

## Untersuchungen von Lipid-Protein-Wechselwirkungen an Monoschichten kettensubstituierter Phosphatidylcholine\*\*

Ursula Dahmen-Levison,\* Gerald Brezesinski, Helmuth Möhwald, Jens Jakob und Peter Nuhn

Mit der polarisationsmodulierten Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (PM-IRRAS, Abbildung 1) liegt eine Methode vor, mit der die Hydrolyse von langkettigen Lipiden an der Wasser/Luft-Grenzfläche und der Einfluss von Entmischungsprozessen auf die Aktivität von Proteinen

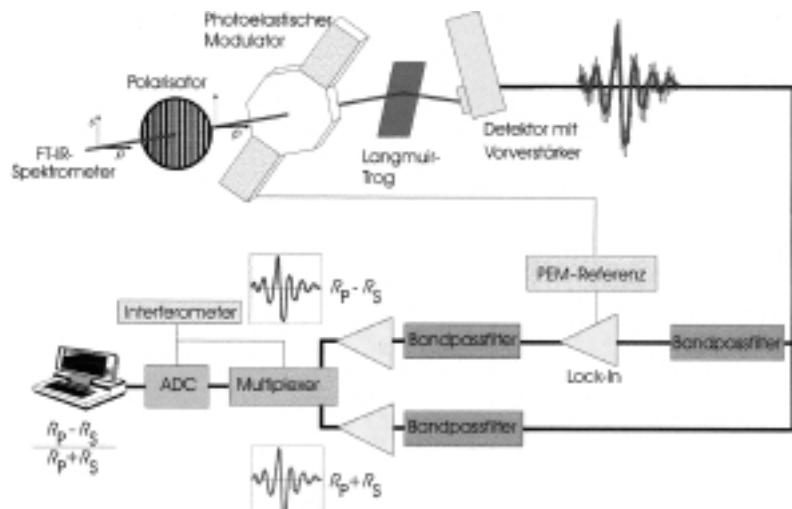


Abbildung 1. Schematischer Aufbau des PM-IRRAS-Spektrometers.

untersucht werden kann.<sup>[1, 2]</sup> Wir führten unsere Untersuchungen mit dieser Methode zunächst an den Phospholipasen A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) durch. Diese Enzyme spalten selektiv die *sn*-2-Ester-Bindung von Phospholipiden unter Bildung von Fett säure und Lysophospholipid. Da sich in der 2-Position am Glycerin der Phospholipide von Säugetiermembranen vorwiegend Arachidonylreste befinden, stellen die PLA<sub>2</sub> Schlüsselenzyme der Arachidonsäurekaskade dar. Es sind grenzflächenaktive Enzyme, deren Aktivität stark von der physikalisch-chemischen Struktur des Substrats abhängt, was die Entwicklung von Inhibitoren erschwert.

Die Untersuchungen an der Wasser/Luft-Grenzfläche haben einige deutliche Vorteile gegenüber herkömmlichen Untersuchungsmethoden: Es werden nur geringe Mengen an Phospholipiden und Enzymen benötigt, und die physikalischen Bedingungen für die Reaktion können leicht variiert

[\*] Dr. U. Dahmen-Levison, Dr. habil. G. Brezesinski, Prof. Dr. H. Möhwald  
Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung  
Am Mühlenberg 1, 14476 Golm/Potsdam (Deutschland)  
Fax: (+49) 331-567-9202  
E-mail: dahmen@mpikg-golm.mpg.de

Dr. J. Jakob, Prof. Dr. P. Nuhn  
Institut für Pharmazeutische Chemie  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
Wolfgang-Langenbeck-Straße 4, 06099 Halle (Deutschland)

[\*\*] Wir danken der DFG für finanzielle Unterstützung.

werden. In vielen Fällen können Phospholipid-Monoschichten mit vergleichbaren thermodynamischen und strukturellen Parametern als halbe Doppelschicht betrachtet werden. Besonders für Grenzflächenreaktionen bietet sich die Monoschicht als reduktionistisches Modell an.

