

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

MARIO BRUFANI, WALTER FEDELI, GIORDANO  
GIACOMELLO, ALESSANDRO VACIAGO

## Sulla struttura della rifamicina Y

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 40 (1966), n.4, p. 548–552.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1966\\_8\\_40\\_4\\_548\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_40_4_548_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.** — *Sulla struttura della rifamicina Y* (\*).

Nota di MARIO BRUFANI, WALTER FEDELI, GIORDANO GIACOMELLO e ALESSANDRO VACIAGO, presentata (\*\*) dal Corrisp. G. GIACOMELLO.

SUMMARY. — The crystal structure of the *p*-iodoanilide derivative of rifamycin Y, at room temperature, has been determined by three-dimensional methods. There are two formula units in the monoclinic unit cell,  $a = 9.49$ ,  $b = 18.96$ ,  $c = 15.30$  Å,  $\beta = 90^\circ 48'$ , with space group  $P2_1$ .

The constitution and configuration of rifamycin Y,  $C_{39}H_{47}NO_{15}$ , as well as many of its conformational details, are therefore now established through these crystallographic results obtained from the study of its *p*-iodoanilide derivative.

Come abbiamo detto in una Nota precedente [1] e, con maggiori dettagli tecnici, in una successiva comunicazione [2], la struttura molecolare dell'antibiotico rifamicina B,  $C_{39}H_{49}NO_{14}$ , è stata da noi determinata attraverso l'analisi roentgenografica di un suo derivato, la *p*-iodio anilide.

La rifamicina B è, accanto alle varie rifamicine (A, C, D, E) che con essa costituiscono la *rifamicina-complex*, il prodotto principale della fermentazione dello *Streptomyces mediterranei* n. sp. in terreno contenente dietilbarbiturato di sodio [3].

È stato in seguito notato che in queste condizioni viene prodotta in piccola quantità anche un'altra rifamicina con proprietà chimiche e fisiche molto simili a quelle della rifamicina B, ma microbiologicamente inattiva: a questa sostanza è stato dato il nome di rifamicina Y. La rifamicina Y si trasforma per blanda ossidazione in un prodotto denominato rifamicina YO, il quale, per idrolisi seguita da riduzione, dà successivamente la rifamicina YS e YSV. Questi prodotti sono molto simili ai corrispondenti derivati dalla rifamicina B, ma presentano un'attività praticamente trascurabile contro i batteri gram-positivi e gram-negativi, e contro i micobatteri [4].

Poiché dunque la rifamicina Y e la rifamicina B sono molto simili per quanto riguarda numerose loro proprietà chimiche e fisiche, ma profondamente diverse per quanto concerne l'attività, presenta un ovvio interesse la conoscenza della struttura della rifamicina Y, nei suoi tre aspetti di costituzione, di configurazione e di conformazione, per lo studio delle relazioni tra struttura e attività della rifamicina B.

Abbiamo perciò determinato per via cristallografica la struttura della rifamicina Y, dato che essa era ignota in tutti e tre i suoi aspetti sopra menzionati, e che la stessa formula bruta, pur dovendo sicuramente essere poco dissimile da quella della rifamicina B, era incerta.

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

(\*\*) Nella seduta del 12 marzo 1966.

Anche in questo caso abbiamo fatto all'uopo ricorso alla *p*-iodio anilide del composto in esame. Sempre in base all'analogia con la rifamicina B, era stato infatti possibile stabilire anche per la rifamicina Y la presenza del gruppo carbossilico libero dell'acido glicolico sul quale poter aggiungere un atomo pesante o, più in generale, un radicale contenente un atomo pesante [4].

Nella presente Nota descriviamo brevemente i risultati di questa indagine, risultati che sono stati ricavati solo con i metodi della strutturistica diffrattometrica, senza fare appello a nessuna informazione chimica che non fosse la già nota analogia della rifamicina Y con la rifamicina B <sup>(1)</sup>.

I cristalli di *p*-iodio anilide della rifamicina Y sono stati preparati da soluzioni dimetilsolfossido-acqua e tenuti in presenza del solvente, chiusi in capillare, durante l'analisi. Così come da noi descritto per il caso della rifamicina B [5], questa tecnica è indispensabile per mantenere i cristalli sufficientemente stabili.

