

Chemilumineszenz von Epoxiden

Chemiluminescence of Epoxides

J. Stauff, I. Simo und W. L. Tsai

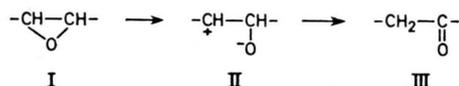
Institut für Biophysikalische Chemie und Biochemie der Universität Frankfurt a. Main

Z. Naturforsch. **33 c**, 769–770 (1978);
eingegangen am 5. Mai/25. Juli, 1978

Chemiluminescence, Epoxides, Analysis

Epoxides produce chemiluminescence when heated to 50–70 °C or treated with nucleophilic substances at room temperature. Initiation by Piperidine in Dimethylsulfoxide allows to determine 5 nmol of Phenyloxirane in 5 ml samples.

Die bei der enzymatischen Hydroxylierung polyaromatischer Kohlenwasserstoffe zu beobachtende Chemilumineszenz (CL) wird von Seliger und Hamman [1] auf einen Mechanismus zurückgeführt, der dem der Biolumineszenz der Feuerfliege (*Photinus pyralis*) entspricht [2]. Hierbei soll die für die Anlagerung von O₂ notwendige >CH–C(O)-Gruppe aus einem Epoxid durch NIH-Verschiebung [3] entstehen:



III + O₂ sollen dann ein 1,2-Dioxetan oder Hydroperoxid bilden, das beim Zerfall CL erzeugt. Epoxide (Arenoxide), deren Bildung bei der Oxidation von Polyaromaten im Säugetierorganismus erwiesen ist [3, 4], werden heute als diejenigen Substanzen angesehen, die für die Carcinogenese verantwortlich sind.

Wir möchten nun zeigen, daß die Annahme einer O₂-Anlagerung an III zur Deutung der CL bei der enzymatischen Oxidation der Polyaromaten nicht

Sonderdruckerfordernungen an Prof. Dr. J. Stauff, Briegeweg 21, D-6100 Darmstadt.

notwendig ist, da die Epoxide selbst zur spontanen CL fähig sind; es genügt bereits Erwärmen ihrer Lösungen auf 50–70 °C auch bei Abwesenheit von Sauerstoff. Drückt man das Ausmaß der CL durch die Größe I_m (= Maximalintensität, gemessen in nA des Photomultiplierstroms, dividiert durch die Molzahl der gemessenen Probe) aus, so haben 2,3-Epoxybutan, α-Epichlorhydrin, Epoxystryrol (Phenylloxiran), 1,2,3,4-Diepoxybutan und enzymatisch oxidiertes Benzo(a)pyren [5] beim Erwärmen ihrer Lösungen in CCl₄-Werte zwischen 2 und 800 nA/mol.

Auch Ascaridol, das beim Erwärmen ein Diepoxid als Zwischenprodukt bildet, erzeugt bei 74 °C eine CL mit I_m = 85 nA/mol.

Die CL aller untersuchten Epoxide konnte durch Zusatz verschiedener nucleophiler Substanzen, aber auch – in CCl₄ – durch Bleitetraacetat und 2-Methyl-2-buten um den Faktor 10²–10⁵ verstärkt werden. Die in der Tabelle aufgeführten Versuche mit Epoxystryrol demonstrieren die Einflüsse von Konzentration, Lösungsmittel und Temperatur. Außer den dort aufgeführten Substanzen verursachen auch Alkohole, Aldehyde, Phenole, tert.-Amine Verstärkungen der relativen Quantenausbeute.

Zum Unterschied hierzu wird die CL von Dioxetanen (Trimethyldioxetan, Diadamantanyldioxetan) beim Zusatz von Phenolen und Aminen gelöscht.

Als Ursache der CL muß die Bildung angeregter Carbonylgruppen angesehen werden. Beim Epoxystryrol konnte als Hauptprodukt der thermischen Zersetzung Phenylacetaldehyd mit Hilfe der DC-Chromatographie (SiO₂-Platte, Merck) nachgewiesen werden. Folgender Weg des Reaktionsverlaufs könnte die Bildung eines angeregten Zustands erklären:

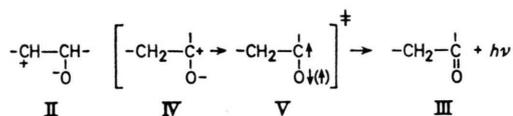


Tabelle. CL von Epoxystryrol (Phenylloxiran). I_m = I_{max}/n in nA/mol. Die angeführten Substanzen werden in einer Menge von 0,1 M-Lösung in einer Menge von 1 ml zu 5 ml gelöstem Epoxystryrol zugesetzt.

Lös.-mittel	Konz. [M]	Temp. [°C]	I _m				
			ohne Zusatz	Pb(IV)-acetat	Piperidin	Thioharnstoff	2-Methyl-2-buten*
CCl ₄	0,0876	60	685				
CCl ₄	1,75	60	29	6,8 × 10 ³			2,3 × 10 ⁴
DMSO	0,0867	60	2 × 10 ³				
DMSO	0,0867	70	4,4 × 10 ³		6,4 × 10 ⁶		
DMSO	0,0867	25	0		2,9 × 10 ⁵	4,5 × 10 ³	

* Der Zusatz von 2-Methyl-2-buten ist sauerstoffabhängig.

Aus **II** entsteht im Verlauf einer NIH-Verschiebung zunächst ein Übergangszustand mit polarisierter CO-Gruppe **IV**, die dann zum Teil nicht direkt in den Grundzustand **III** übergeht, sondern erst einen angeregten Zustand **V** bildet, aus dem **III** unter Lichtemission entsteht.

Bei den Reaktionen mit nucleophilen Aktivatoren könnte zunächst in schneller Reaktion ein Addukt gebildet werden, das mit **I** – unter Polymerisation [6] – langsam weiterreagiert. In einer Nebenreaktion entsteht dabei auch **II**, welches über **IV** auch den angeregten Zustand **V** bilden kann.

Die CL-Methode ist auch zur Bestimmung kleiner Mengen von Epoxiden geeignet. Mit der von uns benutzten – nicht besonders empfindlichen – Anordnung [7] konnten noch 5 nmol Epoxystyrol in 5 ml Dimethylsulfoxid mit einem Fehler von etwa 10% bestimmt werden und ist somit empfindlicher als die *p*-(4-Nitrobenzyl)-pyridin-Methode, die noch 80 nmol der gleichen Substanz nachweisen kann [8].

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Unterstützung.

- [1] H. H. Seliger u. J. P. Hamman, *J. Phys. Chem.* **80**, 2296 (1976).
- [2] M. DeLuca u. M. E. Dempsey, *Chemiluminescence and Bioluminescence* (M. J. Cormier, D. M. Hercules, and J. Lee, eds.), p. 345, Plenum Press, New York, 1973.
- [3] J. W. Daly, D. M. Jerina u. B. Witkop, *Experientia* **28**, 1129 (1972).
- [4] P. Sims u. P. L. Grover, *Adv. Cancer Res.* **20**, 165 (1974).
- [5] P. L. Grover, A. Hewer u. P. Sims, *Biochem. Pharmacol.* **21**, 2713 (1972).
- [6] H. Batzer u. F. Lohse, *Ullmann's Enzyklopädie der Techn. Chemie*, 4. Aufl. **Bd. 10**, S. 570.
- [7] J. Stauff u. U. Bergmann, *Z. Physik. Chem. N. F.* **78**, 263 (1972).
- [8] L. G. Hammock, B. D. Hammock u. J. E. Casida, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **12**, 759 (1974).