

198. Otto Schales: Versuche zur Beeinflussung der Luminescenz des Luzigenins.

[Aus d. Biochem. Institut d. Universität Kopenhagen.]
(Eingegangen am 10. Mai 1939.)

Versetzt man die quartären Salze des Dimethyl-diacridyliums, die von H. Decker und W. Petsch¹⁾ „Luzigenine“ genannt werden, in alkalischer Lösung mit Wasserstoffperoxyd, so tritt, wie K. Gleu und W. Petsch²⁾ fanden, eine kräftige gelbgrüne Luminescenz auf. Nach Gleu und Petsch ist das Leuchten in natronalkalischer Lösung zunächst nicht besonders hell, hält aber dafür lange an. Zusatz von Osmiumtetroxyd bewirkt kräftiges Aufleuchten, das allerdings nach einigen Sekunden zu Ende ist. In konzentrierten wäßrigen Ammoniak soll das Leuchten bei entsprechend verringerter Leuchtdauer erheblich heller als in natronalkalischer Lösung sein. Osmiumtetroxyd soll in diesem Falle keine Steigerung der Leuchtintensität bewirken. Objektive Messungen des Luminescenzverlaufes, der Luminescenzintensität und der Abhängigkeit dieser Kennzeichen des Leuchtvorganges von der Alkaliescenz der Lösung des Luzigenins (*N,N'*-Dimethyl-diacridylium-dinitrat) liegen bisher nicht vor und sollen den Gegenstand dieser Mitteilung bilden.

1) Luminescenz und Wasserstoffionen-Konzentration.

Die Oxydation des Luzigenins durch Wasserstoffperoxyd ist nur in alkalischer Lösung von einer Leuchterscheinung begleitet. Diese ist noch bei p_{H} 9.97 deutlich, bei p_{H} 9.24 sehr viel schwächer und bei p_{H} 9.08 so schwach, daß sie nur von dem gut dunkel-adaptierten Auge wahrgenommen werden kann. Bei weiterer Verschiebung der Wasserstoffionen-Konzentration nach dem sauren Gebiet läßt sich keine Luminescenz mehr erkennen, statt dessen tritt dann die gelbgrüne Fluorescenz der Dimethyl-diacridyliumsalze in saurer Lösung in Erscheinung. Im Gegensatz zum Luzigenin leuchtet Luminol (3-Amino-phthalsäure-hydrazid), wie ich früher mitteilte³⁾, auch noch im schwach sauren Gebiet bis p_{H} 5.10.

2) Gekuppelte Luminescenzkatalyse.

Ein weiterer Unterschied zwischen der Luminescenz des Luminols und der des Luzigenins besteht darin, daß erstere durch eine Reihe von Katalysatoren wesentlich intensiviert werden kann (wie z. B. durch Protohäm⁴⁾, Mesohäm⁵⁾, kolloides Platin⁵⁾ und durch Kupferionen⁶⁾), während sich zur Steigerung der Luminescenzintensität des Luzigenins bisher nur Osmiumtetroxyd wirksam zeigte. Aber auch die luminescenzkatalytische Wirkung des Osmiumtetroxyds ist kaum von praktischem Interesse, da es, infolge seiner katalytischen Aktivität, Wasserstoffperoxyd in stürmischer Reaktion zersetzt und dadurch die Lichterscheinung nach wenigen Sekunden völlig zum Verschwinden bringt.

Bei Versuchen mit anderen Katalysatoren machte ich eine eigenartige Beobachtung.

1) Journ. prakt. Chem. [2] **143**, 211 [1935].

2) Angew. Chem. **48**, 57 [1935].

3) O. Schales, B. **72**, 167 [1939].

4) K. Gleu u. K. Pfannstiel, Journ. prakt. Chem. [2] **146**, 137 [1936].

5) H. O. Albrecht, Ztschr. physik. Chem. **136**, 321 [1928].

6) O. Schales, B. **71**, 447 [1938].

