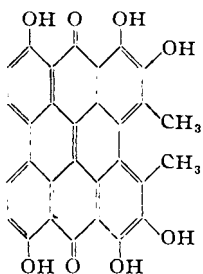


274. Günter Scheibe und Adolf Schöntag: Lichtabsorption und Fluoreszenz des Hypericins.

[Aus d. Physik.-chem. Institut u. d. Vierjahresplan-Institut für Spektralanalyse d. Techn. Hochschule München.]

(Eingegangen am 19. November 1942.)

Das Hypericin wurde von Brockmann¹⁾ aus der Blüte des Johanniskrauts gewonnen und seine Konstitution^{1a)} gemäß der nebenstehenden Formel bestimmt. Lediglich die Stellung der OH-Gruppen ist noch nicht endgültig



festgelegt. Der Farbstoff zeigt bei Betrachtung mit dem Spektroskop besonders schmale Absorptionsbanden und auch sehr kräftige Fluoreszenz. Eine genauere Untersuchung des Absorptions- und Fluoreszenz-Spektrums schien daher lohnend¹⁾.

Die Messung des Absorptions-Spektrums wurde in einer äthylalkoholischen Lösung mit der Konzentration 6.31×10^{-5} (Mol/l) durchgeführt. Im Wellenlängenbereich von 7000—4000 Å wurde mit einem großen Leitz-Monochromator in Verbindung mit einem Leitz-Photometer gemessen. Im roten Teil des Spektrums wurde durch den

Monochromatorspalt ein Bereich von etwa 20 Å ausgeblendet, so daß auch bei den schmalen Absorptionskurven keine Fälschung der Form auftritt. Die Genauigkeit der Extinktionswerte beträgt mindestens $\pm 5\%$. In manchen Fällen wurden die Messungen nicht mit dem Auge, sondern mit Monochromator und einem Selenpersperrschichtphotoelement durchgeführt. Die Genauigkeit ist hier die gleiche für die hohen Extinktionen, für die kleinen Extinktionen ist sie wesentlich größer. Im ultravioletten Spektralgebiet wurde nach der Sektormethode von Scheibe²⁾ und nach der Methode von Halban, Kortüm und Szigeti³⁾ gearbeitet. Die Genauigkeit in der Extinktion beträgt hier 2—3%. Der Extinktionskoeffizient ϵ ist definiert durch

$$\epsilon = \frac{1}{c \cdot d} \log \frac{I_0}{I} \quad (c \text{ in Mol/l, } d \text{ in cm, Basis 10}).$$

Das Absorptionsspektrum ist aus Abbild. 1 ersichtlich, die spektrale Lage der Hauptmaxima und die zugehörigen Werte sind aus der Tafel 1 zu entnehmen.

Tafel 1.

Lage der Maxima bei $+21^\circ$	ϵ -Wert
5897 Å 16951 cm ⁻¹	4.16×10^4
5480 Å 18241 cm ⁻¹	2.35×10^4
5085 Å 19659 cm ⁻¹	0.87×10^4
4728 Å 21143 cm ⁻¹	1.30×10^4
3750 Å 26659 cm ⁻¹	0.83×10^4
3310 Å 30200 cm ⁻¹	2.62×10^4
2840 Å 35200 cm ⁻¹	3.68×10^4

