

der Kälte auch nach Ansäuern nicht wieder aus. Ihr N-Gehalt weist auf das Phenyl-hydrason des Glucosyl-(6)-phthalimids hin.

2.852 mg Sbst.: 0.254 ccm N (21°, 759 mm).

$C_{20}H_{21}O_6N_3$  (399.2). Ber. N 10.53. Gef. N 10.33.

Trägt man dagegen 1 Mol. des fein gepulverten Zuckers bei etwa 100° in eine Lösung von 3 Mol. Phenyl-hydrazin in der 20-fachen Menge 25-proz. Essigsäure ein, so scheidet sich innerhalb von 1 Stde. eine 3. Verbindung in rein gelben Nadeln vom Schmp. 177° ab, die eine erheblich größere Löslichkeit in Alkohol zeigt, eine ganz andere Drehung besitzt:  $[\alpha]_D^{20} = +8.0^\circ$  (Pyridin;  $c = 1.0$ ), und mehr Stickstoff enthält. Sie löst sich nicht in siedendem verd. Ammoniak und kalter verd. NaOH, aber in kochender NaOH allmählich. Aus dieser Lösung fällt beim Abkühlen ein gelber, schleimiger Niederschlag eines Natriumsalzes. Der N-Gehalt würde für ein „Semiosazon“<sup>8)</sup> sprechen, jedoch bedarf dieser Punkt noch weiterer Prüfung.

0.1219 g Sbst.: 13.64 ccm N (22°, 745 mm).

$C_{16}H_{42}O_{10}N_8$  (866.4). Ber. N 12.94. Gef. N 12.69.

### 187. K. Weber: Über das photochemische Ausbleichen des Chlorophylls.

[Aus d. Physikal.-chem. Institut d. Techn. Fakultät d. Universität in Zagreb.]  
(Eingegangen am 28. März 1936.)

Über die Photo-reaktionen des Chlorophylls in vitro bei Anwesenheit von Sauerstoff ist schon viel gearbeitet worden, wobei sich im wesentlichen ergab, daß das Chlorophyll als ein guter Sensibilisator für Photo-oxydationen betrachtet werden kann. Bei Anwesenheit größerer Mengen von sog. Acceptoren, d. h. von Substanzen die Sauerstoff leicht chemisch zu binden vermögen, wird für jedes vom Chlorophyll absorbierte Lichtquant etwa ein Sauerstoffmolekül von der belichteten Lösung chemisch gebunden<sup>1)</sup>. Zur Verfolgung solcher Reaktionen benützte man gewöhnlich das Ausmaß der Sauerstoff-Aufnahme des reagierenden Systems und schenkte den Veränderungen des Chlorophylls selbst während der Reaktion wenig Aufmerksamkeit, bzw. arbeitete bei solchen Versuchsbedingungen, bei welchen das Chlorophyll unverändert blieb. Chemische Veränderungen während der Belichtung äußern sich darin, daß das Chlorophyll, bei Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen, durch die Lichteinstrahlung rasch ausgebleicht wird, indem sich gelb bis braun gefärbte Oxydationsprodukte bilden. Diese Reaktion verläuft — wie schon lange bekannt<sup>2)</sup> — sowohl in reinen Chlorophyll-Lösungen, als auch bei Anwesenheit der Acceptoren — als welche besonders Thiosinamin und Isoamylamin benützt wurden<sup>3)</sup> —, sie bleibt aber aus, wenn der Luftsauerstoff gründlich aus der zu bestrahlenden Lösung entfernt wird.

<sup>1)</sup> vergl. Ohle u. Euler, B. **63**, 1796 [1930].

<sup>2)</sup> vergl. H. Gaffron, B. **60**, 755, 2229 [1927].

<sup>3)</sup> vergl. Willstätter u. Stoll, Assimilationsbuch, S. 415.

<sup>8)</sup> H. Gaffron, l. c., sowie Biochem. Ztschr. **264**, 251 [1933].

