

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

GIORGIO GAUDIANO, PIERFRANCESCO BRAVO, ADOLFO  
QUILICO

## Sulla costituzione della lucensomicina

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 36 (1964), n.5, p. 589–595.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1964\\_8\\_36\\_5\\_589\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_36_5_589_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/>



**Chimica organica.** — *Sulla costituzione della lucensomicina*<sup>(\*)</sup>.  
Nota di GIORGIO GAUDIANO, PIERFRANCESCO BRAVO e ADOLFO QUILICO, presentata<sup>(\*\*)</sup> dal Socio A. QUILICO.

La *lucensomicina*<sup>(1)</sup> è un antibiotico ad elevata azione antifungina prodotto dallo *Streptomyces lucensis* coltivato in fermentazione sommersa, isolato nel 1957 da A. Di Marco e collaboratori<sup>(2)</sup>, e successivamente studiato da F. Arcamone e M. Perego<sup>(3)</sup>. Questi Autori hanno descritto i metodi per l'estrazione e l'ottenimento dell'antibiotico allo stato cristallino, e dato alcune proprietà fisiche e fisico-chimiche (solubilità,  $R_f$  della cromatografia su carta, potere rotatorio, spettri U.V. e I.R.) atte a caratterizzarlo. Lo spettro U.V. indica che la sostanza contiene un cromoforo tetraenico coniugato, mentre lo spettro I.R. rivela la presenza di funzioni OH, CO e COO<sup>-</sup>. L'analisi da essi pubblicata porterebbe ad assegnare alla sostanza la formula molecolare C<sub>36</sub>H<sub>57</sub>O<sub>14</sub>N. In base a questo studio preliminare gli Autori conclusero che la lucensomicina appartiene al gruppo degli antibiotici tetraenici, ed è differente da quelli precedentemente riportati dalla letteratura.

Considerato l'interesse pratico che questa sostanza presenta e il fatto che erano ancora scarse a quel tempo le notizie sulla costituzione degli antibiotici polienici dei quali solo alcuni come la *pimaricina*<sup>(4)</sup>, la *lagosina*<sup>(5)</sup>, la *filippina*<sup>(6)</sup> e la *fungicromina*<sup>(7)</sup> avevano formato oggetto di una indagine chimica approfondita, abbiamo ripreso nel 1962 lo studio della lucensomicina, e qui comunichiamo i primi risultati delle nostre ricerche.

La lucensomicina, accuratamente purificata, presenta  $[\alpha]_D^{20} + 240^\circ$  (in dimetilformammide). Il suo spettro U.V. (in metanolo) contiene i seguenti massimi:

$\lambda_{\max}$	218	278 ( <i>s</i> )	290	303	318 <i>m</i> $\mu$
$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$	300	370	780	1170	1098

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Chimica del Politecnico di Milano, Centro Nazionale di Studio sulla Chimica delle Sostanze Naturali del C.N.R.

(\*\*) Nella seduta del 9 maggio 1964.

(1) Nome comune dell'antibiotico *etrusomicina* di marchio Farmitalia.

(2) A. DI MARCO e M. GHIONE, *Comunicaz. al V Congr. Naz. di Chemioterapia* (Torino, giugno 1957); F. ARCAMONE, C. BERTAZZOLI, G. CANEVAZZI, A. DI MARCO, M. GHIONE e A. GREIN, «Giorn. Microb.», **4**, 119 (1957).

(3) F. ARCAMONE e M. PEREGO, «Ann. di Chimica», **49**, 345 (1959).

(4) J. B. PATRICK, R. P. WILLIAMS, C. F. WOLF e J. S. WEBB, «Journ. Am. Chem. Soc.», **80**, 6688; J. B. PATRICK, R. P. WILLIAMS e J. S. WEBB, *ibid.*, 6689.

(5) M. L. DHAR, V. THALLER e M. C. WHITING, «Proc. Chem. Soc.», **1960**, 310.