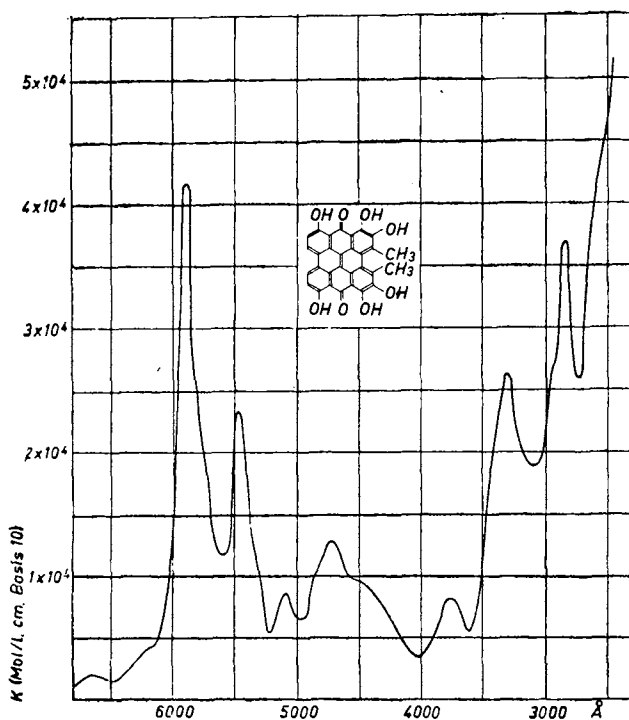
¹⁾ Wir verdanken Hrn. Prof. Brockmann eine Probe des Farbstoffs.

^{1a)} H. Brockmann, F. Poll, K. Maier u. M. N. Haschad, A. **558**, 1 [1942].

²⁾ B. **57**, 1331 [1924].

³⁾ Ztschr. Elektrochem. **42**, 628 [1936].

Hier sollen die beim Sensibilisierungsversuch gemachten Beobachtungen mitgeteilt werden. Die Sensibilisierungsbanden, die man bei der Badesensibilisierung erhält, sind nur sehr schwach. Man erhält sie nur, wenn man die alkoho-



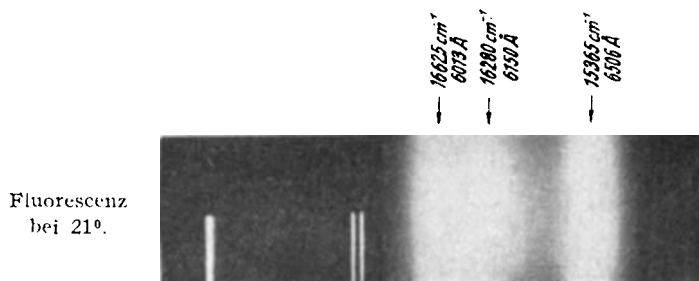
Abbild. 1. Lichtabsorption von Hypericin in Äthylalkohol. $c = 6.31 \times 10^{-5}$ Mol/l
 $T = 294^\circ \text{K}$.

lische Lösung mit 10 Tln. Wasser (dest.) verdünnt, sofort die Badesensibilisierung etwa 1 Stde. durchführt, darnach kurz abwäscht und die Platte im Luftstrom etwa 30 Min. trocknet. Die Belichtung ist ebenfalls unmittelbar anzuschließen. Auf diese Weise erhält man eine, wenn auch schwache Sensibilisierungsbande mit einem Maximum bei $6025 \pm 15 \text{ Å}$ (16600 cm^{-1}). Eine weitere Sensibilisierungsbande mit einem Maximum bei $5665 \pm 20 \text{ Å}$ (17650 cm^{-1}) muß als fraglich angesehen werden, da sie nicht immer erhalten wird. Dieser Farbstoff ist somit ein typisches Beispiel dafür, daß ein in Lösung gut fluoreszierender Stoff nur ein schlechter Sensibilisator ist, ganz im Gegensatz zu der Regel von Hurd und Livingston⁴⁾, nach der ein gut fluoreszierender Stoff auch ein guter Sensibilisator ist. Auch die Farbstoffe der Pseudoisocyaninreihe widersprechen dieser Regel, da sie in monomolekularer wäßriger Lösung keine Spur von Fluoreszenz zeigen, dabei trotzdem gute Sensibilisatoren darstellen.

