

Die Chemiluminescenz der Dimethyl-diacridyliumsalze¹⁾.

Von Priv.-Doz. Dr. KARL GLEU und Dr. WERNER PETSCH.

Chemisches Laboratorium der Universität Jena.

(Eingeg.: 20. November 1934.)

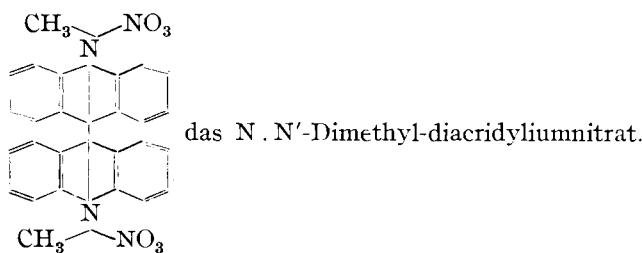
Nach einem Vortrag in der Fachgruppe für anorganische Chemie auf der 47. Hauptversammlung des V. d. Ch. zu Köln am 24. Mai 1934.

Das Auftreten von Leuchten bei chemischen Reaktionen ohne wesentliche Temperaturerhöhung ist häufig beobachtet worden. Im allgemeinen ist die Lichtintensität bei derartigen Lumineszenzreaktionen nur sehr schwach; zur Erzielung eines kräftigen Leuchtens müssen meistens verhältnismäßig große Substanzmengen in Umsatz gebracht werden. Die geringe Lichtausbeute bei solchen Reaktionen führt zu der Vorstellung, daß das Leuchten in einer vielleicht nur in minimalem Betrage vor sich gehenden Nebenreaktion erfolgt, die sich der chemischen Kontrolle und näheren Aufklärung entzieht. Wenn man näher in den Mechanismus von chemischen Leuchtreaktionen eindringen will, so ist das Auffinden intensiver Lumineszenzen unerlässliche Voraussetzung. Dabei ist die Lichtausbeute verschiedener Reaktionen relativ zur umgesetzten Substanzmenge zu vergleichen.

Da man bisher fast ausschließlich nur relativ schwache Lumineszenzreaktionen kennt, so ist es verständlich, daß theoretische Vorstellungen oder auch nur empirische Gesetzmäßigkeiten für das Auftreten von Lumineszenzreaktionen so gut wie vollständig fehlen. Man ist deshalb bei der Auffindung neuer Leuchtreaktionen auf den Zufall angewiesen, und einem Zufall ist auch die Entdeckung der neuen und gleichzeitig intensivsten Chemiluminescenz zu verdanken.

In einer Unterhaltung über die stark farbige radikalartige Zwischenstufe bei der Reduktion der Salze des N,N'-Dimethyl-γ,γ'-dipyridyliums machte mich Herr Prof. H. Decker auf die von ihm schon vor vielen Jahren erhaltenen analog gebauten Salze des N,N'-Dimethyl-diacridyliums aufmerksam und regte an, auch diese Verbindungen auf eine analoge Reaktionsmöglichkeit zu prüfen. In Gemeinschaft mit Herrn Dr. W. Petsch wurden diese Salze dargestellt und untersucht, wobei sich herausstellte, daß die erwartete Analogie nicht besteht, jedoch zeigten diese Substanzen eine gänzlich unerwartete Eigenschaft: eine intensive Chemiluminescenz.

Die Salze des Dimethyl-diacridyliums gewinnt man nach Decker und Dunant²⁾, indem man zunächst Acridin über die quarternären Salze durch Oxydation mit alkalischem Ferricyanid in N-Methyl-acridon verwandelt. Das N-Methyl-acridon wird mit Zink in Eisessig reduziert und der Niederschlag mit heißer verdünnter Salpetersäure ausgezogen. Beim Erkalten der heißen Lösung kristallisiert dann ein Körper folgender Konstitution aus:



Diese „Leuchtsubstanz“ stellt goldgelbe, schön kristallisierte Blättchen dar, die sich in Wasser mit gelber Farbe und neutraler Reaktion lösen. Die neutralen und sauren

Lösungen besitzen eine intensive grüne Fluorescenz und sind beständig. Bei Zusatz von Alkali verschwindet die Fluorescenz augenblicklich; die zunächst rein gelben alkalischen Lösungen zersetzen sich allmählich unter Dunkelfärbung und bei höherer Konzentration unter Abscheidung eines braunen Niederschlages.

