 cm^3 0.1 M NaOH gelöst und mit unterschiedlichen Mengen Ethanol auskristallisiert bzw. gefällt; die nach der Reinigung erhaltenen Diastereomerenüberschüsse (Spalten 2–6) werden mit denen der Rohprodukte (Spalte 7) verglichen

Nr.	<i>de</i> (S) (%) der Na-Salze nach der Reinigung					<i>de</i> (S) (%) Rohprodukt
	6–8 cm ³ EtOH	10 cm ³ EtOH	15 cm ³ EtOH	20 cm ³ EtOH	30 cm ³ EtOH	
1	61.6					41.1
2	58.2					39.0
3	61.5					36.3
4	66.2					40.8
5	47.0				50.9	41.5
6	61.5				49.8	42.6
7	55.1				45.8	40.5
8	53.0				43.0	39.7
9	53.8					37.9
10	73.8	60.4	54.1	50.4		36.1
Δ (<i>de</i> (S) (%))	47.0–73.8				43.0–50.9	36.1–42.6
$\Delta(\Delta$ (<i>de</i> (S) (%))	26.8				7.9	6.5

Das Problem mit der publizierten Standardreaktion [12] ist, daß für den Reinigungsschritt keine genauen Mengen des zur Umkristallisierung bzw. Umfällung verwendeten Ethanol angegeben sind. Setzt man der Lösung aus 5-Formyltetrahydrofolsäure in Natronlauge nur wenig Ethanol zu, wie es bei einer Umkristallisation üblich ist, so kristallisiert bei -20°C bevorzugt das (6*S,S*)-Isomere aus. Werden größere Mengen Ethanol verwendet, kommt es zu einer weniger starken Veränderung der Diastereomerenanteile. Die Anreicherung von (6*S,S*)-5-Formyltetrahydrofolsäure gegenüber dem Rohprodukt ist jedoch immer noch deutlich. Da die mit Ethanol/Ether aus dem Formylierungsansatz quantitativ isolierte 5-Formyltetrahydrofolsäure für die HPLC-Analytik sauber genug ist, kann auf die Reinigung durch Umkristallisation/Umfällung verzichtet werden. Diese Folgerung ergibt sich aus den Versuchen, die in Tabelle 2 zusammengefaßt sind.

Die Katalysen wurden stets unter den gleichen Bedingungen mit $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$ und $(-)\text{-BPPM}$ (**1**) auf Kieselgel als Katalysator durchgeführt. In den Spalten 2–6 von Tabelle 2 finden sich die Ergebnisse der Katalysen nach Aufarbeitung und Umkristallisation, wie bislang beschrieben. Die Diastereomerenüberschüsse in Spalte 2 reichen von 47.0 bis 73.8%. Die Analytik der Rohprodukte, das heißt der Katalyseansätze nach der Formylierung, aber vor der Umkristallisation, zeigt ein ganz anderes Bild (letzte Spalte). Alle *de*-Werte liegen zwischen 36.1 und 42.6% (Schwankungsbreite 6.5%).

Es wurde eine Versuchsreihe durchgeführt, in der unterschiedliche Mengen an Ethanol zur Umfällung verwendet wurden (Versuch 10 in Tabelle 2). Die Ergebnisse zeigen deutlich, daß die gewählte Menge Ethanol einen ganz entscheidenden Einfluß auf die anschließend gemessene Diastereoselektivität hat. Verwendet man wenig Ethanol (6–8 oder 10 cm^3), so reichert sich (6*S,S*)-Tetrahydrofolsäure stark an. Erst bei einem sehr großen Überschuß an Ethanol nähern sich die *de*-Werte

Tabelle 3. Diastereomerenüberschüsse bei der Hydrierung von Folsäure zu Tetrahydrofolsäure und deren anschließender Formylierung zu 5-Formyltetrahydrofolsäure mit den auf verschiedenen Kieselgelen heterogenisierten Katalysatoren $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2/(-)\text{-BPPM}(\mathbf{1})$ und $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2/(-)\text{-DIOP}(\mathbf{2})$

