

Sb₈R₄, R = (Me₃Si)₂CH – ein polycyclisches Organostibane**

Hans Joachim Breunig,* Roland Rösler und Enno Lork
Professor Gottfried Hultner zum 60. Geburtstag gewidmet

Während es für monocyclische Organostibane schon mehrere Beispiele gibt^[1], sind Polycyclen des Typs Sb_nR_m ($n > m$, R = einwertiger Rest) bisher nicht beschrieben worden. Von Polyantimoniden und ihren Derivaten sind jedoch polycyclische Strukturen bekannt.^[2] Da monocyclische Stibane durch sperrige Substituenten kinetisch stabilisiert werden können, lag es nahe, auch polycyclische Stibane in ähnlicher Weise zu schützen. Versuche, analog zu den Synthesevorschriften für Organophosphorpolycyclen^[3] durch Reaktion von Magnesium und Mischungen aus RSbCl₂ [R = *t*Bu, (Me₃Si)₂CH] und SbCl₃ in den molaren Verhältnissen 3:1, 1:1 oder 1:3 zu Polycyclen zu gelangen, waren jedoch erfolglos. Bei Verwendung der 3:1-Mischung entstanden die bekannten Sb₄-Monocyclen.^[1a, c, d] In den übrigen Fällen war keine Ringbildung zu beobachten; es entstanden lediglich unlösliche schwarze Festkörper.

Gelbe Kristalle des Polycyclus Sb₈R₄ **1**, R = (Me₃Si)₂CH, konnten nun als Produkt der lange bekannten^[1c] Umsetzung von RSbCl₂ mit Magnesiumspänen in Tetrahydrofuran erhalten werden. Entscheidend war dabei eine Variation der Aufarbeitungsbedingungen. Wenn man das Hauptprodukt, Sb₄R₄, vor der Kristallisation chromatographisch abtrennt, so erhält man den neuen Polycyclus aus einer Fraktion, die auch Sb₃R₃, SbR₃ und Sb₇R₅ **2** enthält. Die Ausbeute an **1** und **2** ist zwar gering, die Synthese ist aber sehr gut reproduzierbar. Der Entstehungsweg ist noch nicht bekannt. Entsprechend den aus der Phosphorchemie^[3] bekannten Reaktionsmustern kann man die thermische Zersetzung von R₃Sb₃ zu **1** oder **2** und SbR₃ annehmen.

Nach einer Röntgenstrukturanalyse^[4] (Abb. 1) bilden die acht Sb-Atome einen tricyclischen Käfig aus Sb₅-Monocyclen,

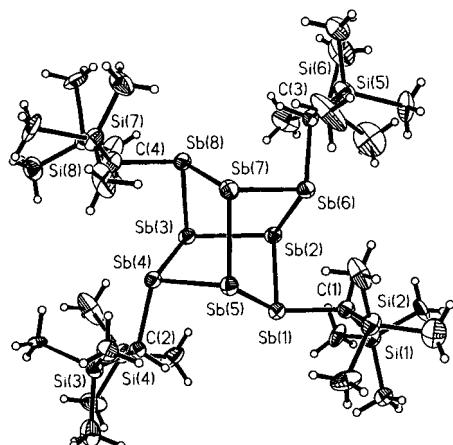


Abb. 1. Struktur von **1** im Kristall. Ausgewählte Bindungslängen [pm] und Winkel [°] Sb(1)–Sb(2) 281.0(4), Sb(2)–Sb(3) 281.4(3), Sb(3)–Sb(4) 285.2(4), Sb(4)–Sb(5) 278.4(4), Sb(5)–Sb(1) 284.3(3), Sb(5)–Sb(7) 281.9(3), Sb–C (Mittelwert) 220; C(1)–Sb(1)–Sb(2) 96.2(8), C(1)–Sb(1)–Sb(5) 110.2(7), Sb(2)–Sb(1)–Sb(5) 99.65(10), Sb(3)–Sb(2)–Sb(6) 109.66(10), Sb(3)–Sb(2)–Sb(1) 91.22(10), Sb(1)–Sb(2)–Sb(6) 87.32(10).

