

Aus allen Fraktionen wurden durch mehrtägiges Schütteln ihrer alkoholischen Lösungen mit Semicarbazid, nachfolgendes Verdünnen mit Wasser und Umkristallisieren aus Alkohol die Semicarbazone dargestellt. Das Semicarbazone der I. Fraktion ( $\text{Sdp.}_{760} 129-131^\circ$ ) schmolz bei  $156^\circ$ ; diese Fraktion besteht also aus Mesityloxyd. Das Semicarbazone der II. Fraktion ( $\text{Sdp.}_{11} 87-89^\circ$ ), deren Siede-Temperatur dem Isophoron entspricht, schmolz bei  $158^\circ$ . Die III. Fraktion ( $\text{Sdp.}_{11} 126-128^\circ$ ) lieferte beim Schütteln mit Semicarbazid nur teilweise ein Semicarbazone und hinterließ als Rest ein Öl. Da die Analysenwerte dafür zu sprechen scheinen, daß in dieser Fraktion wahrscheinlich Isoxyliton und daneben ein Kohlenwasserstoff enthalten war, so wurden die unter 11 mm Druck zwischen  $120^\circ$  und  $135^\circ$  siedenden Anteile des Kondensats im Vakuum über metallischem Natrium destilliert; hierbei wurde eine unter 10 mm Druck bei  $122-127^\circ$ , unter gewöhnlichem Druck bei  $250-260^\circ$  siedende Fraktion,  $n_D^{17} = 1.527$ , isoliert, deren Geruch an den des Caryophyllens erinnerte.

$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ . Ber. C 88.2, H 11.8, M.-G. 204. Gef. C 87.65, H 11.54, M.-G. 194.

Für das unter 10 mm Druck bei  $127-128^\circ$  siedende Sesquiterpen von Knoevenagel liegen folgende Angaben vor: C 87.62, H 11.96;  $n_D^{18} = 1.533$ , M.-G. 192.

Die Fraktion vom  $\text{Sdp.}_{10} 122-127^\circ$  liefert beim Nitrieren einen gelben, amorphen, in Alkalien mit roter Farbe löslichen Körper. Dieser wird durch Säuren aus der Lösung wieder als gelbe Masse abgeschieden; beim Erhitzen verpufft er, ohne zu schmelzen. Beim Nitrieren ist ein Moschus-Geruch zu verspüren.

Die Untersuchung der Kondensation des Acetons mit Alkoholen wird fortgesetzt.

### 133. Hans Gaffron: Sauerstoff-Übertragung durch Chlorophyll und das photochemische Äquivalent-Gesetz.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 20. Januar 1927.)

Löst man Chlorophyll in Aceton und belichtet, so wird Sauerstoff aufgenommen, wobei das Chlorophyll allmählich unter Oxydation zerstört wird. Durch Zusatz geeigneter Substanzen — welche die wirksame Strahlung nicht absorbieren — kann man die Sauerstoff-Aufnahme erheblich verstärken, die oxidative Zersetzung des Chlorophylls verhindern. Solche Substanzen nennen wir Acceptoren. Da der Acceptor oxydiert wird, während der Farbstoff, der das Licht absorbiert, in der Bilanz unverändert bleibt, so kann man von einer photochemischen Sauerstoff-Übertragung sprechen, ein Ausdruck, der nur die Bilanz, nicht den Mechanismus des Vorgangs charakterisieren soll. Ich habe auf Anregung und unter Hilfe von Hrn. Otto Warburg gemessen, wieviel Sauerstoff bei derartigen Reaktionen pro Calorie absorbierte Strahlung übertragen wird.

#### 1. Methodik.

Die Strahlungs-Energie wurde bolometrisch, die aufgenommene Sauerstoff-Menge manometrisch gemessen<sup>1)</sup>. Immer waren die Chlorophyll-Lösungen so konzentriert, daß die gesamte, in den Versuchs-Trog eingestrahlte Energie absorbiert wurde. Die

<sup>1)</sup> vergl. O. Warburg und E. Negelein, Ztschr. physikal. Chem. **106**, 198 [1923].

absorbierte Energie war also gleich der eingestrahlten. Die Belichtungszeit betrug 5 Min. Den während dieser Zeit eingestrahlten Energie-Mengen von etwa  $\frac{1}{10}$  Gramm-Calorie entsprachen Manometer-Ausschläge von 10—20 mm. Die Fehler bei der bolometrischen Energie-Messung (Kompensations-Verfahren nach E. Warburg<sup>2)</sup>) betragen 2 %. Etwa ebenso groß waren die Fehler bei der manometrischen Messung (Ablesung mit Kathetometer-Mikroskop), so daß der Fehler in den Quotienten  $\frac{\text{photochemische Wirkung}}{\text{absorbierte Strahlung}}$  keinesfalls 5 % übersteigt.

Ich habe die photochemischen Wirkungen im Rot, Gelb, Grün und Blau gemessen. Als Lichtquelle diente für Rot ( $\lambda = 640\text{--}670 \mu\mu$ ) ein Monochromator, für die übrigen Farben eine Quecksilberdampf-Lampe, aus deren Strahlung die Wellenlängen  $\lambda = 578$ , 546 und  $436 \mu\mu$  isoliert wurden.

Wesentlich für meine Anordnung war, daß der photochemische Umsatz die Anfangs-Konzentrationen nicht merklich änderte. Dies wurde erreicht durch kurze Belichtungszeit und niedrige Strahlungs-Intensität.

## 2. Farbstoff, Lösungsmittel, Acceptor, Sauerstoff.

Als Farbstoff benutzte ich krystallisiertes Äthyl-chlorophyllid, das nach Willstätter dargestellt worden war (vergl. experimentellen Teil). Besonderes Gewicht wurde auf die vollständige Abtrennung der gelben (photochemisch unwirksamen) Begleitpigmente gelegt.