Nr.	Kieselgel	Korngröße des Kieselgels (μm)	$(-)\text{-BPPM}(\mathbf{1})$ <i>de</i> (S) [%]	$(-)\text{-DIOP}(\mathbf{2})$ <i>de</i> (S) [%]
1	LiChrosorb 100	10	39.3, 38.4	
2	LiChrosorb 60	10	39.7, 40.4	
3	Davisil 633	6	39.8, 42.0	
4	Davisil 643	15	40.3, 40.7	
5	Merck Si 60	63–200	39.4, 41.1	
6	Merck Si 60	63–100	40.5, 42.2	14.1, 15.2
7	Merck Si 60	<63	38.7, 39.3	14.0, 14.4
8	Merck Si 60	40–63	39.6, 41.0	14.3, 15.5
9	Merck Si 60	15–40	39.3, 40.3	14.8, 15.0

denen des Rohprodukts. In die gleiche Richtung gehen die Versuche 5–8, bei denen jeweils 6–8 bzw. 30 cm^3 Ethanol verwendet wurden.

Unterschiedliche Korngrößen und Korngrößenverteilungen des Trägermaterials Kieselgel beeinflussen die Anreicherung an (6*S,S*)-Tetrahydrofolsäure in der heterogenen Hydrierung von Folsäure [12]. Auf der Grundlage der hier mitgeteilten Standardreaktion mit verbesserter Aufarbeitung wurden diese Ergebnisse erneut überprüft. Es wurden je zwei Katalysen mit dem Cokatalysator $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$ und den Liganden $(-)\text{-BPPM}(\mathbf{1})$ und $(-)\text{-DIOP}(\mathbf{2})$ auf verschiedenen Kieselgelen durchgeführt (Tabelle 3). Es zeigt sich, daß die Diastereomerenüberschüsse für $(-)\text{-BPPM}$ ausnahmslos zwischen 38.4 und 42.2% liegen, unabhängig vom verwendeten Kieselgel. Auch die Diastereomerenüberschüsse für $(-)\text{-DIOP}$ schwanken nur geringfügig zwischen 14.0 und 15.5%. Das achirale Trägermaterial hat demnach keinen Einfluß auf die Stereoselektivität des heterogenen Katalysators.

Mit der verbesserten Standardreaktion wurde eine Reihe von Phosphanliganden in auf Kieselgel heterogenisierten Rhodiumkatalysatoren auf katalytische Aktivität und Selektivität überprüft (Tabelle 4). Zunächst wurde nur die Diastereoselektivität gemessen; mit Hilfe des Standards Methotrexat gelang die Entwicklung einer HPLC-Analytik zur Bestimmung des Umsatzes [15]. Auf einer HSA-Säule (HSA = *human serum albumin*) spalten (6*S,S*)-5-Formyltetrahydrofolsäure, das Edukt Folsäure, der Standard Methotrexat und (6*R,S*)-5-Formyltetrahydrofolsäure basisliniengetrengt auf, so daß der Umsatz nach Ermittlung der Korrelationsfaktoren [15] durch Integration bestimmt werden kann.

$(-)\text{-BPPM}$ und $(-)\text{-DIOP}$ ergeben bei fast vollständigem Umsatz die bereits erwähnten Diastereoselektivitäten von 40 bzw. 15% *de* (6*S,S*) (Tabelle 4, Nr. 1–4). Mit $(+)\text{-DIOP}$ nimmt der Diastereomerenüberschuß auf 10–12% (6*R,S*) ab (Nr. 5). Offenbar ist bei gegebener *L*-Glutaminsäure im Substrat $(-)\text{-DIOP}$ im Katalysator die *matched*-Kombination und $(+)\text{-DIOP}$ die *mismatched*-Kombination. Der Ligand HO-DIOP (**3**, [16], Schema 2) liefert quantitative Hydrierung mit 13.3 bzw. 14.5% *de* (6*S,S*) (Nr. 6). Der Ligand Triphenylphosphan ergibt bei rascher Hydrierung etwa

Tabelle 4. Umsätze und Diastereomenüberschüsse bei der Hydrierung von Folsäure zu Tetrahydrofolsäure und deren anschließender Formylierung zu 5-Formyltetrahydrofolsäure mit den auf Kieselgel heterogenisierten Katalysatoren aus $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$ und verschiedenen Phosphanliganden und mit den Komplexen **6** und *ent-6*

