

244. Zur Kenntnis von Rifamycin-S. Reaktionen des chinoiden Nucleus

Modifikationen von Antibiotica, 9. Mitteilung [1]

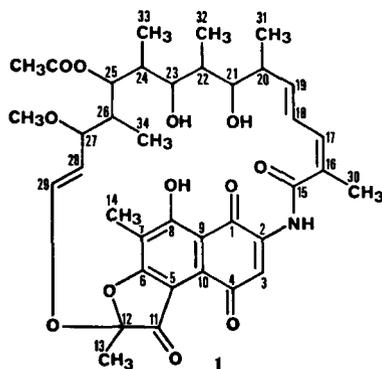
von **Wilhelm Kump** und **Hans Bickel**

Departement Forschung, Division Pharma, Ciba-Geigy AG, Basel

(6. VIII. 73)

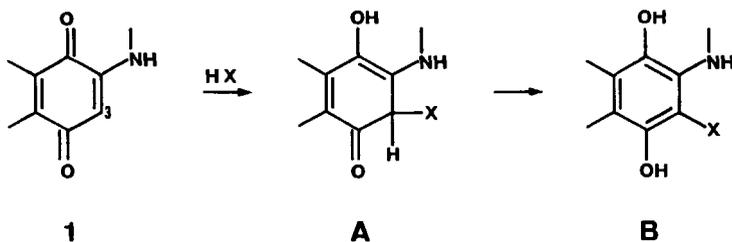
Summary. The reactivity of rifamycin-S (**1**) with respect to nucleophilic reagents has been studied. Several new classes of derivatives, some of which show interesting biological activities, are described.

In der vorangehenden Mitteilung [1] beschrieben wir vorwiegend Reaktionen des Ansaringes der Rifamycine. In dieser Mitteilung behandeln wir Additions- und Kondensationsreaktionen, die das Naphthochinonsystem des Rifamycin-S (**1**) mit nucleophilen Reagenzien eingeht.



Die 3-Stellung, die als einzige im chinoiden Nucleus von **1** unsubstituiert vorliegt, ist in den meisten Fällen primärer Angriffspunkt des Nucleophils HX (Schema 1).

Schema 1



Die Addition des Nucleophils führt – vermutlich über ein instabiles Dienon **A** – zum 3-substituierten Hydrochinon **B**. Wegen der gleichzeitigen Anwesenheit des chinoiden Ausgangsmaterials kommt es dabei oft zu Redoxreaktionen mit dem hy-

drochinoiden Produkt, so dass insgesamt Gemische entstehen, die 3-substituiertes Rifamycin-SV (Produkt **B**), 3-substituiertes Rifamycin-S (oxydiertes Produkt **B**) sowie Rifamycin-SV (reduziertes Ausgangsmaterial **1**) enthalten. Nach Überführen des Reaktionsgemisches in einen einheitlichen Oxydationszustand durch Reduktion mit Ascorbinsäure oder Oxydation mit Kaliumferricyanid lassen sich die Produkte meist ohne Schwierigkeiten in reiner Form isolieren.

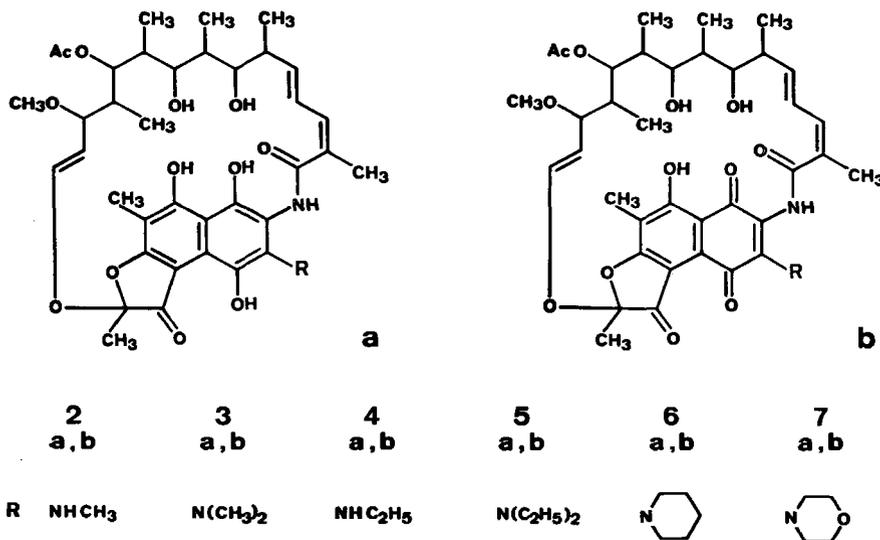
Interessanterweise kann die 3-Stellung im Chinon, offenbar wegen der Anwesenheit des Amidstickstoffes in Stellung 2, auch Angriffspunkt elektrophiler Reagenzien sein. Dies zeigen die von *Sensi et al.* [2] eingehend untersuchten *Mannich*-Reaktionen, die **1** mit Formaldehyd und Aminen eingeht¹⁾.

Als Nucleophile verwendeten wir Ammoniak, aliphatische Amine, aromatische Amine, *o*-Diamine und *o*-Hydroxyamine sowie Enamine und auch einige C-Nucleophile. S-Nucleophile haben sich in unseren Versuchen meistens als zu starke Reduktionsmittel erwiesen, als dass sie erfolgreiche Additionen an das Chinonsystem erlaubt hätten. Einige Additionsprodukte von **1** mit Thiolen sind hingegen von *Maggi et al.* [3] beschrieben worden.

1. Reaktionen von Rifamycin-S mit aliphatischen Aminen. – Durch direkte Einwirkung von primären oder sekundären aliphatischen Aminen auf festes oder gelöstes Rifamycin-S (**1**) entstehen N-substituierte 3-Aminorifamycine. Man erhält beispielsweise **2–7** durch Stehenlassen von **1** in Methylamin/Dioxan, Dimethylamin/Dioxan, Äthylamin/Dioxan, Diäthylamin, Piperidin oder Morpholin bei Raumtemperatur (Schema 2).

Nach Oxydation mit Kaliumferricyanid wurden die Reaktionsprodukte in Form der rot bis schwarzviolett gefärbten Chinone **b** isoliert, aus denen sich die gelbgefärb-

Schema 2



¹⁾ Eigene Versuche zeigten, dass lediglich das chinoide Rifamycin-S *Mannich*-Kondensationen eingeht, während das hydrochinoide Rifamycin-SV unter diesen Bedingungen nicht reagiert.

ten Hydrochinone **a** durch Reduktion mit Ascorbinsäure darstellen lassen. Die Struktur dieser Verbindungen lässt sich aus der Elementaranalyse (Eintritt einer Aminmolekel in das Rifamycin), aus dem charakteristischen UV.-Spektrum (bathochrom verschobene Absorption des Rifamycin-Chromophors, vgl. Fig. 1) und aus dem NMR.-Spektrum (Rifamycinstruktur erhalten, jedoch kein H(3)-Signal) ableiten.

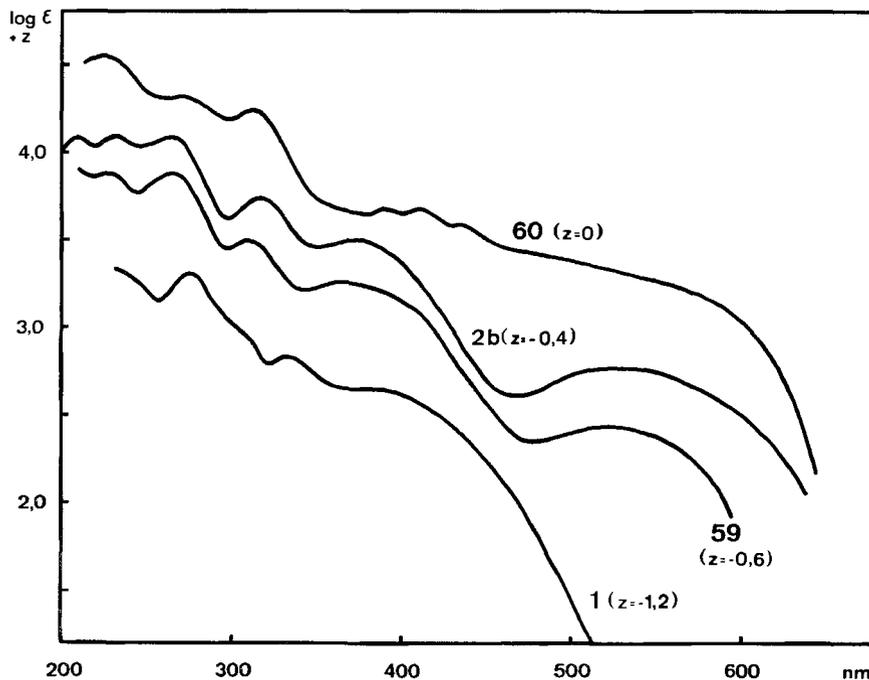


Fig. 1. UV.-Spektren in Äthanol

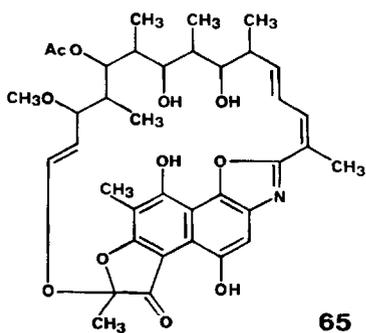
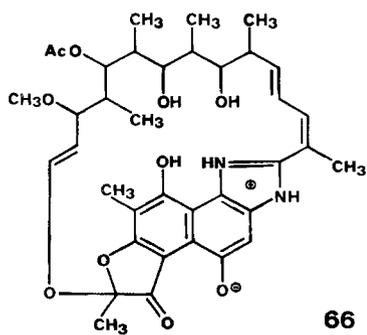
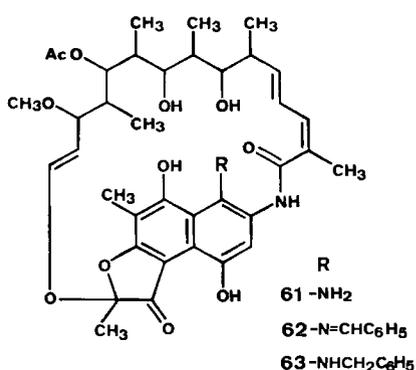
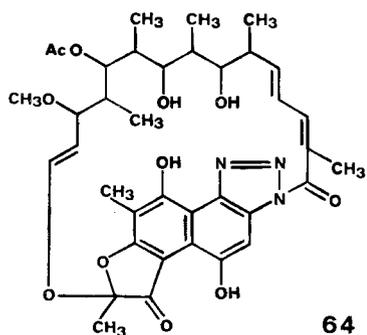
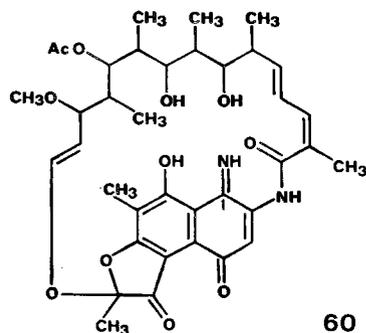
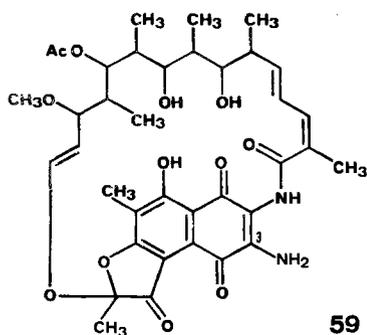
Die N-substituierten 3-Aminorifamycine entstehen meist in guter Ausbeute. Eine Ausnahme bilden die mit primären Aminen hergestellten Derivate, deren Hydrochinone zudem sehr sauerstoffempfindlich sind. Schlechter verläuft die Additionsreaktion, wenn es sich bei dem zu addierenden Amin um ein α -substituiertes Azacycloalkan oder ein langkettiges bzw. verzweigtes Dialkylamin handelt. Beispielsweise reagiert **1** mit 2-Methylpiperidin erst bei längerem Erhitzen, wobei sich zwar eine geringe Menge an 3-(2-Methylpiperidino)-rifamycin-S (Verbindung **24**, Tab. 1, exper. Teil) bildet, die Hauptmenge des eingesetzten **1** jedoch unverändert bleibt oder zu dem mit **1** isomeren 25-O-Desacetyl-21-O-acetyl-rifamycin-S umgeestert [1] wird.

Da die N-substituierten 3-Aminorifamycine interessante antibakterielle und pharmakologische Eigenschaften aufweisen [4] [5], haben wir eine Anzahl solcher Derivate für die biologische Wertermittlung dargestellt. Diese Verbindungen sind den genannten Prototypen **2–7** ähnlich. Wir beschränken uns deshalb auf eine summarische Beschreibung ihrer Darstellung und Eigenschaften (Verbindungen **8–58**, Tab. 1, exper. Teil). Im allgemeinen lassen sich die N-substituierten 3-Aminoderivate in ähnlicher Weise modifizieren, wie dies mit **1** in der vorangehenden Mitteilung [1]

gezeigt wird. Anders als **1** verhalten sie sich bei der Alkalisplaltung der Amidbindung, wo sie sich als erstaunlich resistent erweisen.

2. Reaktionen von Rifamycin-S mit Ammoniak. – In Dioxanlösung entsteht aus **1** mit Ammoniak ein komplexes Gemisch mehrerer Substanzen, aus dem sich chromatographisch in geringer Ausbeute ein chinoides Produkt **59** (Smp. 172°) in nahezu schwarzen Kristallen isolieren lässt. Dieses zeigt sehr ähnliche spektrosko-

Schema 3



pische Eigenschaften wie die beschriebenen N-substituierten 3-Aminorifamycin-chinone (Fig. 1). Wir glauben deshalb **59** als deren Grundkörper auffassen zu müssen (Schema 3). Anders verläuft die Reaktion von **1** mit flüssigem Ammoniak. Nach mehrstündiger Reaktion entsteht fast quantitativ 1-Desoxy-1-imino-rifamycin-S (**60**) (Smp. 185°, Zers.) als blauschwarze (Fig. 1), kristalline Verbindung, die sich mit Ascorbinsäure zum gelben 1-Desoxy-1-amino-rifamycin-SV (**61**) (Smp. 216°, Zers.; $M^+ = 696$) reduzieren lässt.

Die Aminogruppe lässt sich chemisch nachweisen durch Umwandlung von **61** in die rot-orange Benzalaminoverbindung **62**. **62** wird durch Natriumborhydrid zur hellgelben Benzylaminoverbindung **63** (Smp. 170°) reduziert, die das gleiche Chromophor wie **61** aufweist. **63** kann mit Kaliumferricyanid – wahrscheinlich über ein primär entstehendes Chinonimin – zur Benzalverbindung **62** zurückoxydiert werden. Im Gegensatz zu **59** zeigt **61** ein NMR.-Signal für H(3) ($\delta = 6,88$ ppm). Die Stellung der Aminogruppe ergibt sich aus folgenden Experimenten: **61** liefert ein gelbes, kristallines Diazotierungsprodukt **64** (Smp. 163°), das sich vom bereits bekannten 4-Desoxy-4-diazo-rifamycin-S [6] unterscheidet²⁾. Wir fassen **64** als Triazolderivat auf (Schema 3). Diese Struktur erklärt das Fehlen einer für chinoide Diazoketone typischen IR.-Absorption bei 2100 cm^{-1} [6] [7], ferner die Nichtoxydierbarkeit der Verbindung, ihr Molekulargewicht ($M^+ = 707$) und vor allem ihr NMR.-Spektrum, das bei tiefem Feld nur zwei austauschbare Protonen (kein NH!) und für die H(30) ein gegenüber der üblichen Lage ($\delta \sim 2$ ppm) verschobenes Signal bei $\delta = 2,4$ ppm zeigt.