(6) C. DJERASSI, M. ISHIKAWA e H. BUDZIKIEWICZ, «Tetrahedron Letters», **1961**, 383.

(7) A. C. COPE, R. K. BLY, E. P. BURROWS, O. J. CEDER, E. CIGANEK, B. T. GILLIS, R. F. PORTER e H. E. JOHNSON, «Journ. Am. Chem. Soc.», **84**, 2170 (1962).

Di essi, quelli a 278, 290, 303 e 318  $m\mu$ , sono caratteristici di un sistema tetra-enico coniugato tutto *trans*, mentre quello a 218  $m\mu$  può essere attribuito ad un estere  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo. In diossano è osservabile uno spostamento batocromo di 3-4  $m\mu$ , mentre nessun cambiamento si nota in soluzione acquosa N/1000 di NaOH e in soluzione acida diluita. Lo *spettro I.R.* (meglio risolto in olio di paraffina che in KBr) coincide praticamente con quello riportato dai precedenti Autori; sono nette le bande di OH a 3350  $cm^{-1}$ , di CO carbonilico a 1715  $cm^{-1}$ , e di ione carbossilato a 1580  $cm^{-1}$ .

La sostanza trattiene tenacemente i solventi e brucia con difficoltà; le numerose analisi (undici) condotte su uno stesso campione accuratamente purificato e seccato, presentano qualche oscillazione. La media dei valori ottenuti, relativa al gruppo di otto determinazioni più concordanti tra loro, porterebbe ad assegnare alla sostanza la formula  $C_{37}H_{55}O_{14}N$  o  $C_{36}H_{53}O_{14}N$ :

trov. %:	C	59,96	H	7,63	O <sup>(8)</sup>	30,27	N	1,99	
per $C_{37}H_{55}O_{14}N$ , calc.	:	60,23	7,51	30,36	1,90	P.M. 737,8			
per $C_{36}H_{53}O_{14}N$ , calc.	:	59,72	7,38	30,95	1,93	P.M. 723,8			

La determinazione del *peso equivalente* per titolazione in soluzione acetica con acido perclorico (media di numerose prove) ha dato 711; la titolazione con NaOH in etanolo al 90% (indicatore timolftaleina, viraggio poco netto) dà valori intorno a 700. Il dosamento dei *metili al carbonio* secondo Kuhn-Roth ha fornito valori intorno al 3,7%, pari a due  $CH_3$  (C).

La lucensomicina viene facilmente idrogenata a temperatura ambiente in soluzione acetica glaciale in presenza di  $PtO_2$ , con assorbimento di 6 moli di idrogeno. La *dodecaidrolucensomicina* così ottenuta non presenta più il caratteristico assorbimento nell'U.V., e il suo spettro I.R. mostra uno spostamento della banda del carbonile a 1740  $cm^{-1}$  (da 1715  $cm^{-1}$  del prodotto non idrogenato).

*Gruppi funzionali.* - La ricerca dei gruppi funzionali ha permesso di confermare la presenza nella lucensomicina di un COOH, di differenti OH alcoolici, e di un CO carbonilico, già desunta dallo spettro I.R. Inoltre è stata accertata la presenza di una funzione di estere o lattone macrociclico e di un gruppo amminico primario. È probabile la presenza di un gruppo epossidico, mentre risultati negativi ha dato il dosamento dei metossili.

La presenza di un carbossile è dimostrata, oltre che dalla banda a 1585  $cm^{-1}$  nello spettro I.R. e dai risultati della titolazione con NaOH, dalla facile eliminazione di  $CO_2$  per riscaldamento con acidi acquosi, e dal fatto che gli N-acilderivati della lucensomicina più avanti descritti si sciolgono con effervescenza in  $NaHCO_3$  acquoso, e reagiscono con diazometano dando prodotti insolubili in alcali.

(8) Media di due determinazioni.