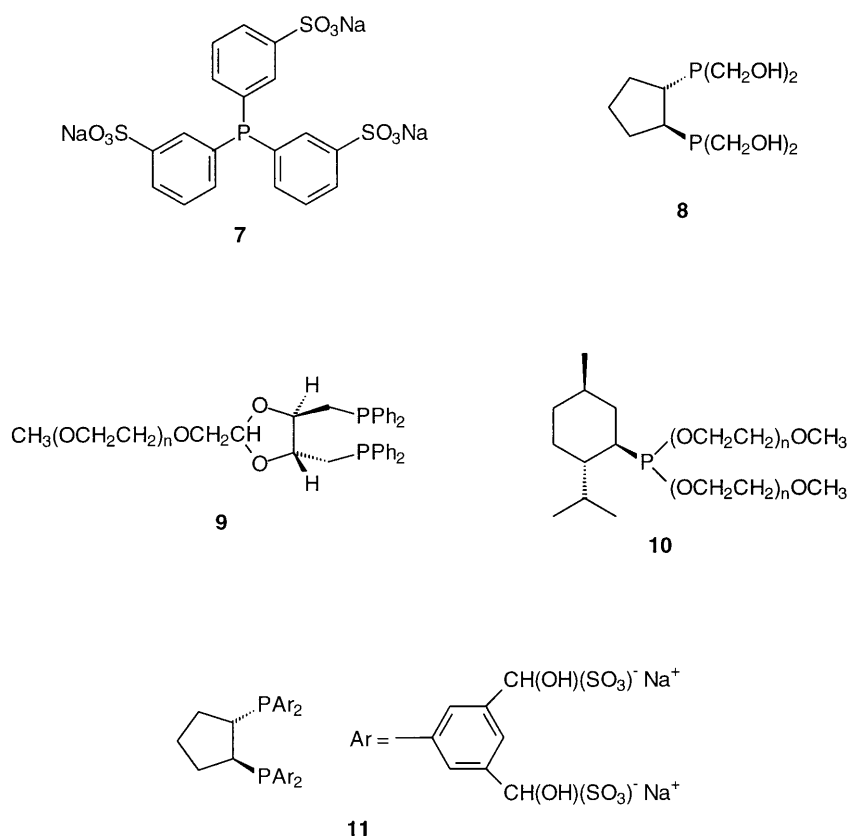
Nr.	Ligand	Umsatz (%)	<i>de</i> (%)	Anzahl Versuche
1	(-)- <i>BPPM</i> (1)	–	36.1–42.6 (<i>S</i>)	16
2	(-)- <i>BPPM</i> (1)	96, 98	39.8, 40.7 (<i>S</i>)	2
3	(-)- <i>DIOP</i> (2)	–	14.0–19.7 (<i>S</i>)	14
4	(-)- <i>DIOP</i> (2)	92–99	14.1–15.5 (<i>S</i>)	4
5	(+)- <i>DIOP</i>	95, 97	10.2, 12.3 (<i>R</i>)	2
6	HO- <i>DIOP</i> (3)	99, 100	13.3, 14.5 (<i>S</i>)	2
7	PPh_3	95–99	1.9–2.6 (<i>S</i>)	4
8	(-)- <i>DUPHOS</i> (4)	95, 96	9.6, 11.4 (<i>S</i>)	2
9	(+)- <i>DUPHOS</i>	94, 97	0.7, 1.2 (<i>R</i>)	2
10	<i>MenP</i> (CH_2OH) ₂ (5)	40, 42	23.1, 26.1 (<i>S</i>)	2
11	Komplex 6	93, 99	23.5, 26.4 (<i>S</i>)	2
12	Komplex <i>ent-6</i>	99, 100	4.7, 5.4 (<i>R</i>)	2

2% Diastereomenüberschuß (6*S,S*) (Nr. 7). Dieser Diastereomenüberschuß ist auf den Einfluß des *L*-Glutaminsäurerests im Substrat zurückzuführen. Ähnliche Ergebnisse wie mit den Enantiomeren von *DIOP* wurden mit den Enantiomeren von *DUPHOS* [17, 18] erhalten (Nr. 8, 9). Die *matched*-Kombination mit (-)-*DUPHOS* (**4**) ergab 10–11% *de* (6*S,S*), die *mismatched*-Kombination mit (+)-*DUPHOS* nur etwa 1% *de* (6*R,S*). Das Menthylphosphan **5** lieferte 23–26% *de* (6*S,S*), der Umsatz betrug jedoch nur etwa 40% (Nr. 10). Auch die enantiomeren Carborankomplexe [19] führen bei fast quantitativer Hydrierung zu einer *matched/mismatched*-Situation. Der (*S*)-Komplex **6** liefert 5% *de* (6*R,S*), der (*R*)-Komplex dagegen 23.5 bzw. 26.4% *de* (6*S,S*).

