

- [19] F. Gunstone in *The Lipids Handbook* (Hrsg.: F. D. Gunstone, J. L. Harwood, F. B. Badley), Chapman and Hall, London, **1994**, S. 594.
 [20] C. Paden, R. Seiden (Procter & Gamble), US-A 5288 512, **1994** [*Chem. Abstr.* **1994**, 112, 54088j].
 [21] P. H. Brown, F. D. Carvallo, R. C. Dinwoodie, M. T. Dueber, D. K. Hayashi, R. G. Krishnamurthy, J. J. Myrick, R. S. Silver, C. Thomas (Kraft General Foods), US-A 5288 619, **1994** [*Chem. Abstr.* **1994**, 115, 113 289 n].
 [22] V. Partali, H.-R. Sliwka, T. Anthonsen, S. Liaaen-Jensen, *Biocatalysis* **1992**, 6, 145.
 [23] D. R. Kodali, A. Tercyak, D. A. Fahey, D. M. Small, *Chem. Phys. Lipids* **1990**, 52, 163.
 [24] M. Berger, M. Schneider, *Fett. Wiss. Technol.* **1993**, 95, 169.
 [25] L. Schweikert, C. Sambale (BASF AG), US-A 5350 773 **1994** [*Chem. Abstr.* **1994**, 119, 138086q].

Nachweis der spezifischen Proteinadsorption an Chelatorlipidmonoschichten mit FT-IR-Spektroskopie an der Wasser/Luft-Grenzfläche

Lutz Schmitt, Tom M. Bohanon, Steffen Denzinger, Helmut Ringsdorf und Robert Tampé*

In der Molekularbiologie ist das Konzept der Fusionsproteine zur Identifikation, Reinigung und Charakterisierung von Genprodukten weit verbreitet. Eines der bekanntesten Beispiele sind die Histidin-Fusionsproteine, die mit der immobilisierten Metall-Ionen-Affinitätschromatographie^[1, 2] aufgereinigt werden können. Um dieses Konzept mit den fundamentalen Eigenschaften von Lipiden wie Selbstorganisation und dem Wechselspiel der Phaseneigenschaften zu vereinigen, wurde eine neue Klasse von Chelatorlipiden mit Nitrilotriessigsäure (NTA) als Kopfgruppe^[3, 4] synthetisiert. Dünne Filme dieser Lipide zeigen ein ausgeprägtes Komplexbildungsvermögen gegenüber Nickel-Ionen^[3]. Der entsprechende Nickelkomplex verfügt mit seinen beiden freien Koordinationsstellen über eine Bindungsstelle für Histidin-Fusionsproteine^[5, 6]. Wir berichten nun erstmals über eine spezifische Immobilisierung eines Histidin-Fusionsproteins an eine Chelatorlipidmonoschicht, die mit externer Reflektions-Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (FT-IR) an der Wasser/Luft-Grenzfläche direkt verfolgt wurde. Sowohl die Komplexbildung als auch die spezifische und reversible Proteinadsorption konnten mit dieser Technik nachgewiesen werden.

Mit der externen Reflektions-FT-IR-Spektroskopie an der Wasser/Luft-Grenzfläche können physikalische Eigenschaften einer Lipidmonoschicht^[7], z.B. die Konformation der Lipidacylketten^[8, 9], untersucht werden. Dabei sind keine extrinsischen Proben wie Fluoreszenzfarbstoffsonden nötig, die die Eigenschaften des beobachteten Systems stören können. Trotzdem ist bis heute weder eine Adsorption noch eine spezifische Proteinbindung an eine Lipidmonoschicht an der Wasser/Luft-Grenzfläche mit dieser Technik direkt verfolgt worden. Für die Messungen kombinierten wir daher einen Filmwaagen-aufbau mit einem FT-IR-Spektrometer, das die Daten im externen Reflektionsmodus aufnimmt (Abb. 1 unten). Weiterhin

