

Kurze Mitteilungen

Bis am 15. des Monats bei der Redaktion eingehende Kurze Mitteilungen werden in der Regel am 15. des folgenden Monats veröffentlicht. Es werden auch Manuskripte aus dem Ausland angenommen

Antigenfunktion und Molekularstruktur*

Summary

Some of the relationships between molecular organization and antigenic properties are briefly discussed and the importance of highly defined synthetic antigens in further studies is emphasized. Examples are mainly chosen from work carried out with penicilloyl conjugates.

Ein wesentliches Ziel der neueren Antigenchemie besteht darin, die Beziehungen zwischen der molekularen Organisation eines Antigens und seinen verschiedenen Funktionen zu beschreiben. Während hierfür in den letzten Jahren vorwiegend höhermolekulare Aminosäurepolymere und davon abgeleitete Haptenkonjugate verwendet wurden¹, sind Antigene mit rigoros definierter Struktur bisher nur vereinzelt herangezogen worden. Es ist jedoch anzunehmen, daß strukturell exakt definierte Antigene in Zukunft eine größere Rolle spielen werden, und zwar vor allem aus zwei Gründen:

- Dank moderner Verfahren der synthetischen Peptidchemie, insbesondere dank der Verwendung von Zweiphasenmethoden ohne Isolierung von Zwischenprodukten, scheint es möglich, in den Molekularbereich zwischen 1000 und 3000 vorzustoßen und ohne über großen Aufwand definierte und spezifisch konstruierte Peptidantigene darzustellen. Bereits bekannte, immunogene Peptide dieser Größenordnung sind beispielsweise dinitrophenyliertes Bacitracin A (DNP₃-BAC A)², Benzylpenicilloyl-Bacitracin F (BPO₁-BAC F)^{3,4} und Dinitrophenyl-Octalysin (DNP₁-[Lys]₈)⁵.
- Wichtige Aspekte der Antigenität lassen sich auch mit nicht immunogenen Molekülen der obengenannten Größenordnung und zum Teil sogar mit kleinemolekularen Konjugaten untersuchen. Dies gilt namentlich für die Allergenfunktion (eine allgemeine Übersicht über die verschiedenen Antigenfunktionen findet sich in Tabelle I).

Tabelle II enthält eine Zusammenstellung der verschiedenen Antigenkategorien am Beispiel der Benzylpenicilloyl-Konjugate, welche ganz grob nach strukturellen

* Vorgetragen an der Sommersammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in St. Gallen am 4. Oktober 1969.

¹ Eine Übersicht neueren Datums über dieses Gebiet gibt M. SELA, *Adv. Immunol.* 5 (1966) 29.

² J. G. ABUELO und Z. OVARY, *J. Immunol.* 95 (1965) 113.

³ A. L. DE WECK und C. H. SCHNEIDER, *Immunology* 14 (1968) 457.

⁴ C. H. SCHNEIDER und A. L. DE WECK, unpublizierte Versuche.

⁵ S. F. SCHLOSSMAN, A. YARON, S. BEN-ÉFRAIM und H. A. SOBER, *Biochemistry* 4 (1965) 1638.

Tabelle I. Antigenfunktionen

<i>Antigenität:</i>	Erzeugung einer Immunantwort und spezifische Reaktion mit deren Produkten (Vollantigenität)
<i>Immunogenität:</i>	Induktion der Antikörperbildung und/oder Spättypusüberempfindlichkeit
<i>Allergenität:</i>	Auslösung allergisch entzündlicher Reaktionen (Anaphylaxie, Arthus, Spättypus) bei sensibilisierten Individuen
<i>Tolerogenität:</i>	Induktion spezifischer immunologischer Toleranz

Kriterien, insbesondere nach der Zahl der Haptengruppen, geordnet sind. Die Benzylpenicilloyl-determinante (Abkürzung: BPO) wurde in den bisherigen Untersuchungen vor allem deshalb verwendet, weil sie analytische und präparative Vorteile bietet und weil zudem die Möglichkeit besteht, gewisse Tests auch auf menschliche Patienten zu übertragen, welche durch Penicillin sensibilisiert worden sind.

Unter den plurivalenten Konjugaten wird ein Penicilloyl-Protein aufgeführt, welches als Vollantigen sämtliche immunologischen Funktionen beherrscht; weiter findet sich ein maximal substituiertes Benzylpenicilloylpoly-L-lysin, welches sich als nicht immunogen erweist. Substituiert man Poly-L-lysin nur teilweise mit Penicilloylgruppen, sorgt aber dafür, daß die restlichen Aminogruppen durch Behandlung mit Bernsteinsäureanhydrid sukzinyliert werden, so erhält man ebenfalls ein nicht immunogenes Konjugat (in Tabelle II nicht aufgeführt). Beide Konjugate können prinzipiell zur Auslösung von Sofortreaktionen in der Haut von Patienten,

Formel I. Monovalentes BPO-Bacitracin

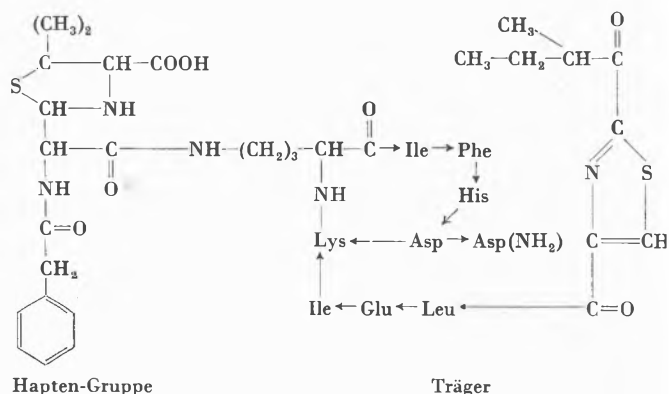

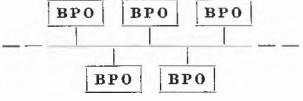



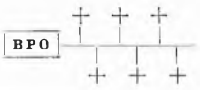


Tabelle II. Antigenität von Benzylpenicilloyl-Konjugaten

Antigene*	Immunogenität (Induktion von Anti-BPO- Antikörpern)	Auslösende Funktionen**			Arthus- Reaktion	Q-E-Haut- reaktion
		Antikörper- präzipitation	Anaphylaxie PCA	SA		
<i>Plurivalent:</i>						
BPO-Protein		+++	+++	+++	+++	+++
BPO _H -PLL		-	+++	+++	+++	+++
<i>Bivalent:</i>						
BPO ₂ -HEX		-	-	++	++	-
<i>Monovalent:</i>						
BPO-BAC		++	-	-	-	-
BPO-EACA		-	-	-	-	-
<i>Pseudomonovalent:</i>						
BPO ₁ -PLL		++	-	+++	+++	+++

* BPO-Protein: Hochpenicilloyliertes bovines Gammaglobulin und Humanserumalbumin werden verwendet.

