

## **Beiträge zur Chemie der Pyrrolpigmente, 69. Mitt. [1]: Tripyrrine vom Prodigiosentyp als Ionophore**

**Dieter Eichinger und Heinz Falk\***

Institut für Chemie, Johannes-Kepler-Universität Linz, A-4040 Linz, Austria

*(Eingegangen 6. Februar 1986. Angenommen 30. April 1986)*

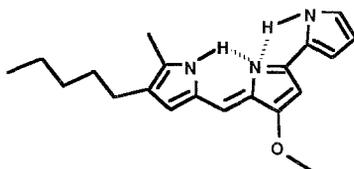
### *On the Chemistry of Pyrrole Pigments, LXIX: Tripyrrines of the Prodigiosene Type as Ionophores*

A compound of the prodigiosene type chromophore has been prepared and its carrier mediated transport properties for nearly all physiologically important cations determined using a bulk membrane system. This ligand is a very effective ionophore for these cations without pronounced selectivities. The mechanistic implications of complexation behaviour of the ligand for its transport characteristics are discussed: The physiological (bacteriostatic, fungistatic, antimitotic and toxic) properties of the prodigiosenes may be fundamentally correlated to their pronounced ionophoric properties.

*(Keywords: Bulk membrane; Cation transport; Ionophore; Prodigiosin)*

### **Einleitung**

Lineare Tripyrrole vom Typ des Naturstoffes Prodigiosin (**1**) sind auf Grund ihrer bakteriostatischen, fungistatischen und antimitotischen Eigenschaften Gegenstand lebhaften Interesses [2—4].



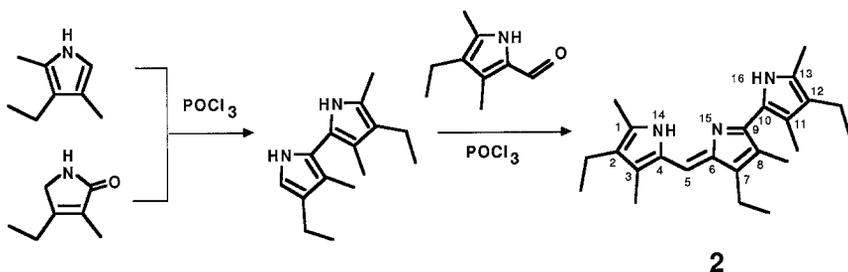
**1**

Wie in einer vorangegangenen Mitteilung [1] abgeleitet werden konnte, zeigen lineare Polypyrrole, insbesondere vom Strukturtyp der Tripyrrine, Selektivität als Ionophore für den Transport biologisch

wichtiger Kationen. Es ist deshalb naheliegend, die Frage abzuklären, ob nicht auch Verbindungen mit Prodigiosenchromophor dementsprechende Eigenschaften besitzen, zumal in einem Fall nachgewiesen wurde, daß durch dieses Agens die  $K^+$ -Permeabilität der Zellwand geändert wird [4]. Die Untersuchung dieses Problemkreises ist das Ziel der vorliegenden Studie.

### Experimenteller Teil

Für den Aufbau des Modellprodigosenderivates **2** haben wir zunächst das entsprechende 2,2'-Bipyrrol aus der Umsetzung eines Pyrrols mit einem 3-Pyrrolin-2-on erhalten (vgl. dagegen [5]). In der Folge wurde nicht wie im Rahmen der Synthese von Prodigiosinen [6, 7] und Prodigiosinanaloga [8] das gebildete Bipyrrol formyliert, sondern dieses unmittelbar mit einem Pyrrolaldehyd unter Bildung des Pyromethenfragmentes kondensiert (s. Formelübersicht [9]).



#### 4,4'-Diethyl-3,3',5-trimethyl-2,2'-bipyrrol [ $C_{15}H_{22}N_2$ ]

5.5 g 3-Ethyl-2,4-dimethylpyrrol [10] (44.7 mmol) werden innerhalb 40 min unter Argonschutz und Eiskühlung mit 0.9 ml  $POCl_3$  versetzt. Hiezu wird im Verlauf von 1.5 h eine Lösung von 1.25 g 4-Ethyl-3-pyrrolin-2-on [11] (10 mmol) in 1 ml  $CH_2Cl_2$  unter Eiskühlung und Argonschutz zugetropft und anschließend 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Aufnehmen in 50 ml  $CH_2Cl_2$  wird mit 50 ml eiskalter 1%iger Natriumazetatlösung ausgeschüttelt und die vereinigten wäßrigen Phasen anschließend mit 4 N NaOH auf pH 10 gebracht. Extraktion mit  $CH_2Cl_2$ , Trocknen über  $Na_2SO_4$ , Abrotieren und fraktionierte Destillation des Rückstandes gab 0.89 g (39% d. Th.) des öligen Bipyrrols vom Sdp.  $150^\circ C$  ( $10^{-2}$  Torr).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , 80 MHz): 7.64 (breites s, NH), 7.44 (breites s, NH), 6.53 (breites s, 5'H), 2.43 (q,  $J = 8$  Hz, 2  $CH_2CH_3$ ), 2.19 (s,  $CH_3$ ), 2.10 (s,  $CH_3$ ), 2.00 (s,  $CH_3$ ), 1.10 (t,  $J = 8$  Hz, 2  $CH_2CH_3$ ) ppm.