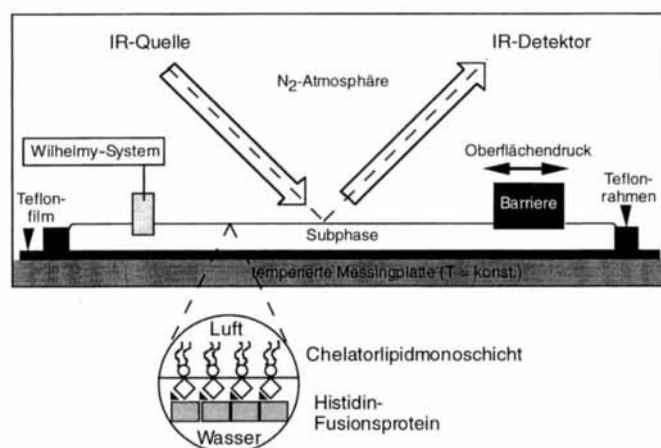
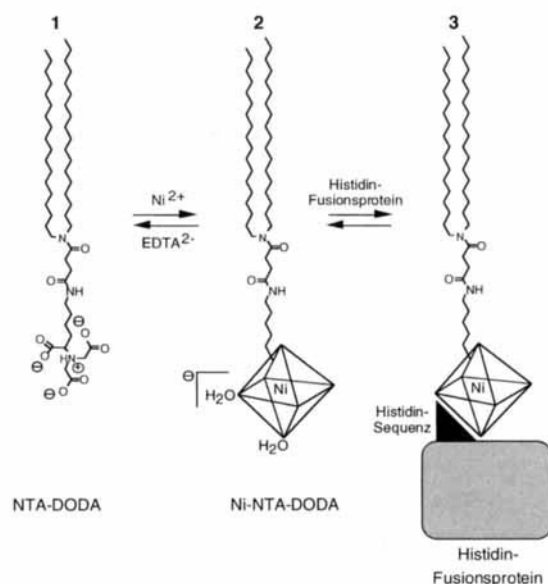


Abb. 1. Oben: In den Experimenten verwendete Komponenten: unbeladenes (NTA-DODA; 1), Nickel-beladenes (Ni-NTA-DODA, 2) und Nickel-beladenes Chelatorlipid mit immobilisiertem Histidin-Fusionsprotein (Protein/Ni-NTA-DODA; 3). Das Chelatorlipid *N*⁸,*N*⁹-Bis(carboxymethyl)-*N*¹⁰-[(diocetadecylamino)succinyl]-L-lysine (NTA-DODA) wurde gemäß Lit. [3] synthetisiert und in der unbeladenen und beladenen Form verwendet. Für die IR-Experimente wurden 30 nmol Ni-NTA-DODA oder NTA-DODA auf den Subphasenpuffer (10 mM Hepes, pH 8.0, 140 mM NaCl) gespreitet. Als Modellverbindung für ein Histidin-Fusionsprotein wurde ein Hitzeschockfaktor (HSF24) aus Tomate verwendet [15], der von Oliver Boscheinen und Dr. Klaus-Dieter Scharf (Universität Frankfurt) freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurde. HSF24 wurde als Fusionsprotein mit einer C-terminalen Sequenz aus sechs zusätzlichen Histidineinheiten in *E. coli* exprimiert [17] und die Funktionalität mit DNA-Gelretardationsexperimenten nachgewiesen [15, 17]. Unten: Experimenteller Aufbau der externen Reflektions-FT-IR-Spektroskopie an der Wasser/Luft-Grenzfläche. Details sind in Lit. [21] beschrieben. Alle Spektren wurden durch Addition von 5000 Datenpunkten mit einer Auflösung von 8 cm⁻¹ aufgenommen und mit der von Nicolet zur Verfügung gestellten Software ausgewertet. Bei allen Spektren wurde zusätzlich eine automatische Grundlinien- und Glättungskorrektur durchgeführt.

wurde die spezifische Bindung von Imidazol und von Histidin-markierten Biomolekülen an die Chelatorlipide mit Filmwaagentchnik, Fluoreszenzspektroskopie und Reflektions-Interferenz-Kontrastmikroskopie (RICM) nachgewiesen^[3-6]. Die Komplexbildung und spezifische Anlagerung von Histidin-Fusionsproteinen an diese in den IR-Experimenten verwendete neue Klasse von Chelatorlipiden ist in Abbildung 1 oben schematisch dargestellt.

