

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

MARIO BRUFANI, WALTER FEDELI, GIORDANO  
GIACOMELLO, ALESSANDRO VACIAGO

## Determinazione roentgenografica della struttura della rifamicina

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.2, p. 113–117.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1964\\_8\\_36\\_2\\_113\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_2_113_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



**Strutturistica chimica.** — *Determinazione roentgenografica della struttura della rifamicina.* Nota di MARIO BRUFANI, WALTER FEDELI, GIORDANO GIACOMELLO e ALESSANDRO VACIAGO (\*), presentata (\*\*) dal Corrisp. G. GIACOMELLO.

Le rifamicine sono una serie di antibiotici isolati nei laboratori della Lepetit S. p. A. dai brodi di fermentazione dello *Streptomyces Mediterranei* [1]. Tra di esse è particolarmente interessante la rifamicina B, la quale può essere trasformata in rifamicina O, S e SV mediante blande reazioni chimiche.

Le rifamicine B, O, S e SV sono collegate tra di loro dalle reazioni seguenti: la rifamicina B ( $C_{39}H_{49}NO_{14}$ ), per ossidazione con mezzi ossidanti blandi, si trasforma in rifamicina O ( $C_{39}H_{47}NO_{14}$ ), e invece in soluzioni acquose, in presenza di ossigeno, si trasforma in rifamicina S ( $C_{37}H_{45}NO_{12}$ ) con separazione di acido glicolico. La rifamicina B può essere riottenuta dalla rifamicina O con riducenti blandi, come per esempio l'acido ascorbico; la rifamicina S dà invece per riduzione la rifamicina SV.

Per le nostre indagini roentgenografiche si presta in modo particolare la rifamicina B, perché in essa è presente, come mostra la trasformazione in rifamicina S, il gruppo carbossilico libero dell'acido glicolico, sul quale è possibile aggiungere un atomo pesante o, più in generale, un radicale contenente un atomo pesante.

La presenza di un atomo pesante rispetto al resto della molecola è indispensabile per determinare la struttura di molecole complesse, per le quali ogni altro metodo di determinazione dei valori della fase dei fattori di struttura è in genere inefficace. Pertanto l'analisi roentgenografica di molecole complesse a struttura chimica ignota richiede almeno quelle informazioni di natura chimica (per esempio un gruppo funzionale) necessarie per poter introdurre un atomo pesante nel composto in esame quando già non lo contenga di per sé.

Nel nostro caso i cristalli di *p*-bromo e di *p*-iodio anilide della rifamicina B, se mantenuti chiusi in capillare in presenza del solvente di cristallizzazione, sono sufficientemente stabili per permettere, però non senza difficoltà, la raccolta dei dati.

#### DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA.

Delle due anilidi parasostituite della rifamicina B, la *p*-iodio anilide ( $C_{45}H_{53}N_2O_{13}I$ ) è quella che ha dato i cristalli più adatti per l'analisi ai raggi X. I cristalli sono stati preparati da soluzioni acetone-acqua e tenuti

(\*) Centro di Studio per la Strutturistica Chimica (C.N.R.) - Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica dell'Università degli Studi, Roma.

(\*\*) Nella seduta del 14 dicembre 1963.

in presenza del solvente durante l'analisi, come da noi descritto in una Nota precedente [2]. È quindi prevedibile che molecole di solvente saranno presenti nella struttura cristallina. I dati cristallografici di questi cristalli stabili sono, come da noi già pubblicato [2], i seguenti:  $C_{45}H_{53}N_2O_{13}I$ ,  $M = 956,8$ , rombico bisfenoidico,  $a = 9,06 \pm 0,03$ ,  $b = 23,66 \pm 0,08$ ,  $c = 25,45 \pm 0,09$  Å,  $U = 5456$  Å<sup>3</sup>,  $D_m = 1,23$  gcm<sup>-3</sup> (metodo dei liquidi pesanti),  $Z = 4$ ,  $D_c = 1,16$  gcm<sup>-3</sup> (senza solvente di cristallizzazione),  $F(000) = 1976$  (senza solvente di cristallizzazione), gruppo spaziale  $P2_12_12_1$  ( $D_2^4$ , No. 19), radiazione  $CuK_\alpha$ , fotogrammi Weissenberg e oscillanti.