[*] Prof. Dr. H. J. Breunig, R. Rösler, Dr. E. Lork

Institut für Anorganische und Physikalische Chemie (FB 02) der Universität Postfach 330 440, D-28334 Bremen
Telefax: Int. + 421/218-4042
E-mail: breunig@chemie.uni-bremen.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Br 630/16, Antimonpolycyclen) gefördert.

die gemeinsame Kanten haben. An den Fünfringen, die ungefähr eine Briefumschlag-Konformation haben, befinden sich die Alkylreste *trans*-ständig in 1,3-Stellung. Von einem Sb₄-Tetraeder kann die Struktur von **1** dadurch abgeleitet werden, daß man vier Kanten durch RSb-Gruppen überbrückt. Strukturell besteht eine enge Beziehung zwischen **1** und Realgar, As₄S₄, dessen Struktur durch den Einbau von Schwefelatomen in vier As-As-Bindungen eines tetraedrischen As₄-Moleküls erklärt wird. Auf Modifikationen des Antimons kann die Struktur von **1** nicht zurückgeführt werden. Eine Entsprechung gibt es jedoch zum P₈-Käfig in der Struktur des Hittorfischen Phosphors. Damit fügt sich **1** in die Strukturchemie von Organophosphorpolycyclen ergänzend ein, denn die zu **1** analogen Octaphosphane P₈R₄^[5] wurden kristallographisch noch nicht untersucht.

Die Abstände und Winkel in der Struktur von **1** variieren stärker als die von monocyclischen Organostibanen. Die Sb-Sb-Bindungslängen sind nur zwischen den Antimonatomen, die keine Alkylreste tragen, ungefähr gleich, sie betragen im Mittel 281.7 pm. Systematisch wechseln kürzere [278.4(4)–281.0(4) pm] und längere Distanzen [284.3(3)–286.1(4)] im [Sb-Sb(R)₄]₄-Gerüst ab. Die Unterschiede der Sb-Sb-Bindungslängen in der Vierringverbindung (RSb)₄, R = (Me₃Si)₂CH (282.2–286.6 pm) sind deutlich geringer. Die Bindungswinkel an den Antimonatomen von **1** streuen in einem weiten Bereich zwischen 84.66(9)° und 113.2(7)°. Eine ähnliche Variationsbreite der Sb-Sb-Abstände und der Bindungswinkel finden sich auch bei anderen Antimonclustern, wie den Anionen Sb₇³⁻^[2d] oder [Sb₇M(CO)₃]³⁻ (M = Cr^[2b], Mo^[2a]). Die Unterschiede der Abstände und Winkel bei **1** bewirken im Detail gewisse Abweichungen von der Geometrie der Realgarstruktur. Dies zeigt sich deutlich bei den Antimonatomen Sb(1), Sb(4), Sb(8) und Sb(6), die Alkylgruppen tragen. Sie befinden sich nicht genau in einer Ebene. Die Abweichungen aus der besten Ebene liegen zwischen –39.1 und 38.6 pm. Die Abstände zwischen den Antimonatomen ohne Alkylgruppen – Sb(2)–Sb(5), Sb(2)–Sb(7), Sb(3)–Sb(5), Sb(3)–Sb(7) – variieren nur geringfügig zwischen 429.0 und 432.3 pm. Dies entspricht recht gut der idealisierten Geometrie des Realgarts. Die genaue Betrachtung der Struktur der Fünfringe zeigt gewisse Abweichungen von einer idealen Briefumschlag-Konformation. So liegen beispielsweise die Atome Sb(2), Sb(3), Sb(4) und Sb(5) ebenfalls nicht genau in einer Ebene. Die Abweichungen von der besten Ebene betragen –21.4 bis 20.9 pm.