Luminol zeigt bekanntlich in soda-alkalischer Lösung bei Gegenwart von Wasserstoffperoxyd nur eine sehr schwache blaue Lumineszenz. Gibt man Mesohämin zu, so wird das Leuchten sehr kräftig und klingt dann bald ab, vergl. die Darstellung des Lumineszenzverlaufes in Abbild. 3 meiner früheren Arbeit³⁾.

Luzigenin leuchtet bereits ohne Vermittlung eines Katalysators in soda-alkalischer Wasserstoffperoxydlösung deutlich grün. Mesohämin steigert die Intensität dieser grünen Lumineszenz nicht.

Gibt man zu einer soda-alkalischen Wasserstoffperoxydlösung gleichzeitig Luminol und Luzigenin, so leuchtet die Lösung grün, da die Lumineszenz des Luzigenins das sehr schwache Leuchten des Luminols überdeckt. Zusatz von Mesohämin sollte nun die Lumineszenz des Luminols sehr erheblich steigern ohne das Leuchten des Luzigenins zu beeinflussen; es müßte demnach eine intensive blaue Lichterscheinung auftreten.

Dies ist jedoch nicht der Fall. Im Augenblick des Mesohämin-Zusatzes tritt zwar eine erhebliche Steigerung der Lumineszenz-Intensität ein. Das Licht ist aber nicht, wie zu erwarten wäre, blau sondern grün.

Ein Katalysator, der nur die Lumineszenz des Luminols beeinflusst, führt hier also zur Steigerung der Lumineszenz-Intensität des Luzigenins — wenn man nicht die unwahrscheinliche Annahme machen will, Luminol leuchte bei Gegenwart von Luzigenin nicht blau sondern grün. Richtiger scheint mir, zu vermuten, daß hier ein Fall von gekuppelter oder indirekter Katalyse vorliegt. Die Reaktion könnte folgendermaßen verlaufen: Luminol (oder eines seiner Oxydationsprodukte) wird durch Wasserstoffperoxyd unter Vermittlung von Hämin in einen angeregten Zustand gebracht, den es, falls kein Luzigenin zugegen ist, unter Abgabe blauer Strahlung wieder verläßt. Bei Anwesenheit von Luzigenin kommt es aber nicht zu einer blauen Lumineszenz, die Rückkehr aus dem angeregten Zustand muß also in anderer Weise erfolgen. Dies könnte so geschehen, daß die sonst als sichtbare Strahlung frei werdende Energie direkt an das Luzigenin (oder eines seiner Oxydationsprodukte) weitergegeben wird und dadurch dieses in den angeregten Zustand bringt, der dann unter Abgabe grüner Strahlung wieder verlassen wird.

3) Wasserstoffperoxyd-Nachweis mit Luzigenin.

Mit Hilfe von Luminol gelingt es bei Gegenwart von Hämin als Katalysator, Wasserstoffperoxyd in der Verdünnung $1/5 \times 10^6$ nachzuweisen⁶⁾⁷⁾. Aus meinen Erfahrungen mit der lumineszenzkatalytischen Wirkung von Mesohämin konnte ich eine noch empfindlichere Methode zum Peroxyd-Nachweis ableiten, die es gestattet, H_2O_2 schon in der Verdünnung $1/10^8$ zu erkennen⁸⁾.

Um Luzigenin zum Leuchten zu bringen, sind jedoch höhere Peroxyd-Konzentrationen erforderlich. Versetzt man 5 ccm einer 0.5-proz. wäßrigen Luzigenin-Lösung ($1/100$ -molar) mit 5 ccm 12-n. Ammoniak, so zeigt sich in der Dunkelkammer bereits ein schwaches Leuchten. Gibt man nun 5 ccm einer Wasserstoffperoxyd-Lösung in der Verdünnung $1/10^5$ zu, so ist eine deutliche Verstärkung der Lumineszenz (auch ohne peroxydfreie Vergleichsprobe) zu bemerken. In der Verdünnung $1/2 \times 10^5$ wirkt aber H_2O_2 schon nicht mehr eindeutig verstärkend auf den Lumineszenz-Vorgang, so daß die Grenz-

⁷⁾ W. Langenbeck u. U. Ruge, B. **70**, 367 [1937].

konzentration des Wasserstoffperoxyds für den Nachweis mit Hilfe von Luzigenin bei $1/10^5$ liegt.