Meine Versuche waren der näheren Erforschung dieser Ausbleichreaktion gewidmet und ergaben zunächst, daß andere organische Verbindungen, die als gute Ausbleich-acceptoren für Küpenfarbstoffe schon erprobt sind<sup>4)</sup>, auch diese Reaktion in hohem Maße zu beschleunigen vermögen, trotzdem das Ausbleichen der Küpenfarbstoffe ohne Mitwirkung von Sauerstoff vor sich geht und zu einer Reduktion des Farbstoffes führt. Sehr gute Ausbleich-acceptoren für das Chlorophyll sind Diäthylallyl-thioharnstoff und Diallyl-thioharnstoff. Etwa in gleichem Maße wie das Thiosinamin wirken Phenyl-allyl-thioharnstoff und Allyl-thiosemicarbazid, während Hydrazin-*N-N'*-bis-thiocarbonsäure-allylamid ein schwächerer Acceptor ist. Von den anorganischen Verbindungen wirkt Ferrosulfat (in neutraler oder schwach saurer Lösung) als Acceptor auf das Ausbleichen des Chlorophylls, allerdings wirken Ferro-Ionen gleichzeitig schon im Dunkeln zerstörend auf den Farbstoff ein<sup>5)</sup>.

Eine besondere Rolle spielt bei den Ausbleich-versuchen die Konzentration des Acceptors. Ohne Acceptor ist die Ausbleich-geschwindigkeit klein, nimmt aber bei Anwesenheit kleiner Acceptormengen stark zu, erreicht ein Maximum, um nachher bei weiterer Zunahme der Acceptor-Konzentration etwa logarithmisch abzufallen. Bei sehr großer Acceptor-Konzentration erfolgt, wenn nicht allzulange belichtet wird, überhaupt kein Ausbleichen mehr, d. h. das Chlorophyll wird stabilisiert<sup>6)</sup>. Das hier geschilderte Verhalten des Chlorophylls zeigen für  $2.5 \times 10^{-3}$ -proz. Lösungen in Methylalkohol die Versuche der Tabelle 1, in welcher  $C_A$  die Konzentration des als Acceptor benützten Thiosinamins,  $C_{Ch}$  die Konzentration des Chlorophylls nach halbstündiger Belichtung mit Sonnenlicht und X die umgesetzte Stoffmenge (autoxydierte Chlorophyllmenge) bedeuten. Es ist ersichtlich, daß in diesem Falle das Maximum der Ausbleich-geschwindigkeit bei sehr kleinen Acceptor-Konzentrationen (bei etwa  $3.4 \times 10^{-3}$  Mol./l) liegt. Die anderen Acceptoren verhalten sich prinzipiell identisch, müssen aber um die optimale Ausbleich-geschwindigkeit zu erreichen in anderen Konzentrationen angewandt werden. Beim Diäthyl-allyl-thioharnstoff erreicht die Ausbleich-geschwindigkeit ihr Maximum bei einer Konzentration von etwa 0.172 Mol./l.

Tabelle 1.

|                    |                       |                        |                       |                       |                      |
|--------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| $C_A$ in % .....   | —                     | 0.04                   | 0.27                  | 2.10                  | 20.00                |
| $C_{Ch}$ „ „ ..... | $1.72 \times 10^{-3}$ | $1.24 \times 10^{-3}$  | $1.75 \times 10^{-3}$ | $2.18 \times 10^{-3}$ | $2.5 \times 10^{-3}$ |
| X .....            | $7.79 \times 10^{-4}$ | $12.52 \times 10^{-4}$ | $7.52 \times 10^{-4}$ | $3.21 \times 10^{-4}$ | —                    |

Die Geschwindigkeitskurven des Ausbleich-vorganges zeigen durchwegs eine ausgeprägte Induktionsperiode, die sich darin äußert, daß — je nach der verwendeten Lichtintensität — erst nach etwa 10 oder noch mehr Minuten Belichtungszeit der eigentliche Ausbleich-vorgang beginnt. Nach der Induktionsperiode verläuft die Geschwindigkeitskurve fast linear und sehr steil, viel steiler, als bei Proportionalität zwischen der gemäß dem Beer-

<sup>4)</sup> M. Mudrovčić, Ztschr. wiss. Photogr., Photophysik, Photochem. **26**, 171 [1928]; K. Weber, Ztschr. physikal. Chem. (B) **15**, 18 [1931].

<sup>5)</sup> K. Weber, Nature, im Druck.