*Misura e correzione delle intensità.* - La misura delle intensità è stata effettuata per confronto visuale con scale campione su fotogrammi Weissenberg ottenuti ruotando il cristallo attorno all'asse  $a$  (6 strati) e  $c$  (6 strati). Sono stati fino ad ora osservati 2175 riflessi non nulli, corrispondenti al 33 % del numero dei riflessi possibili nella sfera  $CuK_\alpha$ . La raccolta dei dati è ancora in atto e gli altri riflessi osservati saranno introdotti nelle ulteriori fasi dell'affinamento.

Le intensità misurate sono state corrette poi per i fattori di Lorentz e di polarizzazione, ma non è stata invece apportata per ora alcuna correzione di assorbimento e di estinzione secondaria.

*Analisi della struttura.* - Mentre venivano raccolte le intensità dei riflessi in tre dimensioni, fu fatto un tentativo di interpretare la proiezione [100]. A tal fine fu calcolata una proiezione Patterson, sulla quale fu possibile determinare le coordinate  $y$  e  $z$  dell'atomo di iodio [2]. Ogni tentativo di interpretare la proiezione Fourier calcolata in base alla posizione dello iodio non diede, come era prevedibile, alcun risultato.

È stata pertanto calcolata la sintesi Patterson tridimensionale basata sui 2175 riflessi raccolti: è stato così possibile determinare senza ambiguità la posizione dell'atomo di iodio. Un calcolo di fattori di struttura, eseguito introducendo le coordinate del solo atomo di iodio, ha dato un indice di accordo  $R = 41$  %.

Dalla sintesi di Fourier, calcolata attribuendo ai riflessi le costanti di fase del solo atomo di iodio, sono stati localizzati 61 massimi, i quali introdotti tutti come atomi di carbonio nel calcolo di fattori successivo hanno dato un indice di accordo  $R = 36$  %. A questo stadio l'esame della distribuzione dei massimi di densità elettronica non ha permesso l'identificazione di alcun aggruppamento caratteristico della molecola, in quanto alcuni dei picchi osservati erano spuri e molti atomi non erano ancora stati localizzati.

È stato pertanto continuato l'affinamento mediante cicli di sintesi Fourier. Nel grafico della fig. 1 è riportato l'indice di accordo  $R$  in funzione dei cinque stadi di affinamento Fourier a tuttoggi effettuati. Il valore corrispondente allo stadio zero è quello dato dal solo atomo di iodio localizzato sulla Patterson.

Durante questo processo di determinazione della struttura per stadi successivi è stato possibile individuare l'anello benzenico dell'anilide sulla seconda Fourier, l'anello naftochinonico e larga parte del resto della mole-

cola sulla quarta Fourier; e infine, sulla quinta e ultima Fourier, tutti i 71 atomi della unità asimmetrica (idrogeni esclusi) e cioè 61 della molecola in esame e 10 tra acqua e acetone di cristallizzazione. Il calcolo dei fattori di struttura basato su queste posizioni ha dato un valore di R del 24,2%. Durante tutti i cicli effettuati è stato introdotto un fattore termico medio B per tutti gli atomi pari a  $5 \text{ \AA}^2$ . A questo punto è possibile rilevare che 16