Homogene Hydrierung von Folsäure

1974 war in einer Kurzmitteilung über die homogene Hydrierung von Folsäure mit dem Katalysator $\text{Rh}(\text{py})_3\text{Cl}_3/(\text{+})\text{-N-1-Phenylethylformamid}/\text{NaBH}_4$ berichtet worden [20]. Als Analysenmethode war ein Bioassay mit *L. casei* eingesetzt worden. Die Arbeiten wurden später nicht wieder aufgegriffen; wir konnten die Ergebnisse nicht bestätigen. Im folgenden beschreiben wir unsere Versuche zur homogenen Hydrierung von Folsäure in wäßriger Lösung, da Folsäure in anderen Lösungsmitteln entweder unlöslich ist oder zerstört wird. Wir verwenden wasserlösliche optisch aktive Phosphanliganden, welche die zur Hydrierung eingesetzten Rhodiumkomplexe wasserlöslich machen [21, 22].

Zur Vorbereitung des Katalysators werden die Phosphanliganden **7–12** (Schema 3) im zur Hydrierung verwendeten Phosphatpuffer mit $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$ gerührt. Dabei bilden sich die in Wasser löslichen Komplexe $[\text{Rh}(\text{cod})(\text{Diphosphanligand})]\text{Cl}$ bzw. $[\text{Rh}(\text{cod})(\text{Monophosphanligand})_2]\text{Cl}$. Folsäure wird zu dieser homogenen Lösung hinzugefügt und mit NaOH in das lösliche Natriumsalz überführt. Anschließend



Schema 3

verfährt man wie bei der heterogenen Hydrierung der Folsäure. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Die Hydrierung von Folsäure mit homogenen Katalysatoren in wäßrigem Phosphatpuffer verläuft langsamer als mit den beschriebenen heterogenen Katalysatoren. Nach 24 h Reaktionszeit beträgt der Umsatz mit den Komplexen der Liganden **7** und **8** 90–95%, in allen anderen Fällen ist er wesentlich geringer.

In der homogenen Hydrierung von Folsäure erzielt man auch mit dem sulfonierten Triphenylphosphan-Liganden **7** eine geringe Anreicherung des (6*S*,*S*)-

Tabelle 5. Umsätze und Diastereomerenüberschüsse bei der Hydrierung von Folsäure zu Tetrahydrofolsäure und deren anschließender Formylierung zu 5-Formyltetrahydrofolsäure mit homogenen Katalysatoren in wäßriger Lösung

Nr.	Ligand	Umsatz (%)	de (<i>S</i>) (%)
1	TPPTS (7)	88, 90	0.6, 1.4
2	8	92, 95	9.5, 10.8
3	PEG-DIOP (9)	77, 79	8.0, 9.2
4	MenP(PEG) ₂ (10)	27, 31	35.7, 37.9
5	11	51, 62	9.8, 11.5

Isomeren, die auf den Einfluß des Glutaminsäurerests im Substrat zurückzuführen ist. Die Katalysatoren mit den Liganden **8** [23], **9** [24–26] und **11** [23] ergeben Diastereomerenüberschüsse von etwa 10% (6*S,S*). Im Liganden **11** wurden die Aldehydgruppen zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit durch Zugabe von Natriumbisulfit in die Sulfitaddukte überführt. Der in dieser Versuchsreihe mit 36–38% (6*S,S*)-Diastereomerenanreicherung erfolgreichste Katalysator enthält den Methylphosphan-Liganden **10**, der seine Wasserlöslichkeit den beiden Polyethersubstituenten verdankt.

