

SPECIALIA

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несёт исключительно автор. – El responsable de los informes reducidos está el autor.

Rifamycin Y und seine Umwandlungsprodukte

Streptomyces mediterranei produziert in Kulturmedien, welche Natriumdiäthylbarbiturat enthalten, neben dem Rifamycin B, welches das Hauptstoffwechselprodukt darstellt¹, 15–20% eines Nebenproduktes, des Rifamycins Y. In früheren Mitteilungen wurde über chemische^{2,3} und röntgenographische⁴ Untersuchungen berichtet, welche zur vollständigen Auflösung der Konstitution und Konfiguration des Rifamycins B und seiner Umwandlungsprodukte, der Rifamycine O, S und SV, führte. In der vorliegenden Mitteilung möchten wir die chemischen Untersuchungen des Rifamycins Y und seiner Umwandlungsprodukte beschreiben, welche erlaubten, die Konstitution und teilweise auch die Konfiguration von Rifamycinen der Y-Reihe abzuleiten. Die in der nachfolgenden Mitteilung⁵ behandelte Röntgenanalyse des Rifamycin Y-*p*-jodanilids bestätigte unsere Ergebnisse und erlaubte darüber hinaus, die relative Konfiguration vollständig festzulegen.

Das Rifamycin Y, $C_{39}H_{47}O_{15}N$, welches durch eine Craig-Verteilung mit dem Lösungsmittelsystem *n*-Butanol-Phosphatpuffer pH 7,3 vom Rifamycin B, $C_{39}H_{49}O_{14}N$, abgetrennt werden konnte, ist in vielen seiner Eigenschaften dem letzteren sehr ähnlich und unterscheidet sich davon besonders durch seine starke Rechtsdrehung: $[\alpha]_D = +325^\circ$ (Methanol); Rifamycin B zeigt dagegen ein $[\alpha]_D = -11^\circ$ (Methanol). Durch milde Oxydation mit Natriumpersulfat entsteht aus dem Rifamycin Y das stabile Rifamycin YO, $C_{39}H_{45}O_{16}N$, das eine grosse Ähnlichkeit mit dem auf analoge Weise aus Rifamycin B erhaltenen Rifamycin O, $C_{39}H_{47}O_{14}N$, besitzt. Die milde saure Hydrolyse des Rifamycins YO, liefert unter Abspaltung von Glykolsäure mehrere Produkte, von welchen das Rifamycin YS, $C_{37}H_{43}O_{13}N$, dem Rifamycin S, $C_{37}H_{45}O_{12}N$, entspricht.

Durch Hydrierung mit Palladium-Kohle-Katalysator in Alkohol entsteht aus dem Rifamycin YS ein Tetrahydro-Derivat, dessen Elektronenspektrum deckungsgleich mit demjenigen des Tetrahydro-rifamycins S ist. Daraus kann man schliessen, dass der aromatische Chromophor in beiden Verbindungsreihen der gleiche ist. Da auch die Zirkulardichroismuskurven im Gebiet der aromatischen Absorptionsbanden (270–600 nm) deckungsgleich sind, besitzen die asymmetrischen Atome in der Nachbarschaft des aromatischen Chromophoren die gleiche Konstitution und eine analoge absolute Konfiguration³. Der starke Unterschied im Drehungsvermögen der Rifamycine Y und B muss auf der Verschiedenheit in der Konfiguration und Konformation anderer

Molekelleite beruhen. Das Differential-Elektronenspektrum des Rifamycins YS und seines Hydrierungsproduktes [λ_{max} 254 nm (4,06)] zeigt, dass durch die Hydrierung ebenso wie im Rifamycin S ein mit Carbonyl konjugiertes System von zwei Doppelbindungen abgesättigt wird.

Alle empirischen Formeln der erwähnten Verbindungen der Y-Reihe unterscheiden sich von den Formeln der entsprechenden Verbindungen der B-Reihe dadurch, dass sie zwei Wasserstoffatome weniger und ein Sauerstoffatom mehr enthalten. Die Zusammensetzung, die Spektren und das chemische Verhalten weisen darauf hin, dass die Umwandlungsprodukte des Rifamycins Y im gleichen strukturellen Verhältnis zur Ausgangsverbindung stehen wie die entsprechenden Verbindungen in der B-Reihe².