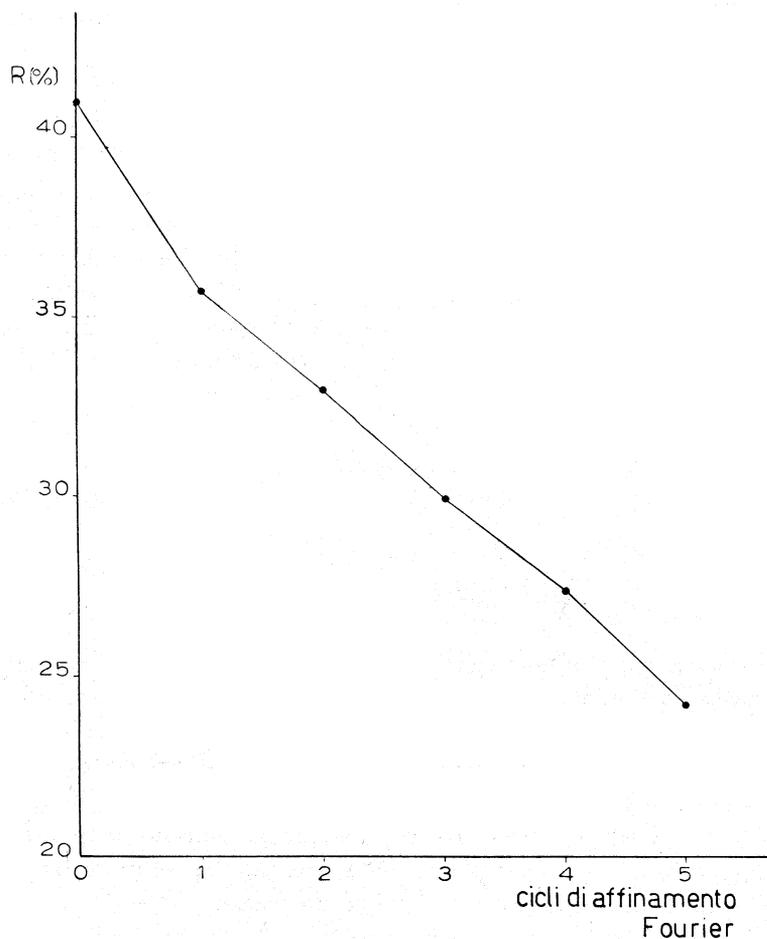


Fig. 1.

dei 61 massimi localizzati sulla prima Fourier erano spuri. È anche possibile affermare che la struttura della molecola è ora univocamente e sicuramente determinata, soggetta solo ai successivi futuri affinamenti. Essa è qui rappresentata nelle Tav. I, II, III e IV. Oltre alla molecola rappresentata in queste figure, ogni unità asimmetrica comprende sei molecole di acqua e una di acetone. Su questo punto sussistono però ancora dei dubbi, perché un massimo interpretato finora come molecola d'acqua potrebbe rivelarsi spurio durante il successivo affinamento, dato che tuttora non è ben definito. In

questo caso le molecole d'acqua nella unità asimmetrica si ridurrebbero a cinque.

Come è ovvio, nessuno degli atomi di idrogeno visibili nelle riproduzioni del modello di Tav. I, II e III è stato localizzato per via roentgenografica. Gli atomi di idrogeno sono stati introdotti per completezza nella costruzione del modello e posti, quando possibile, nelle posizioni univocamente determinate come conseguenza della configurazione sterica del resto della molecola. Nei casi non univoci essi sono in posizioni corrispondenti a una conformazione volutamente arbitraria.

*Descrizione della struttura.* - La molecola della rifamicina B è costituita da una parte aromatica e da una catena alifatica saldate assieme a costituire un anello a 24 membri. La parte aromatica consiste di un anello naftalinico, con tre ossidrili, uno dei quali eterificato con l'acido glicolico che si libera nel passaggio a rifamicina S. A questo acido glicolico è legata la *p*-iodio anilide, ben visibile nelle fotografie del modello riportate nelle Tav. I e III. L'anello dell'anilide e quello naftalinico giacciono approssimativamente su un piano, coincidente con il piano della Tav. III, mentre la catena laterale si distende su un piano all'incirca perpendicolare ad esso.