UV ( $CH_3OH$ ): 257 und 365 nm mit einer rel. Intensität von 17 zu 1.

IR (KBr):  $\nu = 1680, 1160\text{ cm}^{-1}$ .

MS (70 eV,  $30^\circ$ ):  $m/e$  (%) = 230 (57,  $M^+$ ), 215 (100), 97 (11), 95 (11), 85 (12), 81 (18), 77 (16), 71 (45), 69 (35), 67 (29), 65 (12), 57 (82), 55 (75), 51 (11).

#### 2,7,12-Triethyl-1,3,8,11,13-pentamethyl-prodigiosin [**2**; $C_{24}H_{33}N_3$ ]

80 mg (0.35 mmol) des voranstehenden Bipyrrols werden zusammen mit 60 mg (0.4 mmol) 4-Ethyl-3,5-dimethylpyrrol-2-carbaldehyd [12] unter Argonschutz in

2 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und unter Rühren bei Raumtemperatur 0.1 ml  $\text{POCl}_3$  zugegeben. Nach 15 min Rühren bei Raumtemperatur wird 20 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  zugegeben, dreimal mit 20 ml 2% wäbr.  $\text{NH}_3$  und zweimal mit 20 ml  $\text{H}_2\text{O}$  ausgeschüttelt, über  $\text{K}_2\text{CO}_3$  getrocknet, abrotiert und der Rückstand an Kieselgel mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 100/1$  chromatographiert. Ausbeute: 75 mg (59% d. Th) **2**; Schmp.: 40–45 °C.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , 80 MHz): 6.67 (s, =CH—), 2.49 (q,  $J = 8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2.47 (q,  $J = 8$  Hz, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2.39 (s,  $\text{CH}_3$ ), 2.29 (s, 2  $\text{CH}_3$ ), 2.21 (s,  $\text{CH}_3$ ), 2.17 (s,  $\text{CH}_3$ ), 1.18 (t,  $J = 8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.14 (t,  $J = 8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.08 (t,  $J = 8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) ppm.

UV-VIS ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ):  $\lambda = 503$  (13 700), 360 (sh, 5 400), 300 (11 200) nm ( $\epsilon$ );  $\lambda_{\text{max}}$  (*n*-Hexan) = 510 nm;  $\lambda_{\text{max}}$  (Dimethylformamid) = 501 nm;  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\text{CHCl}_3$ ) = 504 nm;  $\lambda_{\text{max}}$  (Aceton) = 497 nm;  $\lambda_{\text{max}}$  (Dimethylsulfoxid/ $\text{H}_2\text{O} = 80/20$ ) = 510 nm;  $\lambda_{\text{max}}$  (Dimethylsulfoxid/ $\text{H}_2\text{O} = 80/20$ ;  $\text{H}^+$ ) = 590 nm —  $\epsilon_2/\epsilon_2 \cdot \text{H}^+ = 0.64$ .

IR (KBr):  $\nu = 1690, 1615 \text{ cm}^{-1}$ .

MS (70 eV, 150 °C):  $m/e$  (%) = 363 (32,  $M^+$ ), 348 (33), 319 (30), 229 (25), 225 (35), 219 (26), 215 (37), 212 (25), 211 (46), 197 (25), 195 (25), 193 (25), 191 (26), 183 (25), 181 (24), 177 (25), 167 (23), 165 (23), 159 (22), 149 (77), 139 (55), 136 (98), 131 (37), 122 (62), 119 (49), 83 (60), 79 (60), 77 (60), 72 (27), 70 (59), 67 (81), 66 (54), 64 (31), 60 (24), 59 (31), 58 (45), 55 (100).

Die Messung der Ionenflußdichten erfolgten in der beschriebenen Weise [1, 13] mit Hilfe einer Schulman-Brücke [14]. Die spektroskopischen Daten erhielt man mit Hilfe der Perkin-Elmer-330-UV-VIS-, Finnigan-MAT-212-M-, Zeiss-IMR-25-IR- und Varian-FT-80- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrometer. Den  $pK_a$ -Wert bestimmte man durch spektrophotometrische Titration im Lösungsmittelsystem Dimethylsulfoxid/Wasser (80/20) mit  $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$  und  $\text{H}_2\text{SO}_4$  vgl. [1].