Bei einer früheren PM-IRRAS-Untersuchung<sup>[3]</sup> stellten wir fest, dass das Enzym eine maximale Aktivität im Koexistenzgebiet von kondensierter und flüssig-expandierter Phase hat. Fluoreszenzmikroskopisch ließ sich zeigen, dass sich das Enzym an den Rändern der kondensierten Domänen anreichert<sup>[4]</sup> und dort auch die Reaktion beginnt.<sup>[5]</sup> Diese Befunde deuten auf zwei entscheidende Voraussetzungen

für die PLA<sub>2</sub>-Aktivität hin: Einerseits sind die Substrate in einer kondensierten Phase für den Enzym-Angriff vororientiert (Abbildung 2), andererseits kann der Angriff nur an Fehlstellen in der Membran erfolgen. In biologischen Membranen (also Vielkomponentensystemen) werden solche Fehlstellen sowohl durch lokal kondensierte Lipidzustände in der Nähe von Membranproteinen<sup>[6]</sup> als auch durch Bereiche unterschiedlicher Lipidzusammensetzung verursacht. Die Reaktionsgeschwindigkeit bei hohem Lateraldruck ist nahezu Null.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an Diester- und 1-Ether-2-Ester-Glycerophosphocholinen durchgeführt (Tabelle 1). Letztere wurden einbezogen, da sich hiervon die Plasmalogenen und der Plättchen aktivierende Faktor (PAF) ableiten. Da kettensubstituierte Glycerophosphocholine (PC) die PLA<sub>2</sub>-Reaktion inhibieren sollen,<sup>[7]</sup> haben wir laterale Verzwei-

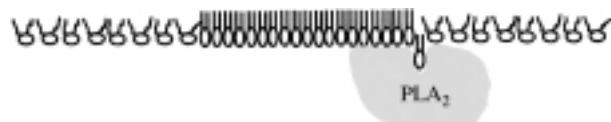


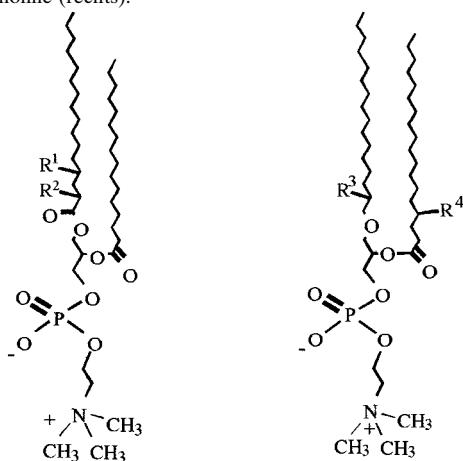
Abbildung 2. Modellvorstellung für die Vororientierung des Substrats bei Anlagerung des Enzyms und der bevorzugten Reaktion an Defektstellen.

gungen unterschiedlicher Länge an verschiedenen Positionen im lipophilen Rest angebracht.

Die Ether-Ester-PCs liegen bei gleichem Lateraldruck in der Monoschicht allgemein in einem etwas dichteren Zustand vor als entsprechende Diester-PCs.<sup>[8]</sup> Aus den Druck/Fläche-Diagrammen der kettensubstituierten PCs lassen sich folgende Tendenzen erkennen:

- 1) Die Einführung einer kurzkettigen Verzweigung führt zu einer Fluidisierung der Monoschicht. Die kurze Seitenkette stört die laterale Packung der Moleküle.<sup>[9]</sup>
- 2) Eine Tetradecyl-Verzweigung führt zu dreikettigen PCs. Im komprimierten Zustand haben diese einen Flächenbedarf von ca. 0.62 nm<sup>2</sup> pro Molekül. Der Phasenübergangsdruck ( $\pi_c$ ) ist gegenüber dem von zweikettigen Analoga zu höheren Werten verschoben.<sup>[10]</sup>

Tabelle 1. Diester-Glycerophosphocholine (links) Ether-Ester-Glycerophosphocholine (rechts).