L'esistenza di *OH alcoolici*, oltre che dallo spettro I.R., risulta dalla titolazione dei gruppi acetilabili con anidride acetica in piridina; trovati 5,5 gruppi acetilabili, dei quali uno è l'amminogruppo. (Nelle stesse condizioni la pimarcina ha dato 5,3 gruppi acetilabili).

Per la presenza di un *carbonile chetonico* non si hanno prove chimiche dirette perché non siamo riusciti a isolare alcun derivato per trattamento con i reattivi usuali di questa funzione (sperimentati idrossilammina, *p*-nitrofenil- e *o,p*-dinitrofenilidrazina, *p*-tosilidrazina), ciò che potrebbe dipendere dalla facile alterabilità della sostanza o, più verosimilmente, da una scarsa reattività del CO della lucensomicina. È a questo proposito da rilevare che lo spettro I.R. della dodecaidrolucensomicina mostra ancora la banda del CO chetonico che non è quindi stato ridotto a carbinolo. Anche la facile decarbossilabilità con acidi a caldo, e la reazione di retroaldolizzazione in ambiente alcalino più avanti descritta, sono a favore della presenza di un carbonile chetonico; inoltre, il prodotto di riduzione con  $\text{NaBH}_4$  della lucensomicina non subisce più la reazione di retroaldolizzazione, nè si decarbossila per riscaldamento con acidi.

L'esistenza di una funzione di *estere o lattone macrociclico  $\alpha, \beta$ -insaturo* risulta dai seguenti fatti. Lo spettro U.V. dell'antibiotico presenta un massimo a  $218 \text{ m}\mu$  che scompare dopo idrogenazione su  $\text{PtO}_2$  ma non per riduzione con  $\text{NaBH}_4$ ; lo spettro I.R. mostra una banda a  $1715 \text{ cm}^{-1}$  di estere  $\alpha, \beta$ -insaturo che si sovrappone a quella del CO chetonico, e che si sposta dopo idrogenazione alla frequenza di  $1740 \text{ cm}^{-1}$  propria di un estere saturo. La lucensomicina, che non colora il  $\text{FeCl}_3$  in soluzione alcoolica, dà la reazione degli acidi idrossammici dopo trattamento con idrossilammina. Inoltre la lucensomicina somma una molecola di dodecantiolo fornendo un prodotto che non presenta più il massimo a  $218 \text{ m}\mu$ , reazione che è data dal doppio legame dei composti carbonilici  $\alpha, \beta$ -insaturi <sup>(9)</sup>.

Che la lucensomicina contenga un *gruppo amminico primario*, oltre che dalla titolazione con acido perclorico, risulta dall'ottenimento di N-acilderivati. L'acilazione con anidride acetica, propionica e monocloroacetica in metanolo porta a N-acilderivati cristallizzabili (particolarmente l'N-cloroacetil) il cui spettro I.R. presenta le bande caratteristiche delle ammidi secondarie.

Ancora incerta è la presenza di una *funzione epossidica*. A favore della esistenza di un gruppo epossidico contiguo a un CO chetonico starebbe il fatto che la lucensomicina, i suoi N-acilderivati, e il prodotto di addizione con dodecantiolo, liberano iodio da una soluzione acetica di KI per blando riscaldamento, secondo la reazione di Bodfors <sup>(10)</sup>, considerata specifica per l'aggruppamento  $\text{—CO—C—C—}$ .

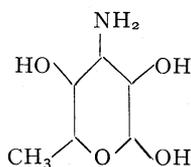


(9) D. W. BEESING, W. P. TYLER, D. M. KURTZ e S. A. HARRISON, « Anal. Chem. », 1949, 1073.

(10) S. BODFORSS, « Ber. », 49, 2801 (1916).

l'idrogenazione catalitica, delle quali cinque saturano i doppi legami, e la sesta ridurrebbe il gruppo epossidico (la funzione chetonica non viene attaccata), e il fatto che la dodecaidrolucensomicina non dia più la reazione di Bodfors, confermerebbero questo modo di vedere. Di più la determinazione dei gruppi acetilabili con anidride acetica nel dodecaidroderivato dà valori superiori di circa un'unità a quelli ottenuti con la lucensomicina, indicando la presenza nel prodotto idrogenato di un ossidrile in più che non può provenire dalla riduzione del CO chetonico, rimasto inalterato.