Diese Strukturzuordnung wird ferner gestützt durch die Analyse einer Verbindung **65** (Smp. 170°), die bereits aufgrund ihres charakteristischen UV.-Spektrums

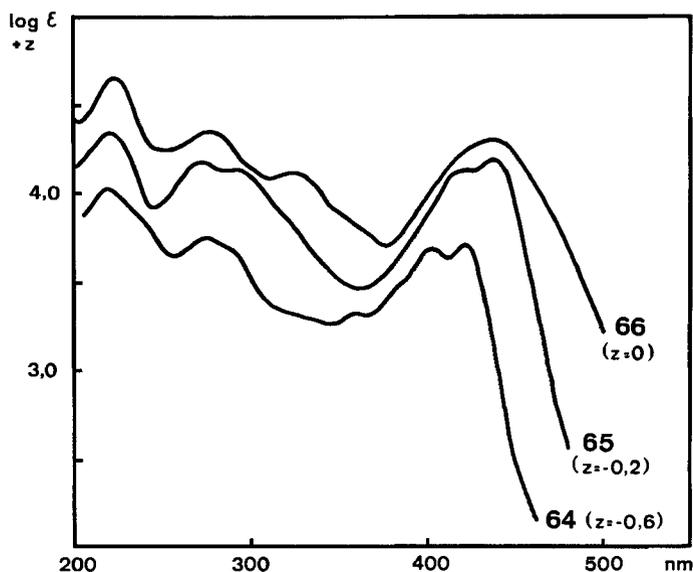


Fig. 2. UV.-Spektren in Äthanol (**64**, **66**) und in 0,01 *n* alkoholischer HCl (**65**)

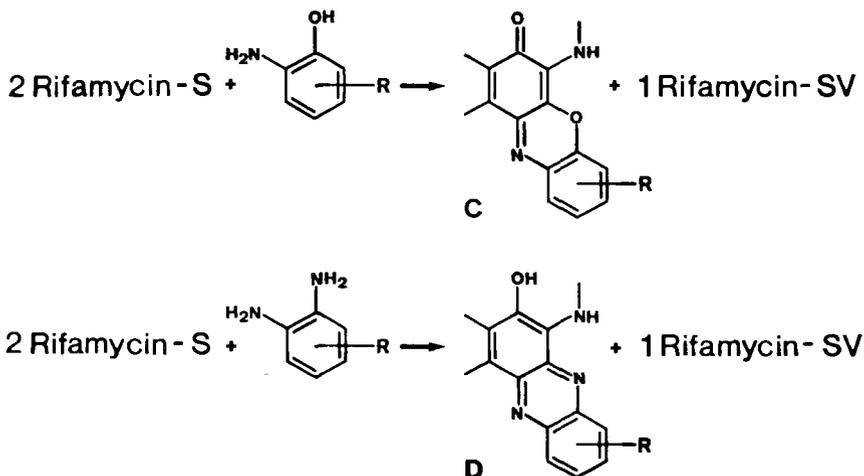
²⁾ Wir danken Herrn Prof. P. Sensi, Mailand, für eine Vergleichsprobe.

mit **64** nahe verwandt erscheint (Fig. 2). Man erhält **65** bei der Reaktion von **1** mit Triphenylphosphin in siedendem Toluol. **65** unterscheidet sich von Rifamycin-SV durch den Mindergehalt von 18 Masseneinheiten ($M^+ = 679$). Im NMR. sind bei tiefem Feld ebenfalls nur 2 austauschbare Protonen, sonst jedoch alle typischen Rifamycinsignale nachweisbar. Das Signal der in der Nachbarschaft der Amidgruppe stehenden H(30) ist wie bei **64** nach tieferem Feld ($\delta = 2,26$ ppm) verschoben. Auch **65** lässt sich auf übliche Weise weder oxydieren noch reduzieren. Diese Befunde sprechen für die angegebene Oxazolstruktur.

Schliesslich sei noch auf eine weitere mit **64** spektroskopisch verwandte Verbindung **66** (Smp. 279°) (Fig. 2) hingewiesen, die wir aufgrund ähnlicher Argumente als Imidazolderivat formulieren. **66** entsteht in mässiger Ausbeute beim Kochen von 1-Desoxo-1-imino-rifamycin-S (**60**) mit Zitronensäure in Methanol. Die Verbindung unterscheidet sich vom Ausgangsmaterial **60** durch den Mindergehalt eines Sauerstoffatoms ($M^+ = 678$), zeigt wie **64** und **65** das charakteristisch verschobene H(30)-Signal ($\delta = 2,29$ ppm) und ist auf übliche Weise weder oxydierbar noch reduzierbar. Aufgrund des Molgewichtes könnte man **66** als Dehydratisierungsprodukt von **61** auffassen. **61** ist allerdings in zitronensäurehaltigem Methanol stabil. Bei der Darstellung aus **60** entsteht wahrscheinlich durch Wasserabspaltung primär ein chinoides Imidazolderivat, das sich durch Redoxprozesse mit andern Reaktionsteilnehmern zum hydrochinoiden Zwitterion **66** stabilisiert. Im Gegensatz zu **61** sind **64**, **65** und **66** antibakteriell unwirksam.

3. Reaktionen von Rifamycin S mit aromatischen o-Hydroxyaminen und o-Diaminen. – *o*-Aminophenole oder *o*-Phenylendiamine reagieren mit **1** zu Phe-

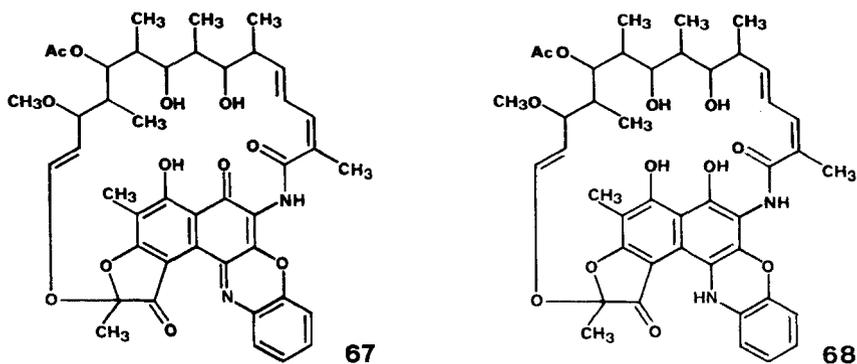
Schema 4



noxazin- oder Phenazin-Derivaten (Schema 4). Das bei der Reaktion primär entstehende hydrochinoides Produkt wird vom chinoiden Ausgangsmaterial laufend oxydiert, so dass gegebenenfalls aus 2 mol **1** und 1 mol Reagens je 1 mol chinoides Phenoxazinderivat **C** resp. Phenazinderivat **D** und 1 mol Rifamycin-SV anfallen können.

Der Grundkörper der Rifamycin-Phenoxazine **67** (Schema 5) bildet sich sehr langsam (2–3 Wochen) beim Stehenlassen äquivalenter Mengen von **1** und *o*-Aminophenol in Benzol. Die zunächst gelbe Lösung färbt sich nach einiger Zeit rot, und aus dem Reaktionsgemisch können dann durch einfache Verteilungsoperationen etwa gleiche Mengen an **67** und an Rifamycin-SV isoliert werden. Schneller und in besserer Ausbeute verläuft die Reaktion, falls sie präparativ in zwei Stufen ausgeführt wird (s. u.). **67** kann mit Ascorbinsäure zum Hydrochinon **68** reduziert werden, das in schwarzen Kristallen (Smp. 180°, Zers.) erhalten wird und das bei der Oxydation mit $K_3Fe(CN)_6$ **67** zurückliefert.

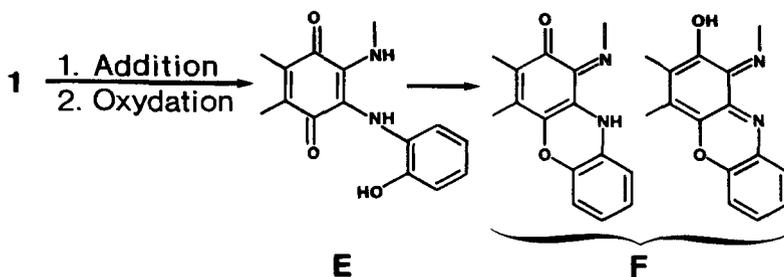
Schema 5



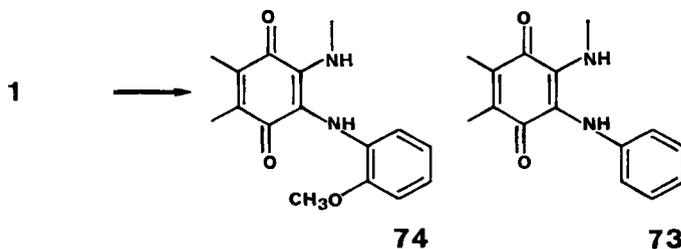
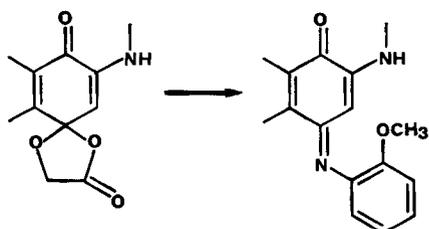
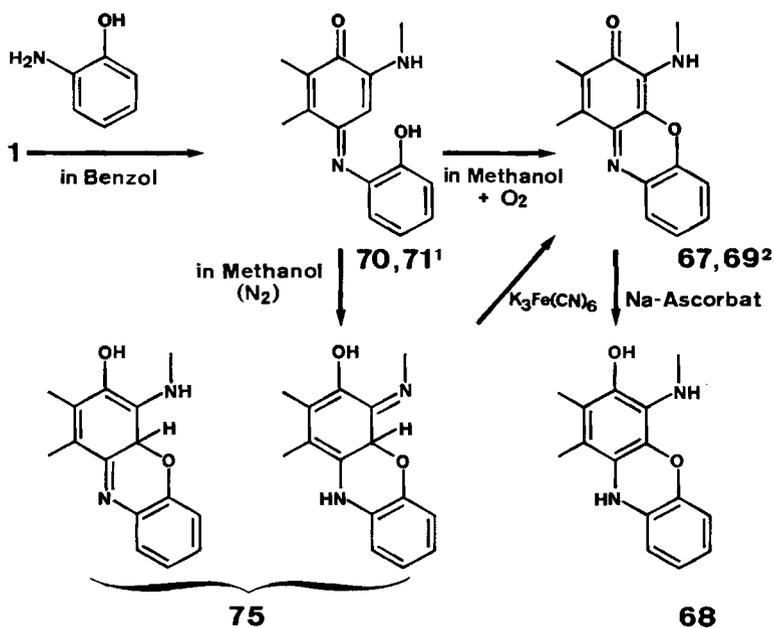
Die angegebene Struktur des chromatographisch einheitlichen, jedoch amorphen **67** steht im Einklang mit der massenspektroskopisch bestätigten ($M^+ = 784$) Summenformel und den spektroskopischen Daten.

Das NMR. zeigt im Bereich von 7,0–8,4 ppm neben einem austauschbaren Proton (NH) lediglich 4 aromatische Protonen, die dem addierten Phenylenkern zuzuschreiben sind. Somit fehlt das üblicherweise in diesem Bereich auftretende H(3). Besonders deutlich zeigt sich dies im NMR. des auf analoge Weise aus 16,17,18,19-Tetrahydorrifamycin-S dargestellten Derivates **69** ($M^+ = 788$; Smp. 260°, Zers.). Die Beteiligung des Rifamycinchromophors an der Additionsreaktion mit *o*-Aminophenol ergibt sich im übrigen auch aus der deutlichen Farbverschiebung bei der Bildung von **67** (Fig. 3).

Schema 6



Schema 7



1) 71 = 16,17,18,19-Tetrahydroderivat von 70

2) 69 = 16,17,18,19-Tetrahydroderivat von 67

Aufgrund dieser Befunde können jedoch die mit **67** isomeren Strukturen **F** (Schema 6) nicht von vornherein ausgeschlossen werden, umso mehr als die bereits gezeigten Beispiele (Schema 3) eine Addition der Aminogruppe an die 3-Stellung (Formel **E**) von Rifamycin-S plausibel erscheinen lassen.

Eine eindeutige Strukturzuordnung ergibt sich bei der genaueren Untersuchung der Bildungsweise von **67** bzw. **69** (Schema 7). Bei Raumtemperatur bildet sich vorerst in Benzol die dunkel violettrote Verbindung **70**, die chromatographisch einheitlich gefasst werden kann und die sich beim weiteren Stehenlassen in Benzol nur sehr langsam in **67** umwandelt. Entsprechend entsteht aus 16,17,18,19-Tetrahydrorifamycin-S vorerst die Verbindung **71** (Smp. 161°). Wesentlich rascher als in Benzol erfolgt der Übergang **70** → **67**, bzw. **71** → **69** in Methanol unter Luftzutritt. Die Strukturen von **70** und **71** basieren auf spektroskopischen Befunden. Aus dem NMR. ist die Anwesenheit des nicht austauschbaren H(3) zu ersehen (besonders deutlich bei der Tetrahydroverbindung **71**), was die alternative Struktur **E** (Schema 6) bereits ausschliesst. Ferner sind die UV.-Spektren von **70** und **71** (Fig. 3) fast identisch mit

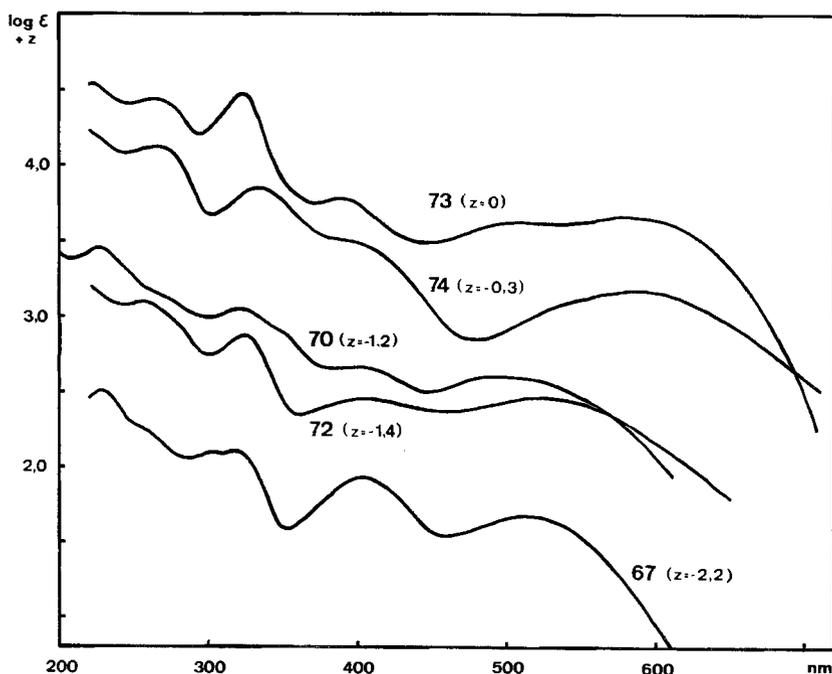


Fig. 3. UV.-Spektren in Äthanol

jenem des violetten Chinonimins **72**, das zum Vergleich aus Rifamycin-O mit *o*-Anisidin dargestellt wurde³⁾. Diese Spektren unterscheiden sich deutlich von jenen der grügefärbten Chinone **73** und **74** (Fig. 3 und Schema 7), die man aus **1** mit Anilin bzw. mit *o*-Anisidin unter den im vorausgehenden Abschnitt beschriebenen Bedingungen erhalten kann.

³⁾ Die Reaktion von Rifamycin-O mit primären Aminen, die zu 4-Amino-derivaten führt, ist neuerdings beschrieben worden [8].

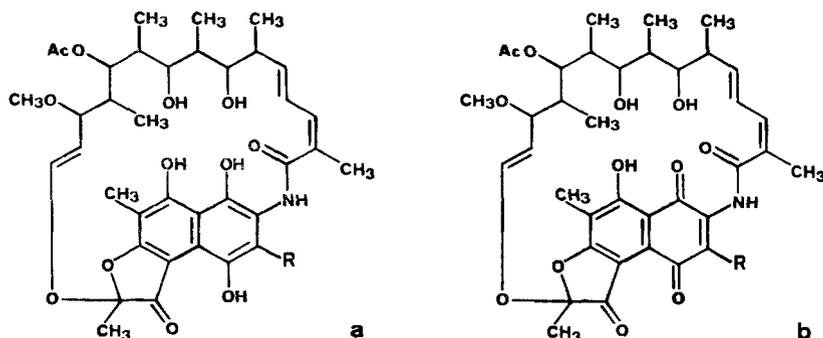
Wird **70** unter peinlichem Sauerstoffausschluss in Methanol oder besser in hydrogencarbonathaltigem Methanol stehengelassen, dann bildet sich nicht **67** sondern eine neue labile Verbindung, die mit Kaliumferricyanid leicht zu **67** oxydiert wird. Ihr kommt möglicherweise eine der Strukturen **75** zu. Das Experiment zeigt, dass der oxydative Schritt bei der Bildung von **67** erst nach dem Entstehen von **70** stattfindet, was wiederum eine Reaktionsfolge im Sinne von Schema 6 ausschliesst.

Die Phenazinderivate von Typ **D** (Schema 4) entstehen analog den Phenoxazinen; sie sind im allgemeinen grün bis tiefblau. Die entsprechenden Hydrochinone lassen sich zwar mit Dithionit in Lösung herstellen, jedoch wegen ihrer äusserst hohen Oxydationsempfindlichkeit nicht in Substanz fassen. Der Grundkörper **81** der Rifamycin-Phenazine (Schema 4, Formel **D**, $R = H$) ist bereits von italienischen Autoren [9] eingehend beschrieben worden⁴⁾. Wir beschäftigen uns vor allem mit am Phenylenring substituierten Derivaten, wobei die Verwendung asymmetrisch substituierter Phenylendiamine als Reagens meistens zwei isomere, durch Chromatographie trennbare Verbindungen ergab.

Wie die 3-Aminoderivate zeigen auch die Phenoxazin- und die Phenazin-Rifamycine interessante antibakterielle Eigenschaften [4], weshalb wir eine Anzahl dieser Verbindungen für biologische Prüfungen darstellten. Da diese den Grundsubstanzen weitgehend entsprechen, beschränken wir uns auch hier auf eine summarische Beschreibung von Darstellung und Eigenschaften (vgl. exper. Teil: Phenoxazine **76–80** (Tab. 2), Phenazine **81–90** (Tab. 3)).