Verb.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Verb.	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
<b>1</b>	H	H	<b>6</b>	H	H
<b>2</b>	H	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub>	<b>7</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub>	H
<b>3</b>	H	CH <sub>3</sub>	<b>8</b>	CH <sub>3</sub>	H
<b>4</b>	CH <sub>3</sub>	H	<b>9</b>	H	CH <sub>3</sub>
<b>5</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub>	H	<b>10</b>	H	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub>

Abbildung 3 zeigt das PM-IRRA-Spektrum einer Monoschicht von L-DPPC **1**. Es lassen sich einige charakteristische Banden zuordnen. Die Bande bei 1734 cm<sup>-1</sup> repräsentiert die

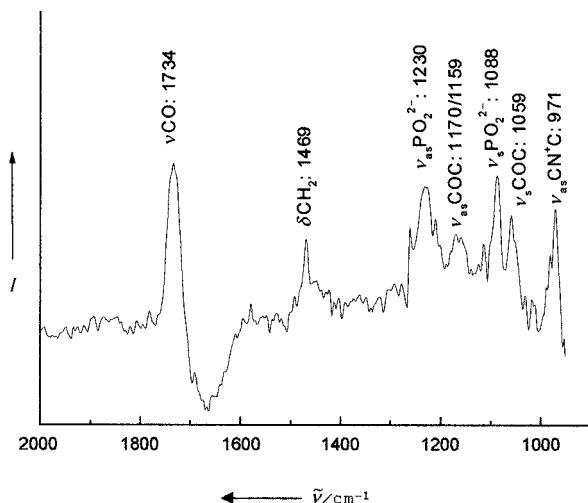


Abbildung 3. PM-IRRA-Spektrum einer reinen DPPC-Monoschicht bei einem Lateraldruck von 40 mN m<sup>-1</sup>; T = 20 °C.

Carbonyl-Streckschwingung und die bei 1469 cm<sup>-1</sup> die Methylen-Scherenschwingung. Banden bei 1230 und 1088 cm<sup>-1</sup> werden durch die antisymmetrische und die symmetrische Phosphat-Streckschwingung hervorgerufen.<sup>[11]</sup> Die Phosphat-Streckschwingungen setzen sich aus mindestens zwei Frequenzen zusammen. Das Auftreten von multiplen Banden deutet auf eine heterogene Population von protonierten und nicht protonierten Gruppen hin. Die breite Bande bei 1159/1170 und bei 1059 cm<sup>-1</sup> lässt sich der antisymmetrischen bzw. der symmetrischen Ester-Streckschwingung zuordnen.

Weiterhin sieht man eine Bande bei 971 cm<sup>-1</sup>, die einer Schwingung der C=N<sup>+</sup>-C-Gruppe zugeordnet wird. Carboxylat-Banden bei 1540 sowie 1581 cm<sup>-1</sup> mit einer leichten Schulter bei 1562 cm<sup>-1</sup> treten während der Hydrolyse auf (Abbildung 4). Sie entstehen aufgrund von sich langsam

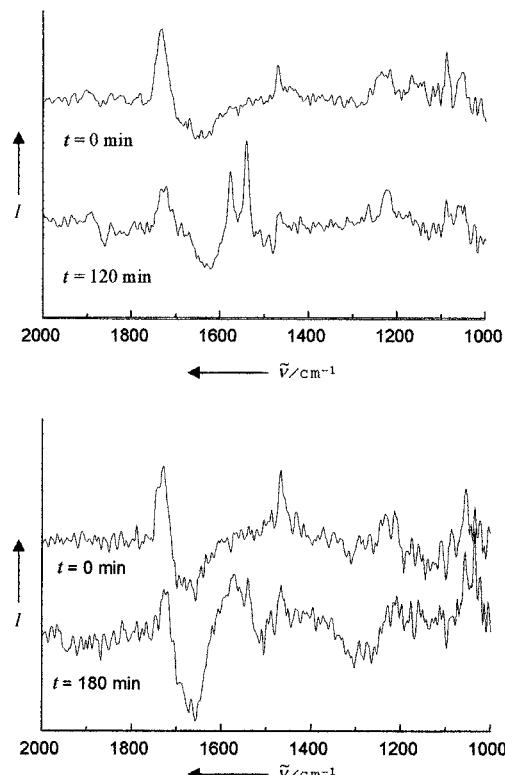


Abbildung 4. PM-IRRA-Spektren vor der Reaktion (t = 0 min) sowie nach einer bestimmten Reaktionszeit t. Oben: **3**, unten: **5**. T = 20 °C, Reaktionsdruck = 8 mN m<sup>-1</sup>, Spektrenaufnahme bei 40 mN m<sup>-1</sup>.