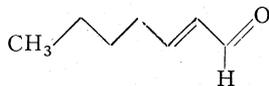
*Acetolisi della lucensomicina.* - Importanti informazioni sulla natura della porzione azotata della molecola dell'antibiotico si sono ricavate dall'acetolisi, condotta con anidride acetica in presenza di acido solforico.



(I)

Abbiamo ottenuto due acetilderivati cristallini che sono risultati identici ad un *triacetato* e al *tetraacetato* della *micosammina* (I), un amminozucchero (3-ammino-3,6-didesossi-D-mannosio) che entra nella costituzione della pimaricina e di altri antibiotici tetraenici come la nistatina, l'anfotericina B, e la tricomicina. L'identificazione è stata fatta per confronto con i campioni autentici di tali acetati ottenuti per eguale trattamento della pimaricina. Alla micosammina appartengono quindi l'amminogruppo primario e due degli ossidrili alcoolici liberi presenti nella lucensomicina.

*Azione degli ossidanti sulla lucensomicina.* - L'ossidazione a caldo dell'antibiotico con bicromato e acido solforico porta alla formazione di prodotti carbonilici volatili dei quali sono stati individuati l'*acetaldeide* e una aldeide insatura risultata identica al *2-eptenale* (II) <sup>(11)</sup>, al confronto dei 2,4-dinitrofenilidrazoni della sostanza e di un campione sintetico.



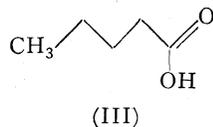
(II)

Come è noto <sup>(4, 12)</sup> e come abbiamo potuto confermare, nelle stesse condizioni la pimaricina fornisce acetaldeide e crotonaldeide.

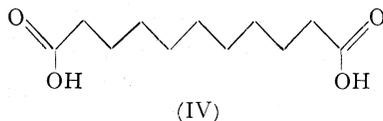
(11) P. Z. BEDOUKIAN, « Journ. Am. Chem. Soc. », 79, 889 (1957).

(12) O. CEDER, « Acta Chem. Scand. », 18, 103 (1964).

L'ozonolisi della lucensomicina dà ancora acetaldeide e 2-eptenale, oltre a notevoli quantità di *gliosale*, come previsto.

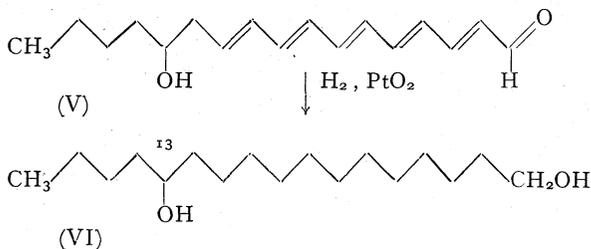


Con acido cromico in soluzione acetica si ottiene *acido valerianico* normale (III) accanto ad *acido fumarico* e piccole quantità di *acido succinico*, che è peraltro anche ottenibile dall'*acido n-valerianico* per eguale trattamento; *acido n-valerianico* si forma anche nell'ossidazione nitrica e permanganica dell'antibiotico.



L'ossidazione nitrica a caldo della dodecaidrolucensomicina porta alla formazione di *acido n-valerianico* e di *acido alpha, omega-undecandioico* (IV), isolato e caratterizzato come estere metilico mediante gascromatografia.

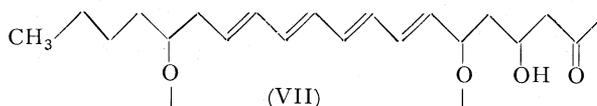
*Azione degli alcali sulla lucensomicina.* - In condizioni blande gli alcali attaccano l'antibiotico con formazione di una sostanza  $C_{17}H_{24}O_2$  colorata in giallo, della quale abbiamo potuto stabilire la struttura di *13-idrossi-2, 4, 6, 8, 10-eptadecapentaenale* (V) in base ai seguenti fatti e considerazioni.