Neben der kristallographischen Analyse ist auch die Massenspektrometrie zum Nachweis der neuen Polycyclen geeignet. Im CI-Massenspektrum (CI = chemische Ionisation) konnte außer **1** auch Sb₈R₅ **2**, R = (Me₃Si)₂CH, anhand der intensiven Signalschar des Moleküliions nachgewiesen werden. Versuche, die Struktur von **2** röntgenographisch oder NMR-spektroskopisch zu bestimmen, waren bisher nicht erfolgreich. Analoge Phosphorverbindungen des Typs P₈R₅ haben die bicyclische Norbornanstruktur.^[3]

Experimentelles

Alle Arbeiten wurden unter strengem Luftausschluß unter Argon durchgeführt. Al₂O₃ wird in Vakuum ausgeheizt und mit Argon begast.

Eine Lösung von 1.58 g (4.5 mmol) RSbCl₂ [R = (Me₃Si)₂CH] [6] in 20 mL THF wird unter Rühren innerhalb von 30 min zu 0.15 g (6 mmol) mit BrCH₂CH₂Br aktivierten Magnesiumspänen in 5 mL THF getropft. Das dunkelbraune Gemisch wird noch 1 h gerührt, das Lösungsmittel bei verminderter Druck entfernt und der Rückstand dreimal mit je 100 mL Petrolether ausgewaschen. Die vereinigten Extrakte werden auf 10 mL eingeengt und an Al₂O₃ mit Petrolether chromatographiert (Al₂O₃ neutral nach Brockmann, Aktivität Super I, Korngröße 0.063–0.200 mm; Säule 8 × 1.5 cm). Die erste, intensiv orange Fraktion enthält (RSb)₄ (Ausbeute 0.76 g, 60%). Die zweite, weniger intensiv farbige Fraktion wird auf 10 mL im Vakuum eingeengt. Sie enthält (RSb)₃ als Hauptkomponente sowie SbR₃ und die Polycyclen **1** und **2**. Aus der eingeengten Lösung wachsen bei –27°C im

Laufe von zwei Monaten kleine, gelbe Kristalle von **1** [MS (CI, Positiv-Ionen-Modus, NH_3): m/z 1608–1612 (M^+)] und **2** [m/z 1643–1658 ($M^+ + \text{H}$)].

Eingegangen am 10. Februar,
veränderte Fassung am 29. April 1997 [Z 10091]