anreicherndem Produkt (Fettsäure) in der Monoschicht. Im Spektrum der reinen Fettsäure-Monoschicht ist eine Bande bei 1563 cm<sup>-1</sup> zu beobachten, welche die Ca<sup>2+</sup>-assoziierte Carboxygruppe repräsentiert. Außerdem tritt eine schwache Bande bei 1540 cm<sup>-1</sup> auf, die einem Anteil von freiem Carboxylat entspricht. Die neue Bande bei 1581 cm<sup>-1</sup> muss daher durch eine Wechselwirkung zwischen Protein und Fettsäure hervorgerufen werden. Die hohe Wellenzahl der Bande lässt sich durch eine starke Assoziation des Proteins mit der Fettsäure (z. B. partielle Produkt-Inhibition) oder durch einen durch das Protein induzierten hochkondensierten Zustand des Calciumcarboxylats erklären. In beiden Fällen sollte dies im Zusammenhang mit Enzymdomänen stehen, die sich unterhalb von Arealen bilden, die mit Fettsäure angereichert sind. Die deutlich erhöhte Intensität der Bande bei 1540 cm<sup>-1</sup> lässt sich durch einen Calcium-abschirmenden Effekt der Enzymdomänen erklären.

Anhand der prozentualen Intensitätsabnahme der Carboxylbande wurde die Hydrolysereaktion quantitativ verfolgt. Im Unterschied zu den Ergebnissen von Menger et al.<sup>[7]</sup> wurden alle kettensubstituierten Lipide katalytisch gespalten, auch solche mit Verzweigungen an der sn-2-Kette. Die Hypothese, dass durch Alkylierungen im Kettenbereich von

Phospholipiden eine Hemmung erzielt wird, kann somit nicht aufrechterhalten werden. Aus den ermittelten relativen Hydrolysegeschwindigkeiten (siehe Tabelle 2) sind folgende Tendenzen eindeutig zu erkennen:

- 1) Phospholipide mit unverzweigten Alkylresten lassen sich besser hydrolysieren als verzweigtkettige.
- 2) Diester-Glycerophosphocholine werden leichter angegriffen als Ether-Ester-Glycerophosphocholine.
- 3) Methylverzweigte Phospholipide werden schneller hydrolysiert als tetradecylverzweigte.
- 4) An der *sn*-2-Kette verzweigte Phospholipide werden langsamer gespalten als an der *sn*-1-Kette verzweigte.

In Analogie zu den Befunden an DPPC-Monoschichten

Tabelle 2. Monoschichtphasenzustand bei 20 °C und 8 mN m<sup>-1</sup> und Ausbeuten [%] der PLA<sub>2</sub>-katalysierten Hydrolyse nach einer Reaktionszeit *t*.<sup>[a]</sup>

Verb.	Phasenzustand	<i>t</i> [min]		
		60	120	180
<b>1</b>	con	80	—	—
<b>2</b>	le	ca. 20	—	40
<b>3</b>	con/le	55	70	—
<b>4</b>	le	45	60	—
<b>5</b>	con/le	ca. 20	—	55
<b>6</b>	con	30	—	—
<b>7</b>	con	0	40	85
<b>8</b>	con/le	≤ 10	50	—
<b>9</b>	le	0	0	ca. 20
<b>10</b>	con	0	0	ca. 20

[a] Der Fehler liegt bei 5–10% und ist für kleinere Umsätze und Ether-Ester- sowie dreikettige Verbindungen infolge geringerer Bandenintensität größer; con = kondensiert, le = flüssig-expandiert, con/le = zweiphasiges Koexistenzgebiet.

wird angenommen, dass auch die verzweigtkettigen PCs ein Aktivitätsmaximum im Zweiphasengebiet haben. Bei den hier vorgestellten Untersuchungen ist es deshalb wichtig, die Phaseneigenschaft der jeweiligen Monoschicht zu berücksichtigen. Bei dem gewählten Reaktionsdruck (8 mN m<sup>-1</sup>) liegen die untersuchten Verbindungen z. T. in unterschiedlichen Phasenzuständen vor (siehe Tabelle 2). Die erhöhte Reaktivität von **3** im Vergleich mit **4** und von **2** im Vergleich mit **5** lässt sich daher auch aufgrund des Phasenverhaltens erklären. Weiterführende Untersuchungen, die bei gleichem reduzierten Druck ( $\pi/\pi_c$ ) durchgeführt werden müssen, sind notwendig, um den Einfluss der Substitutionsposition (2 oder 4) auf die Reaktionsgeschwindigkeit abschließend beurteilen zu können.