4. Reaktionen von Rifamycin-S mit Carbanionen. – Einige Carbanionen aktiver Methylenverbindungen lassen sich in glatter Reaktion an **1** addieren (Schema 8). Beispielsweise erhält man das Hydrochinon **91a** (Smp. 193°) in guter Ausbeute

Schema 8



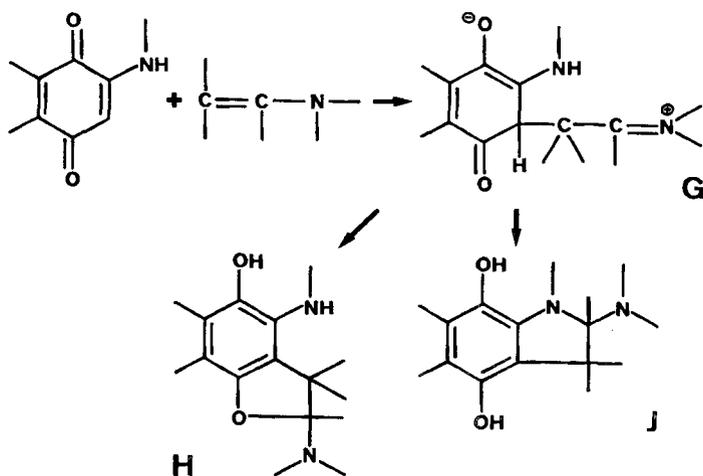
- 91 (a,b)** $R = CH(COOC_2H_5)_2$
92 (a,b) $R = CH(COCH_3)(COOC_2H_5)$
93 (a,b) $R = CH_2NO_2$
94 (a,b) $R = CH(COCH_3)_2$

⁴⁾ Unsere zur Ermittlung der Struktur unabhängig erhobenen Befunde führen zum gleichen Ergebnis wie diejenigen der italienischen Autoren [9].

beim Umsatz von **1** mit Malonsäure-diäthylester und Natriumäthylat. Die zitronengelbe Verbindung lässt sich leicht zum Chinon **91b** (Smp. 185°) oxydieren und aus diesem reaktiv zurückgewinnen. Entsprechend erhält man die Verbindungen **92a** (Smp. 214°), **93b** (Smp. 145°) und **94b**. Ihre Strukturen können aus Elementaranalysen und Spektren abgeleitet werden. Die Verbindungen besitzen gemäss Elektronenspektrum praktisch unveränderte Rifamycinchromophore. Das Fehlen von H(3) ergibt sich aus den NMR.-Spektren, die im übrigen neben den Signalen der neu eingetretenen Gruppen die typischen Signale von **1** aufweisen. Carbanionen anderer Methylenverbindungen, z.B. von Nitroäthan und Cyanessigester, lieferten analoge Reaktionsprodukte, die wir jedoch nicht näher charakterisierten, da sie wie die übrigen Vertreter der Gruppe geringes biologisches Interesse erweckten. Dies ist bemerkenswert, da die Verbindungen am Wirkungsort der Rifamycine [10], an der bakteriellen DNA-abhängigen RNA-Polymerase, gut wirksam sind [11]. Der Aktivitätsverlust beruht hier nicht wie bei andern desaktivierten Rifamycinen auf einer geringeren Komplexierung mit diesem Enzym, sondern möglicherweise auf einer verminderten Penetrationsfähigkeit zum Wirkungsort in der intakten Zelle.

5. Reaktionen von Rifamycin-S mit Enaminen. – Enamine zeigen gegenüber **1** ähnlich wie Amine eine grosse Reaktionsbereitschaft. Die Reaktionen verlaufen jedoch in diesem Falle oft uneinheitlich und führen zu mikrobiologisch wenig interessanten Produkten. Ihr Strukturtyp hängt im einzelnen vom verwendeten Enamin

Schema 9

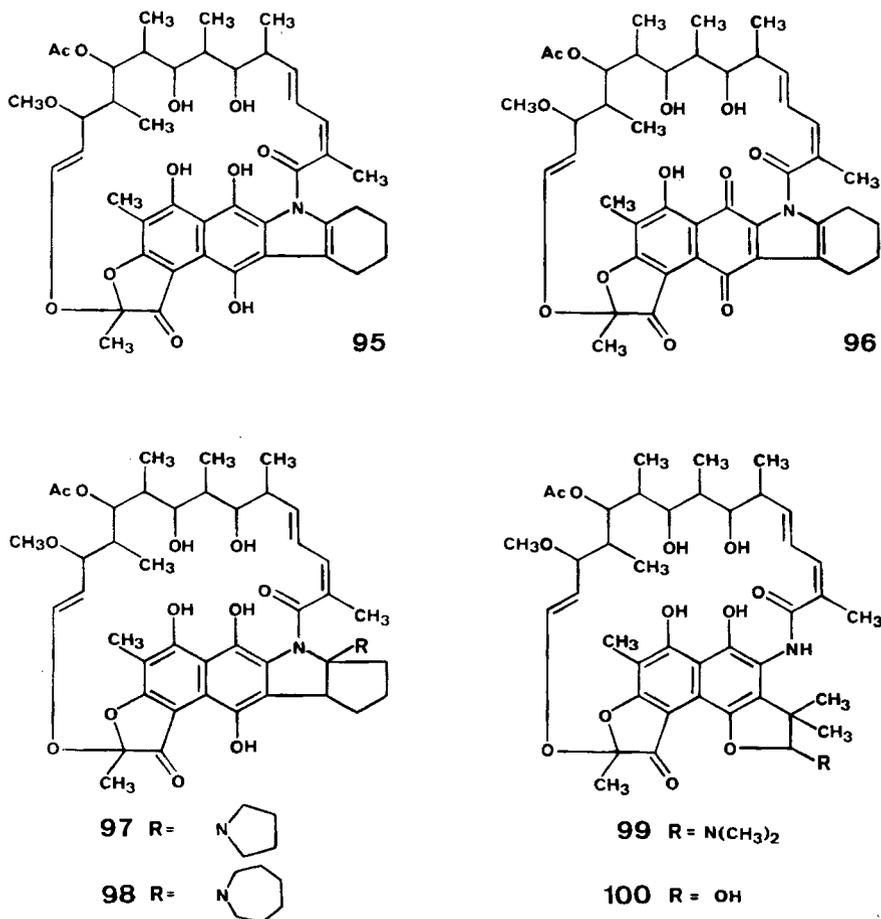


und von den Reaktionsbedingungen ab. Wir erwarteten (Schema 9), dass die Reaktionen über instabile Additionsprodukte **G** zu Aminodihydrofuranen **H** [12] oder allenfalls zu Aminopyrrolinen **J** führen würden.

Mit Cyclohexenylmorpholin reagiert **1** bei Raumtemperatur unter Bildung eines Gemisches von Rifamycin-SV und einer orangefarbenen Verbindung, die bei reduktiver Aufarbeitung in mässiger Ausbeute als Hydrochinon **95** kristallin (Smp. 181°) gefasst wird (Schema 10). Die gleiche Verbindung erhält man aus **1** mit anderen Cyclo-

hexenylaminen, z. B. mit Cyclohexenylpiperidin oder mit Cyclohexenyl-N-methylpiperazin. **95**, das aufgrund der Mikroanalyse nur 1 Stickstoffatom enthält und im NMR. kein Signal für H(3) und bei tiefem Feld lediglich 3 austauschbare Protonen aufweist ($\delta = 11,5; 12,6; 13,1$ ppm), lässt sich leicht und reversibel zum rotorange

Schema 10



gefärbten Chinon **96** oxydieren. Das Massenspektrum dieser Verbindung ($M^+ = 773$) bestätigt die Vermutung, dass nur die Cyclohexenkomponente, nicht aber der Amin-Anteil des Enamins im Endprodukt vorhanden ist. Die aus der Entstehungsweise und den aufgeführten Eigenschaften abgeleitete Strukturformel steht im Einklang mit den übrigen NMR.-Daten und den UV.-Spektren.

Anders verläuft die Reaktion mit Cyclopentenylpyrrolidin (Schema 10). In diesem Falle kristallisiert das Reaktionsprodukt in guter Ausbeute als gelbes Hydrochinon **97** (Smp. 195°, Zers.) aus dem Reaktionsgemisch. Die Mikroanalyse und das Massenspektrum dieser Verbindung sind wegen Solvatlösungsmittel und thermischer

Instabilität wenig aussagekräftig. Gleichermassen verhält es sich bei analogen Produkten, die aus **1** mit Cyclopentenylpiperidin oder mit Cyclopentenyl-N'-methylpiperazin erhalten werden. Immerhin zeigen die Mikroanalysen das Vorhandensein von 2 Stickstoffatomen an. Das UV.-Spektrum von **97** ist in Alkohol demjenigen von Rifamycin-SV-Natriumsalz, in salzsaurem Alkohol jenem von Rifamycin-SV sehr ähnlich. Dies, sowie die auffällige Schwerlöslichkeit in organischen Lösungsmitteln, deuten auf das Vorliegen einer Betainstruktur. Im NMR. von **97** fehlt wiederum das H(3)-Signal und bei tiefem Feld sind nur 3 austauschbare Protonen ($\delta = 8,3; 13,1; 16,0$ ppm) nachzuweisen. **97** wird von Kaliumferricyanid sehr leicht oxydiert, wobei ein Gemisch von Reaktionsprodukten entsteht. Bei der analogen Verbindung **98** (Smp. $> 200^\circ$, Zers.) gelingt es beim sehr vorsichtigen Oxydieren das instabile Chinon zu fassen und durch die übliche Reduktion mit Ascorbinsäure ins Hydrochinon zurückzuführen. Aufgrund dieses Verhaltens bevorzugen wir für **97** und **98** die angegebenen Pyrrolinstrukturen gegenüber Dihydrofuranformeln von Typ **H** (Schema 9).

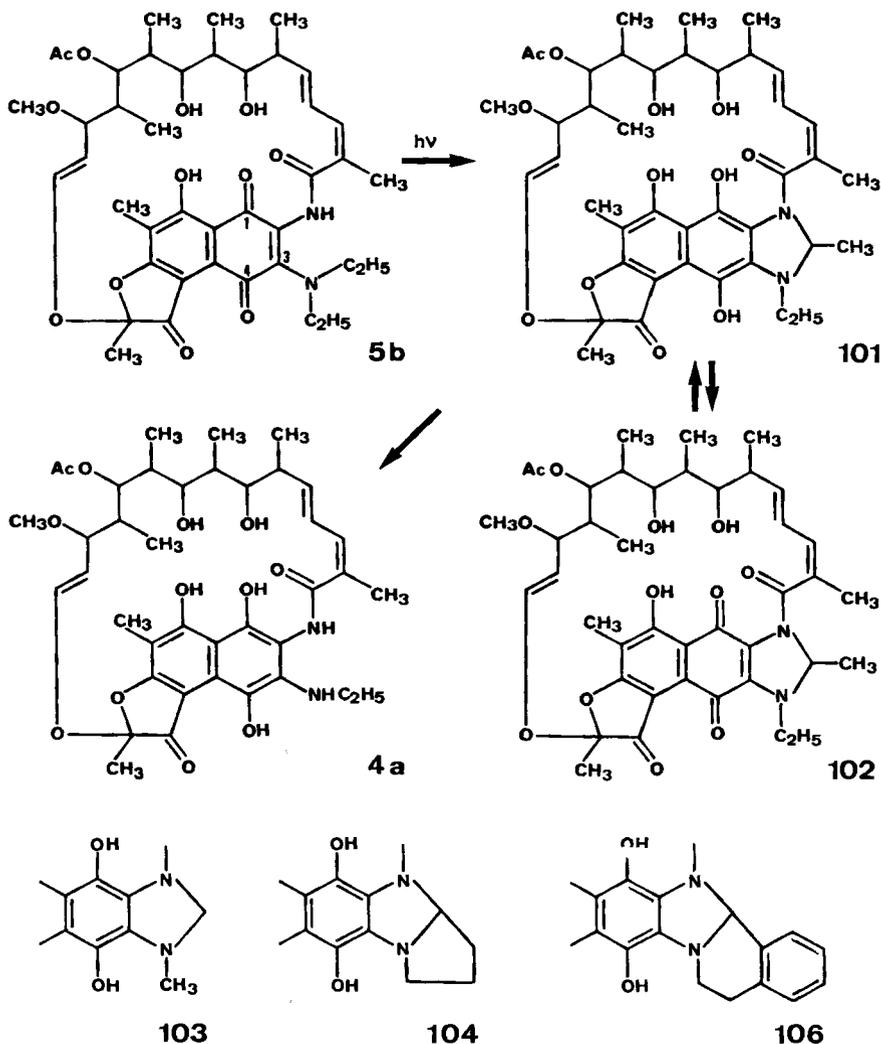
Den erwarteten furanoiden Typ **H** glauben wir hingegen bei den Verbindungen **99** (Smp. $> 200^\circ$, Zers.) und **100** (Smp. $> 250^\circ$, Zers.) erkennen zu können (Schema 10). Diese liessen sich bei der Kondensation von **1** mit 1-Dimethylamino-2-methylpropen⁵⁾ und anschliessender oxydativer Aufarbeitung neben Rifamycin-S (**1**) und 3-Dimethylaminorifamycin-S (**3b**) in Form gelber Kristallisate fassen. Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Enaminkondensationsprodukten können **99** und **100** auf übliche Weise weder oxydiert noch reduziert werden. Sie besitzen aufgrund ihrer UV.-Spektren, die nahezu identisch sind, hydrochinoide Rifamycinchromophore. Diese Eigenschaften sprechen zusammen mit den mikroanalytischen Befunden für die angegebenen Strukturformeln, die sich auch mit den NMR.-Daten im Einklang befinden.

6. Bestrahlungsprodukte N-substituierter 3-Aminorifamycine. – Die unerwartete Reaktionsbereitschaft des Rifamycin-Amidstickstoffes, die bei der Synthese der Verbindungen **95**, **97** und **98** in Erscheinung tritt, konnten wir in weiteren Beispielen erkennen. Mehrere N-disubstituierte 3-Aminorifamycine wiesen eine auffällige Lichtempfindlichkeit auf, sobald sie in chinoider Form vorlagen (Verfärbung der Feststoffe oder Lösungen beim Aufbewahren am Tageslicht). Dies ging einher mit einem partiellen Verlust an antimikrobieller Aktivität. Einige typische Beispiele wurden näher untersucht. Es zeigte sich dabei, dass die 3-Aminorifamycin-Chinone in verdünnten Toluol- oder 2-Propanollösungen beim Bestrahlen mit dem UV.-Licht einer Hg-Hochdrucklampe zu hydrochinoiden Verbindungen isomerisiert werden (Schema 11), wobei die Geschwindigkeit der Reaktion stark von der Art des 3-Aminosubstituenten abhing. Der Vorgang liess sich wegen des deutlichen Farbumschlages von violett nach hellgelb optisch leicht verfolgen. Die Struktur der Photoprodukte wurde am Beispiel der Verbindung **101** abgeklärt.

101 (Smp. 244° , Zers.) entsteht in guter Ausbeute bei der kurzen UV.-Bestrahlung von 3-Diäthylamino-rifamycin-S (**5b**) in 2-Propanol oder Toluol. Im NMR.-Spektrum von **101** sind im Vergleich zum Ausgangsmaterial nur mehr 1 N-Äthyl-

⁵⁾ Die Reaktion von **1** mit 1-Dimethylamino-2-methylpropen wurde unabhängig in den Laboratorien von *Lepetit SpA*, Mailand, untersucht. Dabei sind z.T. andere Verbindungen isoliert worden (Persönliche Mitteilung von Prof. *P. Sensi*, Mailand).

Schema 11



gruppe (t bei 1,16 ppm), dagegen eine zusätzliche CHCH_3 -Gruppe (d bei 1,40 ppm; q bei 5,23 ppm) und bei tiefem Feld 3 mit D_2O austauschende Protonen nachweisbar. Die Verbindung liefert bei der milden Spaltung mit Ascorbinsäure 3-Äthylaminorifamycin-SV (4a), das in Form seines Chinons 4b mit dem bereits früher beschriebenen Material identifiziert werden kann. Diese und die mikroanalytischen Befunde stehen gut im Einklang mit der angegebenen Imidazolin-Struktur (Schema 11). Eine alternative Oxazolinstruktur (Ringschluss der Aminseitenkette zum Sauerstoff in Stellung 4) scheint uns wiederum wenig wahrscheinlich, weil 101 die üblichen Redoxeigenschaften der Rifamycine aufweist, d. h. weil es mit Kaliumferricyanid sehr leicht zu einem grünen Chinon 102 (Smp. 218°, Zers.) oxydiert und aus diesem durch Reduktion mit Natriumascorbat zurückgewonnen werden kann.