4) Luzigenin-Lumineszenz und Alkali-Konzentration.

In diesen Versuchen wurden objektive Messungen der Lumineszenz mit Hilfe einer Selen-Sperrschichtzelle vorgenommen, die mit einem Spiegelgalvanometer verbunden war. Um zu vergleichbaren Ergebnissen zu gelangen, wurden alle Faktoren außer der Alkali-Konzentration konstant gehalten. So kam Luzigenin stets als 0.5-proz. wäßrige Lösung zur Anwendung, und Wasserstoffperoxyd wurde in 3-proz. Lösung gebraucht. Hierbei wurde je 1 Raumteil beider Lösungen in eine Petri-Schale gegeben und dann mit 1 Teil Alkali (verschiedener Konzentration) versetzt. Der Augenblick der Alkali-Zugabe wurde als Beginn der Lumineszenz festgehalten. Wenn der Lichtzeiger des Galvanometers im Bereich der Skala angelangt war und keine Schwankungen mehr zeigte, wurde mit den Ablesungen begonnen. Die Geschwindigkeit des Abfalles der Lumineszenzintensität kennzeichne ich, wie früher³⁾, durch einen Begriff, den ich Halbe-Lumineszenz-Dauer (HLD) nenne. Unter der HLD verstehe ich dabei die Zeit, die vergeht, bis die Intensität der Lumineszenz die Hälfte des Wertes erreicht hat, den sie im Augenblick der ersten Ablesung besaß.

Aus Tafel 1 ist die Abhängigkeit der Lumineszenz von der NaOH-Konzentration ersichtlich. Die höchste Anfangsintensität erreicht man, wenn das leuchtende Gemisch 0.375-n. natronalkalisch ist.

Tafel 1. Einfluß verschiedener NaOH-Konzentrationen auf die Lumineszenz des Luzigenins.

Zeit in Min.	Intensität d. Lumineszenz in cm Galvanometer-Ausschlag					
	2.5-n.	1.25-n.	0.625-n.	0.375-n.	0.25-n.	0.125-n.NaOH*)
$\frac{3}{4}$	20.2	54	—	—	—	—
1	11.2	37.5	—	—	—	47.3
$1\frac{1}{2}$	4.3	21.5	51	—	—	43.2
2	1.5	13.1	33.5	74	73	37.2
$2\frac{1}{2}$	0.5	8.0	23.0	55	59	31.7
3	0.15	4.8	16.0	41	48	27.2
$3\frac{1}{2}$	0	2.7	11.0	30.2	38.6	23.5
4		1.5	7.5	22.5	31.2	20.3
$4\frac{1}{2}$		0.8	4.9	16.6	25.3	17.6
5		0.4	3.2	12.1	20.5	15.4
$5\frac{1}{2}$		0.2	2.0	8.8	16.6	13.4
6		0.05	1.3	6.2	13.3	11.7
$6\frac{1}{2}$		0	0.8	4.3	10.6	10.1
7			0.5	2.9	8.4	8.9
$7\frac{1}{2}$			0.3	2.0	6.6	7.6
8			0.15	1.3	5.0	6.6
10			0	0.2	1.6	3.6
12				0	0.35	1.9
15					0	0.65
HLD in Sekunden	20	35	55	71	99	149

*) NaOH-Konzentration im leuchtenden Gemisch.