Das zunächst als Lösungsmittel verwendete Wasser erwies sich als für solche Versuche ungeeignet. Denn in organischen Lösungsmitteln verschiedenster Art erhielt ich stets größere Ausbeuten. Besonders bewährte sich Aceton (Kahlbaum „zur Analyse“). Es hat die Eigenschaft, viele Substanzen leicht zu lösen, ohne, wie das Wasser, die photochemische Wirkung zu stören.

Um einen geeigneten Acceptor zu finden, habe ich Versuche mit den verschiedensten Stoffen ausgeführt. Dabei zeigte sich, daß viele organische Substanzen schon im Dunkeln durch molekularen Sauerstoff oxydiert werden, wenn man sie bei Zimmer-Temperatur in Aceton löst. Solche Stoffe waren für meine Zwecke ungeeignet. Gut brauchbar als Acceptor erwies sich Allyl-thioharnstoff (Thiosinamin),  $\text{NH}_2\text{SC.NH.CH}_2\text{CH:CH}_2$ , der weder in Abwesenheit noch in Gegenwart von Farbstoff eine messbare Dunkel-Oxydation zeigte, und den ich für alle quantitativen Versuche verwendet habe.

Die Photooxydation greift am Schwefel an und liefert, neben komplizierteren Oxydationsprodukten, Schwefeldioxyd. Läßt man den Prozeß so lange weiterlaufen, bis die Reaktions-Geschwindigkeit sehr klein geworden ist, so kommen im allgemeinen  $\frac{1}{2}$  Mol. Sauerstoff auf 1 Mol. Thiosinamin. Dabei wird  $\frac{1}{2}$  Mol. Schwefeldioxyd frei. Das  $\text{SO}_2$  wird dann weiter, wie bekannt, zu  $\text{SO}_3$  oxydiert<sup>3)</sup>.

Den Gasraum der Versuchsgefäße füllte ich mit Luft. Bei einem Gesamtdruck von 760 mm Hg und  $20^\circ$  war dann der Partialdruck des Sauerstoffs:  $(760 - 180) \times 20.9 / 1000 = 122 \text{ mm Hg}$ , und die Konzentration des Sauerstoffs im Aceton (mit  $\alpha_{\text{O}_2}^{\text{Aceton}} = 0.22$ )<sup>4)</sup>:

$$c = \frac{122 / 760 \times 0.22 \times 1000}{22400} = 1.6 \times 10^{-3} \text{ Mole/liter.}$$

<sup>2)</sup> E. Warburg, G. Leithäuser, E. Hupka und C. Müller, Ann. Physik [4] 40, 609 [1913]. <sup>3)</sup> K. Noack, Naturwiss. 14, 385 [1926].

<sup>4)</sup> Aus G. Levi, Gazz. chim. Ital. 31 II, 513 [1901].

### 3. Ergebnisse.

Ich bezeichne nach E. Warburg<sup>5)</sup> die von der Einheit der absorbierten Strahlungs-Energie hervorgebrachte chemische Wirkung mit  $\varphi$  und benutze als Einheit der photochemischen Wirkung W den cmm Sauerstoff, als Einheit der absorbierten Strahlungs-Energie E die Gramm-Calorie. Dann ist:

$$\varphi = \frac{W}{E} [\text{cmm/cal}].$$

Ferner bezeichne ich die Konzentration des Chlorophylls mit  $c_F$  und die Konzentration des Acceptors mit  $c_A$ , beide in Molen/Liter.

Tabelle 1 enthält die Ergebnisse von 3 Versuchsreihen.

Tabelle 1.

$c_A = 7.5 \times 10^{-1}$ ,  $c_F = 1.54 \times 10^{-3}$ . Temperatur 18°.

Farbe	Wellenlänge $\mu\mu$	Versuch I $\varphi$	Versuch II $\varphi$	Versuch III $\varphi$	Mittelwert von $\varphi$
rot	655 (mittlere)	517	514	474	502
gelb	578	478	450	456	461
grün	546	440	409	408	419
blau	436	367	337	313	339

Tabelle 2 enthält einige Werte für je zwei verschiedene Intensitäten. Sie zeigt, daß  $\varphi$  unabhängig von der Intensität ist<sup>6)</sup>.

Tabelle 2.

$c_A = 7.5 \times 10^{-1}$ ,  $c_F = 1.54 \times 10^{-3}$ . Temperatur 18°.

Versuchs-Nr.	Farbe	Wellenlänge $\mu\mu$	In 5' in den Trog eingestrahlte Energie E (cal)	$\varphi$
IV	gelb	578	0.0574	444
			0.121	450
V	blau	436	0.0487	302
			0.0964	303

### 4. Das Einsteinsche Äquivalent-Gesetz.

Zur Prüfung des photochemischen Äquivalent-Gesetzes ist es notwendig, eine Annahme hinsichtlich des chemischen Vorganges zu machen, der der Zahl der absorbierten Quanten äquivalent sein soll. Die einfachste Annahme ist hier, daß für jedes absorbierte Lichtquantum ein Molekül Sauerstoff aufgenommen wird.  $\varphi_0$  der Tabelle 3 ist die so berechnete photochemische Wirkung, der  $\varphi$ , die gefundene photochemische Wirkung, gegenübergestellt ist.

Wie man sieht, stimmen die berechneten und die gefundenen Werte innerhalb der Meßfehler überein. Im Rot, Gelb, Grün und Blau wird für jedes absorbierte Lichtquantum 1 Molekül Sauerstoff aufgenommen.

<sup>5)</sup> Ztschr. Elektrochem. 26, 54 [1920].

<sup>6)</sup> Die Versuche sind fortlaufend numeriert. Die zugehörigen Messungen finden sich unter der gleichen Ziffer im Protokoll am Schluß der Arbeit.

Tabelle 3.