BPO_H-PLL: Hochpenicilloyliertes Poly-L-lysin; mittlere Kettenlänge $n_{Lys} = 12$.

BPO₂-HEX: N¹N⁶-Bis-benzylpenicilloyl-diamidohexan.

BPO-BAC: siehe Formel I.

BPO-EACA: N⁶-Benzylpenicilloyl-aminocaproinsäure.

BPO₁-PLL: Im Mittel monopenicilloyliertes Poly-L-lysin der mittleren Kettenlänge $n_{Lys} = 12$.

Nähere Angaben siehe Lit.³ und ⁹.

** PCA: Passive Hautanaphylaxie beim Meerschweinchen.

SA: Systemischer anaphylaktischer Schock beim Meerschweinchen.

Q-E: Soforthautreaktionen vom Quaddel-Erythem-Typ (in penicilloylspezifisch) überempfindlichen Patienten.

die durch Penicillin (penicilloylspezifisch) sensibilisiert worden sind, verwendet werden. Bemerkenswert ist, daß dagegen schwach penicilloylierte (nicht sukzinylierte) und somit basische Polylysin-Konjugate immunogen sein können.

Monovalente Konjugate sind einmal N⁶-Benzylpenicilloylaminocaproat, welches als klassisches, kleinemolekulares Hemmhapten die meisten immunologischen Funktionen inhibiert, ferner Benzylpenicilloyl-Bacitracin F (I)⁶. Letzteres verdient besonders hervorgehoben zu werden, scheint es doch zu einer besonderen Klasse von unvollständigen Antigenen zu gehören: zu den reinen Immunogenen³. Derartige Antigene können immunisieren, aber im bereits immunisierten Organismus keine Reaktionen auslösen. Theoretisch läßt sich dieses Verhalten aus der Monovalenz des Antigens in

bezug auf das Hapten (Penicilloyl) befriedigend herleiten. Dabei muß vorausgesetzt werden, daß *in vivo* durch Antigenassoziationen oder Adsorptionen keinerlei immunologisch aktive, plurivalente Komplexe entstehen. Diese Voraussetzung trifft aber keinesfalls für alle monovalenten Konjugate zu. So ist beispielsweise das als «pseudomonovalent» aufgeführte Penicilloyl-Polylysin, welches im Durchschnitt weniger als eine Penicilloylgruppe pro Molekül enthält, in der Lage, im sensibilisierten Organismus Reaktionen auszulösen, was wenigstens zum Teil nur dank der Bildung plurivalenter Antigenkomplexe möglich sein dürfte³. Reine Immunogene können prinzipiell zur Immunisierung oder spezifischen Desensibilisierung herangezogen werden, ohne daß anaphylaktische Nebenreaktionen befürchtet werden müssen; sie sind daher für die praktische Medizin von beträchtlichem Interesse.

Das bivalente Konjugat N¹N⁶-Bis-benzylpenicilloyl-diamidohexan, welches keine gegen die Penicilloylde-terminante gerichteten Kaninchenantikörper zu präzi-

⁶ Über die Struktur von Bacitracin F (ältere Bezeichnung Bacitracin C) siehe L. C. CRAIG, J. R. WEISINGER, W. HAUSMANN und E. J. HARTENIST, *J. Biol. Chem.* 199 (1952) 259; ferner W. KONIGSBERG und L. C. CRAIG, *J. Org. Chem.* 27 (1962) 934.

Tabelle III. Auslösung von Sofortreaktionen mit niedermolekularen bivalenten Benzylpenicilloyl-Konjugaten bei einem überempfindlichen Patienten

Konjugat ^a	Molare Rotation ^b [M] _D ²⁰	Quaddel-Erythem-Reaktionen in cm ^c		
		2,5 μM	12,5 μM	25 μM
N ¹ N ⁴ -Bis-benzylpenicilloyldiamidobutan	910°	0,3/0	0,7/1,5	1,5/3,5
N ¹ N ⁶ -Bis-benzylpenicilloyldiamidohexan	780°	1,5/3,5	1,5/3,5	1,5/3,5
N ¹ N ¹⁰ -Bis-benzylpenicilloyldiamidodecan	885°	0,3/0	0,3/0	0,7/2,0

^a Die hier verwendeten Präparate sind analysenreine Bisbenzylammoniumsalze; sie wurden gleichzeitig in drei Konzentrationen intradermal gegeben.

^b c = 1; H₂O.

^c Erste Zahl: Quaddel-Durchmesser; zweite Zahl: Durchmesser der Erythem-Zone.

pitieren scheint, welches auch keine Arthus-Phänomene erzeugt, ist befähigt, anaphylaktische Reaktionen auszulösen. Ebenso löst es in der Haut überempfindlicher Patienten Soforttypreaktionen aus. Bemerkenswert ist hierbei die Beobachtung, daß die «Auslösepotenz» homologer Konjugate, welche nur in der Länge der Kohlenwasserstoffbrücke zwischen den beiden Penicilloylamideterminanten sich unterscheiden, beträchtlich variieren kann. So löst das Hexankonjugat unter vergleichbaren Bedingungen ungefähr gleichstarke oder sogar bessere Hautreaktionen aus als zehnmal höhere Dosen der Butan- bzw. Decanderivate (Tabelle III).

Diese Beispiele zeigen zur Genüge, daß molekulare Parameter, wie Zahl, Verteilung und Ladung der Haptengruppen, die allergenen Eigenschaften eines Antigens entscheidend bestimmen können.

Von großem Interesse ist weiter die tolerogene Funktion. Ob ein Antigen immunisiert oder Toleranz erzeugt, scheint nach einigen gegenwärtigen Konzepten und Resultaten im wesentlichen von sekundären Faktoren, wie Applikationsart und Dosis des Antigens, abzuhängen. Wir prüfen gegenwärtig, inwieweit Hapten-Polysaccharid-Konjugate, die im Organismus über lange Zeiten gespeichert werden, zur Erzeugung haptenspezifischer Toleranz verwendet werden können. Hapten-Polysaccharide sind fähig, im sensibilisierten Organismus haptenspezifische Reaktionen auszulösen; sie sind dagegen – soweit bekannt – nur außerordentlich schwach immunogen^{7,8}.

Die Ausnutzung der Möglichkeiten exakt definierter, synthetischer Antigene hat zögernd begonnen, und es ist anzunehmen, daß derartige Präparate bei den Untersuchungen der molekularen Mechanismen der verschiedenen Arten von Antigenreaktionen weiter eine wichtige Rolle spielen werden. Darüber hinaus sind die Möglichkeiten zur Herstellung unvollständiger Antigene, die nur die eine oder die andere der Antigenfunktionen beherrschen, für die praktische Medizin von unzweifelhafter Bedeutung.

Experimentelles

Die Penicilloylkonjugate wurden durch alkalische oder nahezu neutrale Inkubation der Träger mit Benzylpenicillin nach publizierten Methoden⁹ dargestellt. Bei den derart gebildeten Penicilloylverbindungen handelt es sich stets um Penicilloinsäurederivate mit umgewandelter α-Carboxylfunktion.