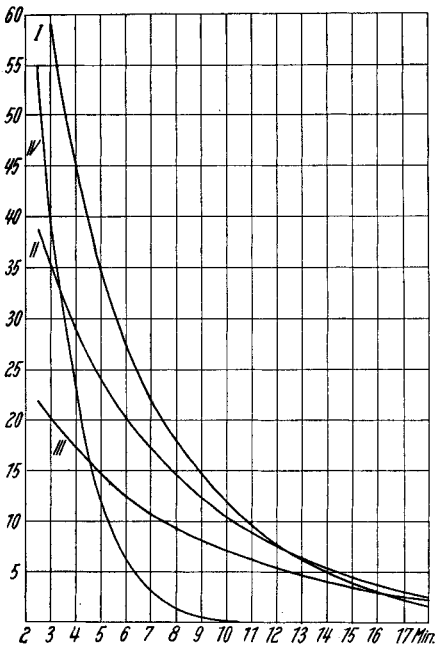
In ammoniakalischer Lösung ist die Anfangsintensität der Lumineszenz (zum Zeitpunkt Null!) im Gegensatz zu den qualitativen Angaben von Gleu und Petsch²⁾ niedriger als in natronalkalischer Lösung. Auch das Abklingen der Lumineszenz erfolgt in NH_4OH nicht, wie die genannten Autoren angeben, schneller, sondern langsamer als in NaOH , vergl. Tafel 2. Da natronalkalische

Tafel 2. Einfluß verschiedener NH_4OH -Konzentrationen auf die Lumineszenz des Luzigenins.

Alkali-Gehalt der Mischung	Intensität in cm Galvanometer-Ausschlag nach			HLD in Sek.
	$2\frac{1}{2}$ Min.	5 Min.	10 Min.	
4-n. NH_4OH	68	34.6	11.5	155
2-n. NH_4OH	38.8	23.7	10.3	219
1-n. NH_4OH	21.7	14.6	7.1	268
0.375-n. NaOH	55	12.1	0.2	71

Lösungen rascher dunkeln als ammoniakalische, sind gleichzeitig angesetzte lumineszierende Gemische in NH_4OH nach einer gewissen Zeit heller als die

NaOH -Ansätze, d. h. die Kurven des Lumineszenz-Verlaufes schneiden sich. In der Abbild. ist die Abhängigkeit des Lumineszenz-Verlaufes von der Ammoniak-Konzentration graphisch dargestellt, zum Vergleich ist die Kurve des Lumineszenz-Verlaufes in 0.375-n. Natronlauge eingezeichnet.



Lumineszenzverlauf bei verschiedener Alkali-Konzentration (I=4-n. NH_4OH ; II=2-n. NH_4OH ; III = n. NH_4OH ; IV = 0.375-n. NaOH).

Um festzustellen, ob sich andere stickstoffhaltige Basen ähnlich wie Ammoniak verhalten, also einen langsameren Lumineszenz-Abfall als stickstoff-freies Alkali bewirken, wurden schließlich noch einige Versuche mit Pyridin vorgenommen. Pyridin allein vermag keine starken Lumineszenzerscheinungen auszulösen (vergl. Versuchsteil), dagegen wirken Pyridinzusätze zu natronalkalischen Lösungen steigernd auf Anfangsintensität und Ablauf des Lumineszenzvorganges. In Tafel 3 sind einige Meßergebnisse zusammengestellt. Die stärkste Anfangsintensität (zum Zeitpunkt Null!) zeigt hier die Lösung mit 6.7% Pyridin-Zusatz; das Leuchten ist

hier anfänglich erheblich heller als in natronalkalischen pyridinfreien Lösungen, klingt aber auch sehr viel rascher ab.

Tafel 3. Einfluß von Pyridin auf die Luminescenz des Luzigenins in 0.375-n.NaOH.

Zeit in Min.	Intensität der Luminescenz in cm Galvanometer-Ausschlag		
	NaOH	+ 0.67 % Pyridin	+ 6.7% Pyridin
2 ¹ / ₂	55	67	46.5
3	40.5	49	23.7
3 ¹ / ₂	30.0	35	11.5
4	22.2	25.3	5.0
4 ¹ / ₂	16.3	18.3	2.0
5	12.0	13.1	0.8
5 ¹ / ₂	8.4	9.2	0.25
6	6.1	6.3	0.1
6 ¹ / ₂	4.2	4.3	0
7	2.8	2.8	
7 ¹ / ₂	2.0	1.9	
8	1.3	1.2	
10	0.25	0.2	
HL,D	1 Min. 10 Sek.	1 Min. 5 Sek.	31 Sek.