I dati cristallografici relativi a questi cristalli stabili, tenendo conto anche dei risultati trovati durante la determinazione della struttura per quanto riguarda la formula bruta e le molecole di solvente presenti nel reticolo, sono:

$C_{45}H_{51}N_2O_{14}I + (CH_3)_2SO + H_2O$ ,  $M = 970,82 + 78,13 + 18,02 = 1066,97$ , monoclinico sfenoidico,  $a = 9,49 \pm 0,03$ ,  $b = 18,96 \pm 0,06$ ,  $c = 15,30 \pm 0,05$  Å,  $\beta = 90^\circ 48' \pm 30'$ ,  $U = 2752,66$  Å<sup>3</sup>,  $D_c = 1,287$  gcm<sup>-3</sup> per  $Z = 2$  <sup>(2)</sup>,  $F(000) = 1104$  <sup>(3)</sup>, gruppo spaziale  $P2_1$  ( $C_2^2$ , No. 4), radiazione CuK $\alpha$  ( $\lambda = 1,5418$  Å),  $\mu = 55,40$  cm<sup>-1</sup>, fotogrammi Weissenberg e di cristallo oscillante.

Le coordinate dello iodio sono state ricavate da una sintesi di Patterson basata sulle intensità misurate per via fotografica delle 1426 riflessioni osservate con intensità apprezzabile (circa il 23 % di tutte le riflessioni possibili nella sfera limite di CuK $\alpha$ ). L'indice di accordo R relativo a un primo calcolo di fattori di struttura per il solo atomo di iodio così localizzato è risultato del 44,3 %.

Come è noto, nel gruppo spaziale  $P2_1$  la posizione dell'origine lungo l'asse *y* è arbitraria. Nel nostro caso è stata fissata nel punto intermedio tra due atomi di iodio correlati dall'elemento di simmetria  $2_1$ . In questo modo l'origine della cella diviene uno pseudo-centro di simmetria per i due atomi di iodio e la prima sintesi di Fourier, calcolata attribuendo alle ampiezze osservate i valori di fase ricavati dal solo atomo di iodio, presenta un falso piano di simmetria passante per lo stesso atomo di iodio a  $y/b = 0,25$ . Questo dà luogo a una sovrapposizione della molecola e della sua immagine speculare, con un raddoppiamento

(1) Indagini chimiche e chimico-fisiche sulla costituzione della rifamicina Y sono ora in corso per opera di J. Leitich, V. Prelog e P. Sensi. È interessante far qui notare che i risultati delle due indagini, quella chimica e quella roentgenografica, così diverse nei loro metodi e condotte in modo del tutto indipendente, sono in completo accordo [4].

(2) Il valore di  $D_c$  è stato calcolato considerando anche il solvente di cristallizzazione. Non è stato misurato  $D_m$ , ma è tuttavia possibile affermare che il valore di  $Z = 2$  è corretto, perché porta a un valore di  $D_c$  dello stesso ordine di grandezza del valore trovato per la rifamicina B.

(3) Valore calcolato considerando anche il solvente di cristallizzazione.

del numero degli atomi nella cella. Per isolare e identificare gli atomi di una singola molecola, rimuovendo questa ambiguità (4), abbiamo innanzi tutto ritrovato tra i massimi della sintesi di Fourier la parte piana di ciascuna molecola presumibilmente analoga alla corrispondente parte piana della rifamicina B (l'anello naftalinico e l'anello diidrofuranonico con esso condensato, e l'anello dell'anilide). Dei due gruppi omogenei di atomi così trovati, in posizioni tra loro speculari, è stato poi scelto quello che portava alla stessa chiralità