Diese Arbeit wurde teilweise unterstützt durch Beiträge des Schweizerischen Nationalfonds und der Emil-Barell-Stiftung der F. Hoffmann-La Roche AG in Basel.

C. H. SCHNEIDER und A. L. DE WECK

Abteilung für Allergie und klinische Immunologie,
Inselspital, 3008 Bern

⁷ C. H. SCHNEIDER und A. L. DE WECK, *Immunochemistry* 4 (1967) 331.

⁸ C. H. SCHNEIDER, J. MICHL und A. L. DE WECK, in Vorbereitung.

⁹ C. H. SCHNEIDER und A. L. DE WECK, *Helv. Chim. Acta* 49 (1966) 1695.

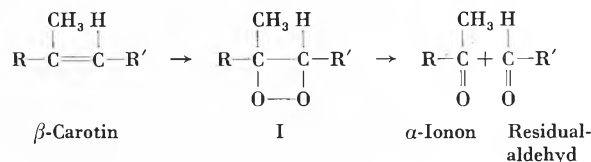
Photosensibilisierte O₂-Übertragung in Gegenwart oder mittels β -Carotin unter Ausschluß von Singulett-Sauerstoff?*

Summary

Carotenoids and vitamin A may react as sensitizers, substrates, quenchers and scavengers in photo- and autooxidation processes. β -Carotene has been shown to act as sensitizer in type 2 photooxygenation of dienes and olefins generating singlet oxygen (¹O₂) in the Kautsky-Schenck mechanism via excited carotene-O₂ complexes. Strong quenching of ¹O₂ by β -carotene has been found especially occurring in solvents containing benzene as applied by FOOTE and DENNY, but not in methanol or isopropanol, etc. ¹O₂-Quenching appears to be associated with oxygenation of β -carotene and is interpreted as catalytic action via complexing of ¹O₂ with β -carotene. The difference in behavior of the excited sensitizer-oxygen-complexes and of the quencher/acceptor-oxygen-complexes is explained by the different states of aggregation of the β -carotenes in various solvents. Association e.g. in alcohols appears favouring sensitization, whereas stronger solvation by benzene is favouring acceptor and associated catalytic or quenching activities. The problem of solvation of ¹O₂ needs further consideration.

Carotinoide und Vitamin A können als Photosensibilisatoren, Substrate und Löscher photochemischer Prozesse reagieren. Durch Energieübertragung auf Chlorophyll vermögen sie dieses zur Fluoreszenz oder zur Photosynthese anzuregen¹. β -Carotin kann als Sens die Oxydation von Benzidin zu Benzidinblau² oder die von uns studierten Oxygenierungsreaktionen vom Typ 2 bewirken³; es verstärkt die durch Chlorophyll sensibilisierten Redoxreaktionen mit Methylenblau⁴. Wie bei Xanthenfarbstoffen und Acenen wird die Photoleitfähigkeit von β -Carotin in dünner Schicht durch reversible Komplexbildung mit O₂ (Photosorption) verstärkt⁵; auch in Cyclohexan erfolgt eine reversible Photoreaktion⁶ von β -Carotin mit O₂. Als Sauerstoffakzeptor (A) wird β -Carotin durch Sens wie Chlorophyll⁷, Toluidinblau⁸ usw. photoxydiert. Die Verluste an β -Carotin und Vitamin-A-Aktivität beim Heumachen in der Sonne gehen auf solche Oxydation zurück. Bei der Photooxygenierung von β -Carotin entsteht β -Carotinepoxyd, das natürlich z.B. im Hahnenfuß vorkommt⁹. Die photoxydative

Bildung von α -Ionon aus den dunkelroten β -Carotin-Kristallen erfolgt vermutlich durch Spaltung eines β -Carotinperoxydes der Art I, das auch bei der Oxygenierung auftreten könnte.



Für die Problematik der angeregten Komplexe bei photochemischen Prozessen beansprucht die von C.S. FOOTE und R.DENNY¹⁰ entdeckte katalytische Desaktivierung von Singulett-O₂ (¹O₂) durch β -Carotin besonderes Interesse. Die Oxygenierung von A mit NaOCl/H₂O₂ nach FOOTE¹¹ liefert die gleichen Produkte wie die von uns¹² gefundenen photosensibilisierten Oxygenierungen von Dienen, dienoiden Heterozyklen, Mono-olefinen usw., die zum mechanistischen Typ 2 gehören. Nach FOOTE und weiteren Autoren ist daher das finale oxidierende Zwischenprodukt beider Reaktionen der ¹O₂.

Carotinoide vermögen eigentümliche Schutzwirkungen gegen die letalen Wirkungen photodynamischer Oxydationseffekte auszuüben. Daher wurde aufgrund des neuen Carotineffektes postuliert¹⁰, daß dieser Schutz generell auf einer katalytischen Desaktivierung (Rk.4) des durch photodynamische Sensibilisation erzeugten ¹O₂ beruhen solle. Diese Verallgemeinerung ist jedoch nicht zulässig, weil verschiedene Reaktionswege photosensibilisierter Reaktionen mit O₂ bekannt sind, die je nach Reaktionsumständen und Teilnehmern beschränkt werden und zu verschiedenen Produkten führen können.

Wir konnten den Carotineffekt unter den mitgeteilten Bedingungen reproduzieren, nicht jedoch in verschiedenen benzolfreien Lösungsmitteln. Unser Beitrag soll zeigen, daß alle Beobachtungen widerspruchsfrei sich vereinigen lassen, wenn man die Bildung kurzlebiger Carotin-O₂-Komplexe annimmt, die sowohl bei den

* Vorläufige Mitteilung, vorgetragen an der Sommerversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in St. Gallen am 4. Oktober 1969.

¹ Zusammenfassend: E.I. RABINOWITCH, *Photosynthesis*, 3 Bände, Interscience, New York 1951, S. 812-9.

² P. KARRER und W. STRAUS, *Helv. Chim. Acta* 21 (1938) 1624.

³ G.O. SCHENCK, *Naturwiss.* 40 (1953) 212; G.O. SCHENCK und G. SCHAUDE, unveröffentlicht.

⁴ E. BAUR, *Helv. Chim. Acta* 18 (1935) 1157; *ibid.* 20 (1937) 387, 391, 398.

⁵ H. MEIER, *Die Photochemie der organischen Farbstoffe*, Springer, Berlin 1963, insbesondere S. 354; B. ROSENBERG, *J. Chem. Physics* 34 (1961) 812.

⁶ E. BAUR, *Helv. Chim. Acta* 20 (1937) 402.

⁷ K. NOACK, *Naturwiss.* 14 (1926) 383, insbesondere 388.

⁸ W.A. MAXWELL, J.D. MACMILLAN und C.O. CHICHESTER, *Photochem. Photobiol.* 5 (1966) 567.