<sup>6)</sup> vergl. H. Gaffron, B. **60**, 755 [1927].

schen Gesetz absorbierten Lichtenergie und der umgesetzten Stoffmenge zu erwarten wäre. An diesen linearen Teil der Geschwindigkeitskurve schließt sich dann der logarithmische Abfall der Reaktionsgeschwindigkeit an. Eine solche Geschwindigkeitskurve zeigt die Kurve der Figur 1 für die Lösung

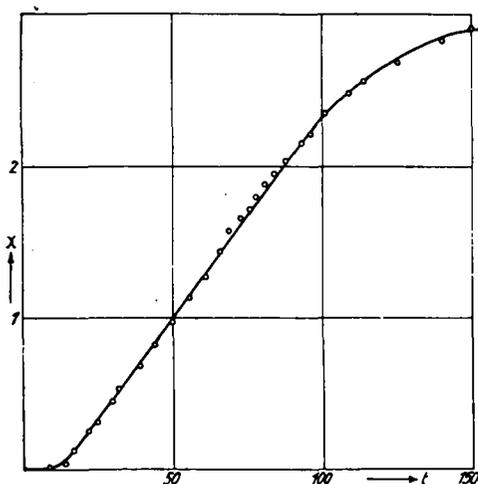


Fig. 1.

des Chlorophylls ( $5 \times 10^{-3} \%$ ) und des Diäthyl-allyl-thioharnstoffs ( $3 \times 10^{-2}$  Mol./l) in Methylalkohol.  $t$  ist die Belichtungszeit in Minuten und  $X$  die umgesetzte Stoffmenge (in Mol./l  $\times 10^{-3}$ ), die Versuchstemperatur betrug  $25^\circ \pm 0.2^\circ$ ; belichtet wurde mit rotem Licht des Spektralbereiches zwischen  $600$  und  $650 \mu$ , und während der Belichtung wurde ein starker Luftstrom durch die reagierende Lösung geleitet. Außer der Induktionsperiode zeigt die Ausbleichreaktion — bei den oben angeführten Versuchsbedingungen — die Erscheinung der photochemischen Nachwirkung. Belichtet man z. B.  $56$  Min., so erreicht  $X$  (gemäß der Fig. 1) den Wert von  $1.13 \times 10^{-3}$ , blendet man jetzt das Licht ab, so nimmt  $X$  im Dunkeln weiter zu und erreicht nach  $10$  Min. den Wert  $1.38 \times 10^{-3}$ , während bei fortgesetzter Belichtung  $X = 1.43 \times 10^{-3}$  wird. Bei der Ablendung geht die Reaktion also mit etwas verminderter Geschwindigkeit weiter, was für photochemische Nachwirkungen charakteristisch ist.

Die Temperaturabhängigkeit der Ausbleichreaktion ist sehr gering. So ist keine über die Fehlergrenze gehende Veränderung der Geschwindigkeit der in der Fig. 1 dargestellten Reaktion zu beobachten, wenn man die Temperatur auf  $30^\circ$  erhöht, bzw. auf  $17^\circ$  herabsetzt. Hieraus ist zu schließen, daß der Temperaturkoeffizient der Ausbleichreaktion annähernd gleich  $1$  ist.

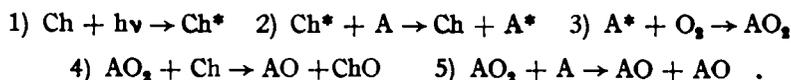
Durch Zusatz von Substanzen, welche auf verschiedene thermische und photochemische Reaktionen als Inhibitoren zu wirken vermögen und auch die Fluoreszenz gelöster fluoreszierender Verbindungen gewöhnlich in hohem Maße auslöschen, wird auch die Ausbleichreaktion des Chlorophylls stark gehemmt. In diesem Sinne wirken: Hydrochinon, Hydrotoluchinon, *p*-Benzochinon, Toluchinon, Thymochinon, Hydrochinondimethyläther, Phenol, Resorcin, Brenzcatechin, Pyrogallol, Thymol, *p*-Nitrophenol,  $\alpha$ -Naphthol, Diphenylamin, Anilin und Kaliumjodid<sup>7)</sup>. Bei der Hemmung der Ausbleichreaktion durch diese Substanzen handelt es sich nicht etwa um chemische Reaktionen, z. B. zwischen dem Acceptor und dem Inhibitor, sondern um wahre Inhibitor-Wirkung.