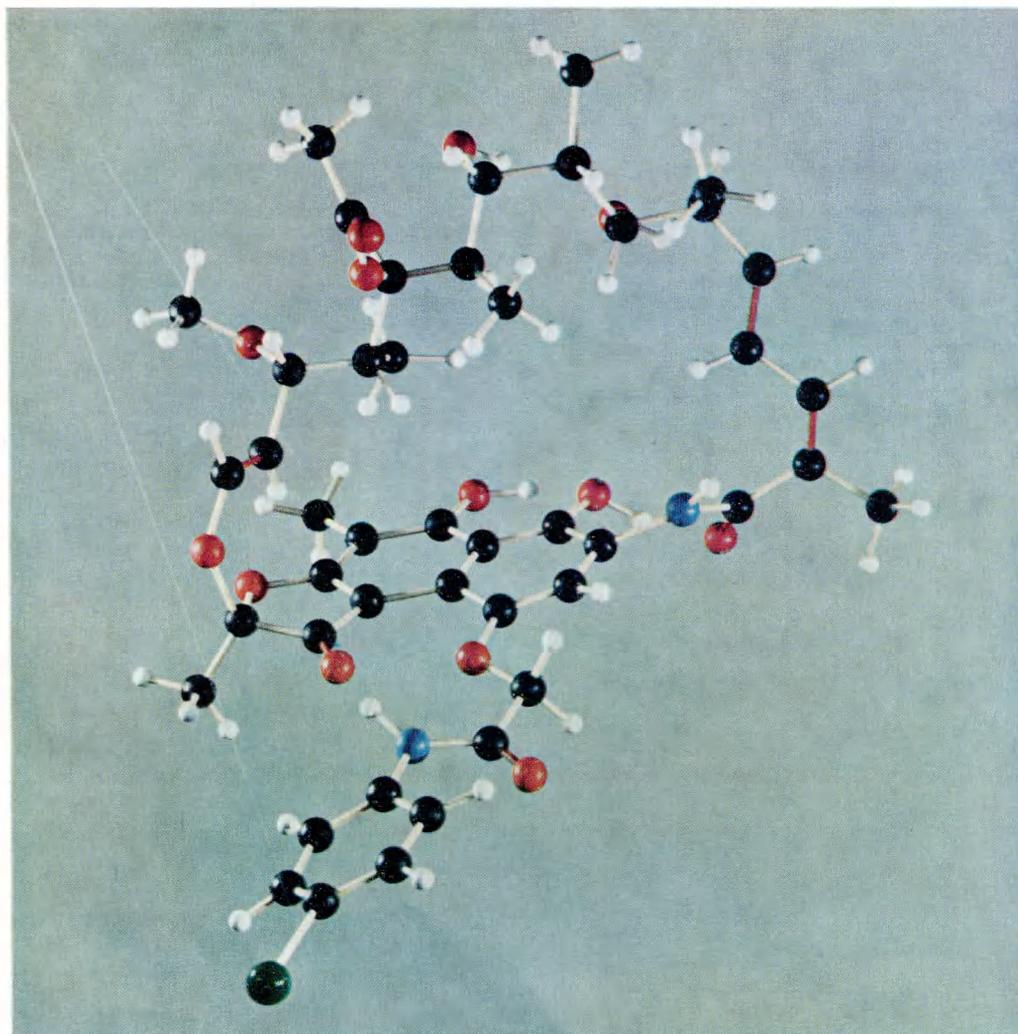
Il legame tra la catena laterale e la parte aromatica avviene da una parte attraverso un azoto ammidico, e dall'altra attraverso un ponte enoletereo e un anello diidrofuranonico condensato con il nucleo naftalinico.

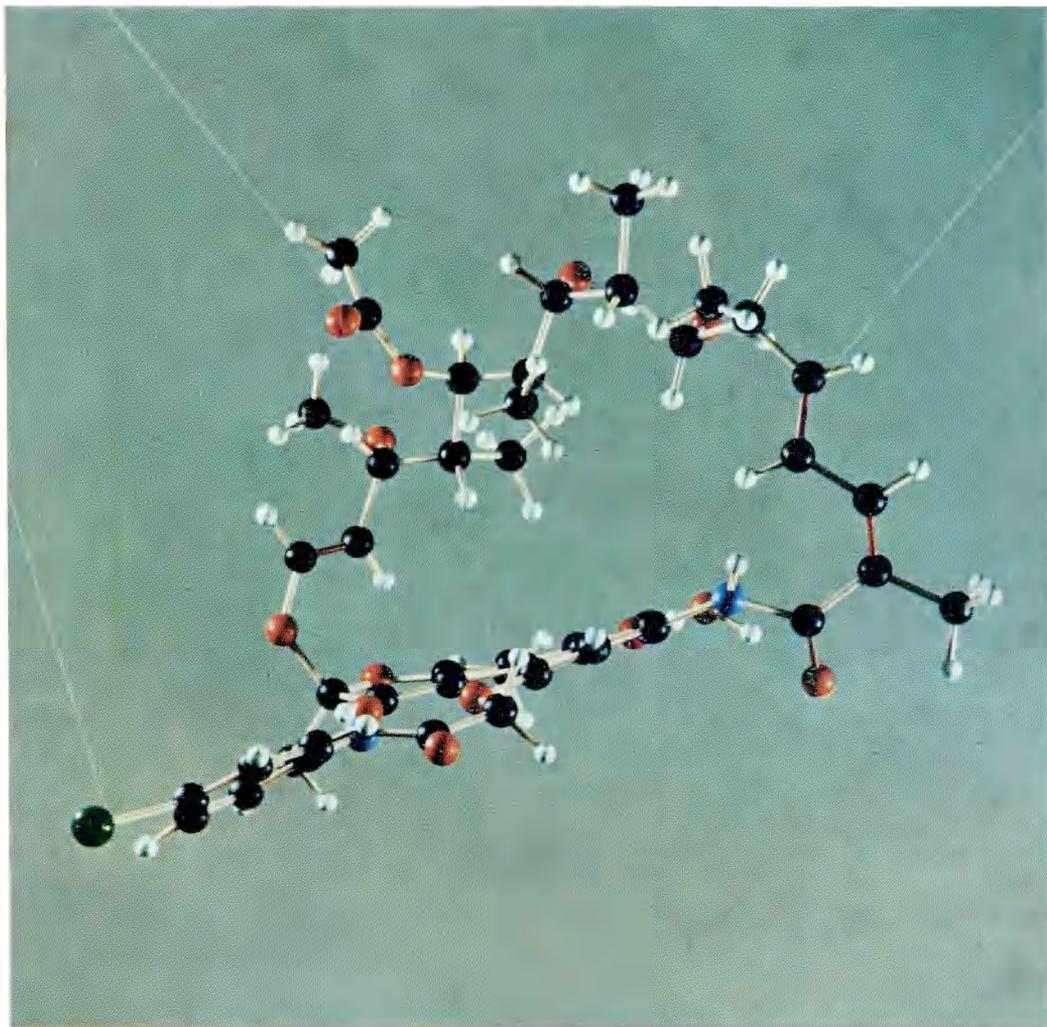
#### DISCUSSIONE DEI RISULTATI.