⁹ J. SCHORMÜLLER, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, Springer, Berlin 1961, insbesondere S.109.

¹⁰ C.S. FOOTE und R.DENNY, *J. Amer. Chem. Soc.* 90 (1968) 6233.

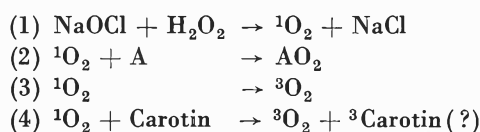
¹¹ C.S. FOOTE und S. WEXLER, *J. Amer. Chem. Soc.* 86 (1964) 3879; C.S. FOOTE, *Accounts Chem. Res.* 1 (1968) 104; C.S. FOOTE, *Science* 162 (1968) 963.

¹² a) G.O. SCHENCK, *Naturwiss.* 35 (1948) 28. b) G.O. SCHENCK, *Angew. Chem.* 69 (1957) 579. c) G.O. SCHENCK und E. KOCH, *Z. Elektrochem.* 64 (1960) 170. d) K. GOLLNICK und G.O. SCHENCK in: J. HAMER, *1,4-Cycloaddition Reactions. The Diels-Alder Reaction in Heterocyclic Syntheses*, Academic Press, New York 1967, S. 255 bis 344. e) K. GOLLNICK in: W.A. NOYES jr., G.S. HAMMOND und J.N. PITTS jr., *Advances in Photochemistry*, Vol. 6, Interscience, New York 1968, S.1-122. f) E. KOCH, *Tetrahedron* 24 (1968) 6295.

Reaktionen des Carotins als Sens, als A oder als Q gebildet werden können.

Nach FOOTE und DENNY wird die durch Methylenblau ($4 \cdot 10^{-5} \text{M}$) sensibilisierte Photooxygenierung von A = 2-Methyl-2-penten (10^{-1}M) durch nur 10^{-4}M β -Carotin zu 95% gehemmt. Eine ähnlich starke Hemmung durch β -Carotin wird bei der sonst entsprechenden Oxygenierung mit $\text{NaOCl}/\text{H}_2\text{O}_2$ gefunden. Hierfür werden folgende Teilreaktionen formuliert:

Nach (1) entsteht als kurzlebiges reaktives Zwischenprodukt der Singulett-Sauerstoff, der nach (2) mit A die Oxygenierungsreaktion eingeht, soweit er nicht wegen seiner natürlichen Kurzlebigkeit nach (3) in normalen Sauerstoff übergeht. Die Hemmung der Oxygenierung durch β -Carotin wird als eine katalytische Desaktivierung des Singulett- O_2 gemäß (4) interpretiert; es wird jedoch auf den spekulativen Charakter dieser Arbeitshypothese (physikalische Katalyse) hingewiesen.



Bei der Nacharbeitung der durch Methylenblau sensibilisierten Photooxygenierung des 2-Methyl-2-pentens unter obigen Bedingungen mit und ohne β -Carotin verwendeten wir das Mischlösungsmittel von 4 Vol. Benzol und 1 Vol. Methanol. Anfänglich war die Geschwindigkeit in Gegenwart des β -Carotins (10^{-4}M) auf 10% (erwartet auf 5%) der Geschwindigkeit ohne Zusatz reduziert. Der automatisch registrierte Verlauf der O_2 -Aufnahme der gehemmten Reaktion (Abb. 1, Kurve 4) zeigte im Verhältnis zur ungehemmten Reaktion (Abb. 1, Kurve 2) den überraschend sigmoiden Charakter. Offensichtlich wird der Hemmstoff während der etwa ersten 15% O_2 -Aufnahme in die Photooxygenierung mit einbezogen, die nach oxydativer Beseitigung der Hemmung ihren normalen Verlauf wiedergewinnt.

Arbeitet man nun unter sonst gleichen Bedingungen in reinem, insbesondere also benzolfreiem Methanol (Kurvenpaar 1 und 3 der Abb. 1), so wird die Geschwindigkeit nur auf 73% (statt erwartet 5% bzw. 10%) reduziert, und es fehlt der sigmoide Charakter des zeitlichen Verlaufs der O_2 -Aufnahme. Noch wesentlich geringer ist erwartungsgemäß die Anfangshemmung, wenn in gleichen molaren Konzentrationen (10^{-1}M) stärker reaktive Akzeptoren, wie α -Terpinen oder Tetramethyläthylen, photooxygeniert werden. In Methanol/Diglyme (1 : 1) mit 10^{-3}M Methylenblau betrug die durch $6 \cdot 10^{-4} \text{M}$ β -Carotin reduzierte Geschwindigkeit 93% der nicht inhibierten Reaktion mit Tetramethyläthylen. Mit Rose Bengale ($7 \cdot 10^{-4} \text{M}$) in Methanol wurde die Geschwindigkeit der Photooxygenierung von α -Terpinen auf 88% reduziert durch $3,5 \cdot 10^{-4} \text{M}$ β -Carotin.

In allen weiteren Fällen wurde aber eine erhebliche Verstärkung der Hemmwirkung des β -Carotins durch

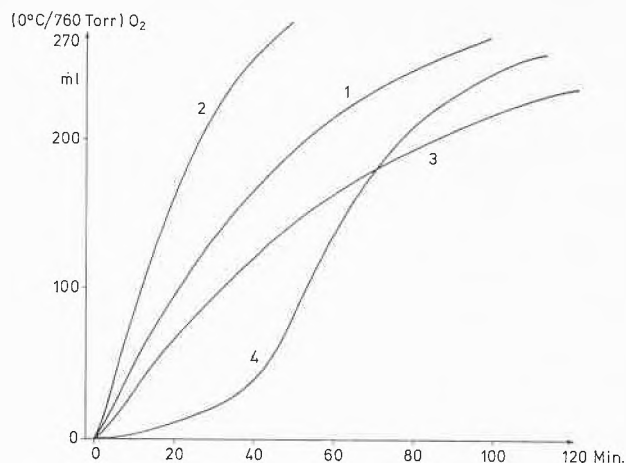


Abb. 1. Durch Methylenblau ($4 \cdot 10^{-5} \text{M}$) photosensibilisierte Oxygenierung von 2-Methyl-2-penten (10^{-1}M)

in Methanol: Kurven 1 und 3
in Benzol/Methanol (4 : 1, Vol.:Vol): Kurven 2 und 4
in Abwesenheit von β -Carotin: Kurven 1 und 2
in Gegenwart von 10^{-4}M β -Carotin: Kurven 3 und 4

Die Belichtungen erfolgten bei 20°C in üblicher Weise mit einer wassergekühlten Tauchlampenanordnung in 150 ml Lösung. Die O_2 -Aufnahme wurde automatisch registriert

steigende Anteile von Benzol im Lösungsmittel festgestellt. Dies gilt auch für die durch β -Carotin photosensibilisierten Reaktionen mit O_2 . So wurde die Geschwindigkeit der durch $6 \cdot 10^{-4} \text{M}$ β -Carotin sensibilisierten Photooxygenierung von Tetramethyläthylen in Methanol/Diglyme (1 : 1) auf 44% reduziert, wenn zu einem Gemisch von Methanol/Diglyme/Benzol (1 : 1 : 1) übergegangen wurde. Gerade das zuletzt genannte Lösungsmittelgemisch ist auch für die Hemmversuche bei der durch $\text{NaOCl}/\text{H}_2\text{O}_2$ bewirkten FOOTESchen Oxygenierung verwendet worden.