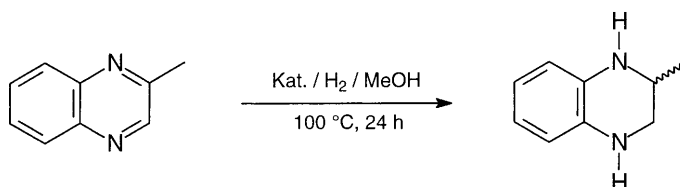
Hydrierung von 2-Methylchinoxalin

2-Methylchinoxalin kann als Modell für Folsäure angesehen werden. Der Pyrazinring des Moleküls enthält die gleichen Iminfunktionen, die bei der Folsäure-Hydrierung reduziert werden. Anstelle des Restes aus Methylene-*p*-aminobenzoessäure und Glutaminsäure am prostereogenen C6 der Folsäure befindet sich in 2-Methylchinoxalin lediglich eine Methylgruppe.

Racemisches 2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin kann aus 2-Methylchinoxalin durch Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle [27], durch NaBH₄-Reduktion in Gegenwart von NiCl₂ [28] und durch elektrochemische Reduktion [29] erhalten werden (Schema 4). Die stereoselektive organische Synthese ist aufwendig und bringt nur geringe Ausbeuten [30]. Erste stereoselektive Katalysen führten *Muturu et al.* durch [31]. Wesentlich bessere Ergebnisse erzielten *Graziani et al.* [32].

Für die Hydrierung von 2-Methylchinoxalin stellt man den *in situ*-Katalysator her, indem man [Rh(*cod*)Cl]₂ und Diphosphanligand im Verhältnis 1:2 bzw. [Rh(*cod*)Cl]₂ und Monophosphanligand im Verhältnis 1:4 bei Raumtemperatur in Methanol rührt. Zur homogenen Lösung wird 2-Methylchinoxalin zugefügt. Die Hydrierung wird im Autoklaven bei 5 bar Wasserstoffdruck und 100°C in 24 Stunden durchgeführt. Nach Einengen auf etwa 1 cm³ wird die Lösung über Kieselgel chromatographiert, um den Katalysator abzutrennen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird das Produkt analysiert.

Bei der homogenen Hydrierung von 2-Methylchinoxalin wurden einige der Katalysatoren eingesetzt, die auch bei der Hydrierung von Folsäure verwendet worden waren. Die Katalysen verlaufen in den meisten Fällen mit Umsätzen von über 85%. Lediglich der Katalysator mit Ligand **5** bildet mit etwa 60% Umsatz eine Ausnahme. Der Rhodium-Katalysator mit Ligand **2** ergibt 7–8% *ee* (*S*)-Enantiomer. Die Enantiomerenüberschüsse mit allen anderen Katalysatorsystemen sind noch kleiner.



Schema 4

Experimentelles

Alle Arbeiten im Zusammenhang mit Ligandensynthesen und Katalysen wurden mit getrockneten Lösungsmitteln unter gereinigtem Stickstoff durchgeführt. Drehwerte: Perkin-Elmer Polarimeter 241; $^1\text{H-NMR}$ -Spektren: Bruker ARX-400 (TMS , H_3PO_4 (85%)); MS: Finnigan MAT 95. Die verwendeten bekannten Liganden wurden nach den zitierten Literaturvorschriften synthetisiert.

(1R,3R,4S)-(-)-*Di(hydroxymethyl)menthylphosphan* (**5**; $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{P}$)

411.4 mg (2.39 mmol) (-)-Menthylphosphan [33] und 139.4 mg (4.60 mmol) Paraformaldehyd werden auf 90°C erhitzt, bis sich der Paraformaldehyd vollständig gelöst hat. Nach dem Erkalten erhält man ein farbloses, viskoses Öl.

Ausbeute: 510 mg (95%); $[\alpha]_{\lambda}^{20}$ ($c = 0.95$, EtOH): -35.2° (589 nm), -14.6° (546 nm); $^1\text{H-NMR}$ (C_6D_6 , 400 MHz): $\delta = 0.60\text{--}1.20$ (m, 12H), 1.04–1.94 (m, 2H), 1.57–1.78 (m, 2H), 2.03–2.18 (m, 1H), 2.20–2.45 (m, 1H), 4.00–4.42 (m, 4H), 4.65–4.80 (m, 1H) ppm; $^{31}\text{P-NMR}$ (C_6D_6 , 162 MHz): $\delta = -12.4$ (s) ppm; MS (FD, Toluol): 232.2 (M^+).

