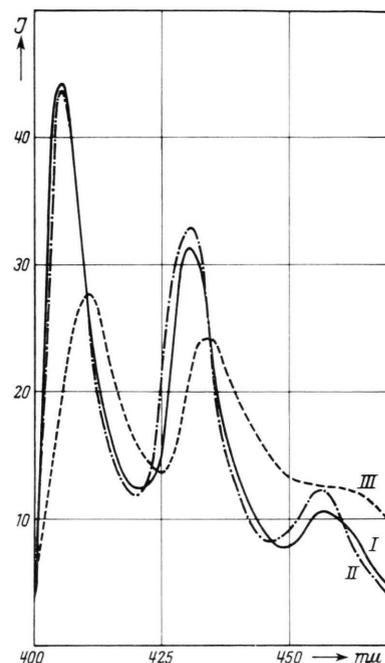


durch eine endotherme, in der wäßrigen Coffeinelösung hingegen durch eine exotherme Reaktion charakterisiert. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß eine Zunahme der Bindungsfähigkeit mit steigender Temperatur (endotherme Reaktion) typisch ist für hydrophobe Bindungen. Die vorliegenden Beobachtungen deuten darauf hin, daß die Löslichkeit des 3.4-Benzopyrens in wäßriger Proteinlösung durch Wirkung hydrophober Gruppen verursacht wird, während das Assoziat Coffein-3.4-Benzopyren in wäßriger Lösung offenbar durch eine andersartige Wechselwirkung zustande kommt. Daß es voreilig wäre, daraus Schlüsse auf die Reaktionsmöglichkeiten in den verschiedenen Assoziaten zu ziehen, wird in der folgenden Mitteilung gezeigt.

→

Abb. 1. Fluoreszenzspektren von 3.4-Benzopyren in verschiedenen Lösungsmitteln. Anregung bei $366\text{ m}\mu$. Kurve 1: $0,7 \cdot 10^{-6}\text{-m}$. 3.4-Benzopyren in wäßriger, phosphatgepufferter ($p_{\text{H}} 7$) Lösung von β -Lactoglobulin, 0,2-prozentig. Kurve 2: 10^{-6}-m . 3.4-Benzopyren in Äthanol (95-proz.). Kurve 3: $0,6 \cdot 10^{-6}\text{-m}$. 3.4-Benzopyren in wäßriger, phosphatgepufferter ($p_{\text{H}} 7$) Lösung von Coffein, 0,12-prozentig. Die gemessenen relativen Intensitäten erhält man aus den Intensitäten in Abb. 1 durch Multiplikation mit den Faktoren 0,7 (Kurve 1), 1 (Kurve 2, N_2 -Atmosphäre) bzw. 0,4 (Kurve 2, Luft) und 0,6 (Kurve 3).



Fluorimetrischer Nachweis einer Photoreaktion von 3.4-Benzopyren mit β -Lactoglobulin unter Beteiligung von molekularem Sauerstoff

Von GÜNTER RESKE und JOACHIM STAUFF

Institut für physikalische Biochemie und Kolloidchemie im Institut für physikalische Chemie der Universität Frankfurt/M. (Z. Naturforsch. **18** b, 774—775 [1963]; eingegangen am 24. Juni 1963)

Von verschiedenen Autoren (MILAZZO¹, KRIEGEL und HERFORTH², MÖNIG und KRIEGEL³, WOENCKHAUS, WOENCKHAUS und KOCH⁴) wurde beobachtet, daß die Fluoreszenz des 3.4-Benzopyrens in verschiedenen organischen Lösungsmitteln bei mehrstündigem Bestrahlen mit UV-Licht abnimmt.

Im Rahmen unserer Untersuchungen an wäßrigen Lösungen von 3.4-Benzopyren haben wir den Verlauf der Intensität seiner Fluoreszenz in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer bei Einstrahlung von Licht der Wellenlänge $366\text{ m}\mu$ in seine Lösungen in wäßrigem, gepuffertem Coffein und β -Lactoglobulin gemessen und mit den entsprechenden Ergebnissen an alkoholischen Lösungen des Kohlenwasserstoffs verglichen.

Als Lösungen wurden eingesetzt:

3.4-Benzopyren, 10^{-6}-m ., in spektralreinem Äthanol (95%), 0,2-proz. β -Lactoglobulin mit $7 \cdot 10^{-7}\text{-m}$. 3.4-Benzopyren und 0,12-proz. Coffein mit $6 \cdot 10^{-7}\text{-m}$. 3.4-Benzopyren, beide in Phosphatpuffer $p_{\text{H}} 7$ und behandelt wie in der vorangegangenen Notiz beschrieben.