Die Fluoreszenzmessungen wurden mit dem großen Glasspektrographen von Fueß mit Brennweite des Kollimatorrohrs 300 mm, Öffnungs-

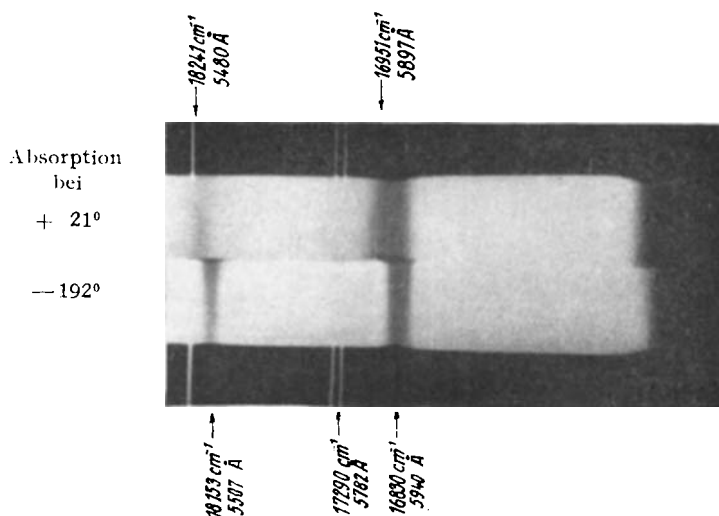
⁴⁾ Hurd u. Livingston, Journ. phys. Chem. **44**, 865 [1940]; J. Franck u. R. Livingston, Journ. chem. Physics **9**, 184 [1941].

verhältnis 1:5 aufgenommen. In Abbild. 2a ist eine Vergrößerung des Fluoreszenz-Spektrums von Hypericin wiedergegeben. Als Wellenlängenmarken wurde das Hg-Spektrum verwendet. Die Fluoreszenz der äthylalkohol. Lösung



Abbild. 2 a.

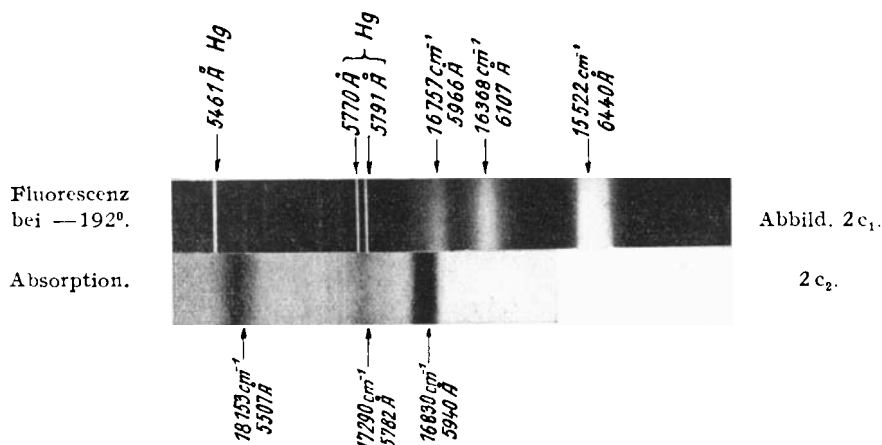
wurde mit der Hg-Linie 3655 Å erregt. Aus der Abbildung ist bereits zu sehen, daß das Fluoreszenz-Spektrum eine Struktur besitzt. Die Photometrierung mittels eines thermoelektrischen Photometers von Fueß liefert drei Maxima, deren Wellenlänge bzw. Wellenzahl in die Abbild. 2a eingetragen ist. Nur die langwelligste Fluoreszenzbande ist gegen die übrigen Fluoreszenzbanden



Abbild. 2 b.

deutlich abgesetzt. Die Lage der kurzwelligsten Fluoreszenzbande bei etwa 6013 Å ist so nahe am Maximum der ersten Absorptionsbande bei 5897 Å, daß durch die Absorption die Intensitätsverteilung der Fluoreszenzbande geändert wird, so daß das Intensitätsmaximum der Fluoreszenzbande zu langwellig erscheint. Hieraus ist die Vermutung berechtigt, daß Absorptions- und Fluoreszenzbande in Wirklichkeit noch näher aneinanderliegen. Die Entfernung ist ungewöhnlich klein und wird, wie weiter unten gezeigt, bei tiefer Temperatur noch kleiner. Außer mit der Hg-Linie 3655 kann das gesamte

Fluoreszenz-Spektrum in jeder der in Tafel 1 angegebenen Absorptionsbanden erregt werden, vom kurzwelligsten Gebiet bis zu der langwelligsten Bande



bei 5897 Å. In Abbild. 3 sind die beobachteten Emissions- und Absorptionsbanden eingetragen.