## Ergebnisse und Diskussion

Die Abhängigkeit der für den Carrier **2** gemessenen Transportflußdichten einiger (vor allem in physiologischer Hinsicht wichtiger) Kationen [15] von ihren Ionenradien [16] ist in Abb. 1 gezeigt: Es folgt daraus der schwach ausgeprägte Trend, daß Kationen mit kleinen Ionenradien effektiver transportiert werden, eine Selektivität ist dabei jedoch kaum zu erkennen. Dies steht in Gegensatz zum Verhalten von Tripyrrinen, bei denen ein Optimum im Bereich von 0.7 Å besteht [1], das einer optimalen Geometrie für Kationen mit einer Tendenz zur tetragonalen Koordination entspricht. Die für solche Kationen ( $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ) beobachteten Transportflußdichten bei Tripyrrinen liegen eine Größenordnung über den für **2** gemessenen.

Dieses gegenüber den Tripyrrinen stark unterschiedliche Verhalten weist auf ein unterschiedliches Verhalten der Prodigiosene bei der Komplexbildung hin. Wie bei den Tripyrrinen [1] scheint zunächst auch bei den Prodigiosenen das Pyrromethenfragment für die Komplexbildung verantwortlich. Bei den Tripyrrinen ist jedoch die Adaption des Pyrrolinonfragmentes an die räumlichen Bedürfnisse im Komplex durch die Flexibilität des Systems gewährleistet. Das relativ starre Bipyrrrolfragment

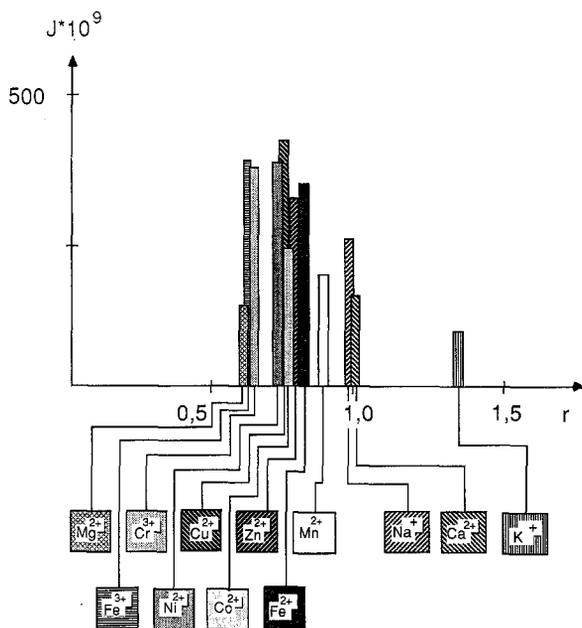


Abb. 1. Transportflußdichten ( $J$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) von Kationen für den Carrier **2** in Abhängigkeit vom Ionenradius ( $r$ , Å) derselben

der Prodigiosene stellt hingegen eine Belastung des komplexierten Systems im Hinblick auf dessen Raumerfordernisse dar, die durch eine Torsionsbewegung praktisch nicht entlastet werden kann. Dementsprechend treten bei Zusatz von Zinkacetat zu **2** nur geringfügige bathochrome Verschiebungen (503 nach 535 nm) ohne die für Pyrromethenchelate üblichen starken Intensitätserhöhungen ( $\epsilon_{2 \cdot Zn} / \epsilon_2 = 1.13$ ) auf. Für die Komplexstöchiometrie findet man z. B. für  $Ni^{++}$  ein Molverhältnis von Ligand zu Kation von 1 : 1. Dabei sind, zumindest was die Komplexbildungstendenz anbelangt, prinzipiell tetragonal koordinierende Kationen gegenüber quadratisch koordinierenden im Vorteil (vgl. [1]).

Für die Protonierung der Base **2** erhält man einen  $pK_a$ -Wert von  $8.1 \pm 0.05$  (Dimethylsulfoxid/Wasser) der im gleichen Bereich der für analoge Prodigiosenderivate in Ethanol [7] liegt. Die Transportflußdichte für Protonen unter Verwendung von **2** als Carrier beträgt  $260 \cdot 10^{-9} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Dieser Wert liegt eine Größenordnung unterhalb der für Tripyrrine beobachteten [1]. Deren  $pK_a$ -Wert liegt jedoch im Bereich um 5. Die wesentlich erhöhte Basizität der Prodigiosene führt also dazu, daß das Proton an der Grenzfläche zur Empfängerphase nur mehr schwierig abgegeben wird, was dann eine Verringerung der Transportrate für das