[*] Dr. R. Tampé

Max-Planck-Institut für Biochemie
 Am Klopferspitz 18 a, D-82152 Martinsried
 Telefax: Int. + 89/8578-2641
 E-mail: tampe@vms.biochem.mpg.de

Dipl.-Chem. L. Schmitt, Dr. R. Tampé
 Lehrstuhl für Biophysik E22 der Technischen Universität München

Dr. T. M. Bohanon, Dipl.-Chem. S. Denzinger, Prof. Dr. H. Ringsdorf
 Institut für Organische Chemie der Universität Mainz

Aus Gründen der Empfindlichkeit und Einfachheit wurden die Messungen an reinen Chelatorlipidmonoschichten durchgeführt. Zuerst waren wir daran interessiert, inwieweit sich die nichtbeladene von der metallkomplexierten Monoschicht unterscheidet. Um die symmetrische und antisymmetrische Streckschwingung der Methylengruppen bei ungefähr 2850 bzw. 2920 cm^{-1} für eine nichtbeladene (NTA-DODA) oder eine Nickel-komplexierte Chelatorlipidmonoschicht (Ni-NTA-DODA) direkt vergleichen zu können, wurden die Spektren bei gleichem Flächenbedarf pro Lipidmolekül aufgenommen. Im Koexistenzbereich aus flüssig-analoger (LE) und kristallin-analoger (LC) Phase wurde für eine NTA-DODA-Monoschicht ein Lateraldruck von 20 mN m^{-1} und für eine Ni-NTA-DODA-Monoschicht ein Druck von 15 mN m^{-1} gewählt (Abb. 2a). Während

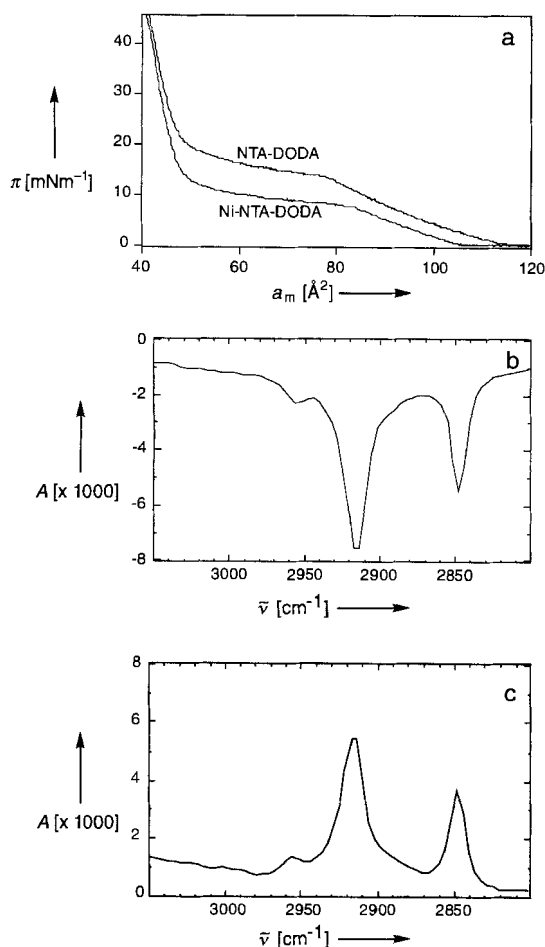


Abb. 2. a) Druck/Flächen-Diagramm einer unbeladenen NTA-DODA- und einer beladenen Ni-NTA-DODA-Monoschicht. Das molare Verhältnis $\text{Ni}^{2+}:\text{NTA-DODA}$ betrug 1:1. Die Kompressionen wurden bei 22 °C ($1.8 \text{ Å}^2 \text{ Molekül}^{-1} \text{ min}^{-1}$) wie in Lit. [3] beschrieben durchgeführt. FT-IR-Spektren einer NTA-DODA- (b) und einer Ni-NTA-DODA-Monoschicht (c) im Bereich von 3050–2800 cm^{-1} . Die Spektren wurden im Koexistenzbereich bei 20 mN m^{-1} (22 °C) für die NTA-DODA- und bei 15 mN m^{-1} (22 °C) für die Ni-NTA-DODA-Monoschicht aufgenommen. a_m = Fläche pro Molekül, A = Absorption.

in den homogenen LE- oder LC-Phasen nur geringe Änderungen über einen großen Bereich auftreten, beeinflussen Änderungen im Koexistenzbereich die Signalposition der Alkylketten drastisch, wie es für ähnliche Lipidsysteme bereits gezeigt wurde^[8]. Die Reduzierung des Lateraldrucks bei gleicher Fläche pro Lipidmolekül läßt sich durch die Verringerung der Abstoßung zwischen den negativ geladenen Lipidkopfgruppen aufgrund der Komplexbildung erklären. Für beide Lipidsysteme

(Abb. 2b und 2c) waren die gefundenen Signalpositionen der Streckschwingungen identisch ($2847 \text{ cm}^{-1}/2916 \text{ cm}^{-1}$). Innerhalb der Meßgenauigkeit konnten wir keine Veränderung des Ordnungsgrades der Alkylketten durch die Komplexbildung der NTA-Kopfgruppen feststellen.