Beschreibung der Versuche.

1) Reagenzien: Luzigenin kam in allen Versuchen als 0.5-proz. wäßrige Lösung zur Anwendung, Wasserstoffperoxyd stets in Form einer 3-proz. wäßrigen Lösung, die durch Verdünnen von Perhydrol (Merck) jeweils frisch bereitet wurde.

2) Luminescenz bei verschiedenem pH: Im Dunkelzimmer wurde ein frisch bereitetes Gemisch von 5 ccm Luzigenin-Lösg. und 10 ccm $m_{/10}$ -Boratlösung im Reagensglas mit 5 ccm Wasserstoffperoxyd-Lösg. versetzt.

3) Gekuppelte Luminescenz-Katalyse: Versuch I (Luminol). In einem Reagensglas wurden 5 ccm Wasser mit 1 ccm 0.1-proz. Luminol-Lösg. (in 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg.) versetzt und 5 ccm 3-proz. Wasserstoffperoxyd zugegeben. Es zeigte sich eine sehr schwache blaue Luminescenz. Gab man nun 4 ccm einer 4×10^{-5} -m. Mesohämin-Lösg. in 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg. zu, so wurde die blaue Luminescenz sehr hell und klang dann rasch zu völligem Erlöschen ab.

Versuch II (Luzigenin). In einem Reagensglas wurden 5 ccm wäßriger Luzigenin-Lösg. mit 1 ccm 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg. versetzt und 5 ccm 3-proz. Wasserstoffperoxyd-Lösg. zugegeben. Man beobachtete eine deutliche grüne Luminescenz. Setzte man nun 4 ccm Mesohämin-Lösg. in 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg. hinzu, so trat eine geringfügige Zunahme der Luminescenz auf. Diese beruhte aber nicht auf einer katalytischen Wirkung des Mesohämins, sondern auf der durch den Soda-Zusatz bewirkten Erhöhung der Alkalescenz des lumineszierenden Gemisches. In Übereinstimmung damit zeigte sich der gleiche geringfügige Effekt, wenn man 4 ccm mesohäminfreie 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg. zur Luzigenin-Peroxyd-Mischung gab.

Versuch III (Luminol+Luzigenin). In einem Reagensglas wurden 5 ccm wäßriger Luzigenin-Lösg. mit 1 ccm 0.1-proz. Luminol-Lösg. in 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg. versetzt und 5 ccm 3-proz. Wasserstoffperoxyd-Lösg. zugegeben. Man beobachtete eine deutliche grüne Luminescenz. Gab man nun 4 ccm einer 4×10^{-5} -m. Mesohämin-Lösg. in 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg. zu, so wurde die grüne Leuchterscheinung außerordentlich intensiv, klang aber rasch wieder zu fast völligem Erlöschen ab.

4) Objektive Luminescenzmessungen: Die Photozelle befand sich in einem lichtdicht abgeschlossenen Kasten. Der Abstand der Skala vom Spiegelgalvanometer betrug 2 m. Als Gefäße für die lumineszierenden Gemische dienten bei allen quantitativen Messungen Petri-Schalen von 71 mm innerem Durchmesser, die direkt auf die