### Experimentelles

L-Dipalmitoylphosphatidylcholin (L-DPPC **1**) wurde von Sigma (Taufkirchen) bezogen. Zur Totalsynthese der Diester-Glycerophosphocholine wurde von 2,5-Di-*O*-benzyl-*D*-mannit ausgegangen. In den letzten Schritten wurde 2-*O*-Benzyl-*sn*-glycerophosphocholin mit dem entsprechenden verzweigten Säureanhydrid acyliert, die erhaltenen 1-Acyl-2-*O*-benzyl-*sn*-glycerophosphocholine debenzyliert und mit Stearinsäureanhydrid zu **2–5** acyliert (Ausbeuten 60–75%). Die 1-Ether-2-Ester-Glycerophosphocholine (**6–10**) wurden ausgehend von *R*-(–)-1,2-Isopropylidenglycerin synthetisiert, wobei im letzten Schritt das entsprechende 1-*O*-Alkyl-2-*O*-benzyl-*sn*-glycerophosphocholin debenzyliert und sofort mit dem entspre-

chenden Säureanhydrid acyliert wurde (Ausbeuten: 60–75%). Die Reinigung erfolgte in jedem Fall säulenchromatographisch.

**2:** C<sub>56</sub>H<sub>112</sub>NO<sub>8</sub>P (*M*<sub>r</sub> = 958.48); ber.: P 3.23, gef.: P 3.40; ES-MS (*m/z*): 959.1 [M+H<sup>+</sup>], 981.0 [M+Na<sup>+</sup>]. **3:** C<sub>43</sub>H<sub>86</sub>NO<sub>8</sub>P (*M*<sub>r</sub> = 776.13); ber.: P 3.99, gef.: P 4.15; ES-MS (*m/z*): 777.9 [M+H<sup>+</sup>], 799.6 [M+Na<sup>+</sup>], 815.9 [M+K<sup>+</sup>], 1552.3 [2M+H<sup>+</sup>]; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.51 (m, 2H; Glycerin-*sn*-1-CH<sub>2</sub>), 3.75–3.79 (s, 2H; NCH<sub>2</sub>), 4.10 (m, 2H; Glycerin-*sn*-3-CH<sub>2</sub>), 5.00 (m, 1H, Glycerin-*sn*-2-CH). **4:** C<sub>45</sub>H<sub>90</sub>NO<sub>8</sub>P (*M*<sub>r</sub> = 804.18); ber.: P 3.85, gef.: P 3.71; ES-MS (*m/z*): 805.6 [M+H<sup>+</sup>]; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.5 (m, 2H; Glycerin-*sn*-1-CH<sub>2</sub>), 3.75–3.80 (s, 2H; NCH<sub>2</sub>), 4.02 (m, 2H; Glycerin-*sn*-3-CH<sub>2</sub>), 5.03 (m, 1H; Glycerin-*sn*-2-CH). **5:** C<sub>58</sub>H<sub>116</sub>NO<sub>8</sub>P (*M*<sub>r</sub> = 986.53); ber.: P 3.14, gef.: P 3.29; ES-MS (*m/z*): 987.5 [M+H<sup>+</sup>], 1010.4 [M+Na<sup>+</sup>], 1026.6 [M+K<sup>+</sup>]. **6:** C<sub>42</sub>H<sub>86</sub>NO<sub>8</sub>P (*M*<sub>r</sub> = 748.12); ber.: P 4.14, gef.: P 4.02; ES-MS (*m/z*): 749.5 [M+H<sup>+</sup>], 771.3 [M+Na<sup>+</sup>], 787.3 [M+K<sup>+</sup>]; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.6 (m, 2H; Glycerin-*sn*-1-CH<sub>2</sub>), 3.75–3.80 (s, 2H; NCH<sub>2</sub>), 4.02 (m, 2H; Glycerin-*sn*-3-CH<sub>2</sub>), 5.07 (m, 1H; Glycerin-*sn*-2-CH). **7:** C<sub>56</sub>H<sub>114</sub>NO<sub>8</sub>P (*M*<sub>r</sub> = 944.49); ber.: P 3.28, gef.: 3.21; ES-MS (*m/z*): 945.4 [M+H<sup>+</sup>], 967.4 [M+Na<sup>+</sup>], 983.3 [M+K<sup>+</sup>]. **8:** C<sub>43</sub>H<sub>88</sub>NO<sub>8</sub>P (*M*<sub>r</sub> = 762.14); ber.: P 4.06, gef.: 3.99; ES-MS (*m/z*): 763.0 [M+H<sup>+</sup>], 785.0 [M+Na<sup>+</sup>]; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.6 (m, 2H; Glycerin-*sn*-1-CH<sub>2</sub>), 4.05 (m, 1H; OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.15 (m, 2H; Glycerin-*sn*-3-CH<sub>2</sub>), 4.55 (s, 2H; CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 5.05 (m, 1H; Glycerin-*sn*-2-CH). **9:** C<sub>43</sub>H<sub>88</sub>NO<sub>8</sub>P (762.24); ber.: P 4.06, gef.: 3.99; ES-MS (*m/z*): 763.3 [M+H<sup>+</sup>], 1525.2 [2M+H<sup>+</sup>]; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 3.6 (m, 2H; Glycerin-*sn*-1-CH<sub>2</sub>), 3.75–3.80 (s, 2H; NCH<sub>2</sub>), 4.1 (m, 2H; Glycerin-*sn*-3-CH<sub>2</sub>), 4.54 (s, 2H; CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 5.10 (m, 1H; Glycerin-*sn*-2-CH). **10:** C<sub>56</sub>H<sub>114</sub>NO<sub>7</sub>P (944.49); ber.: P 3.28, gef.: 3.35; ES-MS (*m/z*): 945.2 [M+H<sup>+</sup>], 967.2 [M+Na<sup>+</sup>], 983.0 [M+K<sup>+</sup>].