¹ G. MILAZZO, Ric. Sci. **14**, 234 [1943].

² H. KRIEGEL u. L. HERFORTH, Z. Naturforsch. **12** b, 41 [1957].

³ H. MÖNIG u. H. KRIEGEL, Progress in Photobiology, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam 1961, p. 618.

Zur Bestrahlung wurde das durch einen Quarzchromaten (Brennweite 9 cm) parallelisierte und durch ein Interferenzfilter für $366\text{ m}\mu$ mit der Bandbreite $10\text{ m}\mu$ gefilterte Licht einer Quecksilberdampflampe (St 75, Quarzlampenges. Hanau) verwendet.

Die Lösungen wurden in Quarzküvetten (Höhe 4 cm) mit quadratischer Grundfläche (Kantenlänge 1 cm) bestrahlt. Die Küvetten waren mit Aufsätzen versehen, die es ermöglichten, unter einer Stickstoffatmosphäre zu arbeiten. Zur Bestimmung der Intensität des Fluoreszenzlichts bei $410\text{ m}\mu$ (Bandbreite $10\text{ m}\mu$) nach jeweils 30, 60 und 90 min Bestrahlungsdauer wurde ein Zeiss PMQ II-Spektralphotometer mit Fluoreszenzansatz ZFM 4 benutzt.

In Abb. 1 sind die Ergebnisse einer Serie von Messungen unter Luft und Stickstoffatmosphäre zusammengefaßt. Bei der gewählten Bestrahlungsintensität tritt im Beobachtungszeitraum an den Lösungen in wäßrigem Coffein unter Luft und unter Stickstoff, in Äthanol unter Luft und unter Stickstoff und in wäßrigem β -Lactoglobulin unter Stickstoff eine schwache Abnahme der Fluoreszenz ein, deren Unterschiede zwischen den verschiedenen Lösungen sich noch innerhalb der Grenzen der Toleranz bewegen. Bei gleicher Bestrahlungsintensität wird im gleichen Beobachtungszeitraum an der Lösung des Kohlenwasserstoffs in wäßrigem β -Lactoglobulin unter Luft (Abb. 1, Kurve Ia) eine größenordnungsmäßig stärkere Abnahme der Fluoreszenz beobachtet. Die in Abhängigkeit von der Zeit gemessene Intensität folgt der Beziehung

⁴ J. W. WOENCKHAUS, CH. W. WOENCKHAUS u. R. KOCH, Z. Naturforsch. **17** b, 295 [1962].

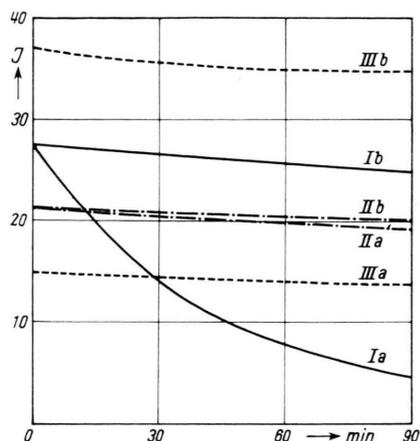


Abb. 1. Intensitätsverlauf der Fluoreszenz von 3,4-Benzopyren (410 $m\mu$, 10 $m\mu$ Bandbreite, Anregung 366 $m\mu$) in verschiedenen Lösungen bei UV-Bestrahlung (366 $m\mu$) unter Luft (a) und unter N_2 -Atmosphäre (b) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer. I: $0,7 \cdot 10^{-6}$ -m. 3,4-Benzopyren in wässriger, phosphatgepufferter (pH 7) Lösung von β -Lactoglobulin, 0,2-prozentig. II: $0,6 \cdot 10^{-6}$ -m. 3,4-Benzopyren in wässriger, phosphatgepufferter (pH 7) Lösung von Coffein, 0,12-prozentig. III: 10^{-6} -m. 3,4-Benzopyren in Äthanol, 95-prozentig.

$$J = J_0 \cdot e^{-c t}$$

mit $c = (0,019 \pm 0,0025) (\text{min}^{-1})$

(J_0 = Intensität der Fluoreszenz vor der Bestrahlung, J = Intensität der Fluoreszenz nach t min Bestrahlung).