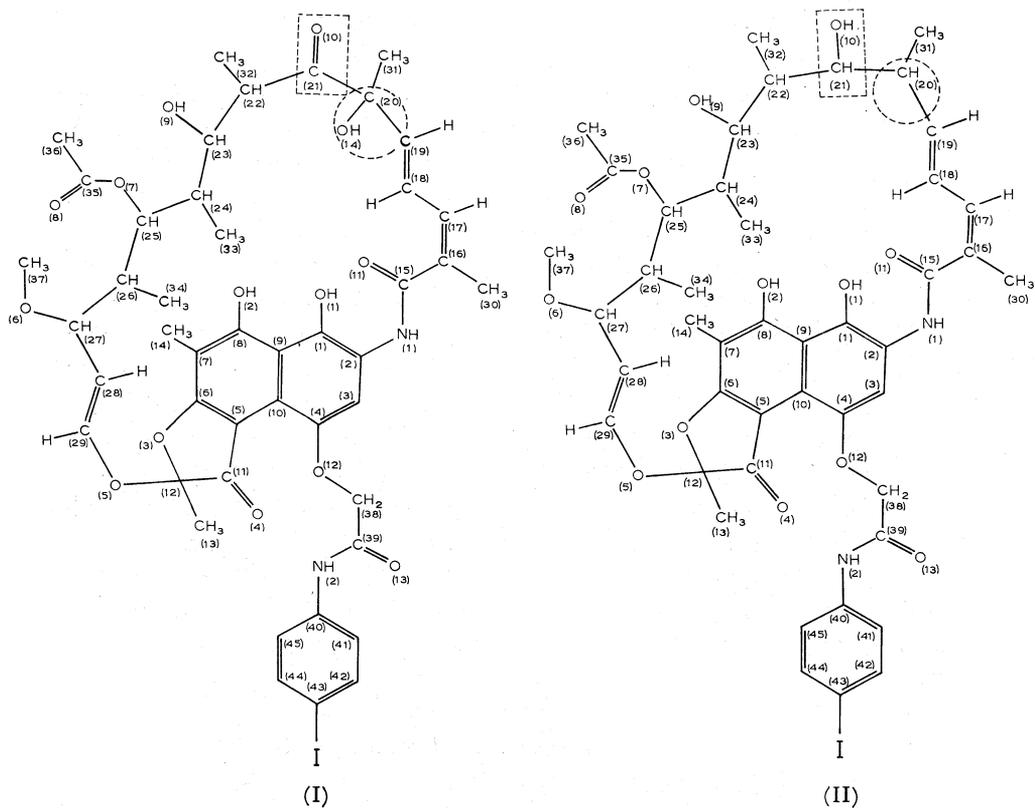


Fig. 1. - Struttura della *p*-iodio anilide della rifamicina Y (I) e della *p*-iodio anilide della rifamicina B (II).

planare della rifamicina B. Con una seconda sintesi di Fourier, calcolata attribuendo alle ampiezze osservate i valori di fase ricavati da questo gruppo di atomi, l'ambiguità iniziale è stata in parte rimossa e da questo stadio la determinazione di tutta la struttura, e poi il suo affinamento, sono continuati con una combinazione di sintesi di Fourier, sintesi di Fourier differenza e

(4) A nulla è valsa a questo scopo la localizzazione sulla sintesi di Patterson della posizione dell'atomo di zolfo della molecola di dimetilsolfossido che entra a far parte del reticolo come solvente di cristallizzazione, perché l'atomo di zolfo giace approssimativamente sul falso piano di simmetria a  $y/b = 0,25$ .

metodo dei minimi quadrati, fino al valore attuale del 13,6 % per l'indice di accordo  $R$  <sup>(5)</sup>. Durante questo processo, e parallelamente alla progressiva sparizione dell'immagine speculare, circa il 20 % dei massimi della prima Fourier sono risultati spuri e sono andati via via scomparendo. La deviazione standard  $\sigma(\rho)$  sulla densità elettronica è ora uguale a  $0,22 \text{ eA}^{-3}$ .

Dato che l'affinamento della struttura è dunque praticamente completato, è legittimo trarre a questo punto alcune conclusioni.