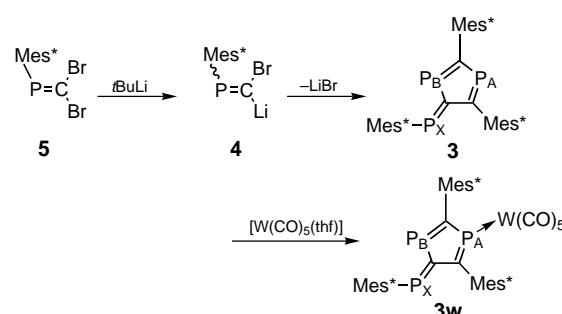
Monoschicht-Experimente: Als Subphase wurde ein Puffer mit 150 mM NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub> und 10 mM Tris bei pH 8.9 verwendet. Die Filmwaage (R&K, Wiesbaden) ist mit einem Wilhelmy-Druckmesssystem ausgestattet. Für die Hydrolyse wurde Phospholipase A<sub>2</sub> der Schlange *Crotalus atrox* eingesetzt (660 Einheiten pro mg Protein, Sigma, Taufkirchen). Das im Puffer gelöste Enzym (6 ng Protein pro mL Subphase) wurde bei 40 mN m<sup>-1</sup> unter die Monoschicht injiziert und vorsichtig verrührt. Die Hydrolyse wurde bei einem konstanten Druck von 8 mN m<sup>-1</sup> verfolgt. Nach 60, 120 oder 180 Minuten wurde die Monoschicht auf 40 mN m<sup>-1</sup> komprimiert und ein PM-IRRA-Spektrum aufgenommen. Alle Experimente wurden bei 20 °C durchgeführt.

PM-IRRAS-Experimente: Der IR-Strahl wird aus einem Bruker-IFS66-Spektrometer (Bruker, Karlsruhe) ausgekoppelt, linear polarisiert (KRS5, Specac, Orpington, Großbritannien) und durchläuft einen photoelastischen Modulator (ZnSe, Type II, Hinds). Der Strahl wird von der Wasseroberfläche reflektiert und mit einer ZnSe-Linse auf den Stickstoff-gekühlten MCT-Detektor fokussiert (Abbildung 1). Durch die Polarisationsmodulation lässt sich der Einfluss von isotroper Wasserabsorption fast komplett ausschalten, indem simultan sowohl die parallel ( $R_p$ ) als auch die senkrecht ( $R_s$ ) zur Einfallsebene des IR-Strahls polarisierte Reflexivität der Monoschicht bestimmt wird. Mit Hilfe des elektronischen Aufbaus (Bandpassfilter: 300–1200 Hz, Stanford Research System, Model SR 650; EG&G Lock-In-Verstärker, Model 5209) lässt sich ein Differenzsignal ermitteln ( $R_p - R_s$ )/( $R_p + R_s$ ), zu dem ausschließlich die anisotrope Absorption der Monoschicht beiträgt.