(1R,3R,4S)-(-)-*Di[ω -methoxypoly(ethylenoxy)menthylphosphan* (**10**)

404.8 mg (4.0 mmol) Triethylamin und 8.0 g (4.0 mmol) Polyethylenglykol-2000-monomethylether (Fluka 81321) werden in 40 cm^3 CH_2Cl_2 gelöst. Man tropft langsam 482.2 mg (2.0 mmol) (-)-Dichlormenthylphosphan [34] zu und rührt 90 min bei Raumtemperatur. Das Rohprodukt wird aus Benzol umkristallisiert.

Ausbeute: 3.5 g (45%); Fp.: 52°C ; $[\alpha]_{\lambda}^{20}$ ($c = 2.15$, CH_2Cl_2): -15.1° (589 nm), -17.0° (546 nm); $^1\text{H-NMR}$ (C_6D_6 , 400 MHz): $\delta = 0.58\text{--}1.07$ (m, 12H), 1.41–1.87 (m, 4H), 2.31–2.50 (m, 1H), 3.10 (s, 6H), 3.20–3.57 (m), 3.59–3.68 (m, 1H), 3.86–4.05 (m, 1H) ppm; $^{31}\text{P-NMR}$ (C_6D_6 , 162 MHz): $\delta = -41.3$ (s) ppm.

Heterogene Hydrierung von Folsäure und Formylierung von 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure

Die festen Katalysator-Edukte (6.9 mg, 0.014 mmol) $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$, 0.033 mmol Diphosphan- bzw. 0.066 mmol Monophosphanligand und 700 mg Trägermaterial) werden in einem Autoklaveneinsatz mit Hahnaufsatz vorgelegt. Nach Zugabe von 10 cm^3 CH_2Cl_2 bildet sich ein gelber Komplex, der innerhalb von Minuten unter Entfärben der Lösung auf das Trägermaterial aufzieht. Nach 15 min Rühren wird das Lösungsmittel vorsichtig entfernt und der Rückstand getrocknet.

250 mg (0.566 mmol) Folsäure (Fluka 47620) werden in 25 cm^3 Phosphatpuffer ($c = 0.067\text{ M}$, $\text{pH} = 7.0$, erhalten durch Mischen von 0.067 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 0.067 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) suspendiert. Durch Zugabe eines halben NaOH-Plätzchens löst man die Folsäure und überführt die Lösung in den Autoklaveneinsatz. Zuleitung und Autoklav (100-cm^3 -Laborautoklav Roth) werden dreimal mit Wasserstoff gespült. Die Hydrierung wird bei 50 bar Wasserstoffdruck und 80°C unter Rühren in 24 h durchgeführt.

Nach dem Abkühlen wird der Autoklav unter Schutzgas geöffnet. Der Katalysator wird über eine G3-Fritte abfiltriert und mit 3.0 cm^3 Phosphatpuffer gewaschen. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel unter Lichtausschluß im Vakuum bei maximal 80°C .

Der braungelbe Rückstand wird unter Lichtausschluß in 8 cm^3 DMSO , 2 cm^3 Pyridin und 6.5 cm^3 Methylformiat suspendiert und durch Zugabe von 2.5 cm^3 konzentrierter Ameisensäure gelöst. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur versetzt man die Lösung mit 10 cm^3 Ethanol und filtriert über eine G3-Fritte. Dem Filtrat werden auf einmal $100\text{--}150\text{ cm}^3$ Ether zugefügt. Der entstandene voluminöse Niederschlag wird über eine G3-Fritte abfiltriert und dreimal gründlich mit je 10 cm^3 Ether gewaschen. Anschließend trocknet man das blaßgelbe Produkt mindestens 5 h bei 130°C im Ölpumpenvakuum.