Zusammenhänge zwischen Fluoreszenz und Absorption wurden bereits von J. Stark⁵⁾ festgestellt. Von Lewschin⁶⁾ wurde das sogenannte Spiegelsymmetriegesetz der Fluoreszenz aufgestellt und bei Rhodamin, Rhodulin und Fluorescein erhärtet. Besser als bei diesen Farbstoffen mit sehr breiten Fluoreszenzbanden konnte dieses Spiegelsymmetriegesetz von W. Haußer, R. Kuhn und E. Kuhn⁷⁾ bei den Polyenen mit ihren schmalen Absorptions-

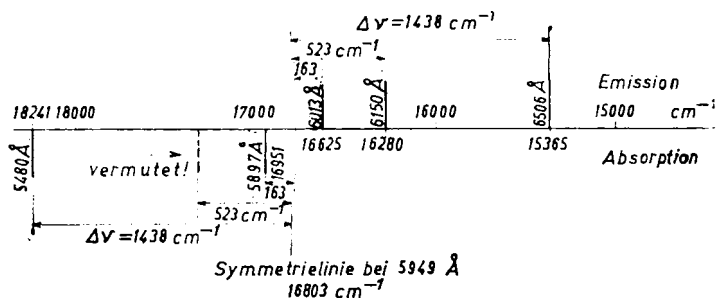


Abbildung 3. Zuordnung der Fluoreszenzbanden zu den Absorptionsbanden bei 21° .

und Fluoreszenzbanden erwiesen werden. Versucht man dieses Spiegelbildgesetz beim Hypericin zu prüfen, so zeigt sich zunächst, daß die Mitte zwischen der langwelligsten Fluoreszenzbande bei 6506 Å (15365 cm^{-1}) und der Absorptionsbande bei 5480 Å (18241 cm^{-1}) sehr nahe übereinstimmt mit der Mitte zwischen der kurzwelligsten Fluoreszenzbande 6013 Å (16625 cm^{-1}) und der

⁵⁾ Physik. Ztschr. **9**, 85 [1908].

⁶⁾ Ztschr. Physik **72**, 368 [1931].

⁷⁾ Ztschr. physik. Chem. [B] **29**, 445 [1935].

langwelligsten Absorptionsbande 5897 Å (16951 cm^{-1}). Lediglich für die mittlere Fluoreszenzbande bei 6150 Å (16280 cm^{-1}) fehlt die entsprechende Absorptionsbande. (Die Gesetzmäßigkeiten treten natürlich nur auf bei Verwendung der Wellenzahlen.) Bei genauer Betrachtung der Absorptionsbande bei 5897 Å (16951 cm^{-1}) fällt eine Unsymmetrie auf der Seite der kurzen Wellen auf, die die Vermutung nahelegt, daß die fehlende Absorptionsbande von der viel stärkeren Bande hier überdeckt wird.