Nach unseren bisherigen Versuchen läuft die Verstärkung der Hemmwirkung des β -Carotins durch den Benzolzusatz mit einer verstärkten Akzeptor-Reaktivität des Carotins parallel. Eine Wirkung des Benzols auf die übrigen Reaktionsteilnehmer scheidet zur Erklärung der durch Benzol verstärkten Hemmwirkung des Carotins aus. Die durch β -Carotin bewirkte Hemmung kann bei verschiedenen Sensibilisatoren verschieden gefunden werden, da sich verschiedene Faktoren überlagern können.

Vor der Diskussion sind weitere Faktoren zur Photochemie und Autoxydation von Carotinoiden zu berücksichtigen. Die Fluoreszenz des Chlorophylls wurde durch β -Carotin nur gelöscht bei Anregung im «blauen» Absorptionsmaximum (MURTY, RABINOWITZ, 1964), nicht dagegen bei Anregung der Fluoreszenz mit rotem Licht (KRASNOWSKII, DROZDOWA, 1959, 1961). Der langlebige Biradikal-(Triplet-)Zustand des Chlorophylls wird durch β -Carotin in gleicher Weise wie durch Cyclooctatetraen oder Chinon gelöscht (FUJIMORI, LIVINGSTON, SCHENCK, RITTER, 1954). Eigenartigerweise wird die

Löschung der Chlorophyll-Fluoreszenz durch Chinon oder Sauerstoff durch Zusatz von wenig β -Carotin vermindert, wobei eine Komplexbildung von Carotin und Löscher wegen der Mengenverhältnisse als Ursache des Effektes ausscheidet. Ebenso vermindert β -Carotin die Fluoreszenzlöschung bei Phäophytin a durch Phenylhydrazin (KRASNOWSKII, DROZDOWA, 1966). (β -Carotin zeigt ferner einen Schutzeffekt bei der Photophäophytinbildung aus Chlorophyll in Lösung [PAKSHINA, KRASNOWSKII, 1964].) Die Löschung angeregter Zustände des Chlorophylls kann zu einer photosensibilisierten *cis-trans*-Isomerisierung von Carotinoiden *in vitro* und *in vivo* führen, die durch O_2 verhindert wird. Die *cis-trans*-Isomerisierung im Absorptionsbereich der Carotinoide wird jedoch durch O_2 in den gleichen Systemen nicht verhindert (CLAES, NAKAYAMA, 1959, 1961). (Die letztgenannte Erscheinung ist auch erwähnenswert im Hinblick auf die Photochemie, insbesondere *cis-trans*-Isomerisierung der Sehstoffe in der besonders gut O_2 -versorgten Retina; offenbar wird die nervöse Erregung durch die photochemischen Prozesse durch die Gegenwart von O_2 nicht gestört, sondern möglicherweise erst durch sie möglich gemacht [SCHENCK, STIEVE, CHALAZONITIS-ARVANITAKI]).

Die Autoxydation des β -Carotins kann durch Ascorbinsäure (KARRER und STRAUS, 1938) sowie andere typische Antioxydantien unterdrückt werden; hiernach könnten Parallelen zur Autoxydation des Allo-ocimens vorliegen. Offenbar sind auch radikalische Autoxydationsreaktionen des β -Carotins möglich; Spuren von Schwermetallen katalysieren die Reaktion (v. EULER, 1929). Dementsprechend können sich Carotinoide als wirksame Radikalfänger benehmen (ALEKSEEV *et al.*, 1968).

Diskussion: In der Menge photosensibilisierter Reaktionen mit O_2 gibt es zwei Hauptgruppen:

I. $Sens + Substrate A + h\nu \rightarrow$ Zwischenprodukte_I (zw_{I})

$zw_{I} + O_2$ \rightarrow Produkte unter (eventueller) Regeneration von Sens und Folgereaktionen

II. $Sens + O_2 + h\nu \rightarrow zw_{II}$

$zw_{II} + Substrate A$ \rightarrow Produkte unter (eventueller) Regeneration von Sens und Folgereaktionen

Je nach Lage komplexolytischer Gleichgewichte können die Sens auch in Eigen-, Substrat- oder O_2 -Komplexen (auch Begegnungskomplexen) absorbieren. Die von den Reaktionsumständen abhängende Solvatisierung der verschiedenen Reaktionsteilnehmer kann dabei starke Einflüsse ausüben.

Zwei mechanistische Haupttypen lassen sich nach der Natur ihrer *zw* unterscheiden:

Typ 1: Mechanismen unter Beteiligung *monoradikalischer* *zw*.

Typ 2: Mechanismen *ohne* monoradikalische *zw*; meist über *biradikalische* *zw* bzw. *elektronisch angelegte Systeme* verlaufend.

Unter den Hauptgruppen I und II sind mechanistisch noch die Typen 1 und 2 jeweils zu unterscheiden. Bisher haben sich in der Hauptgruppe I vor allem die monoradikalischen Reaktionsmechanismen (Typ 1) gefunden, während Hauptgruppe II überwiegend Mechanismen vom Typ 2 enthält.

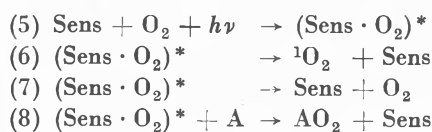
Dadurch, daß die Sens zugleich A-Eigenschaften aufweisen können, sind folglich unsensibilisierte photochemische Reaktionen mit O_2 möglich, für deren Gruppierung und mechanistische Zuordnung das obige Schema in sinngemäßer Anwendung ebenfalls gilt. Zum Typ 1 gehört hier vor allem die klassische R-H-Kettenautoxydation, die zu Hydroperoxyden führt; zu Typ 2 die Mischpolymerisationen mit O_2 von z. B. Ketenen, einfachen Dienen, *as*-Diphenyläthylen usw. Es wird so auch verständlich, daß nach einem von MOUREU und DUFRAISSE stammenden heuristischen Prinzip autoxydable Substanzen pro- und anti-oxygene Wirkungen haben. Im gleichen Sinne sind zahlreiche photoxydable Substanzen auch als Sensibilisatoren, aber auch als Löscher und Inhibitoren photochemischer Reaktionen erwiesen; dies gilt auch für β -Carotin.