Stichwörter: Antimon · Polycyclen · Strukturaufklärung

- [1] a) K. Issleib, B. Hamann, L. Schmidt, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1965**, *339*, 298–303; b) J. Ellermann, A. Veit, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 377; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 375; c) H. J. Breunig, A. Soltani-Neshan, *J. Organometal. Chem.* **1984**, *262*, C27–C29; d) M. Ates, H. J. Breunig, K. Ebert, S. Gülec, R. Kaller, M. Dräger, *Organometallics* **1992**, *11*, 145–150; e) T. F. Berlitz, H. Sining, L. Lorberth, U. Müller, *Z. Naturforsch. B* **1988**, *43*, 744–748; f) O. M. Kekia, R. L. Jones, Jr. A. L. Rheingold, *Organometallics* **1996**, *15*, 4104–4106; g) Übersicht: H. J. Breunig in *The Chemistry of Organic Arsenic, Antimony and Bismuth Compounds* (Hrsg.: S. Patai), Wiley, Chichester, **1994**, S. 563.
- [2] a) U. Bolle, W. Tremel, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 91–93; b) S. Charles, B. W. Eichhorn, A. L. Rheingold, S. G. Bott, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8077–8086; c) C. J. Warren, D. M. Ho, R. C. Haushalter, A. B. Bocarsley, *Angew. Chem.* **1993**, *1684*–1687; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1646–1649; d) S. C. Critchlow, D. Corbett, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 770–774.
- [3] Übersicht: M. Baudler, K. Glinka in *The Chemistry of Inorganic Homo- and Heterocycles*, Vol. 2 (Hrsg.: I. Haiduc, D. B. Sowerby), Academic Press, London, **1987**, S. 423.
- [4] Kristallabmessungen $0.5 \times 0.4 \times 0.15$ mm, Kristallsystem triklin, Raumgruppe $\overline{P}1$, Zellabmessungen $a = 915.6(7)$, $b = 1781.5(7)$, $c = 1794.7(10)$ pm, $\alpha = 93.54(3)$, $\beta = 92.87(7)$, $\gamma = 104.56(6)^\circ$, $V = 2.822(3)$ nm 3 , $Z = 2$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.897$ Mgm $^{-3}$, $2\theta_{\text{max.}} = 45.4^\circ$, Siemens-P4-Vierkreisdiffraktometer, $\text{Mo}_{\text{K}\alpha}$ -Strahlung, $\lambda = 0.073$ pm, Scanmodus $2\theta - \omega$, $T = 173(2)$ K, Zahl der gemessenen Reflexe 9170, Zahl der unabhängigen Reflexe 7365 ($R_{\text{int.}} = 0.090$) davon 3630 mit $I > 2\sigma(I)$, Absorptionskoeffizient 3.956 mm $^{-1}$, Absorptionskorrektur Disabs, Strukturlösungsverfahren Direkte Methoden, Strukturlösungsprogramm SHELXS-86, Verfeinerungsverfahren Vollmatrix- kleinste-Quadrat-Verfeinerung an F^2 , Verfeinerungsprogramm SHELXL-93, Zahl der freien Parameter 424, Wasserstoffatome geometrisch positioniert und mit einem Reitermodell verfeinert, endgültige R -Werte, $R1$ ($I > 2\sigma(I)$) = 0.0957, $wR2$ = 0.2507. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-100169“ beim Cambridge Crystallographic Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse angefordert werden: The Director, CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Telefax: Int. + 1223/336033; E-mail: deposit@chemcrys.cam.ac.uk).
- [5] M. Baudler, V. Arndt, *Z. Naturforsch. B* **1984**, *39*, 275–283.
- [6] H. J. Breunig, W. Kanig, A. Soltani-Neshan, *Polyhedron*, **1983**, *2*, 291–292.

Chemoenzymatische Synthese fluoreszierender N-Ras-Lipopeptide und ihre Verwendung bei In-vivo-Studien zur Membranlokalisierung**

Herbert Waldmann,* Michael Schelhaas, Edgar Nägele, Jürgen Kuhlmann, Alfred Wittinghofer,* Hans Schroeder und John R. Silvius*

Professor Heribert Offermanns zum 60. Geburtstag gewidmet

Die Lipidierung von Proteinen durch kovalente Anknüpfung einer Myristoylgruppe an ein N-terminales Glycin sowie durch S-Palmitoylierung und S-Alkylierung von Cysteinen mit Farne-

[*] Prof. Dr. H. Waldmann, Dr. M. Schelhaas, Dr. E. Nägele
Institut für Organische Chemie der Universität
Richard-Willstätter-Allee 2, D-76128 Karlsruhe
Telefax: Int. + 721/608-4825
E-mail: waldmann@ochhades.chemie.uni-karlsruhe.de

Prof. Dr. F. Wittinghofer, Dr. J. Kuhlmann
Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie
Rheinlanddamm 201, D-44026 Dortmund

Prof. J. R. Silvius, H. Schroeder
Department of Biochemistry, McGill University
Montréal, Quebec H3G 1Y6 (Kanada)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und dem Medical Research Council of Canada gefördert.

syl- oder Geranylgeranylresten gehört zu den bedeutendsten Modifizierungen von Proteinen in der Natur.^[11] Lipoproteine übernehmen bei zahlreichen biologischen Prozessen wichtige Aufgaben, insbesondere sind sie entscheidend in die Weiterleitung hormoneller und mitogener Signale durch die Plasmamembran und von dort zum Zellkern involviert. So sind die membran durchspannenden G-Protein-gekoppelten Rezeptoren S-palmitoyliert, die heterotrimeren G-Proteine sind N-myristoyliert, S-palmitoyliert und S-farnesyliert, Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen sind N-myristoyliert und S-palmitoyliert, die Ras-Proteine schließlich tragen S-Palmitoyl- sowie S-Farnesylgruppen. Darüber hinaus sind zahlreiche weitere, membran-assozierte Proteine, z. B. die NO_x -Synthetase^[12] und virale Hüllproteine,^[13] S-palmitoyliert.