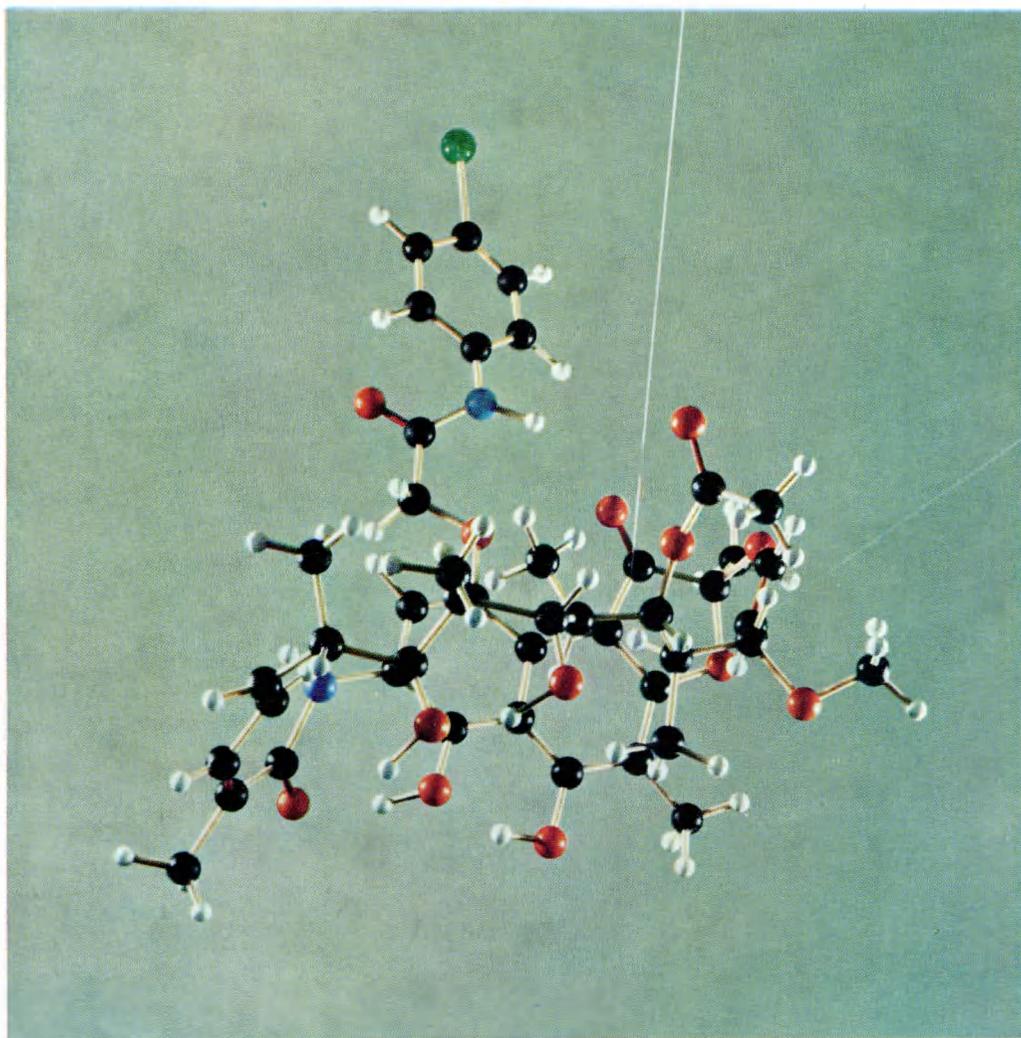
La formula da noi determinata per via roentgenografica nel giro di circa un anno è in accordo con quella recentemente dedotta in modo del tutto indipendente da V. Prelog per altra via [3]. Inoltre i dati chimici fornitici da P. Sensi e da V. Prelog nel corso della determinazione della struttura hanno contribuito ad accelerare l'interpretazione delle sintesi di Fourier.