Zwei weitere Reaktionen wurden in der B-Reihe nicht beobachtet: (1) Durch längere Einwirkung verdünnter Säuren geht das Rifamycin YS in das isomere Isorifamycin YS über; die Trennung der beiden Verbindungen gelang durch Chromatographie an saurem Kieselgel mit Chloroform-Aceton als Elutionsmittel. (2) Das Rifamycin YO lässt sich mit Perjodsäure in wässrigem Methanol zu einer kristallinen Säure $C_{22}H_{19}O_9N$ oxydieren.

Besonders aufschlussreich für die Konstitutionsbestimmung waren für die Verbindungen der Y-Reihe wieder die NMR. Im Gegensatz zu den Untersuchungen in der B-Reihe bedienten wir uns in der vorliegenden Arbeit ausgiebig der Spinentkopplungstechnik, die uns erlaubte, mehrere Fragen zu beantworten, welche sonst langwierige chemische Untersuchungen verlangen würden. Die chemische und spektroskopische Evidenz führte schliesslich zu Formeln II und III für das Rifamycin YS bzw. Isorifamycin YS, woraus sich für Rifamycin YO die Formel I ergibt. Das Rifamycin Y ist der entsprechende – dem Rifamycin B analoge – Hydrochinon-äther der Glykolsäure (vgl.⁶).

In dieser kurzen Mitteilung können wir die Argumente, die zu diesen Formeln führten, nur summarisch bringen.

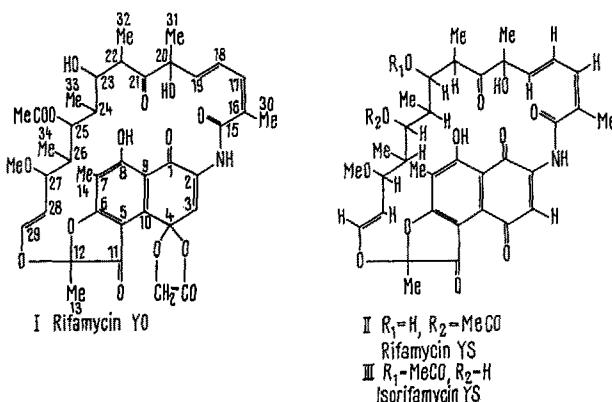
¹ P. MARGALITH und H. PAGANI, Appl. Microbiol. 9, 325 (1961).

² W. OPPOLZER, V. PRELOG und F. SENSI, Experientia 20, 336 (1964).

³ J. LEITCH, W. OPPOLZER und V. PRELOG, Experientia 20, 343 (1964).

⁴ M. BRUFANI, W. FEDELI, G. GIACOMELLO und A. VACIAGO, Experientia 20, 339 (1964).

⁵ M. BRUFANI, W. FEDELI, G. GIACOMELLO und A. VACIAGO, Experientia 23, 508 (1967).



Die Zusammensetzung und das Elektronenspektrum [λ_{max} 210 (log ϵ 4,38), 260 (Sh), 288 (log ϵ 4,44), 400 (log ϵ 3,60) nm] der durch Perjodsäure-Abbau des Rifamycins YO erhaltenen Säure $C_{22}H_{19}O_9N$ zeigen, dass in dieser Verbindung der aromatische Chromophor noch erhalten ist. Die pK^*_{MCS} -Werte⁶ 5,29 und 10,15 weisen auf ein Carboxyl und ein phenolisches Hydroxyl, die Bande bei 1780 cm^{-1} im IR⁶ auf einen Phenoester hin. Im NMR⁶ [in $(CD_3)_2SO$, 60 MHz] lassen sich die Protonensignale folgenden Gruppen zuteilen: H_3CCO (s 2,06), $H_3CC_{olef.}$ (s 2,14), H_3CCOO (s 2,22), $H_3C_{ar.}$ (s 2,31), $3H_{C_{olef.}}$ (6,28, 6,52, 7,5), $HC_{ar.}$ (s 7,64), $HNCO$ (s 9,7). Die Multiplizität und die Kopplungskonstanten der olefinischen Protonen ($d, J = 15$; $d, J = 11$ und ein doppeltes $d, J = 15$ und 11) zeigen, dass die Teilkonstitution $-CH=CH-CH=C(CH_3)-$ vorliegt: Die Doppelbindungen lassen sich durch Hydrierung mit Palladium-Kohle-Katalysator in Alkohol und Reoxydation zum Chinon unter Entstehung eines Tetrahydro-Derivates absättigen.