<sup>7)</sup> Von E. Baur wurde schon früher beobachtet, daß Pyrogallol oder Benzidin die Photo-oxydation des Chlorophylls hemmt, Helv. chim. Acta 18, 1157 [1935].

die zu keiner dauernden chemischen Veränderung des Inhibitors führt. Dies ist auch daraus ersichtlich, daß sowohl Oxydations- wie auch Reduktionsmittel desselben Redox-Systems (z. B. Hydrochinon-Chinon) die Ausbleichreaktion zu hemmen vermögen und daß auch der Hydrochinon-dimethyläther, der keiner Redox-Reaktion zugänglich ist<sup>8)</sup>, in gleichem Sinne wirkt.

Von den oben angeführten Inhibitoren wirkt nur Kaliumjodid auslöschend auf die Fluoreszenz des Chlorophylls, und auch die in dieser Arbeit gefundenen Acceptoren beeinflussen die Fluoreszenz des Farbstoffs nicht. Es scheint also zwischen der Fluoreszenz und der Photo-oxydation kein enger Zusammenhang zu bestehen<sup>9)</sup>, dafür spricht auch die geringe Fluoreszenz-Ausbeute, die für eine  $3.75 \times 10^{-3}$ -proz. methylalkoholische Chlorophyll-Lösung erhalten wurde. Es ergab sich bei Anregung der Fluoreszenz mit ultraviolettem Licht ( $\lambda = 366 \text{ m}\mu$ ) der Wert von 0.069, d. h. etwa 7% des absorbierten Lichtes werden vom Chlorophyll als Fluoreszenzlicht wieder ausgestrahlt.

Alle diese Versuchsergebnisse lassen sich einwandfrei erklären mit Hilfe der schon von H. Gaffron<sup>10)</sup> vertretenen Auffassung, daß das durch ein Lichtquant angeregte Chlorophyllmolekül ( $\text{Ch}^*$ ) den Acceptor (A) in einen aktiven Zustand ( $\text{A}^*$ ) überführt, der aktivierte Acceptor mit dem vorhandenen Sauerstoff ein Peroxyd ( $\text{AO}_2$ ) bildet, und erst dieses dann oxydierend wirkt auf das Chlorophyll. Es verlaufen demzufolge folgende Reaktionen:



Die Induktionsperiode und photochemische Nachwirkung erklären sich durch das Vorhandensein des Peroxyds als langlebiges Zwischenprodukt. Bei kleiner Acceptor-Konzentration verlaufen nur die Reaktionen 1 bis 4, daher bleicht das Chlorophyll rasch aus. Ist die Acceptor-Konzentration sehr groß, so bewirkt die Reaktion 5 die Stabilisierung des Chlorophylls. Ist kein Sauerstoff vorhanden, so können nur die Reaktionen 1 und 2 stattfinden, und die Anregungsenergie wird schließlich in Wärme verwandelt. Die Gesamtreaktion hat darum einen sehr kleinen Temperaturkoeffizienten, weil man jedes Peroxydmolekül als aktiviert betrachten kann, und eine thermische Aktivierung für die Reaktion nicht mehr notwendig ist. Temperaturerhöhung bewirkt also nur eine Erhöhung der Stoßzahl, diese Erhöhung ist aber verhältnismäßig klein. Die Annahme, daß durch die angeregten Chlorophyllmoleküle nicht der Acceptor, sondern der Sauerstoff aktiviert wird<sup>11)</sup>, ist nicht vereinbar mit diesen Versuchsergebnissen, weil diese Annahme nur die Erhöhung der Sauerstoffaufnahme der Lösung bei Zusatz von Acceptoren erklären kann, nicht aber die Erhöhung der Ausbleichgeschwindigkeit des Chlorophylls. Die Wirkung der Inhibitoren kann man sich vorstellen als eine Desaktivierung der aktivierten Acceptormoleküle, vielleicht auch der angeregten Chlorophyllmoleküle, die so vor sich geht, daß beim Zusammenstoß der Moleküle die Aktivierungsenergie in Wärme verwandelt wird.

<sup>8)</sup> Siehe J. Eisenbrand, Ztschr. physikal. Chem. (B) **22**, 145 [1933].