Durch Anwendung tiefer Temperaturen wurde nun versucht, die bei etwa 17320 cm^{-1} vermutete Absorptionsbande von der langwelligsten Absorptionsbande bei 16951 cm^{-1} zu trennen. Zur Bestimmung der Lage der Absorptionsbanden bei tiefer Temperatur wurde die Cuvette mit der alkohol. Hypericin-Lösung vorsichtig in ein Dewar-Gefäß mit flüssigem Stickstoff eingebracht, wobei es gelingt, die Lösung glasig erstarrt zu erhalten. Die Cuvette in dem Dewar-Gefäß wurde möglichst nahe vor den Spalt des Spektrographen gebracht und mit parallelem Licht die Aufnahme durchgeführt. Bei der Aufnahme der Fluoreszenz wurde lediglich die Cuvette durch das unverspiegelte Dewar-Gefäß hindurch mit der gefilterten Hg-Linie 3655 bestrahlt, wobei die Belichtungszeit bei Verwendung der Agfa-ISS-Platte etwa 30 Min. betrug. Eine Vergrößerung der Absorptions- und Emissionsaufnahme ist in Abbild. 2c wiedergegeben. Bei -192° sind sowohl die Absorptions- als auch die Emissionsbanden wesentlich schmäler als bei Zimmertemperatur. Die bei 17320 cm^{-1} vermutete Absorptionsbande, die bei 21° von der langwelligsten Hauptbande nicht mehr getrennt war, ist nun deutlich von der Hauptbande getrennt (Abbild. 2c₂). Bei -192° liegt diese Bande bei 5782 Å (17290 cm^{-1}). In Abbild. 2b ist das Absorptions-Spektrum bei den beiden verschiedenen Temperaturen 21° und -192° nebeneinander aufgenommen. Daraus geht deutlich hervor, daß die Absorptionsbanden bei Temperaturerniedrigung eine Verschiebung nach langen Wellen erfahren, ganz in Übereinstimmung mit den Beobachtungen an den Polyenen und an sehr vielen anderen Stoffen⁸⁾ und im Gegensatz zu der polymeren Bande⁹⁾ des Pseudoisocyanins, die mit abnehmender Temperatur eine Verschiebung nach kurzen Wellen erleidet¹⁰⁾.

Im Gegensatz zu den Absorptionsbanden erfahren eine Verschiebung nach kurzen Wellen mit abnehmender Temperatur alle Emissionsbanden des Hypericins. Diese Beobachtung scheint im Zusammenhang mit dem Spiegelsymmetriegesetz zu stehen. Soll nämlich die Mittellinie der Spiegelsymmetrie von der Temperatur unabhängig sein, so muß bei einer Verschiebung der Absorptionsbanden nach langen Wellen bei Temperatursenkung notwendigerweise eine Verschiebung der Emissionsbanden nach kurzen Wellen erfolgen, damit die Symmetrie erhalten bleibt. Die Allgemeingültigkeit dieser Erscheinung muß noch geprüft werden. Auch eine Erklärung steht noch aus. Die Lage der Mittellinie läßt sich bei -192° ziemlich genau feststellen. In der Tafel 2 ist die Lage der Emissions- und Absorptionsbanden und die daraus errechnete Lage für die Mittellinie angegeben.

Es wäre verfehlt, die beiden Werte der dritten Zeile der Tafel 2 zur Bildung des Mittelwerts zuzulassen, und zwar wegen der oben schon behandelten starken Überschneidung der Emissionsbande mit der Absorptionsbande, die bei -192° noch stärker hervortritt. Infolge der Überschneidung von Emissions- und

⁸⁾ K. W. Hausser, R. Kuhn u. E. Kuhn, Ztschr. physik. Chem. [B] **29**, 417 [1935].

⁹⁾ G. Scheibe, Angew. Chem. **49**, 563 [1936]; **50**, 51, 212 [1937]; **52**, 631 [1939].

¹⁰⁾ Unveröffentlichte Untersuchungen von A. Schöntag.

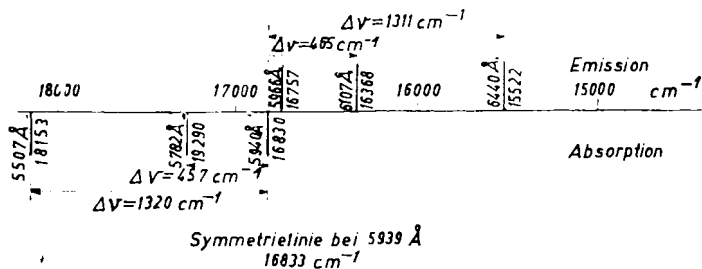
Tafel 2.