Auf analoge Weise wie **101** aus **5b** entstehen die Photoprodukte **103** (Smp. 191°, Zers.) aus 3-Dimethylamino-rifamycin-S (**3b**), **104** (Smp. 218°, Zers.) aus 3-Pyrrolidino-rifamycin-S (Verbindung **16** in Tab. 1) und **106** (Smp. 207°, Zers.) aus 3-Tetrahydroisochinolino-rifamycin-S (**105b**). Besonders auffällig ist die Photoisomerisierung von **105b**, die bei 0° in verdünnter 2-Propanollösung praktisch momentan erfolgt. Die Produkte zeigen im übrigen ähnliche Eigenschaften wie das näher beschriebene **101**. Sie liefern bei der Oxydation charakteristisch grün gefärbte, meist instabile Chinone und sind wie **101** mikrobiologisch stark abgewertet.

Wir danken Herrn Dr. E. Vischer, Ciba-Geigy AG, Basel, für sein Interesse an dieser Arbeit und Herrn Dr. K. Heusler aus unseren Laboratorien für anregende Diskussionen.

Experimenteller Teil⁶⁾

Allgemeines. – Bei der Bezeichnung der Kohlenstoffatome im Rifamycingerüst folgen wir der von Oppolzer, Pregel & Sensi [6] angegebenen Bezifferung. – *Übliche Oxydation von Hydrochinonen:* Lösen des Hydrochinons in wässrig-methanolischer Hydrogencarbonatlösung, Versetzen der Lösung mit Chloroform und einem Überschuss an wässriger Kaliumferricyanidlösung, kräftiges Vermischen während mindestens 5 Min., Ansäuern mit Zitronensäure und Abtrennen der Chloroformphase. – *Präparative Chromatographie:* Kieselgel Merck (0,05–0,2 mm) wurde vor dem Gebrauch mit konzentrierter Salzsäure, anschliessend mit destilliertem Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und nach dem Trocknen 4 Std. auf 130–140° erhitzt. – *Schmelzpunkte:* Auf Original Kofler-Mikroheiztisch, nicht korrigiert. – *Analysensubstanzen:* Trocknung 24 Std. bei 100°/10⁻² Torr. – *UV.-Spektren:* Wenn nicht anders angegeben, in 96proz. Äthanol, Maxima in nm (log ϵ). – *IR.-Spektren:* Wenn nicht anders angegeben, in Methylchlorid, wichtigste Banden in cm⁻¹. – *NMR.-Spektren:* Wenn nicht anders angegeben, in CDCl₃ bei 100 MHz; chemische Verschiebungen in ppm relativ zu Tetramethylsilan (int.); *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *q* = Quartett, *m* = Multipllett. Kopplungskonstanten *J* in Hz. Es werden lediglich die im Vergleich zu Rifamycin-S (**1**) (vergl. [1]) typisch veränderten NMR.-Signale angegeben. – *Massenspektren:* Atlas-Gerät, Mod. CH4. Massenspektrometrisch bestimmte Molekulargewichte sind mit *M*⁺ bezeichnet. – *Dünnschichtchromatographie:* An Kieselgel G (Merck) oder an zitronensäureimprägniertem Kieselgel: Eine Aufschlammung von Kieselgel G in der 1,7fachen Menge 3proz. wässriger Zitronensäurelösung wurde auf Dünnschichtplatten gestrichen und mehrere Std. bei 130° getrocknet. Geeignete Elutionsmittel: Methylchlorid/Aceton 9:1, Chloroform/Methanol 9:1; Essigester/Cyclohexan 1:1.

1. Reaktionen von Rifamycin-S mit aliphatischen Aminen. – *3-Methylamino-rifamycin-S (2b).* Eine Lösung von 7 g **1** in 40 ml Dioxan wurde unter Eiskühlung mit 10 ml Methylamin versetzt. Die entstandene tiefviolette Lösung blieb bei 25° so lange stehen, bis ihre Farbe nach gelbbraun umgeschlagen war. Nach Ansäuern mit Zitronensäurelösung und Zugabe von Kochsalzlösung wurde das Gemisch mit Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformlösung in üblicher Weise mit Kaliumferricyanid oxydiert, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform gelöst und unter ausgiebigem Nachwaschen mit Chloroform durch 150 g Kieselgel filtriert. Das braunrote Filtrat hinterliess nach dem Eindampfen 3,6 g Rückstand, aus dessen ätherischer Lösung sich beim Stehen violette Nadeln abschieden. Die braungelbe Mutterlauge enthielt hauptsächlich Rifamycin-S. Die violetten Kristalle wurden noch 2mal aus 90proz. wässrigem Methanol umkristallisiert. Man erhielt 1,5 g 3-Methylamino-rifamycin-S (**2b**) in violett-schwarzen, glänzenden Kristallen vom Smp. 200–201° (Zers.). – UV.: 234 (4,49), 267 (4,47), 319 (4,13), 370 (3,88), 530 (3,16). – IR.: 3480, 3400, 2970, 1735, ~1715 (Schulter), 1675, 1645, 1615 usw. – NMR.: 3,1 (*s*, 3H, NCH₃); kein Signal für H(3).

C₃₈H₄₈N₂O₁₂ (724,82) Ber. C 62,97 H 6,68 N 3,87% Gef. C 62,59 H 6,57 N 3,89%

⁶⁾ Unter Mitarbeit von M. Eschbach und A. Fischer, denen auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

3-Dimethylamino-rifamycin-S (3b). Eine Lösung von 7 g **1** in 40 ml Dioxan wurde mit 10 ml Dimethylamin unter Eiskühlung versetzt und danach bei Zimmertemperatur so lange stehengelassen, bis ihre anfangs tiefviolette Farbe nach Gelbbraun umgeschlagen war (etwa 15 Min.). Danach wurde abgedampft, der Rückstand in üblicher Weise mit Kaliumferricyanid oxidiert, das Oxydationsprodukt mit Chloroform aufgenommen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in Äther gelöst, durch Filtration von braunem, amorphem Material befreit und in Ätherlösung stehengelassen. Nach kurzer Zeit kristallisierten 3,7 g **3b** in grünlich schwarzen, lichtempfindlichen Kristallen, die nach 2maliger Kristallisation aus wässrigem Methanol bei 231–232° unter Zersetzung schmolzen. - UV.: 217 (4,45), 270 (4,46), 327 (4,13) ~370 (Schulter), 550 (3,30). - IR.: 3650, 3450, 3400, ~2950, 1725, 1710, 1670, 1610 usw. - NMR.: 3,05 (s, 9H, OCH₃ und N(CH₃)₂).

C₃₉H₅₀N₂O₁₂ (738,83) Ber. C 63,40 H 6,82 N 3,79% Gef. C 63,15 H 6,69 N 3,66%

3-Äthylamino-rifamycin-S (4b). Aus (**1**) und Äthylamin nach der für die Darstellung von **2b** beschriebenen Arbeitsweise. Rote Kristalle aus wässrigem Methanol. Smp. unscharf, etwa 150° (unter starkem Sintern ab 130°). - UV.: 233 (4,43), 267 (4,42), 320 (4,08), 370 (3,82), 530 (3,15). - IR.: 3700, 3480, 3400, 2980, 1730, ~1715 (Schulter), 1665, 1635, 1610 usw. - NMR.: 1,21 (t, 3H, J ~ 7, NCH₂CH₃; zugehörige Methylensignale im m bei ~3,5).

C₃₉H₅₀N₂O₁₂ (738,83) Ber. C 63,40 H 6,82 N 3,79% Gef. C 63,07 H 6,80 N 3,65%

3-Diäthylamino-rifamycin-S (5b). Eine Lösung von 70 g **1** in 100 ml Diäthylamin wurde 17 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand in üblicher Weise mit Kaliumferricyanid oxidiert. Das Oxydationsprodukt wurde in Chloroformlösung durch 700 g Kieselgel filtriert, wobei eine starke, dunkelgefärbte Kopfzone festgehalten wurde, während sich das gewünschte Material mit Chloroform in das Filtrat waschen liess. Das eingedampfte Eluat wurde in einer eben ausreichenden Menge Äthylalkohol gelöst, mit Kristallen von **1** geimpft und einige Std. stehengelassen. Danach wurden 40 g auskristallisiertes **1** abfiltriert. Das Filtrat wurde eingedampft und der dunkelrote Rückstand in Äther gelöst. Beim Stehen schieden sich rasch rote Kristalle ab, die nach 2maliger Kristallisation aus Methanol rein waren. Auf diese Weise wurden über 8 g 3-Diäthylamino-rifamycin-S (**5b**) in roten Kristallen vom Smp. 190–191° (Zers.) erhalten. UV.: 270 (4,49), 327 (4,16), 540 (3,38). - IR.: 3500, ~3420 (Schulter), ~2950, 1735, 1715, 1680, 1615 usw. - NMR.: 1,18 (t, ~6H, J ~ 7, NCH₂CH₃; zugehörige Methylensignale im m bei ~3,4); etwa 13,5 (unscharf, 1H, phenol. OH).

C₄₁H₅₄N₂O₁₂ (766,89) Ber. C 64,21 H 7,10 N 3,65% Gef. C 64,07 H 6,90 N 3,90%

3-Piperidinrifamycin-S (6b). Eine Lösung von 140 g **1** in 500 ml Dioxan/Piperidingemisch 1:1 wurde bei Zimmertemperatur solange stehengelassen, bis das anfangs violett gefärbte Gemisch gelbbraun geworden war. Dann wurde reichlich mit Wasser verdünnt, durch Zugabe von Zitronensäurelösung unter Eiskühlung angesäuert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Zitronensäurelösung und Wasser gewaschene Chloroformphase wurde in üblicher Weise mit Kaliumferricyanidlösung oxidiert, danach getrocknet und eingeengt. Filtration der Chloroformlösung durch 300 g Kieselgel, ausgiebiges Nachwaschen mit Chloroform und Eindampfen des Filtrats ergab 160 g Material, das aus 90proz. wässrigem Methanol kristallisierte. Nach 2maligem Umkristallisieren aus wässrigem Methanol wurden 107 g **6b** in schwarzen Kristallen vom Smp. 200° (Zers.) erhalten. Aus den vereinigten Mutterlaugen liessen sich durch Eindampfen, Lösen in Äthanol und Impfen mit kristallinem **1** noch 20 g **1** kristallisieren. - UV.: 217 (4,45), 268 (4,43), 321 (4,15), 545 (3,42). - IR.: 3500, 3430 (Schulter), ~2970, 1735, 1715, 1680, 1620 usw. - NMR.: kein Signal für H(3).

C₄₂H₅₄N₂O₁₂ (778,90) Ber. C 64,77 H 6,99 N 3,60% Gef. C 64,57 H 7,29 N 3,53%

3-Morpholinrifamycin-S (7b). Herstellung mit Morpholin analog zur Darstellung von **6b** aus **1**. Schwarze Kristalle aus Äther oder wässrigem Methanol vom Smp. 220–221° (Zers.). - UV.: 220 (4,48), 273 (4,48), 322 (4,17), 550 (3,38). - IR.: 3520, 3450, ~2970, 1740, 1718, 1685, 1630 usw. - NMR.: kein Signal für H(3); 3,3–4,2 (m, Morpholin-H).

C₄₁H₅₂N₂O₁₃ (780,87) Ber. C 63,06 H 6,71 N 3,59% Gef. C 62,71 H 6,71 N 3,51%

3-Morpholinrifamycin-SV (7a). Eine Lösung von 10,5 g **7b** in 40 ml heissem Chloroform wurde unter Rühren in eine Mischung von 300 ml Methanol, 50 ml Wasser und 10 g Ascorbinsäure

Tabelle 1. *N*-substituierte 3-Aminorifamycine

| Nr. | Zur Darstellung verwendetes Reagens | Q = Chinon HQ = Hydrochinon | Smp. | % N | | UV. nm (loge) Q in C ₂ H ₅ OH HQ in 0,01N alkohol. HCl |
|-----|--|--------------------------------|---------------------------------|------|------|--|
| | | | | Ber. | Gef. | |
| 8 | Isopropylamin ^{a)} | Q | 171° | 3,72 | 3,58 | 231 (4,48), 267 (4,47), 319 (4,13), 370 (3,86), 530 (3,23) |
| 9 | Cyclopropylamin ^{a)} | Q | 163° | 3,73 | 3,79 | 232 (4,45), 267 (4,45), 319 (4,12), 370 (3,83), 530 (3,26) |
| 10 | Cyclohexylamin ^{a)} | Q | 153° | 3,53 | 3,44 | 226 (4,47), 267 (4,42), 320 (4,31), 375 (3,80), 520 (3,38) |
| 11 | Cycloheptylamin ^{a)} | HQ | 160° | 3,46 | 3,34 | 226 (4,59), ~275 (Schulter), 312 (4,22), 444 (4,09) |
| 12 | Pyrrolidin ^{a)} | Q | 192–93° | 3,66 | 3,62 | 263 (4,49), 330 (4,19), ~370 (Schulter), 545 (3,40) |
| 13 | 3-Methylpyrrolidin ^{b)} | HQ | 192–93° | 3,59 | 3,46 | 227 (4,56), 290 (4,25), ~320 (Schulter), 444 (4,06) |
| 14 | Äthanolamin ^{a)} | Q | 244–45° | 3,71 | 3,60 | 233 (4,44), 260 (4,45), 320 (4,16), ~375, 530 (2,95) |
| 15 | 2-Methylamino-äthanol ^{a)} | HQ | 218° | 3,63 | 3,62 | 244 (4,47), 262 (4,49), 333 (4,25), 408 (3,83) |
| 16 | 2-Äthylamino-äthanol ^{a)} | HQ | 218° | 3,57 | 3,52 | 245 (4,47), 263 (4,49), 334 (4,25), 408 (3,95) |
| 17 | Diäthanolamin ^{a)} | HQ | 189° | 3,50 | 3,47 | 223 (4,60), 295 (4,33), 435 (4,00) |
| 18 | Aminoacetaldehyd- diäthylacetal ^{a)} | Q | 124–25° | 3,39 | 3,60 | 230 (4,47), 267 (4,47), 317 (4,15), 370 (3,87), 525 (3,23) |
| 19 | Methylaminoacetal- dehyd-dimethylacetal ^{a)} | Q | 206° | 3,44 | 3,28 | 223 (4,50), 265 (4,45), 319 (4,22), ~375 (Schulter), 550 (3,08) |
| 20 | N-Methyl-2-furfuryl- amin ^{a)} | Q | 211–12° | 3,46 | 3,18 | 220 (4,48), ~260 (Schulter), 320 (4,19), 446 (3,64) |
| 21 | 2-Diäthylamino- äthylamin ^{a)} | Q | krist. ohne Smp. bis 320° | 5,16 | 4,87 | 260 (4,57), 322 (4,47), 380 (3,75), 490 (3,57) |
| 22 | N-(2-Aminoäthyl)- morpholin ^{a)} | Q | dito | 5,10 | 4,90 | 235 (4,43), 267 (4,43), 320 (4,13), 370 (3,85), 530 (3,26) |
| 23 | N-Methylbenzylamin ^{a)} | HQ | 220° | 3,43 | 3,44 | 220 (4,66), 292 (4,35), ~325 (Schulter), 440 (3,98) |

Tabelle 1 (Fortsetzung)

| Nr. | Zur Darstellung verwendetes Reagens | $\begin{array}{c} \text{Q} \\ \parallel \\ \text{Chinon} \\ \parallel \\ \text{HQ} \\ \parallel \\ \text{Hydrochinon} \end{array}$ | Smp. | % N | | UV. nm (log ϵ) |
|-----|---|--|----------------------------|-------------|------|--|
| | | | | Ber. | Gef. | Q in C ₆ H ₅ OH HQ in 0,01 N alkohol. HCl |
| 24 | 2-Methylpiperidin ^{a)} | Q | 211–12° | 3,53 | 3,42 | 243 (Schulter), 269 (4,56), 324 (4,18), 527 (3,56) |
| 25 | 3-Methylpiperidin ^{a)} | Q | 224° | 3,53 | 3,54 | 222 (4,50), 274 (4,47), 327 (4,19), 550 (3,45) |
| 26 | 4-Methylpiperidin ^{a)} | Q | amorph (HQ:185°) | 3,53 | 3,45 | 219 (4,41), 270 (4,40), 324 (4,13), 550 (3,32) |
| 27 | 4,4-Dimethylpiperidin ^{c)} | Q | Q amorph HQ: 130–70° | 3,46 | 3,60 | 270 (4,42), 324 (4,12), 550 (3,35), |
| 28 | 3,3-Dimethylpiperidin | HQ | 254–56° | 3,46 | 3,46 | 221 (4,45), 296 (4,17), ~325 (Schulter), 444 (3,86) |
| 29 | 3,5-Dimethylpiperidin ^{e)} | HQ | 233° | 3,46 | 3,56 | 227 (4,48), 268 (4,48), 324 (4,20), 550 (3,48) |
| 30 | 3,4-Dimethylpiperidin ^{d)} | | Isomer A 238° | 3,46 | 3,53 | 220 (4,55), ~290 (Schulter), 315 (4,18), 444 (3,91) |
| | | HQ | Isomer B 171–73° | 3,46 | 3,46 | 220 (4,50), 271 (4,43), 324 (4,16), ~450 (Schulter) |
| 31 | 3-Äthylpiperidin ^{e)} | HQ | 167° | 3,46 | 3,47 | 223 (4,55), 290 (4,25), ~320 (Schulter), 444 (3,95) |
| 32 | 4-Äthylpiperidin ^{f)} | HQ | 173° | 3,46 | 3,72 | 220 (4,56), 295 (4,29), ~320 (Schulter), 445 (3,99) |
| 33 | 3-Äthyl-4-methyl- piperidin ^{g)} | HQ | 171–73° | 3,40 | 3,45 | 224 (4,56), 293 (4,28), ~320 (Schulter), 444 (3,99) |
| 34 | 4-Isopropylpiperidin ^{h)} | HQ | 175–77° (162° U) | 3,40 | 3,27 | 222 (4,54), ~290 (Schulter), 315 (4,17), 446 (3,90) |
| 35 | 4- <i>t</i> -Butylpiperidin ⁱ⁾ | HQ | 185° | 3,35 | 3,28 | 221 (4,54), 290 (4,28) ~320 (Schulter), 442 (3,94) |
| 36 | 3-Aza-bicyclo[3.3.1]nonan ^{j)} | HQ | 168–70° | $M^+ = 820$ | | 218 (4,56), 296 (4,28), ~325 (Schulter), 438 (3,90) |
| 37 | 1,8,8-Trimethyl-3-aza- bicyclo[3.2.1]octan ^{k)} | HQ | 188–89° | 3,30 | 3,21 | 222 (4,49), 295 (4,31), ~320 (Schulter), 440 (3,90) |
| 38 | 4-Phenylpiperidin ^{l)} | HQ | 211–12° (~157° U) | 3,27 | 3,20 | 213 (4,62), ~230 (Schulter), 290 (4,32), ~320 (Schulter), 440 (3,92) |