Ein Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd zu den frisch bereiteten alkalischen Lösungen von Dimethyl-diacridylium-nitrat ruft ein grünes Leuchten hervor, das bei großer Intensität einen weißen Farbton mit grünem Schimmer annimmt. Die grüne Färbung der Chemiluminescenz erscheint dem Auge etwa gleich dem grünen Fluorescenzlicht der Substanz; dabei ist aber hervorzuheben, daß das Leuchten nur in alkalischer Lösung auftritt, während umgekehrt die Fluorescenz nur in saurer Lösung zu beobachten ist.

Das Leuchten der alkalischen Lösungen mit Wasserstoffsuperoxyd ist zunächst nicht besonders hell, hält dafür aber je nach der Alkalikonzentration stundenlang an. Es ist naheliegend, die an sich langsam verlaufende Reaktion durch Zusatz eines Katalysators zu beschleunigen, um so zu einer Intensitätssteigerung zu kommen, selbstverständlich auf Kosten der Leuchtdauer. Besonders wirksam für diesen Zweck ist Osmiumtetroxyd. Schon Spuren davon genügen, um ein helles Aufleuchten zu bewirken, das unter diesen Bedingungen allerdings nach einigen Sekunden zu Ende ist. In konz. wäßrigem Ammoniak ist das Leuchten erheblich heller als in natron-alkalischer Lösung, die Dauer ist dementsprechend geringer. Osmiumtetroxyd ist unter diesen Umständen ohne Einfluß.

Die experimentelle Vorführung dieser Chemiluminescenz kann etwa unter folgenden Bedingungen erfolgen:

a) in natron-alkalischer Lösung.

In einen 2-Liter-Weithalskolben gießt man 50 cm^3 $\text{m}/_{100}$ -Dimethyl-diacridylium-nitrat-Lösung (0,5% wäßrige Lösung) zu $1/2$ Liter Wasser. Die Lösung fluoresciert grün. Nach Zusatz von 25 cm^3 10n-Natronlauge verschwindet die Fluorescenz. Die gelbe alkalische Lösung wird nun mit 10 cm^3 30%igem Wasserstoffsuperoxyd versetzt, worauf das grüne lang andauernde Leuchten auftritt.

Mit 3 Tropfen $\text{m}/_{100}$ -Osmiumtetroxyd wird das Leuchten sehr hell, es entwickelt sich reichlich gasförmiger Sauerstoff, weil das Osmiumtetroxyd in alkalischer Lösung das in großem Überschuß vorhandene Wasserstoffsuperoxyd katalytisch zerstellt. Gleichzeitig scheidet sich ein voluminöser gelblicher Niederschlag ab.

b) in ammoniakalischer Lösung.

500 cm³ konz. wäßriges Ammoniak werden mit 50 cm^3 $\text{m}/_{100}$ -Dimethyl-diacridylium-nitrat-Lösung versetzt und 10 cm^3 30%iges Wasserstoffsuperoxyd zugegeben. Die Lösung leuchtet hell weißlich-grün einige Minuten lang. Am Schluß ist eine kaum gefärbte Lösung praktisch ohne Niederschlag vorhanden.

Die Lichtausbeute bei der Chemiluminescenz des Dimethyl-diacridylium-nitrats ist sehr groß. Um eine Vorstellung von der Empfindlichkeit zu gewinnen, wurde die Grenzkonzentration festgestellt, bei der noch ein Leuchten zu beobachten ist. Dabei hat sich gezeigt, daß noch $0,1 \text{ cm}^3$ einer $\text{m}/_{1000000}$ -Lösung der Leuchtsubstanz in 100 cm^3 Wasser deutlich durch das Leuchten zu erkennen ist (in natron-alkalischer Lösung unter Zusatz von Osmium-

¹⁾ Vgl. das kurze Referat, diese Ztschr. **47**, 410 [1934].