Homogene Hydrierung von Folsäure

6.9 mg (0.014 mmol) $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$ und 0.033 mmol eines wasserlöslichen Diphosphan- bzw. 0.066 mmol eines wasserlöslichen Monophosphanliganden werden in einem Autoklaveneinsatz mit Hahnaufsatz vorgelegt und mit Stickstoff gesättigt. Bei Zugabe von 5 cm³ Phosphatpuffer und 45 min Rühren entsteht der lösliche, katalytisch aktive Komplex.

250 mg (0.566 mmol) Folsäure (Fluka 47620) werden in 20 cm³ Phosphatpuffer ($c = 0.067 \text{ M}$, $\text{pH} = 7.0$, erhalten durch Mischen von 0.067 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 0.067 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) suspendiert und durch Zugabe von NaOH gelöst. Das weitere Vorgehen geschieht analog zur heterogenen Hydrierung.

Nach dem Abkühlen wird der Autoklav unter Schutzgas geöffnet. Ausgefällene Feststoffe werden über ein RC 60-Membranfilter abfiltriert. Weitere Aufarbeitung und Formylierung werden wie beschrieben durchgeführt.

HPLC-Analytik Folsäure/(6S,S)- und (6R,S)-5-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure

Zum Schutz der Trennsäule (ChromTech HSA 100.4, 100×4 mm) wird eine Vorsäule (ChromTech HSA 10.3, 10×3 mm) vorgeschaltet. Als Eluens dient 0.1 M Phosphatpuffer ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ $\text{pH} = 7.0$, 0.6% *i*-Propanol). Der Puffer und die vorbereiteten Proben werden über ein Membranfilter filtriert. Als interner Standard dient Methotrexat. Zur Messung werden je 5 mm³ auf die Säule aufgetragen. Bei einem Fluß von 0.8 cm³/min beträgt der Druck 120 bis 130 bar. Die UV-Detektion wird bei 285 nm durchgeführt. Retentionszeiten: (6S,S)-5-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure 3.0 min, Folsäure 7.0 min, Methotrexat 9.5 min, (6R,S)-5-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure 25.9 min.

Homogene Hydrierung von 2-Methylchinoxalin

In einem Autoklaveneinsatz mit Hahnaufsatz werden 4.0 mg (0.01 mmol) $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$ und 0.02 mmol Diphosphan- bzw. 0.04 mmol Monophosphanligand unter Stickstoffschutz mit 20 cm³ MeOH versetzt. Während 20 bis 30 min Rühren bildet sich der katalytisch aktive Komplex. Anschließend fügt man 258 mm³ (2.0 mmol, 288.4 mg) frisch destilliertes 2-Methylchinoxalin (Fluka 66220) zu. Zuleitung und Autoklav werden dreimal mit Wasserstoff gespült und dann unter 5 bar Wasserstoffdruck gesetzt. Die Hydrierung wird bei 100°C und einer Rührergeschwindigkeit von 900 Umdrehungen/min durchgeführt und nach 24 h abgebrochen.

Nach dem Abkühlen des Autoklaven auf Raumtemperatur wird der Katalyseansatz entnommen und das Lösungsmittel im Vakuum bis auf ca. 1 cm³ entfernt. Anschließend chromatographiert man über Kieselgel mit *n*-Hexan:*i*-PrOH: $\text{NEt}_3 = 60:39:1$, um den Katalysator abzutrennen, und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Die Proben werden ohne weitere Reinigung in die HPLC-Analytik eingesetzt.

HPLC-Analytik 2-Methylchinoxalin/(R)- und (S)-2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin

Für die HPLC-Analytik von 2-Methylchinoxalin/(R)- und (S)-2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin wird die Trennsäule Chiralcel OD-H (250×4.6 mm, Daicel) mit Vorsäule (Chiralcel OD 50×4.6 mm, Daicel) verwendet. Als Eluens dient eine Mischung aus *n*-Hexan, *i*-Propanol und Diethylamin (60:40:0.1). Die UV-Detektion wird bei 228 nm durchgeführt. Bei einem Fluß von 0.5 cm³/min beträgt der Druck etwa 50 bar. Die Proben werden im Elutionsmittel gelöst, mit einer genau gewogenen Menge 1-Naphthylamin als internem Standard vermischt und über ein Membranfilter filtriert. Es werden jeweils 5 mm³ auf die Säule aufgetragen. Retentionszeiten: 2-Methylchinoxalin 12.6 min, (R)-(+)-2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin 20.7 min, (S)-(–)-2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin 23.9 min, 1-Naphthylamin 32.9 min.