Lage der Emissions- und Absorptionsbanden des Hypericins in alkohol. Lösung bei -192° .

Emission	Absorption	Mittellinie
15522 cm^{-1}	18153 cm^{-1}	16838 cm^{-1}
16368 cm^{-1}	17290 cm^{-1}	16829 cm^{-1}
16757 cm^{-1}	16830 cm^{-1}	—
Mittel:		16833 cm^{-1}

Absorptionsbande bei 16830 cm^{-1} sieht man in der Emissionsbande, Abbild. 2c₁ oben, die Absorptionsbande ausgedrückt. Das Resonanzlicht der Frequenzen um 16830 cm^{-1} ist gewissermaßen in die Lösung „eingesperrt“ und kann nicht heraustreten. Bei der langwelligsten Absorptionsbande des Hypericins liegt demnach einer der bei organischen Molekülen seltenen Fälle der Resonanzfluoreszenz vor. Bei Einstrahlung der Frequenz 16830 cm^{-1} wird die gleiche Wellenlänge wieder ausgestrahlt.

Allerdings findet gleichzeitig auch noch eine längerwellige Emission statt, so daß der Begriff Resonanzfluoreszenz nicht im gleichen Sinn wie bei der Resonanzstrahlung der Atome angewendet werden darf. Wenn man trotzdem von Resonanzfluoreszenz spricht, so ist zu beachten, daß die Rückkehr des angeregten Moleküls in den Grundzustand nicht immer direkt unter Ausstrahlung der Resonanzstrahlung erfolgt, sondern sogar etwas häufiger über einige angeregte Schwingungszustände des Elektronengrundzustands, wie aus der Intensität der Emissionsbande bei 16368 cm^{-1} und 15522 cm^{-1} gefolgert werden kann. Bei den Polyenen ist dieses Zusammenfallen der langwelligsten Absorptionsbande mit der kurzwelligsten Emissionsbande nicht vorhanden. Wie die Untersuchungen von K. W. Haußer, R. Kuhn und E. Kuhn¹¹⁾ gezeigt haben, nähern sich mit abnehmender Temperatur die beiden Banden wohl etwas. Selbst bei -196° und kleinsten Kettenlängen beträgt der Abstand noch 600 cm^{-1} (für $n = 1$), während für ein fünfgliedriges Diphenylpolyen der Abstand zwischen Emissions- und Absorptionsbande schon 3300 cm^{-1} beträgt. Für krystallisiertes Diphenylbutadien beträgt der Abstand 2300 cm^{-1} und für dampfförmiges Diphenyloktatetraen gar 5800 cm^{-1} . Dagegen zeigt das Mesoporphyrin in einem Gemisch von Äther-Alkohol bei -192° die Emissionsbande an nahe der gleichen Stelle (etwa 16200 cm^{-1}) wie die Absorptionsbande. In besonders starkem Maße zeigen jedoch die Farbstoffe der Pseudoisocyaninreihe die Erscheinung der Resonanzfluoreszenz^{9) 12)}. Dort



Abbild. 4. Zuordnung der Fluoreszenzbanden zu den Absorptionsbanden bei -192° .

¹¹⁾ Ztschr. physik. Chem. [B] **29**, 417 [1935].

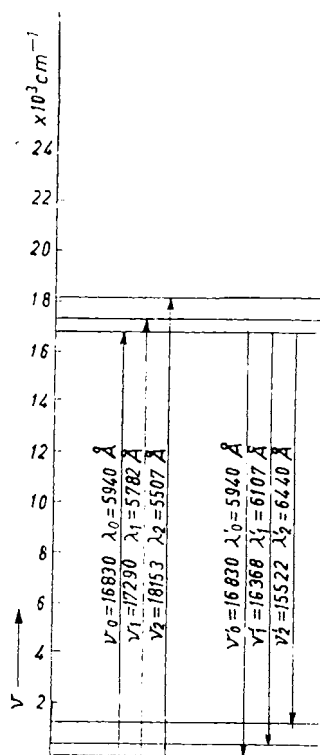
¹²⁾ Naturwiss. **27**, 499 [1939].