²⁾ H. Decker u. G. Dunant, Ber. dtsch. chem. Ges. **42**, 1176 [1909].

tetroxyd). Diese Menge entspricht in der Größenordnung einer Verdünnung von $1:10^{10}$.

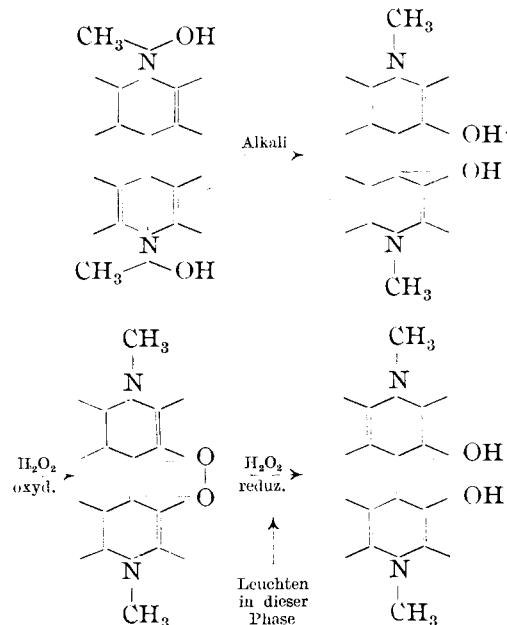
Die analoge Grenzkonzentration für die bisher wohl empfindlichste Leuchtreaktion, für die Chemiluminescenz des 3-Amino-phthalsäurehydrazids, liegt nach Albrecht³⁾ bei $1:10^8$; d. h. also, die neue Leuchtreaktion ist um etwa 2 Zehnerpotenzen empfindlicher als die bisher intensivste Reaktion dieser Art.

Diese hohe Empfindlichkeit sei durch ein paar Bemerkungen illustriert. Bei der Ermittlung der Grenzkonzentration kam es selbstverständlich darauf an, festzustellen, ob auch reines Wasserstoffsperoxyd in alkalischer Lösung bei der katalytischen Zersetzung durch Osmiumtetroxyd schon leuchtet. Bei den ersten Versuchen wurde auch unter diesen Bedingungen ein schwaches Leuchten beobachtet. Dieser experimentelle Befund lag aber darin begründet, daß die Kolben (selbstverständlich häufig ausgespült) durch die Leuchtsubstanz infiziert waren. Erst unter Verwendung völlig unbenutzter Gefäße gelang der Nachweis, daß Wasserstoffsperoxyd allein auch bei Gegenwart von Osmiumtetroxyd nicht leuchtet.

Das Wasserstoffsperoxyd faßt man im allgemeinen als Oxydationsmittel auf. Man könnte deshalb geneigt sein, anzunehmen, daß auch andere Oxydationsmittel die alkalischen Lösungen des Dimethyl-diacridylium-nitrats zum Leuchten bringen. Auffallenderweise ist das nicht der Fall. Zusatz von Hypobronit, Hypochlorit, Kaliumpermanganat oder Ferricyanid ruft keine Spur von Leuchten hervor.

Demgegenüber beobachtet man aber ein kräftiges kurzes Aufleuchten gerade umgekehrt beim Versetzen der alkalischen Lösung der Leuchtsubstanz mit starken Reduktionsmitteln. In dieser Weise wirksam sind alle starken Reduktionsmittel wie Hydrosulfit, Sulfid, Vanadit, Stannit. Dieses Leuchten nach Zusatz von Reduktionsmitteln tritt aber nur auf, wenn Luftsauerstoff zugegen ist. Entfernt man vorher den Sauerstoff durch Einleiten von reinem Stickstoff, so rufen diese Reduktionsmittel keine Spur von Leuchten hervor. Das Leuchten erscheint aber sofort, wenn molekularer Sauerstoff zutritt, und verschwindet wieder bei der Verdrängung des Sauerstoffs durch Stickstoff. Das Spiel kann man häufig wiederholen.