Die Fluoreszenz des 3,4-Benzopyrens in wässriger β -Lactoglobulinlösung ist bei Anwesenheit von Sauerstoff so empfindlich gegen die Einstrahlung von UV-Licht der Wellenlänge 366 $m\mu$, daß bei ihrer Messung in dem hier verwendeten Zeiss-Spektralphotometer rasch gearbeitet werden muß, um eine zu starke Intensitäts-

verminderung während des Meßvorgangs zu vermeiden. Das kann sich besonders bei Messung des spektralen Intensitätsverlaufs störend bemerkbar machen. In einer früheren Arbeit wurde von uns⁵ zur Messung der Spektren eine Laboratoriums-Anfertigung eines Fluoreszenzspektralphotometers benutzt, bei dem bei entsprechend erhöhter Empfängerempfindlichkeit nur etwa 1/300 der Primärlichtintensität der Zeiss-Apparatur eingestrahlt wurde. Unter diesen Bedingungen machte sich die Photoreaktion bei den Intensitätsmessungen nicht mehr bemerkbar.

Das Verschwinden der charakteristischen Fluoreszenz des 3,4-Benzopyrens bei der Photoreaktion mit β -Lactoglobulin und Sauerstoff bleibt auch bei mehrstündigem Erhitzen der Lösungen auf 80 °C irreversibel. Das Auftreten einer Photoreaktion des krebserregenden Kohlenwasserstoffs im Kontakt mit β -Lactoglobulin bei Einstrahlung von UV-Licht der Wellenlänge 366 $m\mu$ und ihre Abhängigkeit vom molekularen Sauerstoff stehen in vollständiger Analogie zu den Beobachtungen von GRAFFI, SCHNEIDER, KRIEDEL und SYDOW⁶ über die Sauerstoffabhängigkeit der photodynamischen Wirkung des 3,4-Benzopyrens auf einzelne Fermente der Lebermitochondrien der Ratte. Darüber hinaus zeigen die hier mitgeteilten Ergebnisse über das Verschwinden der charakteristischen Fluoreszenz, daß das 3,4-Benzopyren mindestens bei der Photoreaktion mit β -Lactoglobulin nicht als Photosensibilisator wirkt, der in der Bilanz unverändert aus der Reaktion hervorgeht, sondern an der Reaktion als Komponente beteiligt ist, die dabei irreversibel in einen anderen Körper umgewandelt wird.

Die Frage des Ortes der Reaktion am Protein wird von uns noch untersucht. Darüber und über den möglichen Zusammenhang der bisherigen Beobachtungen mit dem Mechanismus der Carcinogenese mit 3,4-Benzopyren wird in einer weiteren Arbeit berichtet werden.

⁵ J. STAUFF u. G. RESKE, Z. Naturforschg. **15b**, 578 [1960].

⁶ A. GRAFFI, E. J. SCHNEIDER, H. KRIEDEL u. G. SYDOW, Naturwissenschaften **40**, 415 [1953].

Über die Bildung von Sulfen

VON GÜNTER OPITZ und KLAUS FISCHER

Chemisches Institut der Universität Tübingen

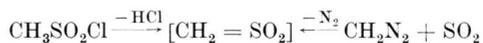
(Z. Naturforschg. **18b**, 775–776 [1963]; eingegangen am 4. Juli 1963)

Die Synthese von 3-Dialkylamino-thietan-1,1-dioxyden (z. B. I) aus Enaminen und aliphatischen Sulfochloriden in Gegenwart von Triäthylamin wurde als Cycloaddition von Sulfenen ($RCH=SO_2$) an Enamine gedeutet¹. Folgende Befunde stützen diese Ansicht.

Methylsulfone, wie Methyl-*p*-tolyl-sulfon, lassen sich mit *N*-Methylen-piperidiniumchlorid in Gegenwart von

Triäthylamin weder in Äther noch in Methylchlorid in β -Aminosulfone überführen. Damit scheidet die Möglichkeit aus, daß der Vierringschluß durch Addition des Sulfochlorids an das β -C-Atom des Enamins und anschließende HCl-Abspaltung zustande kommt.

Zur in-situ-Bildung von Sulfen eignet sich außer der HCl-Eliminierung aus Methylchlorid mit Hilfe tert. Amine die Umsetzung von Diazomethan mit SO_2 .



So erhielten wir aus 1-Pyrrolidino-isobuten (II) mit Methylchlorid/Triäthylamin in 80-proz. Ausbeute,

¹ G. OPITZ u. H. ADOLPH, Angew. Chem. **74**, 77 [1962]; vgl. G. STORK u. I. J. BOROWITZ, J. Amer. chem. Soc. **84**, 313

[1962]; R. FUSCO, S. ROSSI u. S. MAIORANA, Chim. e Ind. **44**, 873 [1962].