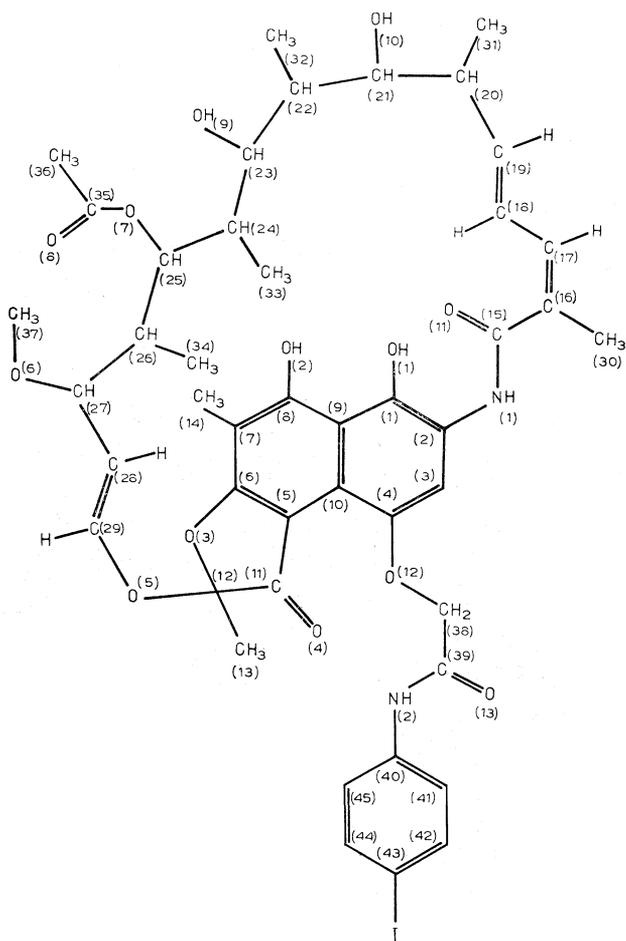
Tuttavia la struttura roentgenografica fornisce nuove utili informazioni sulla configurazione e conformazione della catena. Per esempio, la conformazione dei due doppi legami successivi della catena laterale (parte destra della fotografia riportata in Tav. II), risulta di tipo transoide. Questo fatto è determinante per la forma di tutta la catena, la quale si piega dopo il secondo doppio legame (Tav. IV), formando un'ansa con una distanza massima dal centro dell'anello naftalinico di circa 8,5 Å.

In complesso l'analisi strutturale per diffrazione di raggi X, pur avendo in questo caso sostanzialmente confermato la formula dedotta chimicamente, ha aggiunto quelle informazioni stereochemiche che, riteniamo, solo questo metodo può fornire in modo univoco e sicuro. L'ulteriore affinamento della struttura potrà dare anche quelle informazioni più dettagliate necessarie per discutere accuratamente le varie proprietà chimiche della rifamicina in funzione della sua struttura.









Desideriamo ringraziare D. Crowfoot Hodgkin, F.R.S. per le utili discussioni avute con lei durante le prime fasi di questa ricerca e P. Sensi dei laboratori di ricerca della Lepetit S. p. A. per i campioni di *p*-iodio anilide della rifamicina B.

#### BIBLIOGRAFIA.

- [1] P. SENSI, A. M. GRECO e R. BALLOTTA, «Antibiot. Ann.», 262 (1959-1960).
- [2] M. BRUFANI, W. FEDELI, G. GIACOMELLO e A. VACIAGO, «Chemotherapia (Basel)», 7, 145 (1963).
- [3] V. PRELOG, «Chemotherapia (Basel)», 7, 133 (1963).