Diese Tatsachen sind zu berücksichtigen bei dem Versuch, in den Mechanismus dieser Luminescenz einzudringen. Endgültig ist eine solche Deutung heute noch nicht zu geben, aber als am wahrscheinlichsten kann auf Grund der bisherigen Erkenntnisse folgende Reaktionsfolge gelten:



(die seitlichen Benzolkerne sind nur durch Striche angedeutet).

³⁾ H. O. Albrecht, Z. physik. Chem. 136, 321 [1928].

Durch das Alkali wird die primär vorhandene quaternäre Ammoniumbase in die Carbinolbase umgelagert. Auf die Carbinolbase wirkt Wasserstoffsperoxyd zunächst oxydierend, indem sich ein Peroxyd bildet, das dann weiter durch Wasserstoffsperoxyd wieder zur ursprünglichen Carbinolbase reduziert wird. Das Leuchten kommt in der letzten Phase zustande, in der das Wasserstoffsperoxyd reduzierend wirkt.

Mit diesem Mechanismus sind sämtliche bisher bekannten Tatsachen in Übereinstimmung:

1. Das veränderte Verhalten der Substanz in alkalischer Lösung (Verschwinden der Fluorescenz, Zersetzung usw.) findet seinen Ausdruck in der Umlagerung zur Carbinolbase.

2. Stoffe, die nur oxydierend wirken, wie Hypochlorit oder Ferricyanid, rufen kein Leuchten hervor, weil die eigentliche Leuchtpause durch Reduktion bedingt ist.

3. Das Leuchten mit Wasserstoffsperoxyd beruht auf der Oxydations- und Reduktionswirkung dieser Substanz.

4. Die Luminescenz durch Einwirkung von Reduktionsmitteln wie Hydrosulfit, Stannit usw. bei Gegenwart von molekularem Sauerstoff erklärt sich so, daß der Sauerstoff die Leuchtsubstanz zunächst zum Peroxyd oxydiert, worauf das Reduktionsmittel unter Rückbildung der Carbinolbase und Leuchten einwirkt.

5. Die Substanz leuchtet bei höherer Konzentration in alkalischer Lösung auch mit molekularem Sauerstoff allein, wenn auch nur schwach, weil bei der Autoxydation neben dem Peroxyd geringe Mengen Wasserstoffsperoxyd entstehen, die dann das schwache Leuchten hervorrufen.

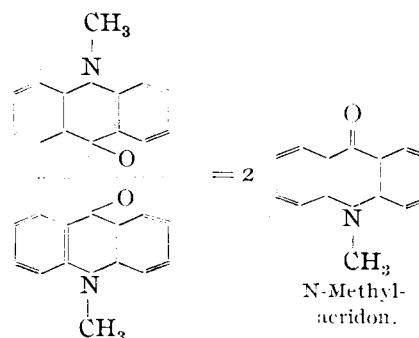
6. Der vorgeschlagene Mechanismus erklärt die hohe Empfindlichkeit. Nach der angegebenen Reaktionsfolge würde überhaupt kein Verbrauch der Leuchtsubstanz stattfinden. Es verschwindet nur das Wasserstoffsperoxyd, das im Endeffekt in Wasser und molekularem Sauerstoff zerlegt wird. Die Substanz verwandelt also katalytisch die chemische Affinität beim Wasserstoffsperoxyd-Zerfall in Licht.

7. Tatsächlich ist die ideale Luminescenz-Katalyse durch die Dimethyl-diacridylium-Salze noch nicht verwirklicht, denn das Leuchten hört auf, während noch Wasserstoffsperoxyd vorhanden ist. Die Erklärung dafür ergibt sich ungezwungen in folgender Weise:

Bei einer idealen Redox-Luminescenz-Katalyse müßte die oxydierte und reduzierte Stufe der Substanz unter den Bedingungen des Leuchtens völlig stabil sein. Im Falle der Dimethyl-diacridylium-Salze erfüllen aber beide Stufen diese Bedingung nicht vollständig, vielmehr treten irreversible Umlagerungen ein.