Le posizioni e le densità elettroniche da noi trovate per gli atomi della *p*-iodio anilide della rifamicina Y, anche insieme a considerazioni stereochemiche, definiscono per essa la struttura (I) rappresentata accanto a quella (II) della rifamicina B in fig. 1, e illustrata nelle Tavv. I e II. Queste posizioni definiscono distanze di legame che hanno una deviazione standard media  $\bar{\sigma}(l)$  di  $0,07 \text{ \AA}$  e uno scarto massimo di  $0,24 \text{ \AA}$  (in un caso) e medio di  $0,097 \text{ \AA}$  da valori a priori accettabili per la formula di fig. 1. Come abbiamo detto, la nostra interpretazione della struttura chimica della sostanza è comunque basata anche su considerazioni stereochemiche e di densità elettronica, e può quindi essere considerata corretta.

Come è ovvio, nessuno degli atomi di idrogeno visibili nelle riproduzioni del modello di Tav. I e II 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.

Come prevedibile, la struttura della rifamicina Y risulta molto simile a quella della rifamicina B [1, 2, 6, 7] e quindi non ne daremo qui una descrizione e discussione dettagliate. Le sole differenze sostanziali sono che l'ossigeno ossidrilico secondario O(10) in posizione (21) nella rifamicina B è, nella rifamicina Y, sostituito da un ossigeno carbonilico, e che l'atomo di idrogeno in posizione (20) nella rifamicina B è qui sostituito da un ossidrilico terziario. Come conseguenza di questa variazione di struttura si nota anche una variazione conformazionale della catena nel tratto (20), (21), (22). Si ha però una ritenzione di configurazione del centro di asimmetria in posizione (20) quando l'atomo di idrogeno è sostituito dall'ossidrilico. Mentre già era in corso la nostra indagine, questa differenza di costituzione tra la rifamicina B e la rifamicina Y era stata ipotizzata anche in base a dati sullo spettro NMR della rifamicina YO e YS; e la variazione della formula bruta che essa comporta era stata confermata con misure di spettrometria di massa [4]. La nostra determinazione di tutta la struttura conferma, tra l'altro, questa ipotesi e aggiunge essenziali informazioni configurazionali e conformazionali sul tratto (20), (21), (22) della catena.

(5) L'affinamento è stato condotto introducendo e affinando un fattore di vibrazione anisotropo per lo iodio e lo zolfo, e uno isotropo individuale per tutti gli atomi. Il valore medio di  $B$  è allo stato attuale ( $R = 13,6\%$ ) di  $6,7 \text{ \AA}^2$  per gli atomi della parte planare della molecola e di  $9,6 \text{ \AA}^2$  per gli atomi della catena laterale e le molecole di solvente.

