

### Experimenteller Teil

100 ml Allylkohol und 0,4 g Tris[tris(*p*-fluorophenyl)phosphin]platin wurden in einem Schüttelautoklaven mit Silbereinsatz unter 1000 atm CO-Druck 10 Stdn. lang auf 200° erhitzt. Destillation des rohen Reaktionsgemisches gab unveränderten Allylkohol und 1,6 g Vinyllessigsäureallylester; Sdp. 146°;  $n_D^{25}$  1,4311 (Lit. l. c. <sup>4</sup>, Sdp. 58°/27 mm;  $n_D^{25}$  1,4313).

Die IR- und Protonenresonanz-Spektren waren identisch mit den Spektren einer authentischen Probe von Vinyllessigsäureallylester. Das UV-Spektrum zeigte keine Maxima über 2000 Angström.

<sup>4</sup> M. D. BARNETT u. G. B. BUTLER, J. Org. Chemistry **25**, 309 [1960].

Elementar-Analyse: C 67,0; H 8,40;  
Verseifungszahl 131.

Berechnet für C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: C 66,7; H 8,00;  
Mol.-Gew. 126.

Die Reaktion wurde bei 250° und 1000 atm CO-Druck wiederholt. Die gaschromatographische Analyse bei 123° mit einer 2-m-Kolonnen [Füllung 1.2.3-tris-(cyanäthoxy)propan] ergab 7% Allyläther, 65% Allylkohol, 9% Crotonsäureallylester. Methacrylsäureallylester oder Vinyllessigsäureallylester konnten nicht aufgefunden werden. Destillation des Reaktionsgemisches ergab 4,6 ml Crotonsäureallylester; Sdp. 149°;  $n_D^{25}$  1,4423 (Lit. l. c. <sup>4</sup>; Sdp. 63°/22 mm;  $n_D^{25}$  1,4452).

### Fluoreszenzspektren von 3.4-Benzpyren in wäßrigen Medien

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**, 773–774 [1963]; eingegangen am 24. Juni 1963)

BOYLAND und GREEN<sup>1</sup> haben gezeigt, daß sich das Fluoreszenzspektrum von 3.4-Benzpyren in wäßriger Coffeinelösung vom Fluoreszenzspektrum seiner alkoholischen Lösung durch eine geringere Intensität der Bande bei 410 m $\mu$  sowie durch eine Verbreiterung und Verschiebung der Banden nach längeren Wellenlängen unterscheidet.

Von uns<sup>2</sup> wurden vor einigen Jahren mit einem Fluoreszenzspektrometer geringer Auflösung (Laboratoriumsanfertigung) die Fluoreszenzspektren von 3.4-Benzpyren in wäßrigen, gepufferten Lösungen von  $\beta$ -Lactoglobulin, Lactatdehydrogenase und Coffein gemessen und mit dem bei gleicher Auflösung mit dem gleichen Gerät gemessenen Fluoreszenzspektrum des Kohlenwasserstoffs in Äthanol verglichen. Dabei wurde beobachtet, daß sich das Fluoreszenzspektrum des Kohlenwasserstoffs in den wäßrigen Coffeinelösungen von seinem Fluoreszenzspektrum in den wäßrigen Proteinlösungen merklich unterschieden, was sich bei der geringen Auflösung des von uns verwendeten Geräts darin äußerte, daß das Minimum zwischen den Banden bei 410 und 430 m $\mu$  nicht auftrat. Unterschiede der spektralen Verteilung der Fluoreszenz des 3.4-Benzpyrens zwischen den äthanolischen Lösungen und den wäßrigen Proteinlösungen konnten nicht beobachtet werden. Zur Prüfung unserer Befunde haben wir einige Messungen mit einem Gerät höherer Auflösung (Zeiss Spektralphotometer PMQ II mit Fluoreszenzansatz ZFM 4) durchgeführt.

Als Lösungen wurden eingesetzt:

3.4-Benzpyren, 10<sup>-6</sup>-m., in spektralreinem Äthanol (95-proz.); 0,2-proz. Lactoglobulin und 0,12-proz. Cof-

fein, beide in Phosphatpuffer  $p_H$  7, mit festem 3.4-Benzpyren 3 Stdn. behandelt und anschließend in V2a-Stahlbechern 3·15 min bei 15 000 U/min zur Entfernung des überschüssigen festen KW-Stoffs zentrifugiert. Durch Vergleich der Intensitäten des Fluoreszenzlichts bei 410 m $\mu$  (10 m $\mu$  Bandbreite) mit dem entsprechenden Wert der alkoholischen Lösung unter Stickstoffatmosphäre wurden die Konzentrationen des Kohlenwasserstoffs in den wäßrigen Lösungen bestimmt. Bei Zimmertemperatur (ca. 18°C) fanden wir für die Coffeinelösung 6·10<sup>-7</sup>-m. 3.4-Benzpyren und für die  $\beta$ -Lactoglobulinlösung 7·10<sup>-7</sup>-m. 3.4-Benzpyren.