Im Transmissionsmodus sind IR-Spektren durch die Dämpfungskonstante (k) des komplexen Brechungsindex ($\hat{n} = n + ik$) bestimmt und vom Realteil des Brechungsindex (n) unabhängig. Im Reflektionsmodus dagegen bestimmt der Realteil (n) das Spektrum^[10,11]. Zusätzlich wird das eingestrahlte Licht an mehreren Grenzschichten mit unterschiedlichen Fresnel-Koeffizienten reflektiert. Der bedeutendste Unterschied zwischen den Spektren eines unbeladenen NTA-Lipids (Abb. 2b) und eines beladenen Ni-NTA-Lipids (Abb. 2c) ist die Inversion des Adsorptionssignals. Dies kann nur durch die zusätzliche, von den Chelatorlipiden komplexierte Nickelschicht erklärt werden. Im Gegensatz zu dem erwarteten negativen Vorzeichen der Adsorption des NTA-Lipids^[12,13] liegt bei dem positiven Vorzeichen des Ni-NTA-Lipids ein Vergleich zur Lipidmonoschicht an der Metall/Luft-Grenzschicht nahe. Jedoch ist hier die Zuordnung eines makroskopischen Wertes, des Brechungsindex \hat{n} , zu der monoatomaren Schicht der komplexierten Nickel-Ionen nicht gerechtfertigt, und auch Vergleiche der Signalfächen können nur eingeschränkt vorgenommen werden. Trotz dieser Einschränkungen sind die Flächen der CH_2 -Streckschwingungen nahezu identisch. Da die Signalfächen der Streckschwingungen der Ni-NTA-Lipidmonoschicht sich innerhalb von zwölf Stunden nicht ändern, kann ein Abdissoziieren der komplexierten Nickel-Ionen nach dem Spreiten oder im betrachteten Zeitraum ausgeschlossen werden. Entsprechend der geringen Konzentration der Nickel-Ionen, die bei dem hier verwendeten Subphasenvolumen auf 200 nM berechnet wurde, scheint die Komplexbildungskonstante der Lipidkopfgruppe auch an der Grenzfläche sehr hoch zu sein (10^{-12} M in Lösung^[14]). Dieses neuartige Konzept der spezifischen Immobilisierung von Histidin-Fusionsproteinen eröffnet damit generell neue Perspektiven im Design biofunktionalisierter Grenzflächen.

Für die spezifische Funktionalisierung der Chelatorlipid-grenzfläche verwendeten wir einen Hitze-Schockfaktor (HSF24) mit einer C-terminalen Histidin-Affinitätssequenz^[15]. Dieses Modellprotein wurde bei 15 mN m^{-1} mit einer abschließenden Konzentration von 0.5 nM in die Subphase einer Ni-NTA-DODA-Monoschicht injiziert. Nach einer Stunde konnten zusätzliche IR-Signale des an der Wasser/Luft-Grenzfläche immobilisierten Proteins detektiert werden. Um eine sterische Hinderung im Adsorptionsvorgang auszuschließen, wurde die Monoschicht auf 4 mN m^{-1} expandiert. Nach zwölf Stunden und erneuter Kompression auf 15 mN m^{-1} wurden die in Abbildung 3 gezeigten IR-Spektren aufgenommen. Im Vergleich zum Spektrum einer Ni-NTA-DODA-Monoschicht (Abb. 3a) konnten zusätzliche Proteinsignale bei 3014 cm^{-1} (Abb. 3b) oder 2200 cm^{-1} (Abb. 4a), die entweder den intramolekularen Wasserstoffbrücken der NH-Gruppen oder einem Oberton der Amid-II-Schwingung entsprechen^[16]. Durch die Überlappung mit dem CO_2 -Signal sollte die zweite Schwingungsbande aber nur qualitativ in Betracht gezogen werden.