Farbe	Wellenlänge μμ	Valenzstrahlung $N_0 \text{ h } \nu$ (cal)	φ₀ ber.	φ gef.	φ/φ₀
			$(\varphi_0 = \frac{22400 \cdot 10^8}{N_0 \text{ h } \nu})$	(cmm/cal)	
rot	655	43300	517	502	0.97
gelb	578	49200	456	461	1.01
grün	546	51900	431	419	0.97
blau	436	65000	344	339	0.99

Es liegt hier also ein Fall vor, in dem das Einsteinsche photochemische Äquivalent-Gesetz<sup>7)</sup> für einen relativ großen Spektralbezirk geprüft und bestätigt wurde, was soweit ich sehe, bisher nur in den ersten grundlegenden Versuchen von E. Warburg<sup>8)</sup> über die Photolyse von Brom- und Jodwasserstoffgas geschehen ist<sup>9)</sup>.

Auf zwei Punkte möchte ich aufmerksam machen. Der erste betrifft die Absorption des Chlorophylls. Chlorophyll absorbiert in dem von mir untersuchten Spektralbezirk sehr verschieden stark, am stärksten im Blau, am schwächsten im Grün. Und zwar im Blau 23-mal stärker als im Grün. Die bekannte scharfe Absorptionsbande des Chlorophylls liegt im Rot bei  $\lambda = 660 - 680 \mu\mu$ . Meine Versuche zeigen, daß keine Beziehung zwischen Stärke der Absorption und photochemischer Wirkung besteht, vorausgesetzt, daß die Absorption vollständig ist. Natürlich muß dies so sein, wenn das Äquivalent-Gesetz gilt, trotzdem ist es erwähnenswert, weil es im Gegensatz zu vielen, in der Literatur geäußerten Meinungen steht.

Der zweite Punkt betrifft die Kohlensäure-Assimilation. Bestimmt man φ bei der Assimilation der Kohlensäure, so findet man, wie O. Warburg und E. Negelein gezeigt haben, daß φ vom Rot zum Blau hin abnimmt. Warburg und Negelein haben diesen Gang mit der Wellenlänge quantentheoretisch erklärt und aus ihren Versuchen geschlossen, daß jedes von dem Chlorophyll absorbierte Quantum, unabhängig von seiner Energie, in der lebenden Pflanze die gleiche chemische Wirkung hervorbringt. Meine Versuche beweisen, daß dieser Schluß richtig war. Denn so verschieden die Sekundär-Reaktionen bei der Kohlensäure-Assimilation und bei der photo-

<sup>7)</sup> Ann. Physik [4] **37**, 832, **38**, 881 [1912]; Journ. Physique **3**, 277 [1913]. — Verhandl. Dtsch. Physikal. Ges. **18**, 318 [1916]; vergl. hierzu J. Stark, Ann. Physik [4] **38**, 467 [1912].

<sup>8)</sup> Ztschr. Elektrochem. **26**, 54 [1920], **27**, 133 [1921]; Sitzungsber. d. Preuß. Akad. d. Wissensch. **1912**, 216, **1913**, 644.

<sup>9)</sup> Über Quantentheorie und photochemische Prozesse vergl. auch die wichtigen Arbeiten von W. Nernst und W. Noddack, Sitzungsber. d. Preuß. Akad. d. Wiss. **1923**, 110-115; dieselben, Physikal. Ztschr. **21**, 605 [1920]; L. Pusch, Ztschr. Elektrochem. **24**, 336 [1918]; H. Grüss, Ztschr. Elektrochem. **29**, 144 [1923]; J. Eggert und W. Noddack, Ztschr. Physik **20**, 299 [1923]; Naturwiss. **15**, 57 [1927]; F. Weigert und L. Brodmann, Ztschr. physikal. Chem. **120**, 24 [1926]; Chr. Winther, Ztschr. physikal. Chem. **120**, 32 [1926]; K. F. Bonhoeffer, Ztschr. Physik **13**, 94 [1923]; M. Bodenstein, Ztschr. physikal. Chem. **85**, 229 [1913]; E. J. Bowen, Journ. chem. Soc. London **123**, 1199, 2328 [1923]. — Im übrigen verweise ich auf den Band **120** [1926] der Ztschr. physikal. Chem., der einen wohl vollständigen Überblick über die bis 1925 vorliegenden Arbeiten gibt.

chemischen Sauerstoff-Übertragung auch sein mögen, so unzweifelhaft ist es, daß die photochemischen Primärvorgänge in beiden Fällen die gleichen sind.

### 5. Einfluß der Acceptor-Konzentration.

In den angeführten Versuchen war die Chlorophyll-Konzentration  $c_F = 1.54 \cdot 10^{-3}$  Mole/Liter, die Acceptor-Konzentration  $c_A = 750 \cdot 10^{-3}$  Mole/Lit. Hält man die Chlorophyll-Konzentration konstant, geht aber mit der Acceptor-Konzentration herunter, so sinkt die photochemische Wirkung. Tabelle 4 enthält ein Versuchsbeispiel, in dem — für die Wellenlänge  $\lambda = 578 \mu\mu$  — der Einfluß der Acceptor-Konzentration  $c_A$  gemessen wurde, und zwar für  $c_A$  Werte zwischen  $0.75 \cdot 10^{-3}$  und  $75.0 \cdot 10^{-3}$ .

Tabelle 4.

Versuch Nr. VI.  $\lambda = 578 \mu\mu$ ,  $c_F = 1.54 \times 10^{-3}$ . Temperatur 18°. Gasraum: Luft.

$c_A$	$\varphi$ (cmm/cal)	$\varphi/\varphi_0$
$0.75 \times 10^{-3}$	48	0.10
$1.88 \times 10^{-3}$	109	0.24
$7.5 \times 10^{-3}$	199	0.44
$25.0 \times 10^{-3}$	322	0.71
$75.0 \times 10^{-3}$	392	0.86

Aus Figur 1 erkennt man, daß nur für große Werte von  $c_A$  das Äquivalent-Gesetz erfüllt ist. So entsteht die Frage, wie sich die photochemische Wirkung mit der Wellenlänge unter Bedingungen ändert, unter denen  $\varphi$  kleiner ist, als es das Äquivalent-Gesetz verlangt. Zur Entscheidung wählte ich eine Acceptor-Konzentration, bei der im Gelb  $\varphi/\varphi_0$  ungefähr 0.5 war und bestimmte  $\varphi$  für 4 verschiedene Wellenlängen. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 zusammengestellt.