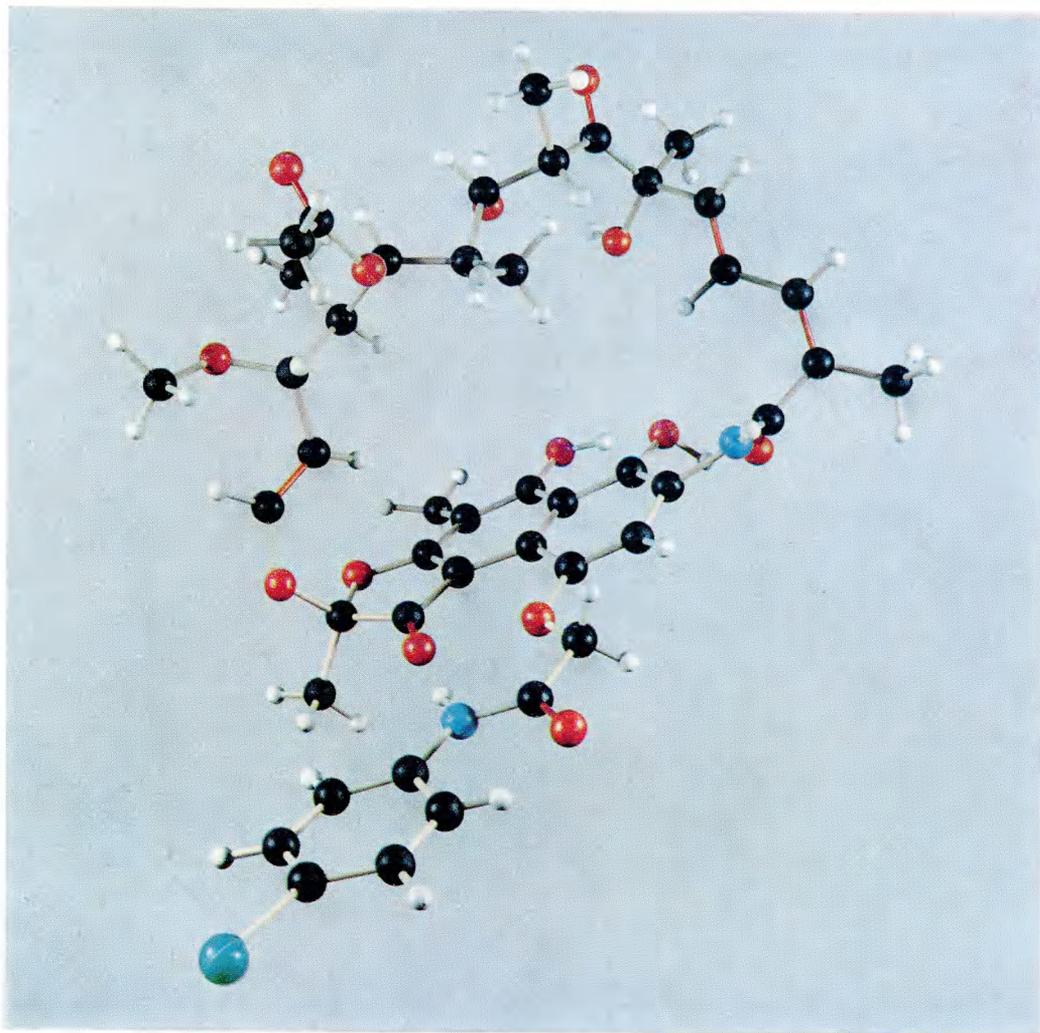
Da notare, infine, che entrano a far parte del reticolo, per ciascuna molecola di rifamicina Y, due molecole di solvente: una di dimetilsolfossido, legata da un legame idrogeno  $O \cdots HO$  di  $2,70 \text{ \AA}$  al gruppo ossidrilico  $O(9)$  della rifamicina, e una di acqua, legata da un legame idrogeno  $O \cdots HN$  di  $2,87 \text{ \AA}$  all'azoto ammidico  $N(1)$  della rifamicina <sup>(6)</sup>.

Siamo particolarmente grati al prof. P. Sensi, Direttore Centrale della Ricerca della Lepetit S.p.A., per i campioni di *p*-iodio anilide della rifamicina Y. Ringraziamo anche il sig. N. Ocello per il valido aiuto tecnico dato allo svolgimento di questa indagine.