Um den Anteil der unspezifischen gegenüber der spezifischen Adsorption zu bestimmen, wurde das Experiment mit einer unbeladenen NTA-DODA-Monoschicht (Abb. 3c) unter identischen Bedingungen wiederholt (abschließender Druck 15 mN m^{-1}). In diesem Fall konnten nur schwache Proteinsignale bei 3014 cm^{-1} und 2200 cm^{-1} festgestellt werden. In beiden Proteinbindungsexperimenten sind die Signalpositionen der CH_2 -Streckschwingungen identisch. Dies zeigt, daß das immobilisierte Protein den Ordnungsgrad der Lipidketten innerhalb

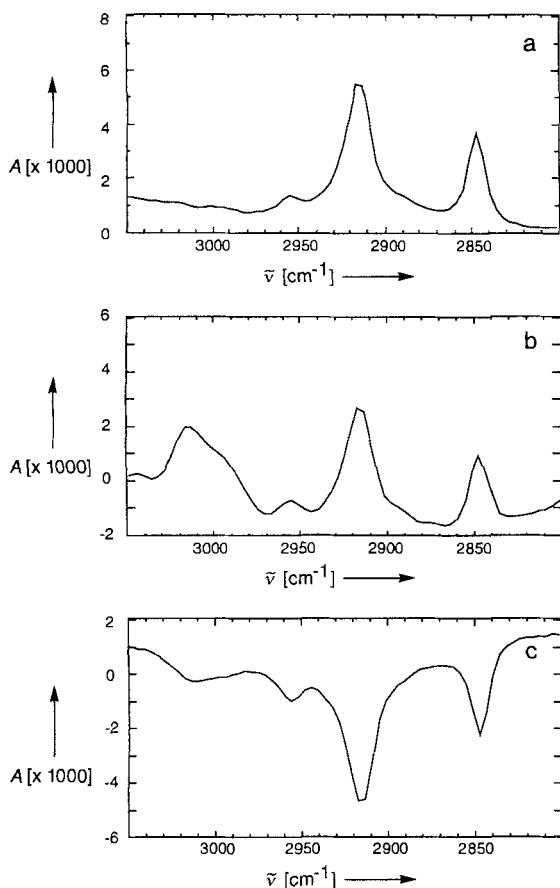


Abb. 3. FT-IR-Spektren einer Ni-NTA-DODA-Monoschicht in Abwesenheit (a) und Anwesenheit (b) von HSF24 und einer NTA-DODA-Monoschicht in Abwesenheit von HSF24 (c) im Bereich von $3050\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$. Experimentelle Details siehe Abbildung 2. Für die Proteinbindungsexperimente wurden 80 pmol HSF24 bei 15 mM (22°C) in die Subphase injiziert. Dies entspricht einer Proteinkonzentration von 0.5 nM (Lipid/Protein = $380/1\text{ mol mol}^{-1}$). Nach einer Stunde wurde die Monoschicht auf 4 mM expandiert und nach zwölf Stunden erneut auf 15 mM komprimiert (22°C).

des Meßfehlers nicht drastisch beeinflusst. Interessanterweise sind auch die Signalflächen der CH_2 -Streckschwingungen in Gegenwart und Abwesenheit des Proteins nahezu identisch. Unter der Annahme, daß das Übergangsdipolmoment für beide Grenzschichten identisch ist, kann die unspezifische Anlagerung des Proteins auf 20% abgeschätzt werden. Diese unspezifische Anlagerung steht in Übereinstimmung mit Filmwaage- und Epi-fluoreszenzmessungen^[17]. In diesen Experimenten konnte gezeigt werden, daß das Protein nur dann funktional an der Grenzschicht immobilisiert werden kann, wenn es über die Histidin-Affinitätssequenz und das Chelatorlipid gebunden wird. Unspezifisch adsorbiertes HSF24 (z.B. ohne Histidinsequenz) denaturierte an der Grenzfläche und war folglich nicht in der Lage, DNA zu binden^[17].