Dank

Dem Bayerischen Forschungsverbund Katalyse (FORKAT II) danken wir für finanzielle Unterstützung.

Literatur

- [1] 134. Mitt.: Brunner H, Schmidt P (2000) *Z Naturforsch* **55b**: 369
- [2] Ball GFM (1994) In: *Water-soluble Vitamin Assays in Human Nutrition*. Chapman & Hall, London
- [3] Friedrich W (1987) In: *Handbuch der Vitamine*. Urban & Schwarzenberg, München, S 468
- [4] White JC (1970) *J Biol Chem* **254**: 10889
- [5] O'Dell BL, Vandenberg JM, Bloom ES, Pfiffner JJ (1947) *J Am Chem Soc* **69**: 250
- [6] Bobst A, Viscontini M (1966) *Helv Chim Acta* **49**: 875
- [7] Forsch RA, Rosoqsky A (1986) *J Org Chem* **50**: 2582
- [8] Rees L, Suckling CJ, Wood HCS (1987) *J Chem Soc Chem Commun* 470
- [9] Sirotnak FM, Chello PL, Moccio DM, Kisliuk RL, Combepine G, Gaumont Y, Montgomery JA (1979) *Biochem Pharmacol* **28**: 2993
- [10] Müller HR, Ulmann M, Conti J, Mürdel G (1989) EP-A1 367902, EP-A2 367902
- [11] Brunner H, Huber C (1992) *Chem Ber* **125**: 2085
- [12] Brunner H, Bublak P, Helget M (1997) *Chem Ber/Receuil* **130**: 55
- [13] Achiwa K (1976) *J Am Chem Soc* **98**: 8265
- [14] Kagan HB, Dang TP (1972) *J Am Chem Soc* **94**: 6429
- [15] Rosenboem S (2000) Dissertation, Universität Regensburg
- [16] Holz J, Börner A, Kless A, Borns S, Trinkhaus S (1995) *Tetrahedron Asymm* **6**: 1973
- [17] Burk MJ (1991) *J Am Chem Soc* **113**: 8518
- [18] Burk MJ, Feaster JE, Nugent WA, Harlow RL (1993) *J Am Chem Soc* **115**: 10125
- [19] Brunner H, Apfelbacher A, Zabel M (2000) *Eur J Inorg Chem* (im Druck)
- [20] Boyle PH, Keating MT (1974) *J Chem Soc Chem Commun* 375
- [21] Herrmann WA, Kohlpaintner CW (1993) *Angew Chem* **105**: 1588; *Angew Chem Int Ed Engl* **32**: 1524
- [22] Cornils B, Herrmann WA (Hrsg) (1998) *Aqueous-Phase Organometallic Catalysis*. Wiley-VCH, Weinheim
- [23] Brunner H, Stefaniak S, Zabel M (1999) *Synthesis* 1776
- [24] Amrani Y, Sinou D (1984) *J Mol Catal* **24**: 231
- [25] Amrani Y, Lafont D, Sinou D (1985) *J Mol Catal* **32**: 333
- [26] Amrani Y, Lafont D, Sinou D (1986) *J Mol Catal* **36**: 319
- [27] Maffei S, Pietra S (1958) *Gazz Chim Ital* **88**: 556
- [28] Nose A, Kudo T (1984) *Chem Pharm Bull* **32**: 2421
- [29] Pinson J, Armand J (1971) *Collect Czech Chem Commun* **36**: 585
- [30] Fisher GH, Whitman PJ, Schultz HP (1970) *J Org Chem* **35**: 2240
- [31] Murata S, Sugimoto S, Matsuura S (1987) *Heterocycles* **26**: 763
- [32] Bianchini C, Barbaro P, Scapacci G, Farnetti E, Graziani M (1998) *Organometallics* **17**: 3308
- [33] Marinetti A, Buzin F-X, Ricard L (1997) *Tetrahedron* **53**: 4363
- [34] Brandes H, Goddard R, Jolly PW, Krüger C, Mynott R, Wilke G (1984) *Z Naturforsch* **39B**: 1139

Received August 2, 2000. Accepted August 14, 2000