Tabelle 1 (Fortsetzung)

| Nr. | Zur Darstellung verwendetes Reagens | Q = Chinon HQ = Hydrochinon | Smp. | % N | | UV. nm (log ε) Q in C ₂ H ₅ OH HQ in 0,01N alkohol. HCl |
|-----|--|--------------------------------|---------------------------------|-------------|-------------|---|
| | | | | Ber. | Gef. | |
| 39 | 4-Cyclohexylpiperidin ^{m)} | HQ | 188° | 3,25 | 3,31 | 224 (4,55), 295 (4,24), ~320 (Schulter), 445 (3,99) |
| 40 | 4-Benzylpiperidin ^{a)} | HQ | 159–60° | 3,22 | 3,18 | 213 (4,61), ~230 (Schulter), 295 (4,28), ~320 (Schulter), 443 (4,00) |
| 41 | 4-(Cyclohexylmethyl)- piperidin ^{a)} | HQ | 174° | 3,19 | 3,14 | 223 (4,59), 296 (4,28), ~320 (Schulter), 444 (4,03) |
| 42 | 4(3-Cyclohexylpropyl)- piperidin ^{a)} | HQ | 151–53° | 3,09 | 3,13 | 225 (4,58), 296 (4,28), ~325 (Schulter), 444 (4,03) |
| 43 | 4-(Dicyclohexylmethyl)- piperidin ^{r)} | HQ | 180–85° | 2,92 | 2,76 | 225 (4,50), 297 (4,28), ~325 (Schulter), 442 (3,96) |
| 44 | 4-Hydroxypiperidin ^{a)} | HQ | 205–06° | 3,52 | 3,52 | 220 (4,60), 295 (4,28), ~320 (Schulter), 442 (3,95) |
| 45 | 3-Hydroxypiperidin ^{a)} | HQ | 199–200° (Q: 214°) | 3,52 (Q) | 3,58 (Q) | 224 (4,57), 295 (4,28), ~320 (Schulter), 440 (3,98) |
| 46 | Piperidin-4-carbonsäure- äthylester ^{a)} | HQ | 186–87° | 3,28 | 3,21 | 223 (4,55), 295 (4,30), ~320 (Schulter), 442 (3,92) |
| 47 | 4-Hydroxymethyl- piperidin ^{a)} | HQ | 208–09° | 3,45 | 3,40 | 223 (4,40), 295 (4,12), ~320 (Schulter), 442 (3,81) |
| 48 | Piperidin-4-carbonsäure- amid ^{a)} | HQ | 202° | 5,10 | 4,96 | 222 (4,53), ~280 (Schulter), ~325 (Schulter), 440 (3,86) |
| 49 | 2,6-Dimethylmorpholin ^{a)} | Q | 240° | 3,46 | 3,53 | 222 (4,47), 272 (4,43), 323 (4,18), ~390 (Schulter), 550 (3,45) |
| 50 | 2,6-Dimethyl- thiomorpholin ^{a)} | HQ | 243–45° | 3,39 | 3,11 | 220 (4,55), 282 (4,32), ~320 (Schulter), 440 (3,89) |
| 51 | Piperazin ^{a)} | HQ | krist. ohne Smp. bis 300° | 5,37 | 5,31 | 225 (4,52), 295 (4,25), 435 (3,88) |
| 52 | N-Methylpiperazin ^{a)} | HQ | 209–10° | 5,28 | 5,14 | 226 (4,54), 317 (4,29), 448 (4,08) |
| 53 | 2-Methylpiperazin ^{a)} | Q | Zers. ohne Smp. ab 210° | 5,28 | 5,39 | 217 (4,50), 271 (4,45), 322 (4,19), 550 (3,48) |
| 54 | N-Äthoxycarbonyl- piperazin ^{a)} | Q | krist. ohne Smp. bis 300° | 4,93 | 4,92 | 273 (4,44), 323 (4,18), ~380 (Schulter), 545 (3,43) |

Tabelle 1 (Schluss)

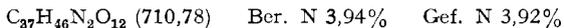
| Nr. | Zur Darstellung verwendetes Reagens | $\begin{array}{c} \text{Q} = \text{Chinon} \\ \text{HQ} = \text{Hydrochinon} \end{array}$ | Smp. | % N | | UV. nm (log ϵ) Q in C ₂ H ₅ OH HQ in 0,01 N alkohol. HCl |
|-----|--|---|---------|------|------|--|
| | | | | Ber. | Gef. | |
| 55 | Hexamethylenimin ^{a)} | HQ | 190–91° | 3,52 | 3,53 | 223 (4,58), ~290 (Schulter), ~320 (Schulter), 444 (3,99) |
| 56 | 4-Methyl-1-azacyclo- heptan ^{b)} | HQ | 200–01° | 3,46 | 3,48 | 220 (4,44), 293 (4,18), ~320 (Schulter), 444 (3,88) |
| 57 | 4- <i>t</i> -butyl-1-aza- cycloheptan ^{c)} | HQ | 244° | 3,29 | 3,27 | 223 (4,58), 294 (4,27), ~320 (Schulter), 444 (4,01) |
| 58 | Heptamethylenimin ^{d)} | HQ | 206–07° | 3,46 | 3,41 | 220 (4,59), 295 (4,05), ~320 (Schulter), 440 (3,93) |

^{a)} Reagens käuflich (*Fluka*). ^{b)} J. chem. Soc. 1927, 1254. ^{c)} Helv. 37, 397 (1954). ^{d)} Dargestellt durch kat. Hydrierung (Pt) von 3,4-Dimethylpyridin. ^{e)} J. prakt. Chem. 45 [2], 44 (1891). ^{f)} Liebigs Ann. Chem. 247, 72 (1888). ^{g)} Bull. Soc. chim. France 42 [2], 122 (1884). ^{h)} Liebigs Ann. Chem. 247 (79) (1888). ⁱ⁾ U.S. Pat. 3,101,340 (Cl. 260–293) [Chem. Abstr. 60, 1713c (1964)]. ^{j)} Il Farmaco, Ed. Sci. 12, 1008 (1957). ^{k)} Acta chem. scand. 17, 2075 (1963). ^{l)} Ber. deutsch. chem. Ges. 20, 2590 (1887). ^{m)} Tetrahedron 23 (1), 291 (1967). ⁿ⁾ Chem. Zbl. 1902, II, 597. ^{o)} Helv. 45, 1823 (1962). ^{p)} Helv. 32, 548 (1949). ^{q)} Dargestellt durch kat. Hydrierung (Pt) von 4-(3-Phenylpropyl)-pyridin. ^{r)} Dargestellt durch kat. Hydrierung (Pt) von 4-(Diphenylmethyl)-pyridin. ^{s)} Dargestellt durch LiAlH₄-Reduktion von 4-*t*-Butyl- ϵ -caprolactam nach D. Hoch & P. Karrer, Helv. 37, 397 (1954).

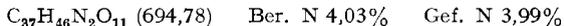
getropft. Aus der gelben Lösung fiel nach kurzer Zeit das Hydrochinon in feinen, gelben Kristallen aus. Nach kurzem Stehen bei 10° wurde abfiltriert und das Kristallisat noch einmal aus 50proz. wässrigem Methanol umkristallisiert. Man erhielt 9,5 g 3-Morpholinrifamycin-SV (**7a**) in gelben Prismen vom Smp. 253–254°. – UV. (0,01 N alkohol. HCl): 223 (4,62), 296 (4,34), 441 (3,95). – NMR. (60 MHz): kein Signal für H(3); 3,4–4,2 (*m*, Morpholin-H).

Allgemeine Darstellungsweise von 3-Aminorifamycinderivaten (Tab. I). Eine ca. 10proz. Lösung von Rifamycin-S in Dioxan wurde mit der 5- bis 10fach äquivalenten Menge an Amin versetzt und bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nachdem die anfangs dunkelviolette Lösung gelbbraun geworden war, wurde das Gemisch zitronensäuer gestellt, mit Wasser versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Chloroformextrakt wurde in der üblichen Weise mit wässriger Kaliumferricyanidlösung oxydierend behandelt und enthielt danach das gewünschte 3-Aminorifamycinderivat als Chinon, daneben Rifamycin-S und wechselnde Mengen an Nebenprodukten und verharztem Material. Ein zur Reinigung bewährtes Vorgehen bestand darin, polare Verunreinigungen durch Kieselgelfiltration mit Chloroform als Lösungsmittel zu entfernen. Aus dem Eindampfrückstand des Filtrats kristallisierte in den meisten Fällen das gewünschte 3-Aminoderivat direkt aus Äther; in der Mutterlauge befand sich der grösste Teil des Rifamycin-S. Völlige Reinigung des 3-Aminoderivats gelang meist durch mehrmalige Kristallisation aus wässrigeren Alkoholen. Chinoide 3-Aminoderivate, die nicht kristallisierten, wurden entweder sorgfältig chromatographiert oder aber wie üblich durch Ascorbinsäure reduziert, wobei fast stets gutkristallisierende, von Rifamycin-SV durch Kristallisation leicht abtrennbare Hydrochinone der 3-Aminoderivate entstanden.

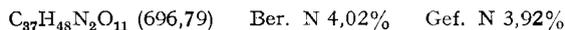
2. Reaktionen von Rifamycin-S mit Ammoniak. – *3-Aminorifamycin-S (59)*. Eine Lösung von 35 g **1** und 1,7 g Ammoniak in 500 ml Dioxan wurde bei 20° so lange stehengelassen, bis das anfangs tiefviolette Gemisch gelbbraun geworden war. Darauf wurde rasch mit wässriger Zitronensäurelösung angesäuert und das Reaktionsprodukt mit Chloroform aufgenommen. Nach der üblichen Oxydation des Chloroformextrakts mit Kaliumferricyanid wurde getrocknet und eingedampft. Der Rückstand ergab bei der Chromatographie an 500 g Kieselgel G (*Merck*) mit Chloroform eine Trennung in langsam wanderndes Material (**1** enthaltend) sowie in einen rascher als **1** wandernden Anteil. Erneute Chromatographie dieses rascher wandernden Materials an 150 g Kieselgel G mit Äther trennte es in zwei Banden. Das Eluat der langsamer wandernden Bande wurde gesammelt und eingedampft. Der dunkelrote Rückstand lieferte durch Kristallisation aus Äther 200 mg 3-Aminorifamycin-S in schwarzen Kristallen vom Smp. 171–172° (Zers.). – UV.: 226 (4,48), 265 (4,49), 311 (4,10), 365 (3,87), 520 (3,05). – IR.: 3440, 3380, ~2950, 1730, 1710, 1650, 1610, 1570 usw. – NMR.: 5,8–6,7 (*m*, 6H, davon 2 austauschend mit D₂O, H(17), H(18), H(19), H(29) sowie NH₂); kein Signal für H(3). – Das aus **59** in üblicher Weise hergestellte Hydrochinon zeigte ein *M*⁺ von 712.



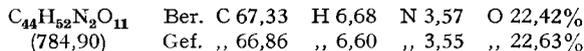
1-Desoxo-1-imino-rifamycin-S (60). Eine in einem Dewar-Gefäß befindliche, verdünnte Lösung von Rifamycin-S in flüssigem Ammoniak wurde 48 Std. im Sieden gehalten. Während dieser Zeit wurde mehrmals flüssiges Ammoniak zugesetzt, um die Lösung dünnflüssig zu halten. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Methanol gelöst und durch vorsichtige Zugabe von Äther kristallisiert. Nach 3maliger Kristallisation aus Methanol/Äther lag das 1-Desoxo-1-imino-rifamycin-S in blauschwarzen Kristallen vom Smp. 185° (Zers.) vor. UV.: 225 (4,54), 267 (4,31), 312 (4,23), 390 (3,66), 412 (3,66), ~435 (Schulter). – (In 0,01*n* alkohol. HCl): 225 (4,66), 280 (4,38), 425 (4,07).



1-Desoxy-1-amino-rifamycin-SV (61). Diese aus dem Chinon **60** in üblicher Weise durch Reduktion erhaltene Verbindung kristallisierte aus Methanol in gelben Prismen vom Smp. 216° (Zers.). – *M*⁺ = 696 (ber. für C₃₇H₄₈N₂O₁₁: *M* = 696). – UV.: 218 (4,60), 298 (4,22), 414 (4,17). – IR.: 3500, 3300, ~2970, 1720, 1655, 1555 usw. – NMR.: 12,0 (OH, *s*, 1H); ~9,2 (breites Signal, ~2H, NH₂); 8,80 (*s*, 1H, NH); 6,88 (*s*, 1H, H(3)); im Bereich 5,5 bis 6,5 Signale von H(17), H(18), H(19) und H(29) sowie Signal einer OH-Gruppe (6,0; mit D₂O entfernt).

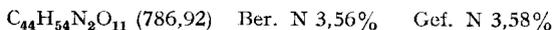


1-Desoxy-1-benzalamino-rifamycin-SV (62). Eine Lösung von 1-Desoxy-1-amino-rifamycin-SV (**61**) in Benzaldehyd wurde 10 Min. stehengelassen, wobei sie sich rot färbte, dann mit Chloroform verdünnt und durch die 100fache Gewichtsmenge der Benzaldehydlösung an Kieselgel filtriert. Waschen mit Chloroform eluierte rasch allen Benzaldehyd, während das Benzalprodukt deutlich langsamer ausgewaschen wurde. Die rotgefärbten Eluate wurden eingedampft und hinterliessen in quantitativer Ausbeute **62** als amorphe, rotorange gefärbte Substanz. – UV.: 228 (4,64), 308 (4,28), 460 (3,90). – IR.: 3430, 3250, ~2970, 1710, ~1735 (Schulter), 1680, 1660, 1605, 1595, 1545 usw. – NMR.: verwaschenes Spektrum; 10,8 (*s*, 1H, OH); 8,1 (*s*, 1H, NH); 7,2–8,0 (*m*, 5 arom. H).

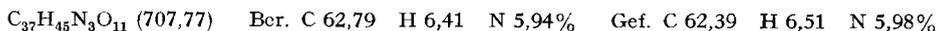


1-Desoxy-1-benzylamino-rifamycin-SV (63). Eine Lösung von 2,93 g Benzalderivat **62** in 40 ml Methanol wurde mit einer Lösung von 145 mg Natriumborhydrid in 40 ml Methanol versetzt und 15 Min. stehengelassen. Darauf wurde mit Zitronensäure angesäuert und solange tropfenweise mit Wasser versetzt, bis sich gelbe, nadelartige Kristalle abzuscheiden begannen. Nach kurzem Stehen war die Abscheidung vollständig; nach Umkristallisieren aus Äther sowie wässrigem Methanol ergaben sich 2,8 g Kristallit, die an 1000 g Kieselgel mit Chloroform chromatographiert wurden. Es bildeten sich zwei gelbe Banden. Das Eluat der rascher wandernden, zitronengelben Zone hinterliess nach dem Eindampfen einen hellgelben Rückstand, der aus wässrigem Methanol in Nadeln kristallisierte. Smp. 169–170°. Die Substanz liess sich durch Kaliumferricyanid zu der Benzalverbindung **62** oxydieren. – UV.: 217 (4,66), 297 (4,25), ~345 (Schulter), ~395 (Schulter), 413 (4,17). – IR.: 3500, 3450, ~2970, 1720, 1655, 1550 usw. – NMR.: 19,1 (*s*, 1H, OH); 12,1 (*s*, 1H, OH); breiter Buckel zwischen $\delta = 7$ und $\delta = 9$ (NH?, ~1H); 7,3 (*s*, 5 arom. H);

6,80 (H(3), s, 1H). Das zweite NH-Signal dürfte sich zwischen 5,5 und ~ 7 vinylicischen Signalen überlagern.