Im Ablauf photochemischer Reaktionen mit O_2 konkurrieren je nach Umständen verschiedene Reaktionswege. Dies läßt sich bei photodynamischen Prozessen weniger beeinflussen als *in vitro*. Sens- und A-Eigenschaften ändern sich oft mit Milieu- und Assoziationsverhältnissen, die sowohl in Grundzuständen wie in elektronischen Anregungszuständen sowie bei Radikalen und Radikationen eine wichtige Rolle spielen. Hier wird auf die Neigung des β -Carotins zur Bildung von Eigen- und Fremdkomplexen und deren Solvensabhängigkeit verwiesen.

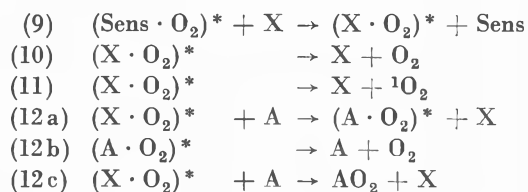
Bis 1948 waren fast nur Beispiele der Gruppe I gesichert, insbesondere solche vom monoradikalischen Typ 1. Wenige Fälle der Gruppe II, speziell Typ 2, sind von STRAUB, NOACK, KAUTSKY und GAFFRON angegeben worden; hierunter die photosensibilisierte Oxydation von Leukofarbstoffen an trockenen Adsorbaten durch gasförmig diffundierenden 1O_2 , erzeugt an belichteten Sens-Adsorbaten (Kautsky-Effekt).

Seit 1948 haben SCHENCK¹² und Mitarbeiter über viele weitere photosensibilisierte Reaktionen mit O_2 der Hauptgruppe II, Typ 2 berichtet, insbesondere die Oxygenierung von Dienen und dienoiden Heterozyklen, von Mono-olefinen, substituierten Hydrazonen, Thioverbindungen, Sulfiden, Sulfoxiden usw. In Verbindung mit der mechanistischen Interpretation dieser Energietransfererscheinungen hat der Seniorautor 1948 die Bildung des 1O_2 über einen kurzlebigen angeregten Sens- O_2 -Komplex nach (5), (6) zur Erklärung des

Kautsky-Effekts vorgeschlagen^{12a}. Die Oxygenierung wurde nach Analogien als Gruppentransfer (8) formuliert, auch wegen der Mischpolymerisation Typ 2 mit O₂, deren erste Stufe z. B. die Cycloaddition ist.



Das seit 1951 kinetisch gesicherte finale oxidierende Zwischenprodukt $z_{w_{fox}}$ wurde zunächst als $(\text{Sens} \cdot \text{O}_2)^*$ aufgefaßt, doch war ein über verschiedene Sens nach (9) entstehendes *identisches* kurzlebige $z_{w_{fox}}$ « $(\text{X} \cdot \text{O}_2)^*$ », nicht auszuschließen. Die weiteren chemischen und kinetischen Untersuchungen des $z_{w_{fox}}$ mit zahlreichen A in mehreren Lösungsmitteln im Temperaturbereich bis -150°C ^{12c,f} ergaben bei verschiedenen Sens sehr ähnliche Eigenschaften, was die Möglichkeit eines $(\text{X} \cdot \text{O}_2)^*$ nahelegt, sein Vorliegen jedoch nicht beweisen kann. Seit den FOOTESCHEN Arbeiten¹¹ ist nun gesichert, daß Oxygenierungen ohne Sens möglich sind. Die prinzipielle Möglichkeit eines $(\text{X} \cdot \text{O}_2)^*$ in der photosensibilisierten Oxygenierung ist damit gesichert; $(\text{X} \cdot \text{O}_2)^*$ könnte auch im Gleichgewicht mit ${}^1\text{O}_2$ vorliegen oder selbst ${}^1\text{O}_2$ sein.



Die Reaktion von $(\text{X} \cdot \text{O}_2)^* + \text{A}$ kann einstufig zu $\text{AO}_2 + \text{X}$ führen oder mehrstufig über kurzlebige Zwischenstoffe wie $(\text{X} \cdot \text{O}_2 \cdot \text{A})^*$ und $(\text{A} \cdot \text{O}_2)^*$ ablaufen, wodurch eine katalytische Desaktivierung von $(\text{X} \cdot \text{O}_2)^*$ über (12a), (12b) zustande käme. Die Bildung von $(\text{A} \cdot \text{O}_2)^*$ aus $(\text{X} \cdot \text{O}_2)^*$ hängt vom Verhältnis der Energieniveaus beider Komplexe ab.

Angeregte Molekeln können angeregte Komplexe mit unangeregten Molekeln bilden: in Lösung zeigen sie meist eine stärkere Wechselwirkung mit den Elektronenwolken ihrer Umgebung als im Grundzustand. Der aus der Gas-Spektroskopie bekannte ${}^1\text{O}_2$ (${}^1\Delta_g$ 22,1 kcal, 12680 Å) kann mit O₂ (${}^3\Sigma_u$) ein energieärmeres Dimeres (O_4^* 17,7 kcal, 15800 Å) bilden. Die Komplexierungsenergie von etwa 4,4 kcal (in der Gasphase) entspricht etwa der Hydratationsenergie des CaCl₂ von etwa 3,8 kcal/Mol H₂O bei der Bildung des Hexahydrates. Man dürfte wohl nicht fehlgehen, wenn man für ${}^1\text{O}_2$ in Lösung mindestens eine Solvatisierungsenergie gleicher Größenordnung veranschlagt (4,4 kcal) und wenn man, falls kein anderer Solvatisierungspartner gefunden wird, den bei den Tieftemperaturversuchen^{12c,f} in reichlicher Konzentration (über 10^{-2}M) vorhandenen Sauerstoff als Komplexpartner annimmt.

Wir nehmen an, daß Carotin als Sensibilisator, Akzeptor und Desaktivierungskatalysator kurzlebige O₂-Komplexe bilden kann, deren Eigenschaften vom Assoziationszustand des Carotins abhängen. Wir vermuten, daß Benzol durch gute Solvatisierung die Selbstkomplexierung des β -Carotins und damit die durch Assoziation begünstigte Sensibilisation vermindert, zugleich aber Akzeptorreaktivität und Desaktivierungskatalyse über gleiche oder gleichartige kurzlebige Carotin-O₂-Komplexe verstärkt.

Der hohe molare Wirkungsquerschnitt des β -Carotins (C₄₀H₅₆) liegt in der für ein Molekül mit 11 durch nicht aromatische Konjugation und Methylverzweigungen besonders reaktiven Doppelbindungen zu erwartenden Größenordnung. 10^{-4}M β -Carotin entsprechen hier nach $1,1 \cdot 10^{-3}\text{M}$ eines Mono-olefins gleicher Doppelbindungsreaktivität.

Weitere Untersuchungen insbesondere über den Lösungsmiteleinfluß erscheinen nötig. Vor allem wäre Klarheit über die Natur des solvatisierten ${}^1\text{O}_2$ wünschenswert.