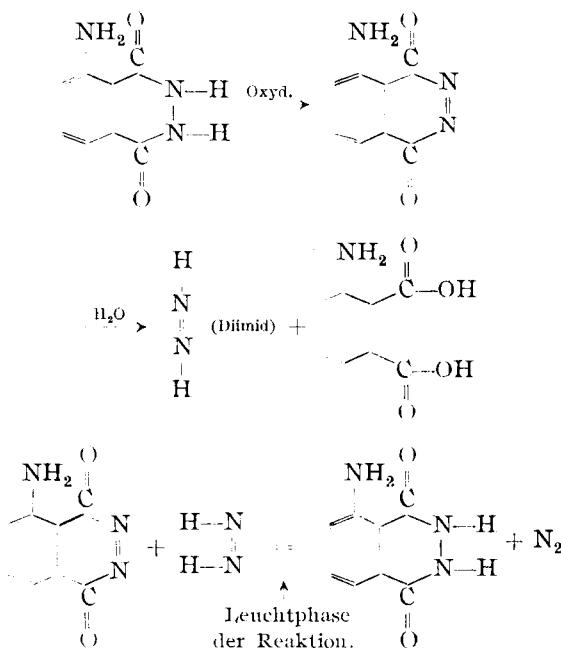
a) Die reduzierte Stufe des Schemas, die Carbinolbase, ist nicht völlig beständig. In den alkalischen Lösungen entstehen allmählich braune Fällungen, worauf schon bei der Besprechung der Eigenschaften der Substanz hingewiesen wurde.

b) Die oxydierte Stufe des Schemas, das Peroxyd, genügt ebensowenig der Idealforderung völliger Stabilität. Durch hälftige Spaltung ist ein irreversibler Übergang in Methylacridon möglich gemäß:

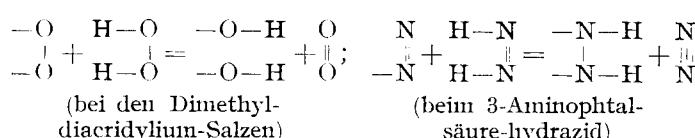


Die bei der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf die natron-alkalische Lösung der Leuchtsubstanz auftretende Fällung besteht tatsächlich zum größten Teil aus N-Methyl-acridon; nach dem Umkristallisieren aus Alkohol wurde die Identität durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Analyse nachgewiesen.

Der für die Dimethyl-diacyridinium-Salze angegebene Leuchtmechanismus steht in einem interessanten Zusammenhang mit der Reaktionsfolge, die *Albrecht*⁴⁾ für das Leuchten des 3-Aminophthalsäure-hydrazids vorgeschlagen hat. Nach *Albrecht* verläuft die Oxydation des 3-Aminophthalsäure-hydrazids in folgender Weise:



Die Leuchtphasen beider Leuchtreaktionen entsprechen sich nach diesen Formulierungen vollständig. In beiden Fällen tritt das Leuchten während des Reduktionsprozesses auf; bei den Dimethyl-diacyridinium-Salzen, bei der Reduktion des Peroxyds durch Wasserstoffsuperoxyd, bei dem Aminophthalsäure-hydrazid durch Reduktion des Azokörpers mit Hilfe von Diimid. Schematisch drückt sich die Analogie der Leuchtphase beider Reaktionen folgendermaßen aus:

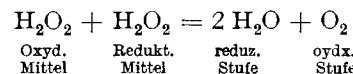


Die freien Valenzen sind an den organischen Rest gebunden zu denken.

Im Gesamtverlauf besteht aber ein erheblicher Unterschied bei beiden Leuchtreaktionen. Das Aminophthalsäure-hydrazid leuchtet bei reiner Oxydation (z. B. mit Hypochlorit oder Ferricyanid), jedoch im Sinne der *Albrecht*-schen Deutung nur, weil durch Hydrolyse das Reduktionsmittel (das Diimid) entsteht, das die ursprüngliche Substanz zurückbildet. Im Ganzen tritt aber während des Leuchtens ein Verbrauch der Leuchtsubstanz ein, denn summarisch betrachtet erfolgt bei der Oxydation des Aminophthalsäure-hydrazids ein stöchiometrischer Übergang in Aminophthalsäure und Stickstoff.