Die Fluoreszenzspektren der drei Lösungen sind in Abb. 1 dargestellt. Zur Anregung wurde das durch ein Interferenzlinien-Filter der Bandbreite 10 m $\mu$  mit einer maximalen Durchlässigkeit bei 366 m $\mu$  gefilterte Licht des Quecksilberbrenners St 41 (serienmäßig im Zeiss-Fluoreszenzzusatz ZFM 4 eingebaut) verwendet. Der Meßpunktabstand war 5 m $\mu$ , die Auflösung des Fluoreszenzlichts 3 m $\mu$  Bandbreite. Da es sich nur um Vergleichsmessungen handelt, wurden die Spektren nicht korrigiert. Zur besseren Übersicht sind sie auf die Intensitäten bei 410 m $\mu$  normiert.

Während das Fluoreszenzspektrum des 3.4-Benzpyrens in wäßriger Coffeinelösung die von BOYLAND und GREEN beschriebenen Abweichungen vom Fluoreszenzspektrum des Kohlenwasserstoffs in alkoholischer Lösung zeigt, sind die spektralen Intensitätsverteilungen der Fluoreszenz des 3.4-Benzpyrens in Äthanol und in wäßriger Lösung von  $\beta$ -Lactoglobulin innerhalb der Meßgenauigkeit quantitativ gleich.

Daraus muß geschlossen werden, daß in den beiden untersuchten wäßrigen Systemen verschiedene Solvationsverhältnisse herrschen. Dafür sprechen auch halbquantitative Beobachtungen, wonach bei steigender Temperatur die Löslichkeit des KW-Stoffs in der  $\beta$ -Lactoglobulinlösung zu-, in der Coffeinelösung hingegen abnimmt. Die Energieverhältnisse bei der Solvatbildung sind demnach in der wäßrigen Proteinlösung offenbar

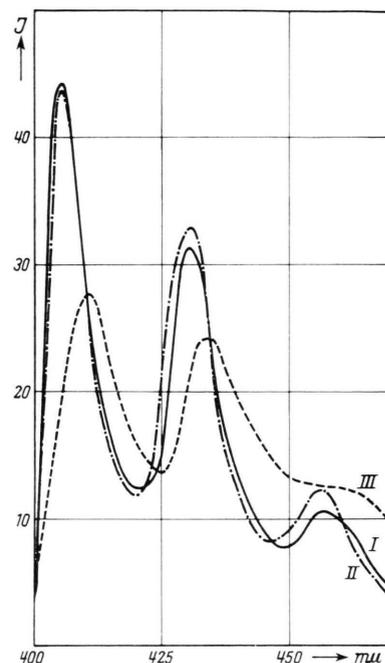
<sup>1</sup> E. BOYLAND u. B. GREEN, Brit. J. Cancer **16**, 347 [1962].

<sup>2</sup> J. STAUFF u. G. RESKE, Z. Naturforsch. **15 b**, 578 [1960].

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  $\beta$ -Lactoglobulin, 0,2-prozentig. Kurve 2:  $10^{-6}\text{-m}$ . 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,  $\text{N}_2$ -Atmosphäre) bzw. 0,4 (Kurve 2, Luft) und 0,6 (Kurve 3).



### Fluorimetrischer Nachweis einer Photoreaktion von 3.4-Benzopyren mit $\beta$ -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 (MILAZZO<sup>1</sup>, KRIEGEL und HERFORTH<sup>2</sup>, MÖNIG und KRIEGEL<sup>3</sup>, WOENCKHAUS, WOENCKHAUS und KOCH<sup>4</sup>) 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  $\beta$ -Lactoglobulin gemessen und mit den entsprechenden Ergebnissen an alkoholischen Lösungen des Kohlenwasserstoffs verglichen.

Als Lösungen wurden eingesetzt:

3.4-Benzopyren,  $10^{-6}\text{-m}$ ., in spektralreinem Äthanol (95%), 0,2-proz.  $\beta$ -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.

<sup>1</sup> G. MILAZZO, Ric. Sci. **14**, 234 [1943].

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

<sup>3</sup> 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  $\beta$ -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  $\beta$ -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

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