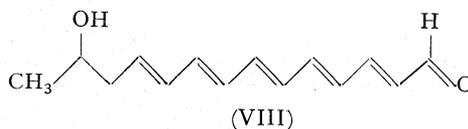
Lo spettro *U.V.* (in  $CHCl_3$ ) presenta un massimo a  $380 m\mu$  ( $\log \epsilon 4,8$ ); tale massimo appare anche in soluzione metanolica, ma lentamente (rapidamente per aggiunta di acidi minerali) a seguito della acetalizzazione della funzione aldeidica.

(13) Nel recente lavoro di O. CEDER, J. M. WAISVISZ e M. G. VAN DER HOEVEN, « Acta Chem. Scand. » 18, 93 (1964) sulla struttura della pimaricina, apparirebbe che tale antibiotico per trattamento con acidi minerali a caldo non fornisce anidride carbonica, in contrasto con quanto è riportato nel precedente lavoro di J. B. PATRICK e collab. (4). Ripetendo la prova su un campione di pimaricina fornitoci nel 1961 dalla Koninklijke Nederlandsche Gist en Spiritusfabriek di Delft, abbiamo potuto constatare che operando nelle condizioni descritte da O. Ceder e collab. l'antibiotico svolge nettamente anidride carbonica. In esperienze quantitative condotte all'ebollizione con un largo eccesso di  $H_2SO_4$  al 10%, abbiamo ottenuto 0,35 moli di  $CO_2$  per mole di pimaricina.

dica, questo si trasforma in una serie di massimi a 300, 314, 328 e 347  $\mu$ , che sono caratteristici di un pentaene coniugato. Lo spettro *R.M.N.* (in  $\text{CHCl}_3$ ) di (V) mostra il protone aldeidico (doppietto a 9,5 p.p.m.). L'idrogenazione catalitica di (V) fornisce un diolo saturo incolore  $\text{C}_{17}\text{H}_{36}\text{O}_2$  (VI) il quale dà per ossidazione acido *n*-valerianico, ciò che stabilisce la posizione 13 per l'ossidrilile secondario. L'assenza di ramificazioni nella catena  $\text{C}_{17}$  risulta dall'ottenimento dell'acido undecandioico (IV) accanto ad acido *n*-valerianico nell'ossidazione della dodecaidrolucensomicina, ed è confermata dal dosamento dei metili al carbonio nell'antibiotico. Dei due metili presenti uno appartiene alla micosammina, e l'altro è necessariamente quello che si ritrova nell'aldeide (V).



L'aldeide insatura (V) si forma con ogni probabilità a seguito di una reazione di retroaldolizzazione e di  $\beta$ -eliminazione da un sistema del tipo (VII) presente nella lucensomicina; non si può tuttavia escludere che questo sistema, non originariamente presente nell'antibiotico, si formi da questo durante la reazione stessa, come si verifica nel caso della pimaricina (4,12) dalla quale, per trattamento con alcali, si forma l'omologo inferiore  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_2$  (VIII) dell'aldeide polienica da noi ottenuta, attraverso due consecutive reazioni di retroaldolizzazione. Alla presenza del sistema (VII) sono altresì da attribuire la formazione di 2-eptenale nell'ozonolisi e nell'ossidazione cromica, e di acido *n*-valerianico per azione di differenti ossidanti.