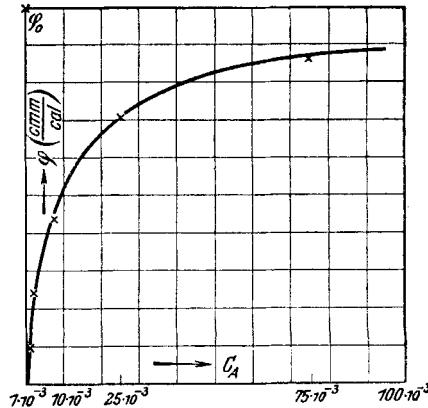


Fig. 1.

Tabelle 5.

Versuch Nr. VII.  $c_A = 10 \times 10^{-3}$ ,  $c_F = 1.54 \times 10^{-3}$ . Temperatur 18°. Gasraum: Luft.

Farbe	Wellenlänge $\mu\mu$	$\varphi$ (cmm/cal)	$\varphi_0$ (cmm/cal)	$\varphi/\varphi_0$
rot	655	274	517	0.53
gelb	578	248	456	0.54
grün	546	240	431	0.56
blau	436	186	344	0.54

Aus Tabelle 5 folgt, daß auch dann, wenn das Äquivalent-Gesetz nicht erfüllt ist, der von der Quanten-Theorie verlangte Gang mit der Wellenlänge

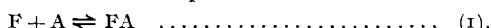
gefunden wird. Denn  $\varphi/\varphi_0$  ist in allen 4 Spektralbezirken innerhalb der Fehlergrenzen gleich, oder — was dasselbe besagt — die photochemischen Wirkungen verhalten sich untereinander wie die zugehörigen Wellenlängen:

$\varphi$ rot	$\varphi$ gelb	$\varphi$ gelb	$\varphi$ grün	$\varphi$ rot
$\varphi$ gelb	$\varphi$ grün	$\varphi$ blau	$\varphi$ blau	$\varphi$ blau
berechnet: 1.13	1.06	1.32	1.25	1.50
gefunden: 1.10	1.03	1.33	1.29	1.47.

### 6. Das Verhältnis $c_A/c_F^{10})$ .

Nach den vorstehenden Versuchen steigt die photochemische Wirkung  $\varphi$  bei konstanter Farbstoff-Konzentration  $c_F$  mit der Acceptor-Konzentration  $c_A$  und erreicht für große Werte von  $c_A$  den Grenzwert  $\varphi_0$ .

Zunächst liegt es nahe, die Wirkung von  $c_A$  auf  $\varphi$  durch die Annahme zu erklären, daß sich der (unbestrahlte) Farbstoff F mit dem Acceptor A verbindet:



und daß nur die verbundenen Farbstoff-Moleküle photochemisch reagieren:

$$\frac{\varphi}{\varphi_0} = \frac{c'_F}{c_F} \quad \dots \quad (2),$$

wo  $c'_F$  die Konzentration an gebundenem Farbstoff,  $c_F$  die Gesamt-Konzentration an Farbstoff bedeutet.

Ist K die Affinitätskonstante der Reaktion (1),  $c_A$  die Konzentration an freiem Acceptor, so ist:

$$\frac{c'_F}{(c_F - c'_F) \times c_A} = K \quad \dots \quad (3),$$

und nach (2) und (3):

$$\frac{\varphi}{\varphi_0} = \frac{c'_F}{c_F} = \frac{K c_A}{1 + K c_A} \quad \dots \quad (4).$$

Macht man  $c_A$  groß gegen  $c_F$ , so ist  $c_A$  sehr nahe gleich der Gesamtkonzentration an Acceptor. Dann ist  $c'_F/c_F$  und damit  $\varphi/\varphi_0$  vollständig durch die Gesamtkonzentration an Acceptor bestimmt, insbesondere unabhängig von der Farbstoff-Konzentration  $c_F$ . Die Prüfung dieser Konsequenz der Gleichung (4) ergab:

(λ 436)	$c_F$	$c_A$	$\varphi/\varphi_0$
Versuch Nr. VII ....	$1.54 \times 10^{-3}$	$10 \times 10^{-3}$	0.5
„ „ VIII ....	$1.54 \times 10^{-4}$	$10 \times 10^{-3}$	0.94.

Wurde also bei großem und konstantem  $c_A$  die Farbstoff-Konzentration  $c_F$  auf  $1/10$  vermindert, so blieb die photochemische Wirkung nicht konstant, sondern stieg auf fast das Doppelte. Es folgt daraus, daß die Gleichungen (1) bis (4) in Widerspruch zu den Tatsachen stehen, und an diesem Schluß ändert sich nichts, wenn wir in Gleichung (1) statt eines Acceptor-Moleküls mehrere Acceptor-Moleküle mit dem Farbstoff reagieren lassen. Offenbar ist es nicht möglich, den Einfluß von  $c_A$  und  $c_F$  auf  $\varphi$  durch Annahme einer dissoziierenden Farbstoff-Acceptor-Verbindung zu erklären.