Biotinylierte Lipide werden oft verwendet, um über eine zusätzliche (Strept)Avidinschicht biotinylierte Proteine zu immobilisieren^[18,19]. Dabei ist die Orientierung der gebundenen Moleküle durch die Regioselektivität und Stöchiometrie der chemischen Biotinylierung des Proteins begrenzt. Im Gegensatz hierzu nützt das Konzept der NTA-Lipide die große Anzahl von Proteinen mit der Affinitätssequenz an einer genau definierten Molekülposition aus. Ein weiterer, wichtiger Vorteil ist die reversible Bindung. Die Dissoziation eines immobilisierten Proteins kann durch Verdrängung mit Imidazol, durch Komplexbildung des Ni^{2+} -Ions durch einen stärkeren Komplexbildner oder

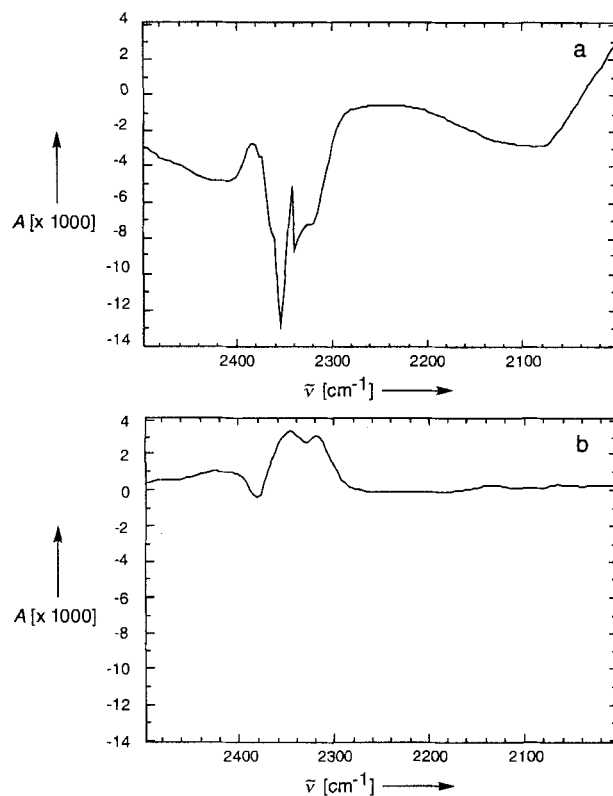


Abb. 4. a) FT-IR-Spektrum einer Ni-NTA-DODA-Monoschicht in Gegenwart von HSF24 im Bereich von $2500\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$ (vgl. Abb. 3b). b) FT-IR-Spektrum 30 Minuten nach der Injektion von EDTA mit einer abschließenden Konzentration von 0.8 mM .

durch Senkung des pH-Wertes erreicht werden^[5,6]. Um diese Reversibilität auch an der Wasser/Luft-Grenzschicht zu untersuchen, wurde EDTA in die Subphase der Ni-NTA-DODA/HSF24-Monoschicht injiziert. Da EDTA selbst starke Adsorptionssignale bei 3015 cm^{-1} und 2982 cm^{-1} hat^[20], konnte die detektierte Proteinadsorption bei 3014 cm^{-1} für die Untersuchung des Desorptionsprozesses nicht verwendet werden. 30 Minuten nach EDTA-Zugabe wurde jedoch erstens die erneute Inversion der Absorptionssignale der CH_2 -Streckschwingungen festgestellt (Daten nicht gezeigt) und zweitens das Verschwinden des Absorptionssignals des Proteins bei ungefähr 2200 cm^{-1} (Abb. 4b). Die Abwesenheit des Signals bei 2200 cm^{-1} belegt die Desorption des immobilisierten Fusionsproteins, die Inversion des Vorzeichens dagegen legt eine Dissoziation des Ni-NTA-Komplexes nahe. Da sich in Abwesenheit von EDTA die Ni-NTA-DODA-Monoschicht bezüglich Vorzeichen und Fläche innerhalb von zwölf Stunden nicht ändert, kann dieser Befund nur durch einen direkten Einfluß von EDTA erklärt werden. Die Lage der CH_2 -Streckschwingungen vor und nach EDTA-Zugabe ist identisch. Ein Vergleich dieser Signalflächen ergab ein Verhältnis von 3:1 für nicht beladenes zu beladenem Chelatorlipid. Die unvollständige Komplexbildung der Nickel-Ionen durch EDTA ist nicht überraschend, da bei diesem Vorgang eine negativ geladene Oberfläche erzeugt wird, an die die weitere Anlagerung des EDTA durch elektrostatische Abstoßung immer weiter erschwert wird. Darüber hinaus könnte die Anlagerung von EDTA an die Ni-NTA-Kopfgruppe durch Komplexbildung erklärt werden. Um eine vollständige Dissoziation zu erreichen, sollte eine Komplexbildung mit EDTA, eine Verdrängung durch Imidazol oder eine Erniedrigung des pH-Wertes in einem kontinuierlichen Durchflußexperiment durchgeführt werden.