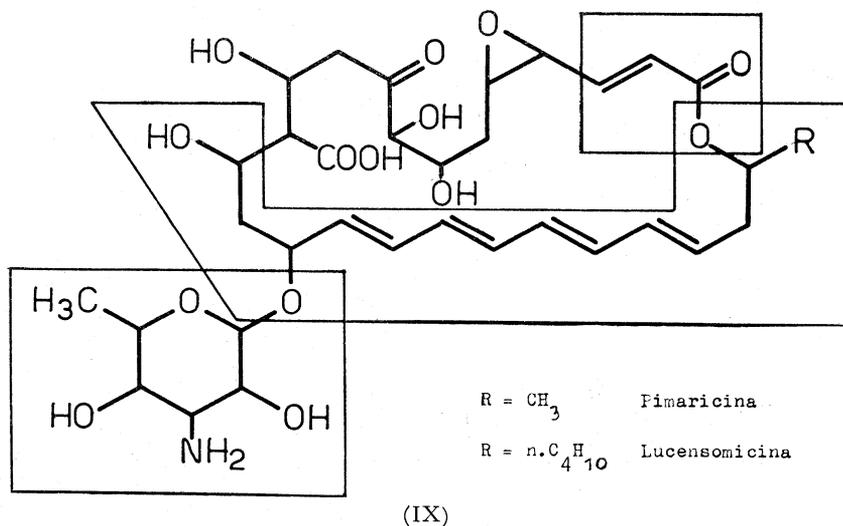
I risultati sperimentali finora ottenuti indicano l'esistenza di una stretta analogia strutturale tra *lucensomicina* e *pimaricina*. Infatti:

1° gli spettri U.V. e I.R. dei due antibiotici sono molto simili tanto che all'inizio di queste ricerche, quando ancora non disponevamo di prove chimiche decisive, la certezza della non identità delle due sostanze è stata raggiunta attraverso il confronto dei fotogrammi di diffrazione con i raggi X (metodo delle polveri);

2° ambedue gli antibiotici contengono un carbossile facilmente eliminabile (13), un CO chetonico non rivelabile con i reattivi usuali, una funzione di estere o lattone macrociclico  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo, due  $\text{CH}_3$  (C), un gruppo eposidico, un sistema tetraenico coniugato tutto *trans*, e danno all'acetolisi lo stesso amminozucchero micosammina;

3° tanto la pimaricina che la lucensomicina forniscono all'idrogenazione catalitica un dodecaidroderivato, che dà per ossidazione lo stesso acido undecandioico a catena normale. Di più l'idrolisi alcalina in condizioni blande

della lucensomicina porta al 13-idrossi-2, 4, 6, 8, 10-eptadecapentaenale (V), omologo superiore del 13-idrossi-2, 4, 6, 8, 10-tetradecapentaenale (VIII) proveniente da analogo trattamento della pimaricina, e dal quale differisce solo per la presenza di un gruppo *n*-butilico in luogo del metile terminale;



4° la formula molecolare della lucensomicina,  $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{O}_{14}\text{N}$  (o  $\text{C}_{37}\text{H}_{55}\text{O}_{14}\text{N}$ ) differisce da quella  $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{O}_{14}\text{N}$  della pimaricina unicamente per  $\text{C}_3\text{H}_6$  ( $\text{C}_4\text{H}_8$  accettando la seconda formula). In considerazione del fatto che la lucensomicina fornisce all'ozonolisi 2-eptenale (II) mentre la pimaricina dà crotonaldeide, e tenuto conto di quanto è stato detto in 3°, appare lecito concludere che gli elementi di struttura della pimaricina (IX, secondo Ceder e collaboratori) racchiusi nelle linee continue, sono presenti anche nella lucensomicina. Le ricerche in corso permetteranno di chiarire se le rimanenti parti della molecola della lucensomicina e della pimaricina che contengono (con la possibile differenza di un  $\text{CH}_2$ ) lo stesso numero di atomi di carbonio, idrogeno e ossigeno, siano identiche o differiscano in qualche dettaglio strutturale. Nella prima di queste alternative, la lucensomicina verrebbe a rappresentare un omologo della pimaricina di eguale costituzione.

Ringraziamo la Società Farmitalia che ci ha generosamente fornito la lucensomicina per questo studio, e la sig.na R. Bernardi per gli esami in cromatografia gassosa.