Dann sind die Tatsachen: Farbstoff und Acceptor sind frei in der Lösung. Überschüssiger Farbstoff stört die photochemische Reaktion, der Acceptor begünstigt sie, das Lösungsmittel ist indifferent. Folgende Gleichung, in der K eine empirische Konstante bedeutet, faßt das Ergebnis der Messungen zusammen:

<sup>10)</sup> Diesen Abschnitt verfaßte Hr. O. Warburg.

$$\frac{\varphi}{\varphi_0} = \frac{\frac{c_A}{c_F} \times K}{\frac{c_A}{c_F} \times K + 1} \quad \dots \dots \dots \quad (5).$$

Eine wesentliche Eigenschaft der Gleichung (5) ist, daß  $\varphi/\varphi_0$  durch  $c_A/c_F$  vollständig bestimmt ist. Die Tabelle 6 und Figur 2 enthält eine Zusammenstellung aller Versuche, in denen  $c_A$  bei konstantem  $c_F$  und  $c_F$  bei konstantem  $c_A$  variiert wurde. Was die Konstante K der Gleichung (5) anbetrifft, so schwankt sie um einen Mittelwert von 0.20 (von 0.14 – 0.25). Diese Schwankungen sind unbedeutend, wenn man bedenkt, daß  $c_A/c_F$  von 0.49 bis 65, also um das 140-fache variiert worden ist.

Bemerkenswert ist, daß die empirische Konstante K der Gleichung (5) dem Verhältnis der Molekulargewichte von Acceptor und Farbstoff sehr nahe kommt. Ist das Molekulargewicht des Allyl-thioharnstoffs 116, das des Äthyl-chlorophyllids 652, so ist  $116/652 = 0.18$ , während für K als Mittelwert 0.20 gefunden wurde.

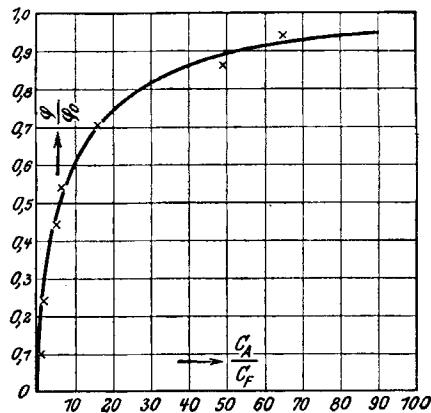


Fig. 2.

Tabelle 6.

Vers.-Nr.	$c_A$	$c_F$	$c_A/c_F$	$\varphi/\varphi_0$	K
VI	$0.75 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	0.49	0.105	0.24
	$1.88 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	1.23	0.24	0.255
	$7.5 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	4.9	0.44	0.16
VII	$10.0 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	6.5	0.54	0.18
VI	$25.0 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	16.2	0.71	0.15
	$75.0 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	49	0.86	0.14
VIII	$10.0 \times 10^{-3}$	$0.154 \times 10^{-3}$	65	0.94	0.23
Mittel:					0.195

### 7. Die Photoxydation des Chlorophylls.

Wie in der Einleitung erwähnt, oxydiert sich Chlorophyll bei Belichtung in acceptor-freier Lösung, ein Vorgang, über den viel gearbeitet worden ist<sup>11)</sup>. Die Oxydations-Geschwindigkeit ist hierbei aber 100-mal kleiner als bei der „Sauerstoff-Übertragung“. Für  $\lambda = 578 \mu\mu$  erhielt ich ein  $\varphi$  von 4 ( $\varphi/\varphi_0 < 0.01!$ ). Frische Lösungen von Chlorophyll in Aceton (Vers. IX) geben allerdings etwas höhere Werte. Diese beruhen jedoch auf den Spuren von Verunreinigungen, die auch in reinem Aceton vorhanden sind.

<sup>11)</sup> Willstätter und Stoll, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, G. Springer, Berlin 1918. — H. Wager, Proceed. Roy. Soc., Ser. B. 87, 386 [1914]; K. Noack, Naturwiss. 14, 385 [1926]; J. Jørgensen und F. Kidd, Proceed. Roy. Soc., Ser. B. 89, 342 [1916].

### 8. Photochemische Wirkung des Hämatoporphyrins.

Ähnlich wie Chlorophyll verhalten sich viele andere fluoreszierende Farbstoffe<sup>12)</sup>. Zwei Versuche mit Hämatoporphyrin und Allyl-thioharnstoff, beide gelöst in Aceton, seien im Folgenden angeführt. Die Versuche lassen erkennen, daß sich die photochemischen Wirkungen im Gelb und Blau wie die Wellenlängen verhalten und weiter, daß das Äquivalent-Gesetz erfüllt ist (Tabelle 7).

Tabelle 7.

$c_A = 2.6 \times 10^{-3}$ ,  $c_F = 1.1 \times 10^{-3}$ . Temperatur  $19^0$ . Gasraum: Luft.

Farbe	Wellenlänge $\mu\mu$	Vers.-Nr. X $\varphi$	Vers.-Nr. XI $\varphi$	Mittelwert von $\varphi$	$\varphi/\varphi_0$
gelb	578	462	443	452	0.99
blau	436	350	332	341	0.99
Quotient gelb/blau	1.32	1.32	1.33		

### Beschreibung der Versuche.

Die Versuchsanordnung entspricht im wesentlichen der von O. Warburg und E. Negelein<sup>13)</sup> beschriebenen. Abweichend von der früheren Anordnung wird zur bolometrischen Energie-Messung das Licht direkt aus dem Glas-Thermostaten in das Bolometer gespiegelt. Hierzu dient ein zur Strahlungsrichtung senkrecht stehender, um seine lotrechte Achse drehbarer Spiegel. Er wird in den Thermostaten hinabgelassen, verdunkelt den Versuchstrog und wirft die Strahlung durch die planparallele Wand des Thermostaten zurück in das ein wenig seitlich davor aufgestellte Bolometer.