G. O. SCHENCK und G. SCHADE

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung,
Abteilung Strahlenchemie,
Stiftstraße 34-36, 433 Mülheim an der Ruhr

Di- und Polyaminozucker, XIII*: Synthese der 2,3,4,6-Tetra-amino-2,3,4,6-tetradesoxy-D-galaktose**

Summary

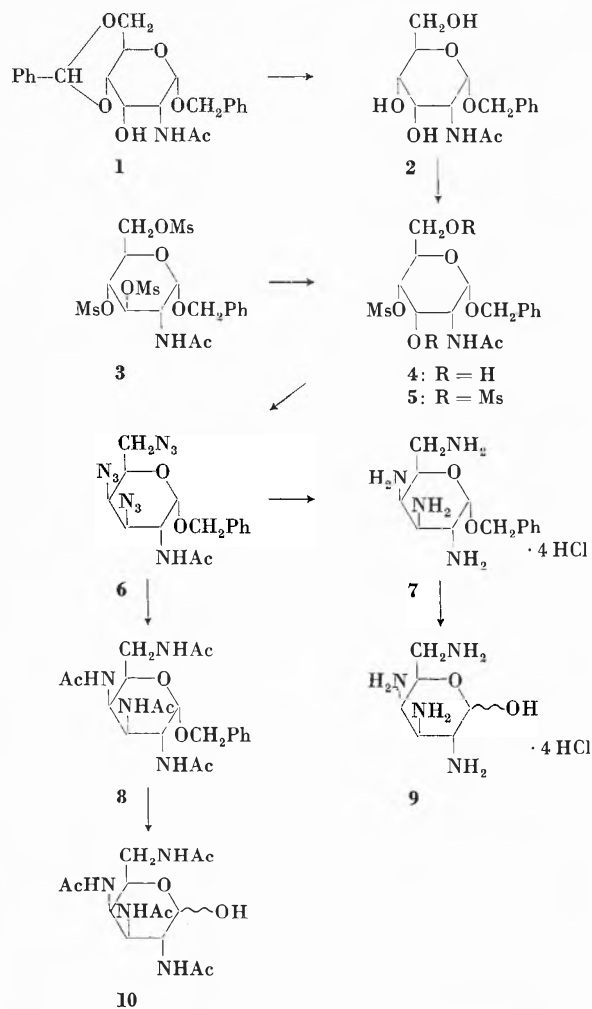
The synthesis of 2,3,4,6-tetra-amino-2,3,4,6-tetradesoxy-D-galactose tetrahydrochloride the first free hexose containing more than two amino groups is being described.

* XII. Mitteilung: W. MEYER ZU RECKENDORF, *Chem. Ber.*, im Druck.

** Eingegangen am 26. November 1969.

Die Darstellung von freien Hexosen mit mehr als zwei Aminogruppen war bisher nicht gelungen¹. Ein Grund dafür ist die Unbeständigkeit dieser Zucker bei der Glykosidhydrolyse als letzter Stufe der Synthese. Wir

¹ Siehe z. B. Y. ALI und A. C. RICHARDSON, *J. Chem. Soc. C* 1968, 1764. F. W. LICHTENTHALER, P. VOSS und N. MAJER, *Angew. Chem.* 81 (1969) 221.



verwandten deshalb Benzylglykoside, die sich durch Hydrierung spalten lassen.

Das Trimesylderivat **5** (sirupös, $[\alpha]_D: +93,0^\circ$ [$c = 1$; CHCl_3]) erhielten wir aus dem Benzyl-2-acetamino-4,6-

O-benzyliden-2-desoxy- α -D-allopyranosid (**1**)² durch Entbenzylidierung (wässr. Essigsäure, 90°) und anschließende Mesylierung sowie aus dem Benzyl-2-acetamino-2-desoxy-3,4,6-tri-O-methansulfonyl- α -D-glucopyranosid (**3**) [Schmp. $168\text{--}170^\circ$; $[\alpha]_D: +94,5^\circ$ ($c = 1$; CHCl_3)] durch Solvolyse mit Natriumacetat in Äthylenglykolmonomethyläther (6 Std. Sieden)³ zu **4** [Ausb. 71%; Schmp. $172\text{--}173^\circ$; $[\alpha]_D: +148,0^\circ$ ($c = 1$; CHCl_3)] und anschließende Mesylierung in Pyridin. Der Weg über **3** ist dem ersteren bei weitem vorzuziehen.

Aus **5** entsteht mit NaN_3 in DMSO (6 Std. 100°) das Triazid **6** [Ausb. 31%, bez. auf **4**; Schmp. $172\text{--}174^\circ$; $[\alpha]_D: +54,0^\circ$ ($c = 1$; CHCl_3)] Es ergibt durch Hydrierung mit Palladium/Kohle in Methanol, Verseifung mit Natronlauge (24 Std. Sieden), Extraktion mit Chloroform und Neutralisation mit HCl das Glykosid **7** [Ausb. 61%; Schmp. $181\text{--}183^\circ$; $[\alpha]_D: +99,0^\circ$ ($c = 1$; Wasser)]. Durch Hydrierung von **7** mit Palladium/Kohle in Wasser entsteht der freie Zucker **9** [Ausb. 68%; Zers. ab 270° ; $[\alpha]_D: +6,0^\circ \rightarrow \pm 0^\circ$ ($c = 0,5$; Wasser)].

Das Tetra-N-acetyl-Derivat **10** [Ausb. 83%, bez. auf **6**; Schmp. $205\text{--}207^\circ$; $[\alpha]_D: +48,0^\circ \rightarrow +31,5^\circ$ ($c = 1$; Wasser)] erhält man aus **6** durch Hydrierung in Methanol und Acetylierung zu **8** [Ausb. 65%; Schmp. 276 bis 277° ; $[\alpha]_D: +183,5^\circ$ ($c = 1$; DMSO); NMR (δ , ppm, DMSO- d_6): 3H, 1,64; 6H, 1,73; 3H, 1,83] und anschließende Hydrierung mit Palladium/Kohle in Wasser.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Unterstützung dieser Arbeit.

WOLFGANG MEYER ZU RECKENDORF

Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität
44 Münster (BRD)

² W. MEYER ZU RECKENDORF, *Chem. Ber.* 102 (1969) 4207.

³ B. R. BAKER und R. E. SCHAUB, *J. Org. Chem.* 19 (1954) 646.

Etudes sur les composés organométalliques, VI:*

Action d'organomagnésien sur le tétrabutoxytitane**

Summary

It is possible to avoid the reduction of Ti IV in Ti III by the use of R_2Mg or $\text{R}_2\text{Mg} \cdot 2 \text{ Pyridin}$ instead of RMgX in the reaction with an alcoxytitane to prepare TiR_4 (R = alkyl or aryl).

La réaction d'un organomagnésien avec le tétrachlorure de titane peut conduire à la formation d'un organo-

titanique (IV). Cette méthode de synthèse est toutefois d'un emploi peu commode du fait qu'il y a réduction du titane (IV) en titane (III) ou en titane (II) avec couplage des restes organiques¹.