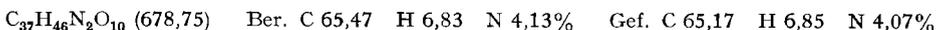
Diazotierungsprodukt 64. Zu einer gerührten und auf 0° gekühlten Suspension von 5 g **61** in 300 ml Eisessig/Methanol 1:1 wurde so lange 5proz. Natriumnitritlösung getropft, bis die Farbe des Gemisches vollständig von Dottergelb nach Gelbgrün umgeschlagen war. Nun wurde mit Wasser verdünnt, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Natriumhydrogencarbonatlösung säurefrei gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand lieferte nach 3maliger Kristallisation aus wässrigem Methanol 4,5 g **64** in gelben Kristallen vom Smp. $162\text{--}163^\circ$. - $M^+ = 707$. - UV.: 220 (4,62), 275 (4,36), 403 (4,29), 422 (4,30); (0,01N alkohol. HCl): 220 (4,61), 274 (4,37), 358 (4,08), 385 (4,08), 401 (4,10). - IR.: 3650, 3490, 3290, ~ 2970 , ~ 1735 (Schulter), 1720, 1670, 1610, 1590, 1555 usw. - NMR.: unterhalb $\delta = 4$ nur zwei durch D_2O austauschbare Protonen bei 12,0 (s, 1H) und 11,1 (unscharfes, breites Signal, 1H), herrührend von den OH an C(4) und C(8); 2,38 (s, 3H, H(30)).



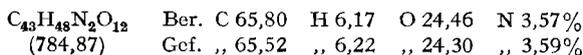
Verbindung 65: Reaktion von (1) mit Triphenylphosphin. Eine Lösung von 1,5 g **1** und 3 g Triphenylphosphin in 30 ml Toluol wurde 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Danach wurde eingedampft und der Rückstand an 200 g Kieselgel mit Chloroform/Aceton (10% Aceton) chromatographiert. Das Eluat der raschest wandernden, gelben Bande wurde eingedampft und der Rückstand 3mal aus wässrigem Methanol umkristallisiert: Über 600 mg glänzende, gelbe Blättchen von **65** vom Smp. $169\text{--}170^\circ$. Das Material blieb bei der Behandlung mit Kaliumferricyanid in hydrogencarbonatalkalischer Lösung unverändert. - $M^+ = 679$. - UV. (0,01N alkohol. HCl): 220 (4,53), 273 (4,38), ~ 293 (Schulter), 420 (4,31), 437 (4,38). - IR.: 3550, ~ 2960 , ~ 1735 (Schulter), 1710, 1610, 1590, 1550 usw. - NMR.: 11,2 (s, 1H, OH). Nur 1 scharfes Signal eines phenol. OH bei tiefem Feld, 7,3 (s, 1H, H(3)). Das übliche NH-CO-Signal fehlt. 2,26 (s, 3H, H(30)).



Verbindung 66. Eine Lösung von 5 g **60** und 3 g Zitronensäure in 500 ml Methanol wurde 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Das Gemisch wurde eingedampft, der Rückstand mit Chloroform aufgenommen und an 2000 g Kieselgel mit Chloroform chromatographiert. Nach mehreren schwachen, vorauslaufenden Banden (Eluate verworfen) wanderte die Hauptmenge des Materials in zwei starken, gelbbraun gefärbten Zonen, die teilweise überlappten. Das Eluat der rascher wandernden Hauptbande wurde eingedampft und der Rückstand nochmals an 500 g Kieselgel mit Chloroform chromatographiert. Es wurden nur die starken, rasch wandernden Anteile des in einer gelben Zone wandernden Materials gesammelt. Der rasch kristallin werdende Eindampfrückstand der aufgefängenen Fraktionen wurde 2mal aus Chloroform/Methanol kristallisiert: Gelbe Kristalle vom Smp. $278\text{--}279^\circ$ (Zers.) - $M^+ = 678$. - UV.: 223 (4,65), 275 (4,34), 325 (4,11), 438 (4,43); (0,01N alkohol. HCl): 223 (4,78), 275 (4,49), 358 (4,19), 408 (4,22). - IR. (Nujol): 3640, 3540, 3480, 3240, 1730, 1715, 1650, 1605, 1555 usw. - NMR.: (CAT-Aufnahme in CDCl_3 , gesätt. Lösung): Bei tiefem Feld nur zwei durch D_2O austauschbare Protonen: 11,3 (s, 1H, phenol. OH), und $\sim 9,2$ (breites Signal, 1H, NH); 2,29 (s, ~ 3 H, H(30)).



3. Reaktionen von Rifamycin-S mit aromatischen o-Hydroxyaminen und o-Diaminen. - Rifamycin-Phenoxazinderivat 67. Eine Lösung von 34,8 g **1** und 5,45 g o-Aminophenol in 750 ml Benzol wurde bei Zimmertemperatur so lange (1 Woche) stehengelassen, bis sich kein **1** mehr nachweisen liess. Nun wurde das Gemisch eingedampft, der Rückstand in Methanol gelöst und über Nacht stehengelassen, wobei die anfangs violett gefärbte Lösung gelbrot wurde. Rohes **67** wurde durch Zugabe von verd. Natriumhydrogencarbonatlösung ausgefällt. Die abfiltrierte und mit Wasser gewaschene Fällung wurde an 1000 g Kieselgel mit Chloroform/Aceton 95:5 chromatographiert. **67** bildete eine scharfe, blutrote Bande. Der Eindampfrückstand ihres Eluats konnte nicht kristallisiert werden. - UV.: 229 (4,73), 305 (4,30), 315 (4,30), 402 (4,13), 510 (3,88). - IR.: 3700, 3520, 3400, ~ 2950 , 1725, 1670, 1655, 1605 usw. - NMR.: 14,0 (s, 1H, OH); 7,2-8,2 (m, ~ 5 H, enthält NH sowie 4 arom. H).



Hydrochinon 68 aus 67. Eine Lösung von 3 g **67** in 30 ml Methanol wurde unter Rühren tropfenweise mit Iproz. wässriger Ascorbinsäurelösung versetzt. Nach Zugabe von mehr als 50 ml der wässrigen Lösung begannen sich schwarze, glänzende Kristalle des Hydrochinons abzuscheiden. Nach 1 Std. wurden 2,5 g **68** abfiltriert und mit wässrigem Methanol gewaschen. Alle Verunreinigungen fanden sich in der braunrot gefärbten Mutterlauge. Smp. 180° (Zers.). – UV.: 227 (4,50), 335 (4,10), 500 (3,58). – IR. (CHCl₃): 3700, 3500, 3420, 3000, 1715, 1650–1665, 1600, 1550 usw.

C₄₃H₅₀N₂O₁₂ (786,88) Ber. C 65,64 H 6,41 N 3,56% Gef. C 65,66 H 6,67 N 3,57%

16,17,18,19-Tetrahydrorifamycin-Phenoxazinderivat (69). 0,211 g Rifamycin-Phenoxazinderivat wurde in 40 ml Alkohol mit 0,6 g Pd/C (10proz.) hydriert. Nach Aufnahme von 17,9 ml Wasserstoff wurde der Katalysator abfiltriert, das Filtrat so lange mit Luft gespült, bis alles Hydrochinon zum Chinon oxidiert war und das Chinon mit Wasser ausgefällt. Dreimaliges Umkristallisieren aus wässrigem Aceton lieferte reines 16,17,18,19-Tetrahydrorifamycin-Phenoxazinderivat in ziegelroten Prismen vom Smp. 260° (Zers.). – M⁺ = 788 (ber. für C₄₃H₅₂N₂O₁₂: 788). – UV.: 228 (4,59), 317 (4,32), 400 (4,13), 505 (3,88). – IR.: 3500, 3450, ~2970, 1725 (breit), 1650, 1605 usw. – NMR.: 14,0 (s, 1H, OH); 8,0 (d, 1H, arom. H neben N, J ~ 7,5, beide Signale mit J ~ 2 aufgespalten); 7,1–7,7 (m, 4H, 3 arom. H sowie NH); 6,1 (d, 1H, J ~ 12, H(29)); 1,34 (d, ~3H, J ~ 7, H(30)).

C₄₈H₅₂N₂O₁₂ (788,90) Ber. N 3,55% Gef. N 3,27%

4-Desoxo-4-(o-hydroxyphenylimino)-rifamycin-S (70) und sein 16,17,18,19-Tetrahydroderivat 71. Eine Lösung von 34,8 g **1** und 5,45 g *o*-Aminophenol in 750 ml Benzol wurde bei Zimmertemperatur 8 Tage stehengelassen. Dann war in der tiefvioletten Lösung kein **1** mehr nachzuweisen. Der Eindampfrückstand dieser Lösung wurde an 1000 g Kieselgel mit Chloroform, das 5% Aceton enthält, chromatographiert. Reines **70** wurde als dunkelviolette Bande eluiert und blieb nach dem Eindampfen seiner Lösung als nahezu schwarzes Material zurück. – UV.: 225 (4,64); 323 (4,25); ~400 (Schulter); 500 (3,80). – IR.: 3460, 3380, 3230, ~2950, 1710, ~1690 (Schulter), 1630, 1600 usw. – NMR.: 13,3 (s, 1H, OH); 9,8 (s, 1H, OH); 8,6 (s, 1H, nicht austauschend mit D₂O, H(3)); 8,3 (s, 1H, NH); 5,8–7,6 (m, 8–9H, H(17,18,19,29) sowie 4 arom. H).

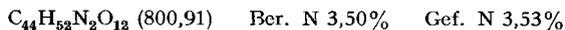
C₄₃H₅₀N₂O₁₂ (786,89) Ber. N 3,56% Gef. N 3,44%

Das analog aus 16,17,18,19-Tetrahydrorifamycin-S und *o*-Aminophenol erhaltene Tetrahydroderivat **71** kristallisierte aus Äther in dunklen, blauvioletten Nadeln vom Smp. 161°. – UV.: 283 (4,34); 318 (4,26); 543 (3,85). – IR.: 3500, 3410, 3260, ~2950, 1715, 1670, 1630, 1600 usw. – NMR.: 13,3 (s, 1H, OH); 9,9 (s, 1H, OH); 8,7 (s, 1H, nicht mit D₂O austauschend, H(3)); 8,3 (s, 1H, NH); 6,8–7,4 (m, 4H, arom. H); 1,37 (d, J ~ 7, H(30)).

Umwandlung von 70 in 67 via 75. In einem evakuierbaren und verschliessbaren U-Rohr befand sich in einem Schenkel 25 mg **70**, im anderen Schenkel ein Gemisch von 9 ml Methanol, 1 ml Wasser und 25 mg Natriumhydrogencarbonat. Dieses Gemisch wurde durch wiederholtes Kühlen auf –78° und Erwärmen bis +20° unter einem Vakuum von 0,1 Torr von gelöstem Sauerstoff befreit und danach zum Lösen der 25 mg **70** verwendet. Die violettrote Lösung blieb unter gutem Verschluss 15 Std. bei 20° stehen. Dann wurde sie mit Zitronensäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Der Extrakt enthielt neben geringen Spuren von **70** als Hauptbestandteil eine rotgefärbte Substanz **75**, die sich im DC. (Kieselgel G und zitronensaures Kieselgel, Elutionsmittel Chloroform/Aceton 9:1) deutlich von **67** oder dessen Hydrochinon **68** unterschied. **75** lieferte bei der Oxydation unter den üblichen Bedingungen das Phenoxazinderivat **67**. Zur Charakterisierung wurde letzteres in einigen Tropfen Methanol aufgenommen und durch Zugabe von wässriger Ascorbinsäurelösung zum Hydrochinon **68** reduziert, das aus der Lösung rasch auskristallisierte (12 mg); Smp. 180°.

4-Desoxo-4-(o-methoxyphenylimino)-rifamycin-S (72). 12 g Rifamycin-O wurden mit 150 ml Methanol und 5 ml *o*-Anisidin über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das nun dunkelrotbraune Gemisch wurde eingengt, mit wässriger Zitronensäurelösung angesäuert und mit Chloroform extrahiert. Das nach Waschen, Trocknen und Eindampfen des Chloroformextrakts erhaltene Material trennte sich an 1000 g Kieselgel (enthaltend 15% Wasser) mit Chloroform in zwei Anteile. Der langsamer wandernde Anteil wurde als violette Bande eluiert und gab nach wiederholter Chromatographie unter denselben Bedingungen 2,5 g 4-Desoxo-4-(*o*-methoxyphenyl-

imino)-rifamycin-S (**72**) als dunkelviolette, amorphe Substanz. UV.: 254 (4,48); 324 (4,26); 405 (3,84); 520 (3,85). – IR.: 3500, 3430, ~2950, 1730, 1710, 1670, 1610, 1590 usw.



*3-Anilino*rifamycin-S (**73**) und *3-Anilino*rifamycin-SV. Eine Lösung von 25 g Rifamycin-S in 50 ml Anilin wurde nach 24 Std. Stehen bei 20° in Äther aufgenommen und solange mit 2N HCl ausgeschüttelt, bis alles Anilin aus der Ätherlösung entfernt war. Die Ätherlösung wurde in üblicher Weise mit Kaliumferricyanidlösung oxydiert, getrocknet, eingedampft und der Rückstand an 1000 g Kieselgel mit Äther chromatographiert. Dabei waren drei farbige Zonen zu beobachten. Das Eluat der mittleren, dunkelgrünen Zone wurde gesammelt und eingedampft; der Rückstand bestand aus reinem *3-Anilino*rifamycin-S (**73**). – UV.: 261 (4,43), 325 (4,47), 388 (3,77), 580 (3,66). – IR.: 3480, 3380, ~2950, 1735, 1715, 1680, 1635, 1610 usw. – NMR.: 7,7 (s, 1H, NH des Anilino-restes); 6,8–7,5 (m, 5H, Aromat. H); 1,58 (s, 3H, H(30)).

Das aus **73** in üblicher Weise durch Reduktion mit Ascorbinsäure dargestellte *3-Anilino*rifamycin-SV kristallisierte aus Methanol in gelben Prismen vom Smp. 165–166°; $M^+ = 788$ (ber. für $C_{43}H_{52}N_2O_{12}$: 788).

3-(o-Anisidino)-rifamycin-S (**74**). Eine Lösung von 1,5 g **1** in 150 ml *o*-Anisidin wurde nach einer Woche Stehen bei Zimmertemperatur mit einem Gemisch aus 2N Salzsäure und Eis angesäuert und mit Äther/Chloroform 5:1 extrahiert. Die Ätherphase wurde mit Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand trennte sich bei der Chromatographie an 750 g Kieselgel mit Chloroform in mehrere Banden. Das gewünschte **74** wurde nach anfänglich gelben, später grünlichgelben Fraktionen in reinfarbig dunkelgrüner Lösung eluiert. Die Wiederholung der Chromatographie unter gleichen Bedingungen lieferte 500 mg völlig reines **74** als dunkelgrünes, nahezu schwarzes Material. – $M^+ + 1 = 817$ (ber. für $C_{44}H_{52}O_{13}$: 816). – UV.: 262 (4,42); 331 (4,14); ~400 (Schulter); 580 (3,45). – IR.: 3480, 3360, ~2950, 1730, 1710, 1675, 1630, 1610 usw. – NMR.: 13,6 (s, 1H, OH); 8,3 (s, 1H, NH); 7,7 (s, 1H, NH); 3,90 (s, 3H, OCH₃); 1,62 (s, ~3H, H(30)). Kein Signal für H(3); OH- und NH-Signale wurden durch Austausch mit D₂O identifiziert.

Allgemeine Darstellungsweise von Rifamycin-phenoxazinderivaten (Tab. 2). Äquivalente Mengen von Rifamycin-S und 1,2-Aminophenolderivat wurden in der eben ausreichenden Menge Benzol oder Toluol gelöst. Beim Stehen bei Raumtemperatur färbte sich die Lösung allmählich tiefviolett,

Tabelle 2. Kondensationsprodukte von Rifamycin-S (**1**) mit aromatischen *o*-Hydroxyaminen

| Nr. | Zur Darstellung verwendetes Reagens | Smp. (Zers.) | N | | UV.-Spektrum in 0,01N alkohol. NaOH nm (loge) |
|-----------|--|------------------------|------|------|---|
| | | | Ber. | Gef. | |
| 76 | 2-Amino-6-methyl-phenol ^{a)} | 175–76° | 3,56 | 3,39 | 228 (4,66), 300 (4,27), 323 (4,27), 401 (4,12), 515 (3,88) |
| 77 | 2-Amino-5-methyl-phenol ^{b)} | 185–87° (Umw: 145°) | 3,56 | 3,30 | 230 (4,65), 303 (4,22), 323 (4,22), 408 (4,11), 515 (3,95) |
| 78 | 2-Amino-4-methyl-phenol ^{c)} | amorph | 3,56 | 3,22 | 229 (4,70), 304 (4,26), 324 (4,30), 405 (4,09), 522 (3,90) |
| 79 | 1-Amino-2-naphthol ^{d)} | 211–12° | 3,36 | 3,33 | ~285 (Schulter), 332 (4,24), 440 (4,03), 560 (4,09) |
| 80 | 2-Amino-4-chlor-phenol ^{e)} | amorph | 3,42 | 3,36 | 230 (4,68), 304 (4,31), 316 (4,31), 406 (4,07), 517 (3,82) |

a) Ber. deutsch. chem. Ges. 14, 570 (1881).

b) Liebigs Ann. Chem. 322, 18 (1902).

c) Ber. deutsch. chem. Ges. 7, 1270 (1874).

d) Org. Synth., Coll. Vol. 2, New York 1950.

e) Käuflich (Fluka).

wobei nach einiger Zeit im DC. kein **1** mehr nachweisbar war. Nun wurde eingedampft und der Rückstand in 90proz. wässrigem Methanol gelöst. Beim Stehen wurde die anfangs violett gefärbte Lösung allmählich blutrot. Nach dem völligen Verschwinden der violetten Farbe wurde mit Wasser versetzt, das Reaktionsprodukt in Chloroform oder Essigester aufgenommen und der Extrakt eingedampft. Aus dem Rückstand liess sich das Rifamycin-Phenoxazinderivat durch Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform oder Methylenchlorid/Aceton als rotgefärbte Bande von den anderen Komponenten des Reaktionsgemischs in reiner Form abtrennen.