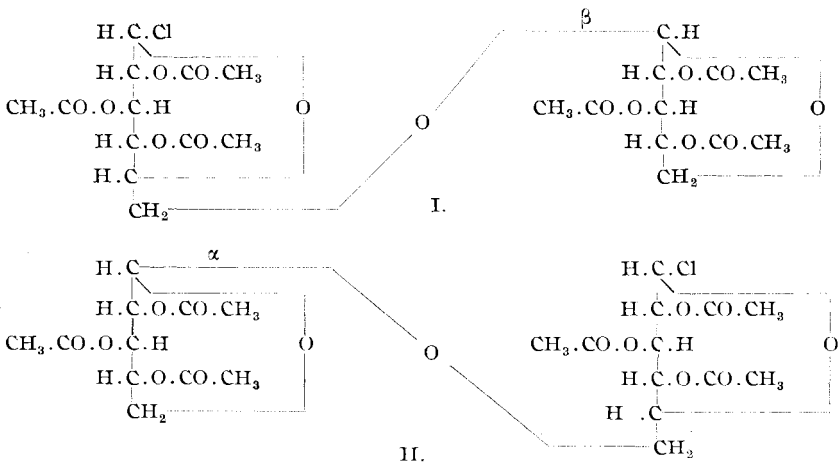
Selenzelle gestellt wurden. In diese Gefäße kamen zunächst 5ccm Luzigenin-Lösg., dann 5 ccm Wasserstoffperoxyd und schließlich 5 ccm Alkali-Lösg. Im Augenblick der Alkali-Zugabe (Lumineszenzbeginn) wurde die Stoppuhr in Gang gesetzt, die Mischung dann kräftig durchgerührt und auf die Photozelle gestellt. Das zugegebene Alkali hatte eine solche Konzentration, daß sie durch Mischung mit den Lösungen der Reaktionspartner die in den Tafeln vermerkten Werte annahm. Setzte man das Alkali in Form von 1-proz. Natriumcarbonat-Lösg. zu, so zeigte sich ebenfalls ein Leuchten, das aber zu schwach war, um einen Galvanometer-Ausschlag hervorzurufen. Gab man statt Alkali Pyridin zu, so bewirkte weder 1-proz. noch 10-proz. wäßrige Pyridin-Lösg. eine Lichterscheinung; reines Pyridin zeitigte eine sehr schwache Lumineszenz, die aber keinen Galvanometer-Ausschlag bewirkte. Gab man zu letzterem Ansatz (5 ccm Luzigenin-Lösg. + 5 ccm Wasserstoffperoxyd + 5ccm Pyridin) noch 1ccm 30-proz. Natronlauge, so wurde die Mischung sehr hell, aber auch rasch wieder dunkel. Die H/D betrug hier etwa 17 Sek., der Galvanometer-Ausschlag nach 1 Min. 2cm, nach 1½ Min. 0.2cm. Die Ansätze der Tafel 3 wurden so bereitet, daß eine Mischung von 5 ccm Luzigenin-Lösg. + 5 ccm Wasserstoffperoxyd mit einer Mischung von 5 ccm 1.125-n. NaOH und 0.1 ccm (bzw. 1 ccm) Pyridin versetzt wurde. Dadurch wurde das Gemisch 0.375-n. natronalkalisch und enthielt 0.67 % (bzw. 6.7 %) Pyridin.

Peter Bent Brigham Hospital, Boston (Mass.), U.S.A., April 1939.

199. Géza Zemplén und Rezső Bognár: Einwirkung von Quecksilbersalzen auf Acetohalogenzucker, XIII. Mitteil. Synthese der Isoprimverose (6- α -*D*-Xylosido-*D*-glucose), des α -Isomeren der Primverose, und ihrer Derivate.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Budapest.]
(Eingegangen am 8. Mai 1939.)

Unlängst¹⁾ haben wir über eine bequeme synthetische Darstellungsmethode der Primverose-Derivate berichtet. Bei einem Versuch, bei dem das Quecksilberacetat nicht genügend fein gepulvert war, blieb ein Teil desselben ungelöst, und bei der Aufarbeitung wurde viel weniger α -Acetochlorprimverose (I) gewonnen wie sonst. Die Aufarbeitung der Mutterlaugen lieferte uns dann eine neue, stark rechtsdrehende, schön kristallisierende



¹⁾ G. Zemplén u. R. Bognár, Mitteil. XII, B. 72, 47 [1939].