#### a) Berechnung von E und W.

I. Wenn  $\omega$  der abgelesene Kompensations-Widerstand ist, so wird die pro Sekunde in den Versuchstrog eingestrahlte Energie bestimmt durch:

$$E = 1.18 \times 22.6 \times 10^{-6} \times 4.62 \times 4030/\omega.$$

Hierin ist 1.18 ein Korrektionsfaktor,  $22.6 \times 10^{-6}$  bedeutet die Intensität in 1 m Entfernung der Hefner-Lampe<sup>14)</sup>, 4.62 ist die bestrahlte Bolometerfläche (qcm), 4030 die Größe des Kompensations-Widerstandes bei der Eichung des Bolometers ( $\Omega$ ). — Bei einer Bestrahlungsdauer von 5 Min. = 300 Sek. beträgt die in den Trog gelangte Energie:

$$E = 1.18 \times 22.6 \times 10^{-6} \times 4.62 \times 4030/\omega \times 300 = 149/\omega.$$

II. Es ist  $h \times K_{O_2} = W$ ,

wenn  $h$  die manometrisch gemessene Druckdifferenz in mm,  $K_{O_2}$  die „Gefäß-Konstante“ für Sauerstoff,  $W$  die absorbierten cmm  $O_2$  bedeutet.

$K_{O_2}$  ist gegeben durch

$$\left( 1 + \frac{\frac{A}{2} \times \frac{273}{T}}{Vg' \frac{273}{T} + Vf' \alpha'} \right) \times \left( \frac{Vg \frac{273}{T} + Vf \alpha}{P_0} + \frac{A}{2} \times \frac{273}{T} \right)$$

<sup>12)</sup> vergl. Biochem. Ztschr. **179**, 161 [1926]. Ferner W. Hausmann, Biochem. Ztschr. **15**, 12 [1909].

<sup>13)</sup> Ztschr. physikal. Chem. **106**, 198 [1923].

<sup>14)</sup> Nach W. Gerlach, Physikal. Ztschr. **14**, 577 [1903].

Hierin ist

A = Querschnitt der Capillare in qmm,  
 Vg = Volumen des Gasraumes im Versuchstrog in cmm.

Vg' ≡ Kontrolltrog " u. "

V<sub>f</sub> = der Flüssigkeit Versuchstrog

P = Normaldruck in  $\text{mm}$  Sperrflüssigkeit (Capronsäure)

$T_0$  = Normaldruck in mm Sperma

$T$  = absolut. Versuchs-Temperatur,

$\alpha$  = Bunsen'scher Absorptionskoeffizient für Sauerstoff,  $\beta$  = Oxydationsgrad.

$\alpha' = \text{,,} \quad \text{,,}$  des Gases im Kontrolltrog

( $Vg = V - Vf$ , wenn  $V$  das Volum des Versuchstroges ist, ebenso  $Vg' = V' - Vf'$ .)

Die Zahlenwerte sind:  $A = 0.158$ ,  $V = 53220$ ;  $V' = 58400$ ,  $Vf = 30000$  (35000);  $Vf' = 30000$  (35000);  $P_0 = 11160$ ;  $T = 291$ ;  $\alpha = 0.224^{15}$ );  $\alpha' = \alpha$  (der Fehler, den man begeht, wenn man  $\alpha' = \alpha$  setzt, ist zu vernachlässigen).

Für eine Versuchs-Temperatur von  $18^{\circ}$  und  $V_f = V'_f = 30$  ccm Aceton, ist  $K_{O_2} = 2.70$ ; für  $V_f = V'_f = 35$  ccm ist  $K_{O_2} = 2.37$ . Das Volumen  $V$  und  $V'$  der Tröge des Differentialmanometers wurde durch Auswägen mit Wasser bzw. Quecksilber ermittelt<sup>16)</sup>.

b)  $\varphi_0$ .

Die Absorption von einem Lichtquant habe die Reaktion mit 1 Molekül Sauerstoff zur Folge. Dann ist für den Umsatz von 1 Mol Sauerstoff 1 „Mol Quanten“ (= Valenzstrahlung =  $N_0 h \nu$ ) erforderlich. Drücken wir das Mol Sauerstoff in cmm, die Valenzstrahlung in cal aus, so ist:

$$\varphi_0 = \frac{22400 \times 10^8}{N_h v} [\text{cm}^3/\text{cal}]$$

( $N_0$ : Zahl der Moleküle pro Mol,  $h$ : Planck'sches Wirkungsquantum in cal.sec,  $\nu$ : Frequenz der absorbierten Strahlung). Vergl. Tabelle 3.

### c) Isolierung der einzelnen Wellenlänge.

Aus dem Licht der Quecksilberlampe wurde das Ultraviolett durch 2-proz. Chinin-Lösung, das Rot durch Kupfersulfat (6%) weggenommen. Dazu kam zur Isolierung der blauen Linie  $\lambda$  436  $\mu\mu$  eine Cuvette mit Säure-Rhodamin 0.003%; desgl.  $1/10$ -molar Kupfersulfat-Ammoniak. Für die Linie  $\lambda$  546  $\mu\mu$  grün wurde 0.02% Tartrazin und ein Didymglas von Schott u. Gen. gebraucht. Zur Isolierung der gelben Linie  $\lambda$  578  $\mu\mu$  dienten 0.02% Tartrazin und 0.02% Erythrosin in einer Cuvette. Die Schichtdicke der Farblösungen betrug 1 cm.

Der Monochromator lieferte nach Vorschalten einer Rotscheibe ein schmales Lichtbündel von  $\lambda$  640–670  $\mu\mu$ . Mittlere Wellenlänge also 655  $\mu\mu$ .

#### d) Gewinnung des Chlorophylls usw.

Als Ausgangsmaterial diente *Aegopodium Podagraria* (Giersch), auf das uns in liebenswürdiger Weise Hr. Prof. Kolkwitz aufmerksam gemacht hatte. Die Darstellung erfolgte nach der von Willstätter<sup>17)</sup> gegebenen

<sup>15)</sup> Aus G. Levi, Gazz. chim. Ital. **31**, II 513 [1907].

<sup>16)</sup> Eine Ableitung der Formel für das Differential-Manometer findet sich in O. Warburg: „Über den Stoffwechsel der Tumoren“, Verlag von Julius Springer, Berlin, 1926.

<sup>17</sup>) R. Willstätter und A. Stoll: „Untersuchungen über Chlorophyll“, S. 198 (Springer) Berlin 1913.