überwiegt das in der Resonanzbande ohne Wellenlängenänderung ausgestrahlte Licht bei weitem die zweite um etwa 1200 cm^{-1} längerwellige Emission. In Abbild. 4 sind nun entsprechend Abbild. 3 die Emissions- und Absorptionsbanden in ihrer gegenseitigen Lage zueinander bei -192° eingezeichnet.

Besondere Beachtung verdienen die aus Abbild. 4 ersichtlichen Frequenzdifferenzen von $\Delta\nu_1 = 461\text{ cm}^{-1}$ und $\Delta\nu_2 = 1316\text{ cm}^{-1}$, die sehr wahrscheinlich Hauptschwingungsfrequenzen des Hypericinmoleküls darstellen. Vergleicht man die gefundenen Frequenzen mit den Ramanfrequenzen ähnlich gebauter Stoffe, so findet man z. B. beim geschmolzenen Naphthalin die stärkste Raman-Frequenz bei 1378 cm^{-1} , eine Frequenz, die der oben gefundenen sehr nahe kommt¹³⁾. Die kurzwelligste Raman-Frequenz des Naphthalins beträgt 513 cm^{-1} , die etwa der ersten der beiden obigen Frequenzen entsprechen dürfte. Die Analyse des im Sichtbaren gelegenen Teils des Absorptions- und Emissionsspektrums der Hypericin-Lösung verläuft damit ähnlich wie die von K. W. Hauser und Mitarbeiter¹⁴⁾ durchgeführte Analyse der Polyenspektren.

Die langwelligste Absorptionsbande des Hypericins entspricht dem Elektronenübergang aus dem schwingungslosen Grundzustand in den schwingungslosen angeregten Zustand. Unter Aussendung einer Resonanzemission kann das Elektron den gleichen Weg rückwärts durchlaufen. In der Abbild. 5 ist die Analyse in Form eines Termschemas aufgezeichnet.

Schon Hauser und Kuhn¹⁴⁾ haben auf eine merkwürdige Folgerung dieser Darstellung der Bandenanalyse hingewiesen. Die Emission muß nämlich immer aus dem schwingungslosen angeregten Elektronenzustand erfolgen. Da nach der Beobachtung das Fluoreszenz-Spektrum unabhängig von der erregenden Wellenlänge ist, so muß man annehmen, daß die Schwingungen des angeregten Zustands zuerst abklingen, so daß der schwingungslose angeregte Zustand erreicht wird und dann erst die Emission in den Grundzustand (mit oder ohne Schwingungen) erfolgt. Diese Annahme ist für den energieärmsten Elektronenübergang noch durchaus plausibel. Die Gültigkeit dieser Annahme auch für die übrigen Elektronensprünge bedeutet, daß auch aus den höheren Elektronenzuständen zunächst der energieärmste angeregte Elektronenzustand erreicht



Abbild. 5. Analyse des Absorptions- und Fluoreszenzspektrums von Hypericin bei -192° .

¹³⁾ H. Gockel, Ztschr. physik. Chem. [B] **29**, 79 [1935].

¹⁴⁾ K. W. Hauser, R. Kuhn, A. Smakula u. H. Kreuchen, Ztschr. physik. Chem. [B] **29**, 363 [1935]; K. W. Hauser, R. Kuhn, A. Smakula u. M. Hoffer, ebenda 371; K. W. Hauser, R. Kuhn, A. Smakula u. A. Deutsch, ebenda 378; K. W. Hauser, R. Kuhn u. A. Smakula, ebenda 384; K. W. Hauser, R. Kuhn u. G. Seitz, ebenda 391; K. W. Hauser, R. Kuhn u. E. Kuhn, ebenda 417.

wird und von hier aus der Übergang in den Grundzustand unter Aussendung von Strahlung erfolgt. Ob dieser erste Übergang strahlungslos erfolgt, muß noch geprüft werden.