Im NMR des letzteren fehlen die Signale der drei olefinischen Protonen und das Singlett bei $\delta = 2,14$; statt des letzteren tritt ein Dublett bei $\delta = 1,24$ ($J = 7$) auf. Das Differential-Elektronenspektrum [λ_{max} 280 nm (log ϵ 4,35)] der beiden Verbindungen spricht ebenso wie die Änderungen der Protonensignale im NMR, dass das konjugierte Doppelbindungssystem an beiden Enden mit Carbonylen konjugiert ist, welche offenbar einer $-NCO-$ und einer CH_3CO -Gruppe angehören. Das Carbonyl der CH_3CO -Gruppe, welches in Rifamycin YS nicht anwesend ist, verschiebt die Signale von zwei olefinischen Protonen stark nach dem niedrigeren Feld ($\Delta\delta = 0,7$ bzw. 0,8), während dasjenige des dritten olefinischen Protons, das der $CH_3C_{olef.}$ -Gruppe benachbart und mit ihr allylisch gekoppelt ist ($J \sim 2$), wesentlich weniger ($\Delta\delta = 0,25$) beeinflusst wird.

Die Kopplungskonstanten sowie die chemische Verschiebung des Signals des mittleren von den drei olefinischen Protonen ($J = 15$ bzw. 11) zeigen, dass die der $-NCO$ -Gruppe benachbarte Doppelbindung die cis-, die-

jenige, welche der CH_3CO -Gruppe näher steht, dagegen die trans-Konfiguration besitzt.

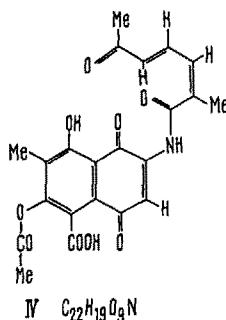
Alle bisher erwähnten Tatsachen erlauben für die Säure $C_{22}H_{19}O_9N$, die Konstitution IV abzuleiten. Es lässt sich daraus schliessen, dass die Rifamycine der B- und der Y-Reihe von C-1 bis C-19 die gleiche Konstitution und Konfiguration besitzen und dass am C-20 und C-21 der Rifamycine der Y-Reihe Sauerstoff-Funktionen sitzen, welche den Perjodsäure-Abbau ermöglichen.

Eine solche Schlussfolgerung wird gestützt durch das Massenspektrum des Rifamycins YS. Neben dem Signal $M = 709$, welches das Molekulargewicht bestätigt, findet man darin besonders das Signal der Masse $409 = M-300$, das durch eine Fragmentierung zwischen dem Enoläther-Sauerstoff und C-12 einerseits und C-20- und -21 andererseits entsteht.

Die Konstitution des im Abbauprodukt IV nicht enthaltenden Teiles von Rifamycinen der Y-Reihe lässt sich an Hand des Vergleiches der NMR von Rifamycin YS und Isorifamycin YS mit demjenigen von Rifamycin S⁷ ableiten.