Demgegenüber leuchten die Dimethyl-diacyridinium-Salze nur bei gleichzeitiger Oxydation + Reduktion. Das bedingt, daß kein Verbrauch der Substanz eintritt (von Nebenreaktionen abgesehen). Der Stoff wirkt als Lumines-

Katalysator, der als solcher erhalten bleibt und rein katalytisch die chemische Affinität einer Redox-Reaktion in Licht verwandelt. Im Falle der alleinigen Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds wird demgemäß die Affinität beim Übergang in Wasser und Sauerstoff ausgenutzt:



Die Energieänderung bei dieser Reaktion beträgt rund 46 kcal. Dieser Betrag entspricht nach den Quantengesetzen einer Wellenlänge von ungefähr 6000 Å. Man sollte also höchstens orangefarbiges Licht erwarten, während grünes Licht von einer Wellenlänge von rund 5000 Å etwa 10 kcal mehr erfordert.

Ein Widerspruch besteht indessen nicht, wenn mehrere Elementarprozesse bei dem Zustandekommen des Leuchtwirksam sind, z. B. tritt in der Knallgas-Flamme intensiv die Wasserdampfbande 3064 Å auf, die einer Reaktionsenergie von etwa 95 kcal entspricht, während die Bildungswärme für 1 Mol Wasserdampf nur 58 kcal beträgt. In diesem Falle kann schon rein formelmäßig die Entstehung von einem Molekül H_2O durch einen einzigen bimolekularen Elementarprozeß zwischen H_2 und O_2 nicht erfolgen. Bei der lumineszenzkatalytischen Wasserstoffsuperoxyd-Zersetzung ist eine einfache bimolekulare Umsetzung formelmäßig möglich, ohne aber von dem katalytischen Mechanismus als solchem gefordert zu werden.

Andererseits ist es aber wegen der erörterten Diskrepanz nicht von der Hand zu weisen, daß der vorgeschlagene Mechanismus einer wesentlichen Revision bedarf. Im ganzen muß darauf hingewiesen werden, daß die angegebene Reaktionsfolge nicht als bewiesen gelten kann, sondern lediglich als Arbeitshypothese anzusehen ist.

Die Umstände, unter denen die Chemiluminescenz der Dimethyl-diacyridinium-Salze erfolgt, weisen auf mögliche **Zusammenhänge mit den biologischen Leuchterscheinungen** hin. Die Organismen leuchten durch Autoxydations-Prozesse, wobei die das Leuchten verursachende Substanz offenbar nur in sehr geringer Menge vorliegt, denn eine einwandfreie Isolierung ist bisher trotz vielfacher Bemühungen in keinem Falle gelungen. Die hohe Empfindlichkeit biologischer Leuchtprozesse wird durch den für die Dimethyl-diacyridinium-Salze vorgeschlagenen katalytischen Leuchtmechanismus ohne weiteres verständlich. Es ist deshalb durchaus wahrscheinlich, daß auch die Lebewesen sich dieses katalytischen Lumineszenz-Prinzips zur Erzeugung ihres geheimnisvollen Leuchtens bedienen.

Ob wenigstens in gewissen Fällen dabei dieselbe oder doch eine analog gebaute Substanz wirksam ist, ist eine ganz andere Frage. Rein äußerlich sieht das Leuchten der Dimethyl-diacyridinium-Salze dem grünen Schimmern der Glühwürmchen täuschend ähnlich. Das Spektrum kann man zum Beweis der Identität nicht heranziehen, denn es ist wenig charakteristisch und besteht in beiden Fällen aus einem breiten verwaschenen Band mit dem Schwerpunkt im Grün.

Es wäre eine dankenswerte Aufgabe, nach den neuen chemischen Erkenntnissen neu an das Problem des biologischen Leuchtens heranzugehen. Wenn die Leuchtsubstanz in den Substraten der Organismen auch nur in geringer Menge vorliegt, so wird die Isolierung doch erheblich leichter, wenn man Anhaltspunkte dafür hat, was für eine Körperfklasse überhaupt isoliert werden soll.

Im Chemischen Laboratorium der Universität Jena wird gegenwärtig das Leuchtvermögen von Substanzen geprüft, die den Dimethyl-diacyridinium-Salzen analog gebaut sind.

⁴⁾ *Albrecht*, loc. cit.