Tabelle 3. Kondensationsprodukte von Rifamycin-S (**1**) mit aromatischen *o*-Diaminen

| Nr. | Zur Darstellung verwendetes Reagens | Smp. | Isomeres | N | | UV.-Spektrum in 0,01N alkohol. NaOH Maxima in nm (log ϵ) |
|------------|---|----------------------------|----------|------|------|--|
| | | | | Ber. | Gef. | |
| 81 | 1,2-Diaminobenzol ^{a)} | 183–84° | – | 5,36 | 5,30 | 247 (4,77), ~285 (Schulter), 342 (4,53), 527 (3,92) |
| 82 | 1,2-Diaminobenzol ^{a) *)} | 188–89° | – | 5,33 | 5,04 | 247 (4,62), 282 (4,41), 343 (4,47), 530 (3,88) |
| 83a | 2,3-Diaminotoluol ^{b)} | amorph | <i>s</i> | 5,27 | 5,06 | 246 (4,82), ~290 (Schulter), 341 (4,57), 520 (4,06) |
| 83b | | 190–91° | <i>l</i> | 5,27 | 5,13 | 247 (4,80), ~290 (Schulter), 343 (4,53), 520 (4,03) |
| 84a | 3,4-Diaminotoluol ^{a)} | 192–93° | <i>s</i> | 5,27 | 5,29 | 246 (4,79), ~290 (Schulter), 343 (4,53), 520 (4,03) |
| 84b | | 199–201° | <i>l</i> | 5,27 | 5,32 | 246 (4,69), ~285 (Schulter), 345 (4,43), 520 (3,94) |
| 85 | 4,5-Diamino- <i>o</i> -xylo ^{c)} | amorph | – | 5,18 | 5,02 | 246 (4,78), ~290 (Schulter) 345 (4,50), 515 (3,98) |
| 86 | 2,3-Diamino-5,6,7,8-tetra- hydronaphthalin ^{d)} | amorph | – | 5,01 | 4,78 | 248 (4,88), 345 (4,62), 510 (4,16) |
| 87a | 2,3-Diamino-äthylbenzol ^{e)} | 140° (Umw ?) 165–67° | <i>s</i> | 5,18 | 5,05 | 245 (4,76), ~290 (Schulter), 340 (4,51), 515 (3,92) |
| 87b | | 166–68° | <i>l</i> | 5,18 | 5,34 | 247 (4,70), ~290 (Schulter), 343 (4,45), 515 (3,87) |
| 88 | 1,2-Diamino-4-chlor- benzol ^{a)} | 184–87° | – | 5,02 | 4,84 | 247 (4,75), ~285 (Schulter), 345 (4,49), 535 (3,91) |
| 89 | 1,2-Diaminonaphthalin ^{a)} | 205–10° | – | 5,04 | 4,94 | 254 (4,67), 294 (4,55), 357 (4,49), 520 (4,04) |
| 90 | 2,3-Diaminopyridin ^{a)} | 173–75° | – | 7,14 | 6,94 | 227 (4,62), 260 (4,52), 321 (4,66), 500 (3,98) |

*) Kondensationsprodukt mit 16,17,18,19-Tetrahydrorifamycin-S.

a) Käuflich (*Fluka*).

b) Ber. deutsch. chem. Ges. 24, 565 (1891).

c) Ber. deutsch. chem. Ges. 34, 2252 (1901).

d) Liebigs Ann. Chem. 426, 74 (1922).

e) Dargestellt durch kat. Hydrierung (*Raney-Ni*) von 3-Nitro-2-amino-äthylbenzol.

Allgemeine Darstellungsweise von Rifamycin-Phenazinderivaten (Tab. 3). Äquivalente Mengen von Rifamycin-S und arom. *o*-Diaminoverbindung wurden in der eben ausreichenden Menge Benzol oder Toluol gelöst. Beim Stehen bei Raumtemperatur färbte sich die Lösung allmählich dunkelgrün. Sobald im DC. kein Rifamycin-S mehr nachweisbar war, wurde eingedampft und der Rückstand in üblicher Weise mit Kaliumferricyanidlösung oxydiert. Die Reindarstellung des Rifamycin-Phenazinderivats gelang entweder durch Chromatographie oder durch Verteilung. Bei der Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform (nötigenfalls einige Procente Aceton oder Methanol enthaltend) trennte sich das rohe Reaktionsgemisch so weit, dass sich das reine Phenazinderivat als dunkelgrüne Bande abschied. Bei der Reinigung durch Verteilung wurde das oxydierte Reaktionsgemisch in Chloroform/Äther 1:5 gelöst und solange mit verdünnter Hydrogencarbonatlösung ausgezogen, bis sich die Extrakte nicht mehr deutlich rot färbten. Die vereinigten Extrakte wurden angesäuert und das ausgeschiedene Phenazinderivat mit Äther oder Chloroform aufgenommen. Die Reaktion von **1** mit unsymmetrisch substituierten *o*-Phenylendiaminen ergab meist zwei isomere Phenazinderivate, die durch Chromatographie an Silicagel mit Chloroform zu trennen waren. Die schneller eluierte Komponente wurde als *s*-Isomeres, die langsamer eluierte Komponente als *l*-Isomeres bezeichnet (vgl. Tab. 3).

4. Reaktionen von Rifamycin-S mit Carbanionen. – 3-(Di-äthoxycarbonyl-methyl)-rifamycin-S (**91b**). Ein Gemisch von 20 g **1**, 40 g Malonsäure-diäthylester und 4,5 g Na-Äthylat wurde 15 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit Zitronensäure angesäuert, stark mit Wasser verdünnt und mit Äther/Chloroform 4:1 ausgeschüttelt. Nach dem Abtrennen der zitronensauren wässrigen Phase wurde die ätherische Lösung erschöpfend mit Natriumhydrogencarbonatlösung extrahiert. Beim Ansäuern der vereinigten Extrakte entstand eine gelbe Fällung, die abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Methanol umkristallisiert wurde. Man erhielt über 20 g 3-(Di-äthoxycarbonyl-methyl)-rifamycin-SV (**91a**) in zitronengelben Nadeln vom Smp. 192–193°. Übliche Oxydation dieses Hydrochinons mit überschüssigem Kaliumferricyanid lieferte 3-(Di-äthoxycarbonyl-methyl)-rifamycin-S (**91b**), das nach 2maligem Kristallisieren aus Äther gelbe Blättchen vom Smp. 184–185° (Zers.) bildete. – UV.: 277 (4,47), 400 (3,70). – IR.: 3480, 3390, ~2950, 1740 (stark, breit, mit Schulter bei ~1710), 1670, 1630, 1603 usw. – NMR.: 4,90 (*s*, ~1H, CH(COOEt)₂); die Äthylgruppen des Malonesterrestes verursachen folgende Signale: 1,21 und 1,26 (je 1*t*, zusammen 6H) sowie je 1*q* zentriert bei 4,11 und 4,19, *J* ~ 7.

C₄₄H₅₅NO₁₆ (853,92) Ber. C 61,89 H 6,49 N 1,64% Gef. C 61,70 H 6,59 N 1,38%

2-(Rifamycin-SV-3-yl)-acetessigsäure-äthylester (**92a**). Ein Gemisch aus 8 g **1**, 7 g Na-Äthylat, 50 ml Acetessigsäure-äthylester und 50 ml absolutem Äthanol wurde nach 2 Tagen Stehen bei Zimmertemperatur unter Kühlung mit Zitronensäurelösung angesäuert und mit Chloroform extrahiert. Der Eindampfdruckstand des Chloroformextraktes kristallisierte aus Methanol und lieferte nach mehrmaligem Umkristallisieren 7 g **92a** in gelben Kristallen vom Smp. 214° (Zers.). – UV.: 227 (4,60), 320 (4,29), 453 (4,18); in 0,01 *N* alkohol. HCl: 274 (4,47), 350 (3,79). – IR.: 3500, 3300–2200 (breit), 1735, 1715, 1660, 1640, 1620 usw. – NMR.: Methinproton des Acetessigesterrests bei 5,70 (*s*, 1H); 1,99 und 2,06 (je 1*s*, je 3H, CH₃COO an C(25) und CH₃CO); 1,30 (*t*, *J* ~ 7, 3H, Methylsignal des Äthylesterrests).

C₄₃H₅₅NO₁₅ (825,92) Ber. C 62,53 H 6,71 N 1,70% Gef. C 62,46 H 6,70 N 1,70%

3-Nitromethyl-rifamycin-S (**93b**). Ein Gemisch von 25 g Rifamycin-S, 50 ml Nitromethan und 5 g Natriumäthylat wurde mit so viel Dimethylsulfoxid versetzt, dass eine klare Lösung entstand. Diese Lösung blieb so lange bei 20° stehen bis ihre anfänglich violette Farbe nach Gelbbraun umgeschlagen war. Nun wurde mit wässriger Zitronensäurelösung angesäuert und mit Chloroform extrahiert. Der Chloroformextrakt wurde mit Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und bei 70°/1 Torr eingedampft. Aus der methanolischen Lösung des Rückstandes kristallisierten nach einigem Stehen bei 0° gelbe Kristalle von 3-Nitromethylrifamycin-SV (**93a**) (Smp. 239–241°). Die Kristalle wurden abfiltriert, 2mal aus Methanol umkristallisiert und danach in wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung gelöst. Die übliche Oxydation zum Chinon durch Zugabe von wässriger Kaliumferricyanidlösung im Überschuss, Ansäuern des Oxydationsgemischs mit Zitronensäure und Extraktion mit Chloroform lieferte ein Material, das aus Methanol kristallisierte. Nach 2maliger Kristallisation aus Methanol wurden über 6 g 3-Nitromethyl-rifamycin-S (**93b**) in gelben Prismen vom Smp. 155–160° erhalten. – UV.: 275 (4,40), 390 (3,72). – IR.: 3480, 3390,

~2950, 1740, 1710, 1670, 1630, 1605, 1575 usw. – NMR.: Methylenprotonen der Nitromethylgruppe in *AB*-System bei 5,78 und 5,69 (*J* ~ 16, 2H), kein H(3).

$C_{38}H_{46}N_2O_{14}$ (754,76) Ber. C 60,47 H 6,14 N 3,71% Gef. C 60,19 H 6,21 N 3,56%

3-(Diacetyl-methyl)-rifamycin-S (94b). Eine Lösung von 4,0 g Rifamycin-S in 50 ml abs. Äthanol wurde mit 10 ml Acetylaceton und 1,4 g Natriumäthylat versetzt und 15 Min. bei 30° stehengelassen. Danach wurde mit wässriger Zitronensäurelösung angesäuert, mit Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Nach dem Eindampfen des Extraktes und der üblichen Oxydation des Rückstandes mit Kaliumferricyanid wurde mit Chloroform extrahiert. Der Abdampfrückstand des Chloroformextraktes, ein gelbbraunes Harz, liess sich durch Chromatographie an 500 g Kieselgel mit Chloroform in raschwanderndes Rifamycin-S und langsamer wanderndes **94b** auftrennen. Eine dunkle Zone von verharztem Material blieb auf der Säule zurück. Das Eluat der Hauptmenge hinterliess nach dem Eindampfen 3,1 g amorphes **94b**, das direkt analysiert wurde. – UV.: 215 (4,51), 276 (4,49), ~380 (Schulter); – IR.: 3470, 3380, ~2980, 1740, 1710, 1665, 1635, 1600 usw. – NMR.: 3 Acetylsignale bei 2,08, 2,05 sowie 1,91.

$C_{42}H_{51}NO_{14}$ (793,87) Ber. C 63,54 H 6,48 N 1,76% Gef. C 63,26 H 6,56 N 1,79%

5. Reaktionen von Rifamycin-S mit Enaminen. – *Verbindungen 95 und 96: Reaktion von 1 mit Cyclohexenylmorpholin.* Eine Lösung von 25 g Rifamycin-S in 100 ml Dioxan wurde bei 20° mit 7,0 g Cyclohexenylmorpholin versetzt und so lange stehengelassen, bis das Gemisch gelborange geworden war. Nun wurde mit 1000 ml Äther versetzt und mit Zitronensäurelösung angesäuert. Die abgetrennte ätherische Lösung wurde so lange mit verdünnter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, bis die wässrige Phase farblos blieb. Die Ätherlösung wurde getrocknet, eingedampft und der orangefarbene Rückstand in Methanol aufgenommen. Aus dieser Lösung schied sich bei tropfenweisem Versetzen mit konzentrierter, wässriger Natriumascorbatlösung rote Kristalle ab. Nach mehrstündigem Stehen bei 0° wurde filtriert, das Kristallisat mit Wasser gewaschen und noch 2mal aus wässrigem, 80proz. Methanol umkristallisiert. Man erhielt über 9 g Rifamycin-Cyclohexenylderivat (**95**) als Hydrochinon in roten Prismen vom Smp. 180–181°. – UV.: 240 (4,55), 302 (4,27), 495 (4,08). – IR.: 3680, 3500, ~2970, 1715, 1650, 1620, 1590, 1540 usw. – NMR.: tiefer als 4 ppm nur 3 Signale, die mit D₂O verschwinden: 11,5, 12,6 und 13,1 (je 1s mit 1H, OH an C(1), C(4) und C(8)); kein Signal für H(3) oder NH.

$C_{43}H_{53}NO_{12}$ (775,90) Ber. N 1,81% Gef. N 1,61%

Die übliche Oxydation mit Kaliumferricyanid verwandelte **95** in ein orangerot gefärbtes Chinon **96**, das nicht kristallisiert werden konnte. – *M*⁺ = 773 (ber. für $C_{43}H_{51}NO_{12}$: 773). – UV.: 279 (4,41), 301 (4,39), 375 (3,76), 480 (3,63). – IR.: 3500, ~2970, 1735, 1710, 1675, 1635, 1570 usw. – NMR.: Nur ein mit D₂O austauschbares Signal bei tiefem Feld (13,6); kein Signal für H(3) oder NH.

$C_{48}H_{51}NO_{12}$ (773,88) Ber. N 1,81% Gef. N 1,77%

Verbindung 97: Reaktion von Rifamycin-S mit Cyclopentenylpyrrolidin. Eine Lösung von 20 g **1** in 100 ml Dioxan wurde mit 10 g Cyclopentenylpyrrolidin versetzt, wobei zunächst Violettfärbung, danach jedoch rasch Farbumschlag nach Gelb auftrat und das Gemisch kristallinisch erstarrte. Nach Verrühren mit Dioxan wurde das kristalline Material abfiltriert und 2mal aus reichlich Methanol umkristallisiert. **97** bildete lange, gelbe, in den meisten organischen Lösungsmitteln wenig lösliche Nadeln. Smp. 195° (Zers.). – UV.: 316 (4,29), 448 (4,14); in 0,01N alkohol. HCl: 276 (4,47), 340 (3,93). – NMR.: Nur drei mit D₂O austauschbare Signale bei tiefem Feld: 16,0, 13,1 und 8,3 (je 1s, je 1H, 2 phenol. OH sowie NH); 2,02 (s, ~9H, H(14), Acetyl und H(30)).

$C_{45}H_{60}N_2O_{12}$ (832,99) Ber. N 3,36% Gef. N 3,36%

Verbindung 98: Reaktion von 1 mit Cyclopentenyl-hexamethylenimin. Eine Lösung von 25 g **1** in 150 ml Dioxan wurde mit 11 g Cyclopentenyl-hexamethylenimin versetzt und bei Zimmertemperatur stehengelassen. Bereits nach wenigen Min. war die anfangs tiefviolette Farbe des Gemischs nach Gelbbraun umgeschlagen und das Gemisch gallertig erstarrt. Es wurde in Chloroform gelöst, mit wässriger Zitronensäurelösung ausgeschüttelt, die Chloroformphase getrocknet und eingedampft. Der Rückstand löste sich in Methanol als Gallerte, die nach einigem Stehen kristallinisch erstarrte. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Methanol erhielt man über 15 g in feinen Nadeln kristallisierendes Produkt **98**, das ohne zu schmelzen ab etwa 200° allmählich verkohlte. – UV. (0,01N alkohol. HCl): 217 (4,57), 270 (4,31), ~300 (Schulter), 440 (3,95). – IR.: 3460, 3400,

~2900, 1710, 1655 usw. – NMR.: bei tiefem Feld nur Signale von OH bei 13,3 (*s*, 1H) und NH bei 8,3 (*s*, 1H); 2,10 (*s*, 8–9H, CH₃COO sowie H(14) und H(30)).