Methode für krystallisiertes Äthyl-chlorophyllid. Die frischen grünen Blätter werden auf Drahtgittern im Dunkeln an der Luft möglichst rasch getrocknet. Die Blätter werden entstielt, im Mörser zerkleinert und mit der Hand zerrieben. Man läßt 200 g Blattmehl mit 450 ccm Alkohol und 20 ccm *n*-Ammoniak im Pulverglas 2 Tage stehen, versetzt sodann mit ca. 1 l Aceton und saugt nach 2 Stdn. ab. Das Blattmehl wird auf der Nutsche so lange mit Aceton extrahiert, bis das Filtrat hellgrün abfließt. Man gibt zu dem Filtrat viel Talk (50—100 g) und läßt langsam unter Umrühren das gleiche Volumen Wasser zufüßen. Nach 2-stdg. Stehen wird abgesaugt und der Talk mit etwas 50-proz. Alkohol und mit 50-proz. Aceton gewaschen. Jetzt wird die Talkschicht trocken gesaugt und mehrmals mit Petroläther zur Lösung des Carotens behandelt. Bei der nun folgenden Extraktion des Xanthophylls mit kleinen Mengen Äther geht etwas Chlorophyllid verloren, da dieses in Äther löslich ist. Der Talk, der das Äthyl-chlorophyllid enthält, wird auf der Zentrifuge wiederholt mit absolutem Alkohol ausgezogen. Aus der filtrierten alkoholischen Lösung fällt man durch vorsichtiges Verdünnen mit destilliertem Wasser das Äthyl-chlorophyllid in kleinen dreieckigen Krystallen (Mikroskop). Die abzentrifugierten, gewaschenen und getrockneten Krystalle werden dann nochmals auf der Zentrifuge mit kleinen Mengen Petroläther und Äther behandelt, um die letzten Spuren der gelben Pigmente zu entfernen, und endlich im Vakuum getrocknet.

Das aus Hämmin mit Eisessig-Broniwasserstoff dargestellte Hämatoporphyrin wird mehrmals aus Natronlauge umgefäßt und sorgfältig gewaschen. Das so gewonnene amorphe Hämatoporphyrin ist in Aceton leicht mit schöner roter Farbe löslich.

#### e) Die Versuchslösung.

Allyl-thioharnstoff (Thiosinamin) ist in Aceton leicht löslich. Das käufliche Präparat gibt gelblich gefärbte Lösungen und muß daher aus nicht zu wenig Aceton 2—3-mal umkristallisiert werden.

Um bei einer Chlorophyll-Konzentration von 0.1% photochemische Äquivalenz zu finden, muß die Versuchslösung etwa 6—12% Thiosinamin enthalten. In den Versuchen Nr. I—IV war die Zusammensetzung folgende: 8.6 g Thiosinamin und 0.1 g Äthyl-chlorophyllid wurden in 100 ccm Aceton aufgelöst, das 1% Wasser und 2% Pyridin enthielt. Der Pyridin-Zusatz hat den Sinn, die „Lebensdauer“ der Lösung zu verlängern. Man kann mehrere Versuchsreihen mit der gleichen Lösung ausführen, ohne befürchten zu müssen, daß die Ausbeute sinkt, was in pyridin-freier Lösung manchmal der Fall war. Auf die photochemische Äquivalenz hat der Zusatz keinen Einfluß. (Versuche Nr. X und XI, mit Hämatoporphyrin, sind in reinem wasserfreiem Aceton ausgeführt worden.)

Nach dem Einfüllen der Lösung<sup>18)</sup> in den Versuchstrog und der gleichen Menge reinen Acetons in den Kontrolltrog des Differentialmanometers dauert es bei dem hohen Dampfdruck des Acetons (180 mm; 20°) sehr lange, bis die Druckschwankungen im Manometer unmerklich geworden sind. Die Ausgleichszeit beträgt 1—2 Stdn., während der zuerst mit offenen, dann mit geschlossenen Hähnen geschüttelt wird.

<sup>18)</sup> Es empfiehlt sich, die fertige Lösung erst 24 Stdn. im Dunkeln stehen zu lassen.

Vers-Nr.	$V_f, V_f' \text{ in cmn}$	$c_A$	$c_F$	$K_{O_2}$	$\lambda$ $\mu\mu$	$h$ mm	$W$ cmnn	$\omega$ $Q$	$E$ cal	$\Phi$ cmnn/cal
I	$V_f = 30, V_f' = 33$	$7.5 \times 10^{-1}$	$1.54 \times 10^{-3}$	2.70	436 546 578 655	8.1 9.9 10.0 12.4	21.9 26.7 27.0 33.5	2500 2460 2640 2300	0.0596 0.0606 0.0565 0.0648	367 440 478 517
II	$V_f = 30, V_f' = 33$	$7.5 \times 10^{-1}$	$1.54 \times 10^{-3}$	2.70	436 546 578 655	8.95 20.2 11.35	24.15 54.5 30.6	2520 1230 2500	0.0592 0.121 0.0596	409 450 514
III	$V_f = 30, V_f' = 33$	$7.5 \times 10^{-1}$	$1.54 \times 10^{-3}$	2.70	436 546 578 655	7.1 9.0 9.8 12.6	19.2 24.3 26.4 34.0	2430 2500 2570 2880	0.0614 0.0596 0.0580 0.0717	313 408 456 474
IV	$V_f = 30, V_f' = 33$	$7.5 \times 10^{-1}$	$1.54 \times 10^{-3}$	2.70	578 578 436 436	20.2 25.4 12.3 6.2	54.5 25.4 29.2 14.7	1230 2600 2470 4890	0.121 0.121 0.0964 0.0487	450 444 303 302
V	$V_f = V_f' = 35$	$2.6 \times 10^{-1}$	$0.7 \times 10^{-3}$	2.37	578 578 436 436	9.4 5.0 6.2 6.2	25.4 13.5 14.7 14.7	2600 1200 2470 4890	0.0574 0.121 0.0964 0.0487	444 444 303 302
VI	$V_f = V_f' = 30$	$0.75 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	2.70	578 578 578 578	2.15 5.0 9.2 14.8	5.8 13.5 24.8 40.0	1230 1200 1190 1200	0.121 0.121 0.125 0.124	4.8 109 199 322
VII	$V_f = V_f' = 30$	$75.0 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-3}$	2.70	578 578 655 655	18 18 13.7 13.7	48.6 12.7 37.0 37.0	1200 1200 1100 1100	0.124 0.124 0.135 0.135	392 392 274 274
VIII	$V_f = V_f' = 30$	$1 \times 10^{-2}$	$0.154 \times 10^{-3}$	2.70	436 546 578 578	7.3 8.9 1.45 1.2	19.7 24.0 3.91 3.24	1400 1500 2240 1980	0.106 0.10 0.0665 0.0754	325 240 59 43
IX	$V_f = V_f' = 30$	—	$1 \times 10^{-3}$	2.70	436 436	2.69 2.69	12.7 34.1	2440 2190	0.0975 0.108	350 462
X	$V_f = 30, V_f' = 35$	$2.6 \times 10^{-1}$	$1.1 \times 10^{-3}$	2.69	436 578	18.7 50.0	31.7 21.9	2490 2190	0.0956 0.108	332 443
XI	$V_f = 30, V_f' = 35$	$2.6 \times 10^{-1}$	$1.1 \times 10^{-3}$	2.69	578	17.8	47.9	2190	0.108	443