Dans un précédent travail², nous avons montré que la présence initiale d'un ligand, lors de la synthèse, permettait d'abaisser considérablement le taux de

* Partie V: GEORGE JON DUBSKY et ANDRÉ JACOT-GUILLARMOD, *Helv. Chim. Acta* 52 (1969) 1735.

** Les résultats de cette communication furent présentés dans une conférence, donnée à la Société chimique de Genève, le 21 novembre 1969.

¹ KAMEL S. BOUSTANY, KLAUS BERNAUER et ANDRÉ JACOT-GUILLARMOD, *Helv. Chim. Acta* 50 (1967) 1080.

² KAMEL S. BOUSTANY, KLAUS BERNAUER et ANDRÉ JACOT-GUILLARMOD, *Helv. Chim. Acta* 50 (1967) 1305.

décomposition; à cet effet, nous avons mis en jeu, à la place de tétrachlorure de titane, des complexes du type $TiCl_4 \cdot 2L$ ($L =$ pyridine, pipéridine, quinoléine). Relevons que dans ces expériences, il n'y avait toutefois pas suffisamment de ligand pour satisfaire complètement les besoins électrophiles de l'halogénure de magnésium³ formé. A ce propos, il faut remarquer qu'un défaut important, commun à la plupart des tentatives de préparer des organotitaniques est l'emploi comme réactifs de composés contenant de l'halogène; il est, en effet, possible que des substances halogénées (réactifs, intermédiaires ou produits finals) contribuent de manière significative à l'instabilité des organotitaniques du fait que certaines peuvent agir comme des acides forts de Lewis.

Nous avons fait réagir le tétrabutoxytitanate avec, d'une part, divers diorganomagnésiens complexés avec l'éther ou la pyridine ou, d'autre part, avec les réactifs de Grignard correspondants. Afin d'examiner les effets du groupe organique R, nous avons choisi les réactifs magnésiens *n*-butyle ou phényle.

Le tétrabutoxytitanate: 10 mmoles, a été ajouté sous agitation en deux minutes à 40 méqu. d'organomagnésien dans 50 ml d'éther à 20° (les essais 3 et 7 ont été effectués dans de l'éther de pétrole). Après une heure de réaction, nous avons introduit un courant de gaz carbonique dans la solution à -10° pendant une heure de façon à détruire l'organomagnésien n'ayant pas réagi⁴ (dans les essais 6 et 7, la réaction a été conduite pendant 24 heures avant l'introduction du gaz carbonique). Après hydrolyse des mélanges réactionnels avec de l'acide sulfurique 5% (vv), nous avons procédé à l'analyse des phases aqueuses et étherées (voir tableau).

Tableau 1. Addition de 10 mmoles de $Ti(OBu)_4$ à 40 méqu. de magnésien à 20°. Résultats des analyses (ions-mg ou mmoles)

Essai	Organomagnésien	Ti ³⁺	RH	RR	RCO ₂ H
1	<i>n</i> -Bu ₂ Mg · MgI ₂	7,8	6,4	(X)	4,0
2	<i>n</i> -Bu ₂ Mg	4,3	20,0	(X)	4,8
3	<i>n</i> -Bu ₂ Mg · 2 Py	0,7	32,0	1,4	4,0
4	<i>n</i> -Bu ₂ Mg + MgI ₂ · 4 Py	1,0	30,4	2,4	4,0
5	Ph ₂ Mg · MgBr ₂	6,0	16,0	11,0	4,0
6	Ph ₂ Mg	0,0	38,0	0,0	1,6
7	Ph ₂ Mg · 2 Py	0,0	33,2	0,0	5,6
8	Ph ₂ Mg + MgBr ₂ · 4 Py	0,6	31,2	1,0	8,0

(X) = mélange non défini des isomères C₈H₁₈.

³ Les complexes suivants peuvent être formés: MgCl₂ · 2 Pyridine, MgBr₂ · 4 Pyridine, MgI₂ · 4 Pyridine.

⁴ La liaison carbone-titane n'est pas touchée par cette opération D. F. HERMAN et W. K. NELSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 75 (1953) 3877.

Les résultats que nous avons obtenus montrent clairement les effets de l'absence ou de la complexation de l'halogénure de magnésium lors de synthèse de composés tétraorganotitaniques; le taux de réduction du titane IV est fortement abaissé; il est nul dans le cas de l'emploi du diphénylmagnésium ou de son complexe pyridinique. En revanche, la décomposition est importante lors de la mise en jeu du réactif de Grignard⁵.

Bien que le tétrabutoxytitanate paraisse instable par comparaison avec le tétraphényltitanate, peut-être en raison de la nature électropositive du groupe butyle, les essais 3 et 4 montrent que le tétrabutoxytitanate peut acquies une certaine stabilité en présence d'un ligand comme la pyridine. Cette dernière n'est pas nécessaire pour le tétraphényltitanate lequel est stable à 20° en l'absence d'un acide de Lewis halogéné. Notons que LATJAEVA et coll.⁶ ont révélé que le tétraphényltitanate, préparé à partir de tétrachlorure de titane et de phényllithium est thermiquement instable dans l'éther, même à -10°.

Partie expérimentale

La préparation des diorganomagnésiens et des complexes pyridiniques a été réalisée selon la technique précédemment décrite⁷. Les réactifs de GRIGNARD ont été préparés selon la méthode usuelle.

Les analyses ont été effectuées sur des quantités aliquotes, à partir de la couche aqueuse après hydrolyse pour Ti³⁺, à partir de la couche étherée pour les hydrocarbures RH ou RR et pour les acides.

Le titane trivalent a été déterminé par titration oxydimétrique selon la méthode déjà décrite¹. Les hydrocarbures RH et RR ont été dosés par chromatographie en phase gazeuse par la technique de l'étalon interne (colonne silicone caoutchouc SE 52 5% sur celite).

Les acides organiques ont été déterminés par acidimétrie.

Remerciements

Les auteurs remercient le Fonds national suisse de la recherche scientifique de l'aide financière accordée pour la réalisation de ce travail.

GEORGE JON DUBSKY, KAMEL S. BOUSTANY
et ANDRÉ JACOT-GUILLARMOD

Institut de chimie, Université de Neuchâtel

⁵ En opérant dans ce cas à -20°, il est possible de préparer des organotitaniques, tels que le tétraphényltitanate, le tétrabenzoyltitanate, le tétracyclohexylyltitanate (RAPHAEL TABACCHI et ANDRÉ JACOT-GUILLARMOD, *Helv. Chim. Acta*, à paraître).

⁶ LATJAEVA et coll., *J. Organometal. Chem.* 2 (1964) 388.

⁷ GEORGE JON DUBSKY et ANDRÉ JACOT-GUILLARMOD, *Helv. Chim. Acta* 52 (1969) 1735.