<sup>9)</sup> vergl. auch: H. Kautsky, B. **68**, 152 [1935].

<sup>10)</sup> H. Gaffron, l. c.

<sup>11)</sup> H. Kautsky, B. **66**, 1588 [1933].

### Beschreibung der Versuche.

Bei allen in dieser Arbeit besprochenen Versuchen wurde das kristallisierte Chlorophyll der Fabrik Sandoz in Basel benützt; dieses Präparat soll etwa zu 40% aus natürlichem Chlorophyll a und b bestehen<sup>12)</sup>. Alle Konzentrationsbestimmungen erfolgten mit Hilfe von lichtelektrischen Absorptionsmessungen im Spektralbereiche zwischen 600 und 650 m $\mu$ . Dies war um so leichter möglich, weil sich für das Chlorophyll im genannten Spektralbereich sehr gute Gültigkeit des Beerschen Gesetzes ergab. Im benützten Konzentrations-Intervall ( $5 \cdot 10^{-3}$  bis  $2 \cdot 10^{-4}$ %) betrug für methylalkoholische Lösung die dekadische Absorptionskonstante 159.5. Das Spektralbereich wurde aus dem Lichte einer Glühlampe (200 Watt) mit Hilfe des Schott'schen Glasfilters R. G. 2 und einer 1-proz. Kupfersulfatlösung (Schichtdicke 3.5 cm) isoliert. Als Photo-zelle diente ein Selen-Photo-element der Firma Tungstram mit der Bezeichnung S 41. Bei den Geschwindigkeitsmessungen befand sich die methylalkoholische Chlorophyll-Lösung in einer Plan-Küvette in einem Wasserthermostaten mit Glaswänden, hinter welchem die Photozelle aufgestellt war. Der Photo-strom wurde während der Belichtung mit einem Galvanometer (Empfindlichkeit etwa  $10^{-7}$  Amp. pro Skalenteil) gemessen. Das Rühren der reagierenden Lösung erfolgte durch einen starken Luftstrom, der gleichzeitig für das Vorhandensein des zur Reaktion notwendigen Sauerstoffs sorgte. Da sich bei der Überprüfung der Apparatur ergab, daß die Durchlässigkeit des benützten Glasfilters in hohem Maße von der Temperatur abhängig ist, indem für jeden Grad Temperatursteigerung die Gesamtdurchlässigkeit der benützten Filterkombination um etwa 0.5% abnahm, wurde das Glasfilter gleichfalls in den Thermostaten gestellt. Trotzdem ergab sich, wohl durch die lokale Erwärmung des Filters bei der Lichtabsorption, ein abnehmender Gang der Durchlässigkeit während der Belichtung von 0.175% je Minute Belichtungszeit, was bei der Auswertung der Versuche rechnerisch mitberücksichtigt wurde. Die Temperaturabnahme der Durchlässigkeit der Filterkombination in Abhängigkeit von der Belichtungszeit erfolgte linear. Die Änderung der Gesamtdurchlässigkeit der Filterkombination mit Erhöhung der Temperatur kann man leicht erklären bei Berücksichtigung der Verschiebung der Absorptionsbande des R. G. 2-Filters mit Steigerung der Temperatur, welche von H. Lütge<sup>13)</sup> beobachtet und gemessen wurde. Diese Verschiebung erfolgt in der Richtung der längeren Wellenlängen und da das Kupfersulfat-Filter alles Licht mit längeren Wellenlängen als 650 m $\mu$  absorbiert, ist leicht verständlich, daß die Verschiebung der Absorptionsbande des Rotfilters das Durchlässigkeitsgebiet der Filterkombination verschmälert und dadurch die Gesamtdurchlässigkeit vermindert. Solche Rotverschiebungen der Absorptionsbanden bei Erhöhung der Temperatur ergaben alle mir zugänglichen Rotfilter und Rubingläser, worauf hier besonders hingewiesen werden soll, da die immerhin beträchtliche Literatur<sup>14)</sup>, welche über diese Erscheinung vorhanden ist, bei photochemischen und ähnlichen Arbeiten mit Glasfiltern nur selten berücksichtigt wird.