Eingegangen am 14. Dezember 1999,  
veränderte Fassung am 23. Februar 2000 [Z 14393]

- [1] D. Blaudez, T. Buffeteau, J. C. Cornut, B. Desbat, M. Pezolet, J. M. Turlet, *Appl. Spectrosc.* **1993**, 47, 869–874.
- [2] A. Gericke, A. Hühnerfuss, *Chem. Phys. Lipids* **1994**, 74, 205–210.
- [3] U. Dahmen-Levison, G. Brezesinski, H. Möhwald, *Progr. Colloid Polym. Sci.* **1998**, 110, 269–274.
- [4] U. Dahmen-Levison, G. Brezesinski, H. Möhwald, *Thin Solid Films* **1998**, 329, 616–620.
- [5] D. W. Grainger, A. Reichert, H. Ringsdorf, C. Salesse, *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, 1023, 365–379.
- [6] D. Marsh, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1997**, 2, 4–14.
- [7] F. M. Menger, M. G. Wood, *Angew. Chem.* **1989**, 101, 1277–1278; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 9, 1218–1219.

- [8] G. Brezesinski, A. Dietrich, B. Struth, C. Böhm, W. G. Bouwman, K. Kjaer, H. Möhwald, *Chem. Phys. Lipids* **1995**, 76, 145–157.  
 [9] F. Bringezu, G. Brezesinski, H. Möhwald, *Chem. Phys. Lipids* **1998**, 94, 251–260.  
 [10] G. Brezesinski, A. Dietrich, B. Dobner, H. Möhwald, *Progr. Colloid Polym. Sci.* **1995**, 98, 255–262.  
 [11] R. D. Hunt, M. L. Mitchell, R. A. Dluhy, *J. Mol. Struct.* **1989**, 214, 93–109.



Schema 1. Synthese von **3** und **3w**. Mes\* = 2,4,6-*t*Bu<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>.

## Isolierung eines kinetisch stabilisierten 1,3,6-Triphosphafulvens\*\*

Shigekazu Ito, Hiroki Sugiyama und Masaaki Yoshifuji\*

Der Austausch einiger sp<sup>2</sup>-hybridisierter Kohlenstoffatome in Kohlenwasserstoffen mit konjugierten  $\pi$ -Elektronensystemen gegen schwerere Hauptgruppenelementatome wie Phosphoratom ist zwar von Interesse, macht aber eine kinetische Stabilisierung durch sperrige Substituenten erforderlich. 1995 wurde zum ersten Mal über 2,4,6-Tri-*tert*-butyl-1,3,5-triphosphabenzol **1** berichtet,<sup>[1]</sup> das durch Trimerisierung von *tert*-Butylphosphaethin (oder 3,3-Dimethyl-1-phospha-1-butin)

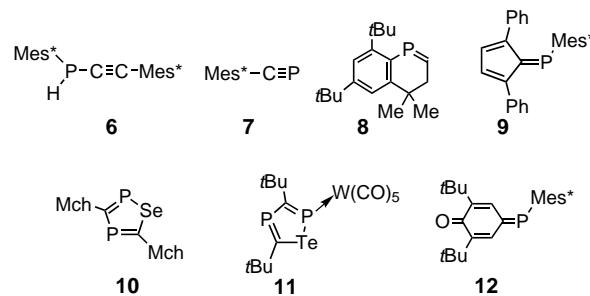


zusammen mit seinem Valenzisomer **2** hergestellt und dessen Struktur 1998 aufgeklärt wurde.<sup>[2, 3]</sup> Die Oligomerisierung von *tert*-Butylphosphaethin wurde zum Aufbau zahlreicher fünfgliedriger Heterocyclen als Bestandteil polycyclischer Systeme genutzt.<sup>[4]</sup>