Proton zur Folge hat. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit dem Verhalten von Kationencarriern, bei denen mit steigender Komplexbildungskonstante zunächst zunehmend effizienter Transport beobachtet wird. Bei Überschreiten einer optimalen Größe der Komplexbildungskonstante sinkt dann die Transportflußdichte ab, da die Bindung des Kations an den Carrier zu dominieren beginnt [13, 17]. Es sei auch angemerkt, daß wegen der hohen Basizität von **2** der Transport von Kationen durch dessen partielle Protonierung konkurrenziert wird — deshalb wurde auch die Konzentrationsbestimmung in der Empfängerphase vornehmlich titrimetrisch durchgeführt (vgl. [1]). Die wahren Transportflußdichten sind dementsprechend in Wirklichkeit höher anzusetzen.

Stellt man nun die für das Prodigiosen **2** ermittelten Transportflußdichten jenen für typische makrocyclische Carrier beobachteten Daten gegenüber, so fällt sofort auf, daß **2** für sämtliche Kationen, inklusive  $\text{Na}^+$  oder  $\text{K}^+$ , effektiver ist. So werden  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ -Ionen von [18]-Crown-6 mit einer Transportflußdichte von  $1.9 \cdot 10^{-9}$  und  $44 \cdot 10^{-9} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  durch eine Flüssigkeitsmembran geschleust [13], die entsprechenden Werte für **2** betragen aber  $240 \cdot 10^{-9}$  und  $70 \cdot 10^{-9} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (vgl. Abb. 1). Dieser Umstand scheint uns auch einen möglichen Schlüssel zum Verständnis der physiologischen Verhaltensweisen der Prodigiosine zu enthalten. Die außerordentlich effektive Eignung dieses Ligandensystems als Carrier für nahezu alle physiologisch bedeutsamen Ionen [15] ohne stark ausgeprägte Selektivitäten machen dieses für jedweden Eingriff in den Ionenhaushalt eines lebenden Systems geradezu prädestiniert. Die potentiellen positiven Eigenschaften dieser Verbindungsklasse [2–4] dürften damit Hand in Hand mit deren toxischem Verhalten [2] gehen — eine Situation, die an jene bei gewissen Polyetherantibiotika [18] erinnert.

### Dank

Die vorliegende Untersuchung wurde durch den Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt P 5570) unterstützt.

### Literatur

- [1] 68. Mitt.: *Eichinger D, Falk H* (1987) *Monatsh Chem* 118: 91
- [2] *Williams RP, Hearn WR* (1967) *Antibiotics* II: 410
- [3] *Gerber N* (1975) *Critical Rev Microbiol* 1975: 469
- [4] *Alonzo V* (1984) *L'Igiene Moderna* 81: 557
- [5] *Rapoport H, Castagnoli N* (1962) *J Amer Chem Soc* 84: 2778
- [6] *Rapoport H, Holden KG* (1962) *J Amer Chem Soc* 84: 635
- [7] *Hearn WR, Elson MK, Williams RH, Medina-Castro J* (1970) *J Org Chem* 35: 142
- [8] *Berner H, Schulz G, Reinshagen H* (1977) *Monatsh Chem* 108: 233, 285, 915; (1978) 109: 137

- [9] Wir schlagen im Gegensatz zur Bezifferung des „Prodigosins“ in Lit. [7] die in der Formelübersicht angegebene vor. Sie entspricht eher der Bezifferung von Tripyrrinen und Bilinen
- [10] *Fischer H* (1941) *Org Synth* 21: 67
- [11] *Plieninger H, Kurze J* (1964) *Ann Chem* 680: 60
- [12] *Silverstein RM, Ryskiewitz EE, Willard C, Köhler RC* (1955) *J Org Chem* 20: 668
- [13] *Eichinger D, Falk H* (1982) *Monatsh Chem* 113: 355
- [14] *Rosano H, Schulman JH, Weisbuch JB* (1961) *Ann NY Acad Sci* 92: 457
- [15] *Williams DR* (1971) *The metals of life*. Van Nostrand Reinhold, London;  
*Kiem J, Feinendegen LE* (1985) *Chem Lab Betr* 36: 540
- [16] *D'Ans-Lax* (1967) *Taschenbuch für Chemiker und Physiker*, 3. Aufl. Springer, Berlin Heidelberg New York
- [17] *Lamb JD, Christensen JJ, Oscarson JL, Nielsen BL, Asay BN, Izatt RM* (1980) *J Amer Chem Soc* 102: 6820; *Lehn JM, Behr JP, Kirch M* (1985) *J Amer Chem Soc* 107: 241
- [18] *Hilgenfeld R, Sängler W* (1982) In: *Host guest complex chemistry II*. *Top Curr Chem* 101: 3