Unter Verwendung der externen Reflektions-FT-IR-Spektroskopie an der Wasser/Luft-Grenzfläche konnte eine spezifische und reversible Proteinanlagerung an eine Chelatorlipidmonoschicht an der Wasser/Luft-Grenzschicht erstmals nachgewiesen werden. Darüber hinaus ist es mit dieser Untersuchungsmethode, die nur durch die Meßzeit begrenzt ist, möglich, Lipid-Protein- oder Lipid-Ligand-Wechselwirkungen ohne zusätzliche Sondenmoleküle zu studieren. Aufgrund der großen Zahl der bereits zugänglichen Histidin-Fusionsproteine sollte es mit diesem Konzept generell möglich sein, die unterschiedlichsten Biomoleküle definiert zu organisieren und zu orientieren. Die dabei gebildeten zweidimensionalen Proteinschichten könnten prinzipiell zur Untersuchung des molekularen Mechanismus von Membranerkennungsreaktionen, der Vesikelanlagerung und -fusion, der zellulären Immunantwort oder von Adhäsionsprozessen verwendet werden.

Eingegangen am 11. Juli 1995 [Z 8192]

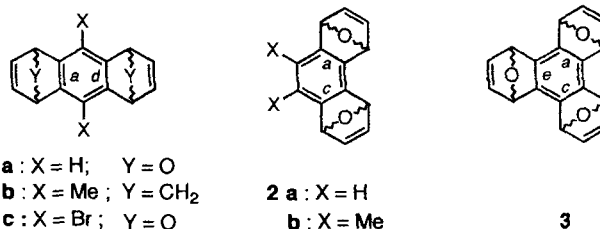
Stichworte: Immobilisierung · IR-Spektroskopie · Lipide · Molekulare Erkennung · Proteine

- [1] J. Porath, J. Carlsson, I. Olsson, G. Belfrage *Nature* **1975**, 258, 598–599.
- [2] E. Hochuli, W. Bannwarth, H. Döbeli, R. Gentz, D. Stüber, *Bio/Technology* **1988**, 6, 1321–1325.
- [3] L. Schmitt, C. Dietrich, R. Tampé, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 8485–8491.
- [4] R. Tampé, C. Dietrich, G. Elender, S. Gritsch, L. Schmitt, *Nanofabrication and Biosystems: Integrating Material Science, Engineering and Biology* (Hrsg.: H. H. Loch, L. Jelinski, H. Craighead), Cambridge University Press, London, **1995**.
- [5] C. Dietrich, L. Schmitt, R. Tampé, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 9014–9018.
- [6] S. Gritsch, K. Neumaier, L. Schmitt, R. Tampé, *Biosensors* **1995**, 10, 805–812.
- [7] R. Mendelsohn, H. H. Mantsch, *Progress in Protein-Lipid Interaction 2*; Elsevier, Amsterdam, **1986**.
- [8] M. L. Mitchell, R. A. Dluhly, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 712–718.
- [9] R. A. MacPhail, H. L. Strauss, R. G. Synder, C. A. Elliger, *J. Phys. Chem.* **1984**, 88, 334–341.
- [10] D. L. Allara, A. Baca, C. A. Pryde, *Macromolecules* **1978**, 11, 1215–1220.
- [11] R. A. Dluhly, K. E. Reilly, R. D. Hunt, M. L. Mitchell, A. J. Mautone, R. Mendelsohn, *Biophys. J.* **1989**, 56, 1173–1181.
- [12] J. D. E. McIntyre, *Adv. Electrochem. Electrochem. Eng.* **1973**, 9, 61–166.
- [13] R. A. Dluhly, D. G. Cornell, *J. Phys. Chem.* **1985**, 89, 3195–3197.
- [14] R. J. Angelici, *Inorganic Biochemistry, Vol. 1*, Elsevier, Amsterdam, **1972**.
- [15] K.-D. Scharf, S. Rose, W. Zott, F. Schöffli, L. Nover, *EMBO J.* **1990**, 9, 4495–4501.
- [16] L. J. Bellamy, *The Infrared Spectra of Complex Molecules, Vol. 1*, Chapman and Hall, London, **1975**.
- [17] C. Dietrich, O. Boscheinen, K.-D. Scharf, L. Schmitt, R. Tampé, *Biochemistry* **1995**, im Druck.
- [18] R. Blankenburg, P. Meller, H. Ringsdorf, C. Salesse, *Biochemistry* **1989**, 28, 8214–8221.
- [19] W. Mueller, H. Ringsdorf, E. Rump, G. Wildburg, X. Zhang, L. Angermaier, W. Knoll, M. Liley, J. Spinke, *Science* **1993**, 262, 1707–1708.
- [20] B. Schrader, *Raman/Infrared Atlas of Organic Compounds, Vol. 2*, VCH, Weinheim, **1989**, B3-32.
- [21] T. M. Bohanon, S. Denzinger, R. Fink, W. Paulus, H. Ringsdorf, M. Weck, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 102–104; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 58–60.