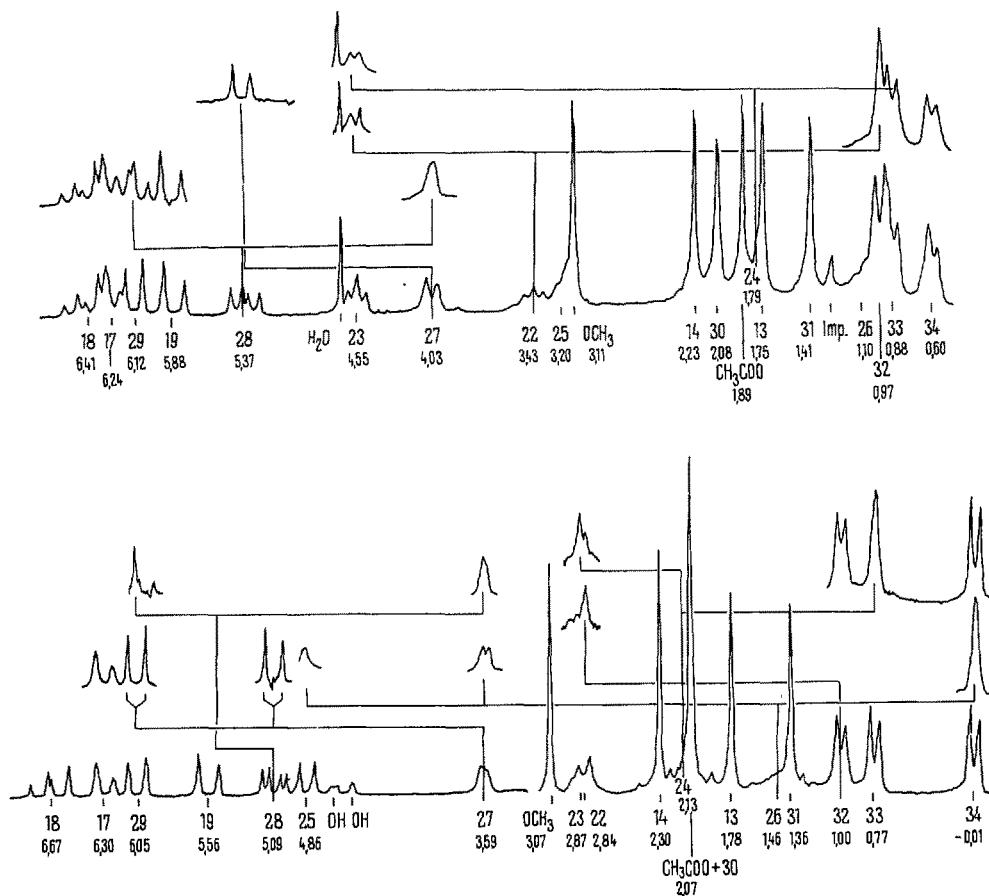
Im NMR von Rifamycin YS (in $CDCl_3$, 100 MHz, siehe Figur) sind drei Dublette ($J \sim 7\text{ c/sec.}$, je 3H) bei $\delta = -0,01, 0,77$ und $1,00$ vorhanden, die drei H_3CCH -Gruppen entsprechen. Es liegt also ein solches Dublett weniger als im NMR von Rifamycin S vor, dagegen ist ein zusätzliches Singulett (3H) bei $\delta = 1,36$ vorhanden, das man im letzteren nicht findet. Eines von den drei erwähnten Dubletten liegt ebenso wie die entsprechenden Signale in der B-Reihe bei ungewöhnlich hohem Felde, woraus man schliessen kann, dass das Rifamycin YS ebenso wie diese eine ansa-Verbindung ist, deren aromatischer Teil durch eine aliphatische Kette überbrückt ist^{2,7}. Fünf weitere Singulette, $\delta = 1,78, 2,07, 2,07, 2,30$ und $3,07$ (je 3H) konnten, ebenso wie die analogen Signale im Rifamycin S, auf Grund ihrer chemischen Verschiebungen folgenden Gruppen zugeordnet werden: $H_3C-13, H_3C-30, H_3CCOO, H_3C-14$ und H_3CO . In der im 100 MHz NMR des Rifamycins YS sehr gut aufgelösten Signal-Gruppe der fünf olefinischen Protonen lassen sich diejenigen der Enoläther-Doppelbindung an einem Ende der Brücke (doppel d, $\delta = 5,09, J = 12,5$ und $4,5$; d, $\delta = 6,05, J = 12,5$) von denjenigen des konjugierten Doppelbindungssystems am anderen Ende der Brücke gut unterscheiden. Die Protonen der Enoläther-Doppelbindung stehen auf Grund ihrer Kopplungskonstante in trans-Lage zueinander. Die Zuordnung der Signale der einzelnen Protonen an C-28, -19, -29, -17 und -18 erfolgte ohne Schwierigkeiten auf Grund ihrer chemischen Verschiebungen, ihrer Multiplizität und ihrer Kopplungskonstanten.