C₄₈H₈₄N₂O₁₂ (861,05) Ber. C 66,96 H 7,49 N 3,25% Gef. C 66,67 H 7,59 N 3,13%

Reversible Oxydation von **98**: Eine Lösung von 50 mg **98** in 100 ml Methanol wurde bei 20° mit 100 ml 2proz. Kaliumferricyanidlösung versetzt. Die dabei entstandene klare, etwas dunkler werdende Lösung wurde nach 4 Min. mit Zitronensäure angesäuert und mit Chloroform ausgezogen. Der Chloroformextrakt enthielt das aus **98** gebildete instabile Chinon, dessen alkalische Lösung violettrot war und das im DC. (Kieselgel G, Chloroform/Methanol 8:2) deutlich langsamer wanderte als **98**. Nach dem Eindampfen der Chloroformlösung wurde der Rückstand in üblicher Weise mit Ascorbinsäure reduziert und das Reduktionsprodukt in Chloroform aufgenommen. Der Eindampfrückstand bildete aus Methanol gelbe, nadelige Kristalle, die in Aussehen, Zersetzungsverhalten, Dünnschichtchromatographie und IR.-Spektrum mit **98** identisch waren.

Verbindungen 99 und 100: Reaktion von Rifamycin-S mit Isobutyliden-dimethylamin. Enaminreagens: Bei 30° wurden in 130 ml Toluol unter Zugabe von 130 g Kaliumcarbonat 80 g Isobutyraldehyd und 50 g Dimethylamin getropft; nach 3stündigem Stehen bei 20° wurde die Mischung verwendet.

Eine Lösung von 35 g **1** in 100 ml Dioxan wurde mit 50 ml Enaminreagens versetzt. Nach 6 Std. Stehen bei Zimmertemperatur wurde mit Chloroform versetzt und mit wässriger Zitronensäurelösung auf pH 5 gestellt. Nach kräftigem Verrühren wurde die Chloroformphase abgetrennt, durch Verrühren mit 300 ml 10proz. Kaliumferricyanidlösung oxydiert, danach wieder abgetrennt, getrocknet und eingedampft. Der braune Rückstand wurde an 1000 g Kieselgel chromatographiert. Äther eluierte der Reihe nach die Produkte **99**, **100**, **1** und **3 b**. Die das Produkt **100** enthaltenden Eluate waren mit **1** verunreinigt und wurden nochmals an der 100fachen Menge Kieselgel chromatographiert, wobei **100** rein erhalten wurde.

99 bildete aus wässrigem Methanol 6,2 g gelbe Kristalle. Kein Smp., sondern allmähliche Zersetzung ab 200°. – UV.: 230 (4,62), 250 (4,42), 300 (4,25), 318 (4,29), 450 (3,98). – IR.: 3700, 3500, ~2950, 1715, 1660, 1625, 1590, 1545 usw. – NMR.: 12,9, 12,6 und 11,1 (je 1*s*, je 1H, je 1 phenol. OH); 3,03 (*s*, 3H, OCH₃); 2,16 (*s*, 6H, H(14) und NCH₃); 2,04 (*s*, 3H, OCOCH₃); 1,80 (*s*, 3H, H(13)); 1,68 (*s*, 3H, H(30) oder NCH₃); 1,55 (*s*, 6H, CH₃ des Isobutenylrestes sowie NCH₃ oder H(30)); 1,23 (*s*, 3H, CH₃ des Isobutenylrestes); *d* von CHCH₃ bei 0,99, 0,78, 0,54 und – 0,21. Gesamtzahl an tert. Methylgruppen: 9.

C₄₈H₅₈N₂O₁₂ (794,94) Ber. C 64,97 H 7,35 N 3,52% Gef. C 64,35 H 7,17 N 3,44%

100 bildete aus wässrigem Methanol 2,5 g gelbe Kristalle, die sich ab 250° zersetzten. – UV.: 230 (4,64), 250 (4,45), 300 (4,28), 315 (4,29), 445 (3,97). – IR.: 3460, 2950, 1715, 1650, 1625, 1585, 1545 usw. – NMR.: 13, stark verbreitertes Signal, 2H; 11,5 (*s*, 1H); 4,64 (*s*, 1H); 1,62 und 1,31 (je 1*s*, je 3H, geminale CH₃).

C₄₁H₅₃NO₁₃ (767,87) Ber. C 64,13 H 6,96 N 1,82% Gef. C 64,03 H 6,97 N 1,64%

6. Bestrahlungsprodukte N-subst. 3-Aminorifamycine. – *Verbindungen 101 und 102: Bestrahlung von 3-Diäthylamino-rifamycin-S (5b).* In einer Spirale aus Pyrexglasrohr (∅ = 2,5 mm) wurde eine 0,4proz. Lösung von 3-Diäthylamino-rifamycin-S (**5b**) in Toluol um eine Hg-Hochdrucklampe (Hanau Q 81) herumfließen gelassen. Die Durchflussgeschwindigkeit war dabei so bemessen, dass die vor der Bestrahlung rotviolette Lösung beim Ausfluss aus der Spirale rein gelb geworden war. Die Temperatur der ausfließenden bestrahlten Lösung betrug etwa 35°. Nach dem Eindampfen der bestrahlten Lösung blieb ein gelbes Harz zurück. 5 g dieses Harzes wurden in Chloroformlösung durch 100 g Kieselgel filtriert, wobei ein klar gelbes Filtrat erhalten wurde, während dunkle Anteile als Kopfzone an der Säule zurückgehalten wurden. Der Eindampfrückstand des Filtrats lieferte nach 2maligem Umkristallisieren aus 90proz. wässrigem Methanol 2,5 g **101** in gelben Prismen vom Smp. 244° (Zers.). – *M*⁺ = 766 (ber. für C₄₁H₅₄N₂O₁₂: 766). – UV. (0,01*N* alkohol. HCl): 225 (4,42), 293 (4,41), 457 (3,97). – NMR.: tiefer als 4,2 nur drei mit D₂O austauschbare H bei 11,5, 12,3 und 13,5 (je 1*s* mit 3H, 3 phenol. OH); 5,23 (*q* teilweise überlappend mit *d* × *d* von H(28), ~1H, *J* ~ 6, CH₃CH<N); 1,40 (*d*, ~3H, *J* ~ 6, CH₃CH<N); N-Äthyl bei 1,16 (*t*, ~3H) sowie 3,45 (*g*, überlappend mit *m*).

Das aus dem hydrochinoiden Bestrahlungsprodukt in üblicher Weise durch Oxydation mit Kaliumferricyanid gewonnene Chinon **102** kristallisierte aus Äther und wurde noch 2mal aus Methanol umkristallisiert: Grüne Kristalle vom Smp. 218° (Zers.). – UV.: 230 (4,50), 254 (4,41), 270 (4,41), 344 (4,12), 640 (3,08). – IR.: 3480, 2950, 2900, 1735, 1715, 1680, 1640 (Schulter), 1625 usw. – NMR.: 14,0 (s, 1H, OH); 1,47 (d, ~3H, $J \sim 6$, $\text{CH}_3\text{CH} \begin{smallmatrix} \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \end{smallmatrix}$); 1,25 (t, 3H, $J \sim 7$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}$).

$\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{12}$ (764,87) Ber. C 64,38 H 6,85 N 3,66% Gef. C 64,09 H 6,91 N 3,66%

Spaltung von 101 zu 3-Äthylamino-rifamycin-SV (4b). Eine Lösung von 70 mg **101** in 2 ml Wasser und 4 ml Methanol wurde mit 30 mg Ascorbinsäure versetzt und 24 Std. bei 40° stehengelassen. Dann wurde mit Natriumhydrogencarbonat alkalisch gemacht, in üblicher Weise mit Kaliumferricyanid oxydiert und mit Äther ausgeschüttelt. Das mit Äther extrahierte Material kristallisierte aus Äther und wurde einmal aus wässrigem Methanol umkristallisiert. Man erhielt 30 mg rotbraune Kristalle von 3-Äthylamino-rifamycin-S (**4b**), das durch DC. (zitronensaures Kieselgel, Methylchlorid/Aceton 9:1), UV.- und IR.-Spektren identifiziert wurde.

Verbindung 103 und das entsprechende Chinon. Bestrahlung von 3-Dimethylamino-rifamycin-S (**3b**) unter den für die Darstellung von **101** beschriebenen Bedingungen lieferte eine gelbgefärbte, hydrochinoide Verbindung, die aus Methanol gelbe Kristalle vom Smp. 191° (Zers.) bildete. – UV. (0,01 N alkohol. HCl): 223 (4,50), 254 (4,40), 290 (4,41), 325 (Schulter), 455 (3,95). – IR.: 3500, Bandengruppe zwischen 3150 und 2700, 1715, 1660, 1640, 1595, 1550 usw. – NMR.: 11,5–12,5 (breites Signal, 1H); 11,3 (s, 1H); 4,7–5,4 (m, aus dem bei 4,93 ein Signal herausragt, 4H, verursacht von H(28), H(25) sowie von CH_3NCH_2-); 3,08 und 3,06 (je 1s, zusammen 6H, OCH_3 und NCH_3).

$\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{12}$ (738,85) Ber. C 63,40 H 6,82 N 3,79% Gef. C 63,39 H 6,83 N 3,80%

103 liess sich mit Kaliumferricyanid in üblicher Weise zum Chinon oxydieren, das aus Äther/Hexan dunkelgrüne Kristalle vom Smp. 155–156° (Zers.) bildete. – UV.: 220 (4,41), 230 (4,42), 270 (4,35), 337 (4,05), 635 (3,20). – IR.: 3480, ~2950, 2900, 1735, 1715, 1677, 1625, 1565 usw. – NMR.: 13,7 (s, 1H, einziges mit D_2O austauschbares Signal tiefer als 4,5); 4,7–6,4 (m, 8H, H(17), H(18), H(19), H(28), H(29) sowie H(25) und NCH_2N); 3,34 (s, 3H, NCH_3).

Verbindung 104 und das entsprechende Chinon. In der gleichen Weise wie bei der Bildung von **101** wurde eine 0,5proz. Lösung von 3-Pyrrolidinorifamycin-S (**16**) in Toluol bestrahlt. Der Eindampfrückstand der Bestrahlungslösung kristallisierte aus wässrigem Methanol. Nach 2maligem Umkristallisieren aus 90proz. wässrigem Methanol wurde **104** in orangegelben, quadratischen Platten vom Smp. 217–218° (Zers.) erhalten. – UV.: 225 (4,53), 250 (4,43), 280 (4,32), 320 (4,29), 452 (3,99). – NMR.: unterhalb 4,0 nur drei mit D_2O austauschbare H bei 11,3, 12,3 und 13,8 (je 1s mit 3H, 3 phenol. OH); 5,38 (t, 1H, $J \sim 6$, $-\text{CH}_2\text{CH} \begin{smallmatrix} \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \end{smallmatrix}$).

Übliche Oxydation von **104** ohne Verwendung von Methanol oder Äthanol ergab ein grünes Chinon mit folgenden Eigenschaften: UV. (Cyclohexan): 226 (4,51), 273 (4,42), 337 (4,08), ~395 (Schulter), 630 (3,06). – IR.: 3450, ~2900, 1730, 1710, 1670, 1625, 1570 usw. – NMR.: bei tiefem Feld nur ein OH-Signal bei 13,4 (s, 1H).

Verbindungen 105a und 105b. Eine Lösung von 0,4 g Rifamycin-S in 4 ml reinem 1, 2, 3, 4-Tetrahydroisochinolin und 2 ml Dioxan wurde nach 1 Std. Stehen bei Zimmertemperatur in Äther/Chloroform 5:1 aufgenommen. Nach Entfernen von allem 1, 2, 3, 4-Tetrahydroisochinolin durch mehrmaliges Ausschütteln mit wässriger Zitronensäurelösung wurde die organische Phase in üblicher Weise mit Ascorbinsäure reduziert, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde an Kieselgel mit Chloroform chromatographiert. Es entwickelten sich drei gelbe Banden. Nach der ersten schwachen Bande (60 mg) wurde die Hauptmenge in einer starken gelben Bande eluiert, die Verbindung **105a** enthielt (220 mg). **105a** lieferte aus wässrigem Äthanol gelbe Kristalle vom Smp. 175°. – UV. (0,01 N alkohol. HCl): ~230 (Schulter), 269 (4,48), 325 (4,17), ~420 (Schulter), 540 (3,20).

$\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{12}$ (828,96) Ber. C 66,65 H 6,81 N 3,38% Gef. C 66,72 H 7,00 N 3,44%

Übliche Oxydation von **105a** ergab das Chinon **105b**, das wegen seiner ausserordentlichen Instabilität sofort weiterverarbeitet wurde.

Verbindung 106. In der gleichen Weise wie bei der Photoumwandlung von **5b** zu **101** wurde eine 0,5proz. Lösung von **105b** (frisch bereitet bei 0°) in 2-Propanol bei 0° bestrahlt. Die weinrote Farbe der Lösung schlug praktisch sofort nach gelb um. Die gelbe Bestrahlungslösung hinterliess nach dem Eindampfen annähernd quantitativ Verbindung **106**, die aus verdünntem Methanol kristallisierte. Umkristallisation aus Äther gab gelbe Kristalle vom Smp. 206–207° (Zers.). – UV. (0,01N alkohol. HCl): 232 (4,56), 264 (4,52), 324 (4,21), ~410 (Schulter). – NMR.: 6,9–7,6 (*m*, ~4 arom. H); 5,9–6,7 (*m*, 5H, HC $\begin{smallmatrix} \text{N} \\ \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$ sowie 4 vinyl. H); nur 3 Signale bei tiefem Feld: 13,0 (*s*, 1H, OH); 11,9 (*s*, 1H, OH) und 11,4 (*s*, 1H, OH).

C₄₆H₅₄N₂O₁₂ (826,95) Ber. C 66,81 H 6,58 N 3,39% Gef. C 66,31 H 6,48 N 3,39%

Für Aufnahme und Diskussion der Spektren danken wir den Herren Drs. *J. Bersier, H. Fuhrer, H. Hürzeler, F. Stuber* und *R. Zürcher*. Herrn Dr. *W. Padowetz* danken wir für die Mikroanalysen.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 8. Mitteilung: *W. Kump & H. Bickel*, *Helv.* **56**, 2323 (1973).
- [2] *N. Maggi, V. Arioli & P. Sensi*, *J. med. Chemistry* **8**, 790 (1965).
- [3] *N. Maggi & N. Pallanza*, *Il Farmaco*, Ed. sc. **22**, 307 (1967).
- [4] *H. Bickel, F. Knüsel, W. Kump & L. Neipp*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1966**, 352.
- [5] *F. Knüsel, H. Bickel & W. Kump*, *Experientia* **25**, 1207 (1969); *M. Green, J. Bragdon & A. Rankin*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **69**, 1294 (1972).
- [6] *W. Oppolzer, V. Prelog & P. Sensi*, *Experientia* **20**, 336 (1964); *A. M. Greco, R. Ballotta & P. Sensi*, *Il Farmaco*, Ed. sc. **16**, 755 (1961).
- [7] *W. Ried & R. Dietrich*, *Chem. Ber.* **94**, 387 (1961).
- [8] *R. Cricchio & G. Tamborini*, *J. med. Chemistry* **14**, 721 (1971).
- [9] *G. G. Gallo, C. R. Pasqualucci, N. Maggi, R. Ballotta & P. Sensi*, *Il Farmaco*, Ed. sc. **21**, 68 (1965).
- [10] *G. Hartmann, K. O. Honikel, F. Knüsel & J. Nüesch*, *Biochim. biophys. Acta* **145**, 843 (1967).
- [11] *W. Wehly & M. Staehelin*, *Biochim. biophys. Acta* **182**, 24 (1969).
- [12] *K. Ley & R. Nast*, *Angew. Chem.* **79**, 150 (1967).

245. Zuordnung des ¹³C-NMR.-Spektrums von Rifamycin-S aufgrund der selektiven Protonen-Entkopplung

von Hermann Fuhrer

Physikalische Abteilung, Funktion Forschung CIBA-GEIGY AG, Basel

(6. VIII. 73)

Summary. ¹³C-NMR. spectra of rifamycin-S and some of its derivatives have been measured. A unambiguous assignment of the signals, due to the hydrogen bearing ¹³C atoms, was possible with heteronuclear double resonance experiments. On the other hand the resonances of the quaternary ¹³C atoms could be ascribed only tentatively. ¹³C-NMR. spectroscopy gives a more complete picture of the rifamycins, especially about the naphthoquinone chromophore, than previously obtained by ¹H-NMR.

1. Einleitung. – In den vorangehenden Arbeiten [1–2] wurde über die chemischen Modifikationen von Rifamycin-S berichtet, während hier die ¹³C-NMR.-Spektren dieser biologisch wichtigen Verbindungsklasse besprochen werden. Die Struktur der Rifamycine kann durch ¹H-NMR. gut untersucht werden [3]; es war aber nahelie-