Die Auswirkung spannungsinduzierender, bicyclischer Anellierung auf Benzol – die Strukturen von einem Triphenylen- und zwei Anthracen-Derivaten**

Francesca Cardullo, Daniele Giuffrida, Franz H. Kohnke*, Francisco M. Raymo, J. Fraser Stoddart und David J. Williams

Für die Synthese molekularer Tori, Käfige und Bänder greifen wir zurück auf repetitive Diels-Alder-Reaktionen zwischen molekularen Bausteinen mit endocyclischen, dienophilen Doppelbindungen und exocyclischen Butadien-Einheiten, die an Norbornan- oder 7-Oxanorbornan-Gerüste angeheftet sind. Im Verlauf dieser Arbeiten gelang uns die Synthese der Bisdienophile **1** und **2** sowie der Trisdienophile **3**^[1]. Hier berichten wir über die Strukturen von *anti-1b*, *anti-1c* und *anti-3*^[2, 3] im Kristall. Die Struktur von *anti-3* ist durch signifikant alternierende Bindungslängen in der Benzoleinheit gekennzeichnet. *anti-1b* und *anti-1c* zeigen diese Besonderheit nicht.



Alternierende Bindungslängen innerhalb eines Benzolrings als Folge einer Anellierung an kleine Ringe wurden zuerst von Mills und Nixon postuliert^[4]. Obwohl sie ihre Postulate auf ein falsches Benzolmodell stützten, überdauerte die Vorstellung, daß Anellierung mit kleinen Ringen alternierende Bindungslängen induzieren könnte, auch das gegenwärtig akzeptierte Benzolmodell^[5]. Mehrfache angulare Anellierung ([a, c] oder [a, c, e]) sollte eine Alternanz der Bindungslängen eher begünstigen als eine lineare Bisanellierung ([a, d]). Im ersten Fall sollten sich nämlich die Spannungseffekte, die von jedem einzelnen kleinen Ring herrühren, gegenseitig verstärken können. Einerseits zeigen neueste Untersuchungen daß unter den planaren Verbindungen **4–8** nur die Verbindung **8**, bei der elektronische Einflüsse eine dominierende Rolle spielen^[6], eine signifikante Alternanz der Bindungslängen aufweist. Bei **4–7** scheint die angulare Verzerrung dagegen zu gebogenen Bindungen zu führen^[7]. Andererseits konnte kürzlich die entscheidende Rolle spannungsreicher, bicyclischer Anellierung für die Induktion von alternierenden Bindungslängen in Benzol anhand der Ergebnisse von Strukturberechnungen und Kristallstrukturanalysen für **9**^[8] und **10**^[9] vollständig bestätigt werden. Die Interpre-

[*] Prof. F. H. Kohnke, F. Cardullo, Dr. D. Giuffrida, F. M. Raymo
 Dipartimento di Chimica Organica e Biologica
 Università di Messina
 Salita Sperone 31, I-98166 Messina (Italien)
 Telefax: Int. + 90/393895

Prof. J. F. Stoddart
 School of Chemistry, The University of Birmingham
 Edgbaston, GB-Birmingham B15 2TT (Großbritannien)
 Dr. D. J. Williams
 Chemical Crystallography Laboratory
 Department of Chemistry
 Imperial College of Science, Technology and Medicine
 South Kensington, GB-London SW7 2AY (Großbritannien)

[**] Diese Arbeit wurde unterstützt durch den Consiglio Nazionale delle Ricerche (Italien) und den Engineering and Physical Sciences Research Council (Großbritannien).