Wir berichten hier über die Synthese eines Derivats eines Valenzisomers von Triphosphabenzol unter Verwendung der 2,4,6-Tri-*tert*-butylphenylgruppe (Mes\*). 2,4,6-Tris(2,4,6-tri-*tert*-butylphenyl)-1,3,6-triphosphafulven **3** wurde durch Trimerisierung des Lithiumphosphanylidencarbenoids **4** gebildet (Schema 1).<sup>[5–7]</sup>

Die Reaktion des Dibromphosphaethens **5**<sup>[8]</sup> mit zwei Äquivalenten *tert*-Butyllithium bei –78°C lieferte **4**. Die Reaktionsmischung wurde dann langsam auf 25°C erwärmt, und nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel wurde **3** als dunkelroter Feststoff neben geringen Mengen

an 2-(2,4,6-Tri-*tert*-butylphenyl)-1-(2,4,6-tri-*tert*-butylphenylphosphanyl)ethin **6**, 1-(2,4,6-Tri-*tert*-butylphenyl)-1-phosphaethin **7**<sup>[5–7, 9]</sup> und 6,8-Di-*tert*-butyl-4,4-dimethyl-1-phospha-3,4-dihydronaphthalin **8** erhalten.<sup>[5, 6, 10]</sup> Das <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum von **3** zeigt ein ABX-System. Die Lage des Signals des exocyclischen Phosphoratoms P<sub>X</sub> ( $\delta$  = 313.8) ähnelt der für das entsprechende Signal von **9** ( $\delta$  = 321.5);<sup>[11]</sup> wegen des



elektronenziehenden Effekts der 1,3-Diphosphacyclopentadienegruppe liegt das Signal bei tieferem Feld als die Signale der Ringatome P<sub>A</sub> und P<sub>B</sub> ( $\delta$  = 291.3 bzw. 264.7).<sup>[12]</sup> Deren chemische Verschiebungen ähneln denen von 1,2,4-Selenadi-phosphol **10** (Mch = 1-Methylcyclohexyl).<sup>[13]</sup> Ihre Kopplungskonstante  $J(P_A, P_B)$  beträgt 32 Hz und ist ebenfalls der von **10** ähnlich;<sup>[13]</sup> die exocyclischen Kopplungskonstanten betragen 120 und 44 Hz für  $J(P_A, P_X)$  bzw.  $J(P_B, P_X)$ . Das UV/Vis-Spektrum von **3** hat ein Maximum bei 429 nm ( $\lg \epsilon$  = 3.48 in Hexan), das bei höheren Wellenlängen liegt als das für **9** ( $\lambda_{\max}$  = 358 nm).<sup>[11]</sup>

Durch Reaktion von **3** mit einem Überschuss an [W(CO)<sub>5</sub>(thf)] wurde der Pentacarbonylwolfram-Komplex **3w** als dunkelroter Feststoff erhalten (Schema 1). Auch hier wurde ein ABX-System im <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum von **3w** beobachtet; das Signal für das P<sub>A</sub>-Atom ( $\delta$  = 268.4) ist deutlich gegenüber dem von **3** verschoben.

Um für die Strukturbestimmung geeignete Kristalle zu erhalten, wurde der Komplex **3w** bei 0°C aus Toluol kristallisiert. Abbildung 1 zeigt die Struktur von **3w**; die Bindungslängen und -winkel belegen zweifelsfrei, dass das Metallzentrum an P<sub>2</sub> ( $\trianglelefteq$ P<sub>A</sub>) koordiniert. Das exocyclische  $\lambda_3\sigma_2$ -Phosphoratom nimmt vermutlich aufgrund der sterischen Hinderung eine *cis*-Konfiguration ein. Das Triphosphafulvengerüst (P1–P3, C1–C3), das W-Atom und drei *ipso*-Kohlenstoffatome der Mes\*-Gruppe liegen coplanar zueinander; die maximale Abweichung von der Ebene beträgt 0.074(8) Å.

[\*] Prof. Dr. M. Yoshifuji, Dr. S. Ito, H. Sugiyama  
 Department of Chemistry  
 Graduate School of Science  
 Tohoku University  
 Aoba, Sendai 980-8578 (Japan)  
 Fax: (+81) 22-217-6562  
 E-mail: yoshifj@mail.cc.tohoku.ac.jp

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch ein Forschungsstipendium (Nr. 09239101) vom japanischen Ministerium für Bildung, Wissenschaft, Sport und Kultur gefördert.