## f) Protokoll der Messungen (Tabelle auf S. 765).

Es bedeutet:  $V_f$  Volumen der Flüssigkeit im Versuchstrog,  $V_f'$  Volumen der Flüssigkeit (Aceton) im Kontrolltrog,  $c_A$  Konzentration des Acceptors,  $c_F$  Konzentration des Farbstoffes (Versuch I—IX Chlorophyll, Versuch X und XI Hämatochlorin),  $K_{O_2}$  die Gefäßkonstante für Sauerstoff,  $\lambda$  die Wellenlänge in  $\mu\mu$ ,  $h$  die abgelesene Druckdifferenz in mm,  $W$  (=  $h \cdot K_{O_2}$ ) den verbrauchten Sauerstoff in cmm,  $\omega$  den gemessenen Widerstand,  $E$  die eingestrahlte Energie (in Versuch I—IX ist  $E = 149/\omega$ , in Versuch X—XI ist  $E = 238/\omega$ ),  $\eta$  die photochemische Wirkung ( $W/E$ ). Temperatur  $18^\circ$ , Belichtungszeit 5'.

Für reiche Belehrung und freundlichste Unterstützung bin ich Hrn. Prof. O. Warburg ganz besonders verpflichtet. Ihm, sowie Hrn. E. Negelein, möchte ich auch hier meinen herzlichsten Dank sagen. Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich für die Gewährung von Mitteln zur Durchführung dieser Arbeit.

## 134. A. E. Tschitschibabin und A. W. Kirsanow:

 $\alpha, \beta'$ -Diamino-pyridin und  $\alpha, \beta$ -Diamino-pyridin.

(Eingegangen am 27. Januar 1927.)

Das  $\alpha, \beta'$ -Diamino-pyridin (IV) wurde zuerst von H. Meyer und Staffen<sup>1)</sup> aus dem Azid der Isocinchomeronsäure nach Curtius und ein wenig später von dem einen von uns<sup>2)</sup> durch Reduzieren des  $\alpha$ -Amino- $\beta'$ -nitro-pyridins durch Kochen mit Zinkstaub und alkoholischem Ätzkali dargestellt. Nach dem Umkristallisieren aus Benzol bildet die Base Nadelchen vom Schmp.  $107-109^\circ$ , die an der Luft und am Licht ziemlich unbeständig sind. Die Ausbeuten bei obiger Darstellung aus dem Amino-nitro-pyridin ließen noch viel zu wünschen übrig, und auch einige Versuche, sie durch Anwendung anderer Reduktionsmittel zu verbessern, gaben anfänglich keine besseren Resultate<sup>3)</sup>. Vor kurzem wurde jedoch von uns eine gute Darstellungs-Methode in der Reduktion des Amino-nitro-pyridins mit Zinn und Salzsäure ermittelt, bei welcher nicht nur die Ausbeuten viel besser sind, sondern auch gegen Luft und Licht viel beständigere Diamino-pyridin-Präparate erhalten werden. Wie es scheint, war die Unbeständigkeit der früheren Substanzproben durch die Gegenwart gewisser Verunreinigungen bedingt, welche die Luft-Oxydation katalytisch begünstigten. Die neue Methode macht das  $\alpha, \beta'$ -Diamino-pyridin nunmehr leicht zugänglich und ermöglicht die weitere ausführliche Untersuchung dieses einzigen *para*-Diamins des Pyridins.

Von Tschitschibabin und Posdnjakow<sup>3)</sup> ist bereits die wichtige und charakteristische Eigenschaft des  $\alpha, \beta'$ -Diamino-pyridins entdeckt worden, daß bei der Einwirkung von salpetriger Säure auf die Salze der Base zuerst die in der  $\beta'$ -Stellung befindliche Aminogruppe diazotiert wird. Auf diese Weise bildet sich ein Diazoniumsalz, welches die in der  $\alpha$ -Stellung befindliche Aminogruppe noch intakt enthält. Dies ermöglichte uns, verschiedene

<sup>1)</sup> Monatsh. Chem. **34**, 517 [1913].

<sup>2)</sup> Tschitschibabin, Journ. Russ. phys.-chem. Ges. **46**, 1272 [1914].

<sup>3)</sup> Tschitschibabin, Posdnjakow, Journ. Russ. phys.-chem. Ges. **57**, 297 [1925].