Die Fluoreszenz-Ausbeute des Chlorophylls wurde photo-elektrisch mit Hilfe eines schon früher beschriebenen Fluorometers<sup>15)</sup> gemessen. Als

<sup>12)</sup> vergl. E. Baur, *Helv. chim. Acta* **18**, 1157 1935

<sup>13)</sup> H. Lütge, *Glastechn. B.* **10**, 374 1932

<sup>14)</sup> bei Lütge l. c. ist ein Großteil dieser Literatur angeführt.

<sup>15)</sup> K. Weber, *Ztschr. physikal. Chem. (B)* **80**, 69 1935

Standardlösung diente eine wäßrige Fluorescein-natrium-Lösung, deren Fluoreszenz-Ausbeute von S. J. Wawilow<sup>16)</sup> zu 0.8 bestimmt wurde. Es wurde der Photo-strom sowohl für diese Lösung als auch für eine  $3.75 \times 10^{-3}$ -proz. Lösung des Chlorophylls in Methylalkohol gemessen und daraus, bei Berücksichtigung der verschiedenen Empfindlichkeit der Photo-zelle für die Spektralfarbe der maximalen Fluoreszenz-Intensität der beiden fluoreszierenden Substanzen, die Fluoreszenz-Ausbeute berechnet. Das Emissions-Maximum des Fluoresceins liegt bei  $527 \text{ m}\mu$  und das des Chlorophylls bei  $659 \text{ m}\mu$ , die relative Empfindlichkeiten des Tungsram-Photo-elements für diese Wellenlängen verhalten sich (nach Angabe der Firma<sup>17)</sup>) wie 88.0 : 60.0. Da das Fluoreszenzlicht beider Substanzen (besonders aber das des Fluoresceins) spektral breite Banden darstellt, die außerdem verschieden breit sind, können diese Bestimmungen nicht sehr genau sein, sind aber größenordnungsmäßig sicher verlässlich.

Der van't Hoff-Stiftung in Amsterdam und auch dem Institutsvorstand Hrn. Prof. Dr. J. Plotnikov möchte ich für die Unterstützung dieser Arbeit bestens danken.

### 188. Einar Biilmann, K. A. Jensen und E. Knuth: Über ein optisch aktives 2-Deutero-camphan.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Kopenhagen.]

(Eingegangen am 27. März 1936.)

Der Zweck vorliegender Arbeit ist zu prüfen, ob eine nicht optisch aktive Verbindung vom Typus  $R'R''CH_2$  optisch aktiv wird, wenn in der Methylengruppe ein Wasserstoffatom durch ein Deuteriumatom ersetzt wird, so daß die Verbindung  $R'R''CHD$  entsteht. Da die Spaltung einer racemischen Verbindung, in der der Unterschied zwischen den beiden optischen Antipoden so gering ist, uns wenig aussichtsreich schien<sup>1)</sup>, haben wir ein Verfahren gewählt, bei dem eine aktive Halogenverbindung  $R'R''CHCl$  durch Ersatz des Halogens mit gewöhnlichem Wasserstoff in die Verbindung  $R'R''CH_2$  verwandelt wird, während mit Deuterium die Verbindung  $R'R''CHD$  des gesuchten Typs entsteht. Als geeignetes Ausgangsmaterial haben wir l-Bornylchlorid,  $C_{10}H_{17}Cl$  (I), gewählt, das in l-Bornyl-magnesiumchlorid und weiter durch Einwirkung von Wasser in Camphan,  $C_{10}H_{18}$ , verwandelt wurde. Es ergab sich dabei, daß mit leichtem Wasser gewöhnliches Camphan (II) entsteht, während mit schwerem Wasser ein rechtsdrehendes Camphan erhalten wird, dem wir die Formel III zuschreiben müssen.

<sup>16)</sup> S. J. Wawilow, Ztschr. Physik **22**, 266 [1924].

<sup>17)</sup> vergl. Rudolf Sewig, Objektive Photometrie (J. Springer, Berlin 1935), S. 33.

<sup>1)</sup> In dem am 19. März hier angelangten, am 16. März 1936 herausgegebenen Heft II der Helv. chim. Acta teilen H. Erlenmeyer u. H. Gärtner (l. c., S. 331) mit, daß es ihnen nicht gelungen ist, eine deuterierte Zimtsäure in optische Antipoden zu zerlegen.