Angesichts der wichtigen biologischen Rollen lipidmodifizierter Proteine gehört die Untersuchung der Proteinlipidierung und ihrer biologischen Bedeutung zu den aktuellen Themen der biologischen Forschung.^[11] Im Falle der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren^[4] und der Ras-Proteine (siehe unten) konnte belegt werden, daß die korrekte Lipidierung dieser Proteine für ihre biologischen Funktionen sehr wichtig ist. Die biologische Bedeutung der unterschiedlichen Lipidreste, besonders ihre möglichen Funktionen in Signaltransduktionsprozessen, ist allerdings weitgehend ungeklärt und Gegenstand zahlreicher Hypothesen.^[11] Detaillierte Kenntnisse der Voraussetzungen für eine transiente oder stabile Insertion von Lipopeptiden in biologische Membranen könnten darüber hinaus eine Verbesserung von Wirkstoffen ermöglichen, die in pathologische Signaltransduktionsprozessen, wie die über oncogenes Ras verlaufenden, eingreifen.

Lipidierte Peptide, die die typischen Lipidgruppen und Aminosäuren der zugrundeliegenden Lipoproteine enthalten und zusätzlich Reportergruppen tragen, durch die sie in biologischen Systemen aufgespürt werden können (z. B. Fluoreszenzmarker, die fluoreszenzmikroskopisch nachgewiesen werden können), sind wertvolle Reagenzien für das Studium solcher Prozesse durch Kombination biophysikalischer^[5] und zellbiologischer^[6] Methoden.^[7]

Wir berichten hier über eine neue, effiziente Methode für die Synthese fluoreszenzmarkierter Lipopeptide und über deren Anwendung bei der Untersuchung der spezifischen Membranlokalisierung von Lipopeptiden und -proteinen durch Membranfusion und Fluoreszenzmikroskopie sowie durch Mikroinjektion und confocale Laserfluoreszenzmikroskopie.

Bei der Entwicklung der neuen Synthesemethode haben wir auf unsere Erfahrungen bei der Herstellung säure- und basenlabiler S-palmitoylierter und S-farnesylierter Ras-Lipopeptide zurückgegriffen.^[8] Die Ras-Proteine sind membrangebundene lipidmodifizierte Proteine, die von Wachstumsfaktoren ausgelöste Signale zum Zellkern weiterleiten und die oft an der Etablierung maligner Transformationen beteiligt sind.^[9] So wohl im normalen als auch im transformierten Zustand können sie ihre Aufgaben nur erfüllen, wenn sie lipidiert sind.^[9]

Als Zielverbindungen wurden die unterschiedlich markierten N-Ras-Heptapeptide **14–18** gewählt. Retrosynthetisch wurden diese in verschiedenartig markierte N-terminale Dipeptide und ein gleichbleibendes C-terminales Pentapeptid **13**, das eine säurelabile Farnesylsulfanylgruppe trägt (Schema 1), zerlegt. Dieses Peptid kann in hoher Ausbeute durch enzymatische Abspaltung der N-terminalen *p*-Acetoxybenzyloxycarbonyl (AcOZ)-Gruppe^[8a] oder der basenvermittelten Ablösung der Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)-Gruppe^[8c] als Schlüsselschritt erhalten werden. Die Synthese der selektiv entschützten, S-palmitoylierten Peptide **14–16** wird durch die Basenlabilität der Sulfanylcarbonylgruppe erschwert. So hydrolyseren diese Grup-