#### BIBLIOGRAFIA.

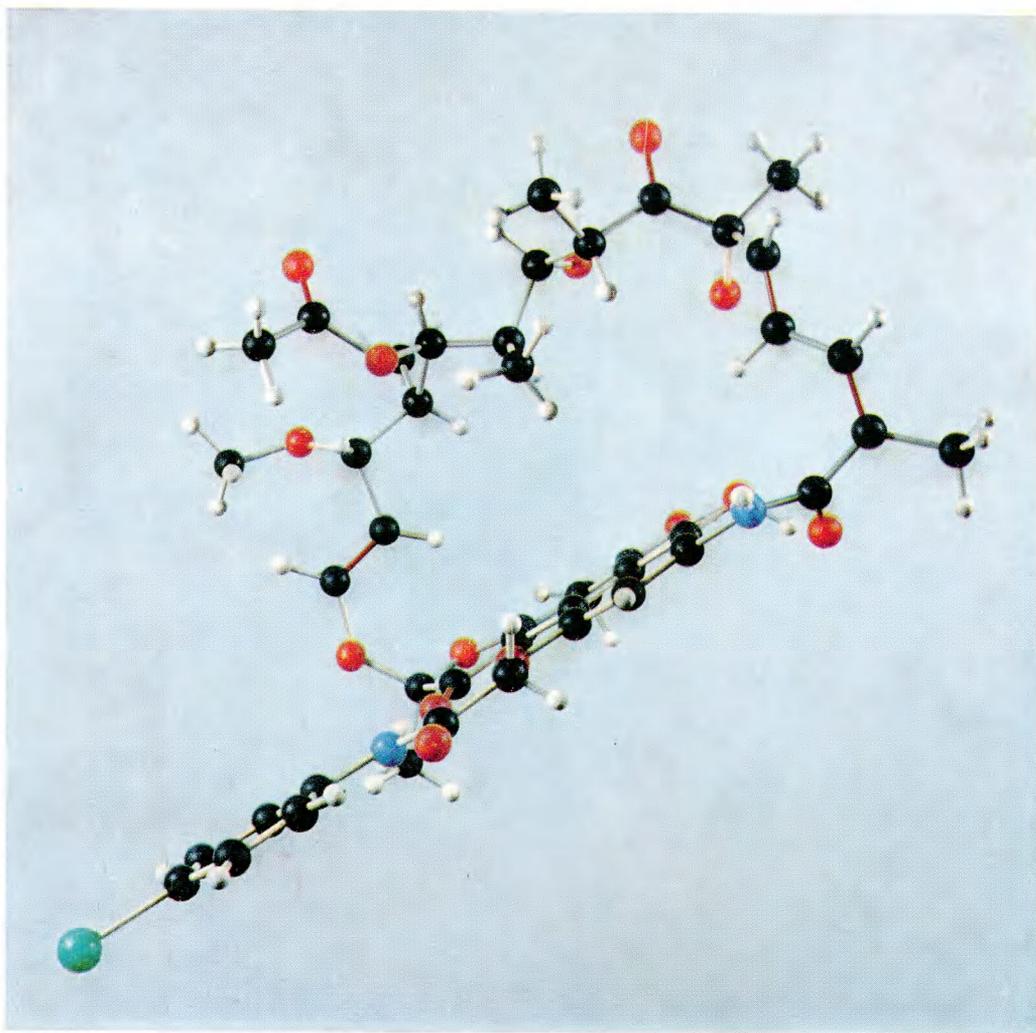
- [1] M. BRUFANI, W. FEDELI, G. GIACOMELLO e A. VACIAGO, « Rend. Acc. Lincei », 36, 113 (1964).
- [2] M. BRUFANI, W. FEDELI, G. GIACOMELLO e A. VACIAGO, « Exper. », 20, 339 (1964).
- [3] P. MARGALITH e H. PAGANI, « Appl. Microbiol », 9, 325 (1961).
- [4] P. SENSI, comunicazione personale.
- [5] M. BRUFANI, W. FEDELI, G. GIACOMELLO e A. VACIAGO, « Chemotherapia (Basel) », 7, 145 (1963).
- [6] W. OPPOLZER, V. PRELOG e P. SENSI, « Exper. », 20, 336 (1964).
- [7] J. LEITICH, W. OPPOLZER e V. PRELOG, « Exper. », 20, 343 (1964).

(6) Peraltro, allo stadio attuale di affinamento ( $R = 13,6 \%$ ) la situazione relativa alle molecole di solvente di cristallizzazione presenti nel reticolo non è completamente definita. Infatti si trova nella sintesi di Fourier un ultimo massimo ancora non interpretato, a distanza di legame ( $\sim 1,4 \text{ \AA}$ ) dal massimo secondo noi dovuto a una molecola d'acqua di cristallizzazione. La costituzione della molecola di rifamicina Y, d'altro canto, non dipende da questa interpretazione ancora aperta ed è invece al presente stadio di affinamento completamente e univocamente definita. Premesso che considerazioni energetiche e di altre natura fanno escludere l'ipotesi di una distribuzione statistica di una sola molecola di  $H_2O$  sulle due posizioni trovate nella sintesi di Fourier, intendiamo a questo punto controllare, attraverso l'ulteriore affinamento della struttura e con altre misure chimico-fisiche, le due ipotesi che il massimo in questione sia spurio, oppure che i due massimi a distanza di legame siano relativi a una molecola diversa dall'acqua.



*Foto Vasari Roma*





*Foto Vasari Roma*