Nach dem Spiegelsymmetriegesetz würden den kurzwelligen Absorptionsbanden von 5085 Å an langwelligere Emissionsbanden entsprechen, die bereits im Ultrarot liegen. Eine Prüfung, ob diese existieren, soll noch vorgenommen werden.¹⁵⁾

Für die strenge Gültigkeit des Spiegelsymmetriegesetzes ist Voraussetzung, daß die Schwingungsterme im Grund- und 1. angeregten Zustand völlig gleiche Größe haben, d. h. daß die betreffenden Potentialkurven durch die Elektronenanregung nicht geändert werden. Das bedeutet, daß das Leuchtelektron an der betreffenden Bindung nicht beteiligt ist. Nach allem, was man über die Konstitution der Farbstoffe weiß, ist das verständlich. Hierauf soll an anderer Stelle näher eingegangen werden.

Nach der Durchführung der Bandenanalyse soll noch kurz auf die Halbwertsbreite der langwelligsten Absorptionsbande eingegangen werden. Die Halbwertsbreite bei der polymeren Bande der Pseudoisocyaninfarbstoffe hat einen außerordentlich kleinen Wert von 120 bis 180 cm⁻¹ ⁹⁾ ¹⁶⁾, der sich bei Temperaturerniedrigung auf —192° nur noch wenig ändert, und zwar auf 120 bis 140 cm⁻¹ ¹⁷⁾. Die Halbwertsbreite dieser Resonanzbanden ist lediglich durch die Resonanzkopplung bedingt⁹⁾, nicht aber durch die thermischen Stöße der Lösungsmittelmoleküle. Dagegen ist der Einfluß der Temperatur auf die Breite der Banden bei den Polyenen und beim Hypericin sehr deutlich. Bei den Polyenen hängt die Halbwertsbreite sehr stark von der Temperatur ab. Für das Diphenylpolyen: C₆H₅·[CH=CH]₇·C₆H₅ beträgt die Halbwertsbreite der langwelligsten Bande bei 20° etwa 800 cm⁻¹ und sinkt bei —196° auf den Wert von etwa 300 cm⁻¹. Bei der langwelligsten Absorptionsbande des Hypericins beträgt die Halbwertsbreite bei 21° 620 cm⁻¹, wobei von der Lage des Maximums aus gerechnet die Halbwertsbreite nach langen Wellen 260 cm⁻¹ und nach kurzen Wellen 360 cm⁻¹ beträgt. Somit ist dieser Bande eine Unsymmetrie zu eigen, die nicht allein auf die in ihr enthaltende Bande bei 17320 cm⁻¹ zurückgeführt werden kann. Bei —192° sinkt die Halbwertsbreite auf 220 cm⁻¹ (90 cm⁻¹ + 130 cm⁻¹).

Erwähnt sei noch, daß bei der Temperaturänderung von 21° auf —192° die integrale Absorption der langwelligsten Bande des Hypericins ungeändert bleibt. Entsprechend der starken Verringerung der Halbwertsbreite steigt dafür der ϵ -Wert von 4.16×10^4 auf 10.9×10^4 an. Der maximale ϵ -Wert erreicht damit die Größenordnung der bei den Polyenen und bei den Pseudoisocyaninfarbstoffen gemessenen ϵ -Werten.

¹⁵⁾ Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen wurden unter der Verwendung der Agfa-Spektral-Totalplatte, die etwas weiter nach dem Rot zu sensibilisiert ist als die ISS-Platte, noch zwei weitere Fluoreszenzbanden gefunden. Die eine liegt bei 6547 Å, die andere bei 7020 Å. Beide wurden bei —192° gemessen. Weitere Untersuchungen sind im Gange.

¹⁶⁾ Dieser Wert ist vom Zustand der polymeren Fäden etwas abhängig, s. H. Ecker, Kolloid-Ztschr. **92**, 35 [1940].

¹⁷⁾ Unveröffentlichte Untersuchungen von A. Schöntag.