Über die Umgebung der übrigen Protonen an der Brücke von Rifamycinen der Y-Reihe und ihre relative Lage zueinander liessen sich wesentliche Informationen aus den chemischen Verschiebungen und der Multiplizität ihrer Signale in den NMR von Rifamycin YS und Isorifamycin YS gewinnen. Vor allem die Ergebnisse der Spinentkopplungsversuche bei diesen beiden Verbindungen (siehe Figur, in der nur die wichtigsten Entkopp-



⁶ Für die Absorptionsspektren im Infrarot verwenden wir die Abkürzung IR, für Kernresonanzspektren NMR. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm bezogen auf das Signal der Protonen in Tetramethylsilan = 0 angegeben, die J-Werte sind in c/sec. Definition von pK^*_{MCS} : W. SIMON, E. KOVÁTS, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN und E. HEILBRONNER, Helv. chim. Acta 37, 1872 (1954).

⁷ V. PRELOG, Pure appl. Chem. 7, 551 (1963).



Unten: NMR von Rifamycin YS; oben: NMR von Isorifamycin YS. (100 MHz; CDCl_3 -Lösung, mit D_2O geschüttelt. Die bei niedrigen Feldstärken liegenden Singlette von HC_{ar} , HNCO und des phenolischen Hydroxyls sind nicht abgebildet.)

lungen eingezeichnet sind) erlauben, wenn man sie gemeinsam interpretiert, für das Rifamycin YS die Formel II abzuleiten, woraus sich für das Rifamycin YO die Formel I ergibt. Für das Isorifamycin YS lässt sich die Konstitutionsformel III ableiten; es ist demnach aus dem Rifamycin YS durch eine Wanderung der Acetyl-Gruppe vom Sauerstoff am C-25 zum Sauerstoff am C-23 entstanden. Die Acylwanderung in saurem Medium findet anscheinend unter dem sterischen Einfluss der benachbarten Gruppen statt.

Es sei noch hervorgehoben, dass es auf chemischem Wege bisher nicht gelungen ist, die Rifamycine der B- und der Y-Reihe zu verknüpfen; die chemischen Konstitutionsbeweise in beiden Reihen sind also unabhängig voneinander. Die Versuche, den aus Isorifamycin YS erhaltenlichen 8-O-Methyliminomethyläther in zwei Bruchstücke zu spalten und durch Abbau des aliphatischen Bruchstückes zu zeigen, dass die Konfiguration des C-22 bis -27 umfassenden Teiles in beiden Reihen, B und Y, die gleiche ist, wurden abgebrochen, da inzwischen durch die röntgenographische Untersuchung⁶ gezeigt werden konnte, dass die *p*-Jodanilide der Rifamycine B und Y nicht nur die gleiche Konfiguration, sondern in festem Zustand bis auf die drei Brückenglieder C-20, -21 und -22 auch eine praktisch gleiche Konformation besitzen.

Inzwischen ist es SENSI und Mitarbeitern⁸ gelungen, das radioaktiv markierte Rifamycin B mit *Streptomyces mediterranei* in das radioaktive Rifamycin Y umzuwandeln. Das erstere könnte also der biogenetische Vorläufer

des letzteren sein, welches daraus wahrscheinlich durch biologische Oxydation entsteht. In dieser Hinsicht ist der in nachfolgender Mitteilung⁹ erwähnte Befund von Interesse, dass die Konfiguration am C-20 beim Ersatz des Wasserstoffs durch Hydroxyl, wie bei manchen anderen ähnlichen biologischen Oxydationen¹⁰, erhalten bleibt¹⁰.

Summary. The constitution I has been determined for rifamycin YO. The compound is an oxidation product of rifamycin Y, a metabolite of *Streptomyces mediterranei* n. sp.

J. LEITICH, V. PRELOG und P. SENSI

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (Schweiz), und Forschungslaboratorium der Lepetit SpA, Milano (Italien), 6. März 1967.

⁶ G. C. LANCINI, G. SARTORI und P. SENSI, in Vorbereitung.

⁸ E. J. COREY und G. A. GREGORIOU, J. Am. chem. Soc. 81, 3127 (1959).

¹⁰ Wir verdanken die Zirkulardichroismuskurven Herrn Dr. G. SNATZKE, Bonn und die Massenspektren den Herren Dr. C. BRUNNÉE, Bremen und Dr. W. VETTER, Basel.