

UV-Spektren und Elektronenstrukturen von Monoamino-Acridinium-Kationen

WOLFGANG SEIFFERT und HANS HEINRICH LIMBACH
Institut für Physikalische Chemie der Universität Freiburg

VALENTIN ZANKER
Institut für Physikalische Chemie der Technischen Hochschule München

HORST MANTSCH
Division of Chemistry National Research Council of Canada, Ottawa

Eingegangen am 15. Mai 1970

UV-spectra and π -electronic Structures of Monoamino-acridinium Cations

Summary. The electronic-excitation and polarisation-spectra of 1-, 2-, 3- and 4-amino-acridinium cations were measured. Transition energies, π -electronic densities and π -bond orders have been calculated by a β -variable SCF-method within the general PPP-framework; the effect of H-bond formation upon their electronic spectra is examined and attempts are being made to correlate the computed transitions of the monoamino-acridinium cations with those of the corresponding non-ionized bases and with anthracene.

Zusammenfassung. Es wurden die UV-Spektren und die Fluoreszenzanisotropie der 1-, 2-, 3- und 4-Amino-Acridinium-Kationen gemessen und mit Hilfe nach PPP berechneter Anregungsenergien, Übergangsmomente und Polarisationen gedeutet. Die Rechnungen liefern die Elektronenstrukturen der Grund- und Anregungszustände (π -Bindungsordnungen und π -Elektronendichten). Die Elektronenanregungen der Kationen sind über diejenigen der nicht ionisierten Basen mit denen des Kohlenwasserstoffs Anthracen als Grundkörper zu korrelieren. Der Einfluß von Wasserstoffbrückenbindungen auf die Spektren wird diskutiert.

Problemstellung

Histochemische und biophysikalische Untersuchungen bedienen sich häufig geeignet substituierter Acridine als Indikatorsubstanzen (Wittekind und Rentsch, 1965; Staubesand, Wittekind und Rentsch, 1966; Wittekind und Kunze, 1969; Löber, 1966; Löber, 1968; Lang und Löber, 1969; Kubota und Miura, 1967). Vor allem Aminoderivate finden verbreitet Verwendung; gestellte wichtige Anforderungen erfüllen sie besonders gut: So färben sie spezifisch innerhalb der Zellen, wobei durch Wechselwirkung zum Substrat Veränderungen im Elektronengerüst zustande kommen, die in den UV-Spektren beispielsweise gut zu beobachten sind, denn Amino-Acridine absorbieren langwellig und in sehr charakteristischen Spektren. Bandenverschiebungen und Intensitätsänderungen erlauben Schlüsse nach Art und Stärke der Bindung und damit nach der Natur der aktiven Zentren im Substrat.

Aminoacridiniumverbindungen (z. B. Acridinorange) neigen zur Bildung von Assoziaten ebenfalls unter charakteristischer Veränderung der UV-Spektren. Diese Aggregate entstehen konzentrations- und temperaturabhängig besonders bei Addition an Mucopolysaccharide, z. B. Heparin oder an DNS (Zanker, 1952; Appel und Zanker, 1958).

Besonders wichtig sind Amino-Acridine in der Fluoreszenzmikroskopie, wobei Änderungen der spektralen Verteilung der Emission registriert werden.

Die Interpretation dieser Bandenverschiebungen in den Elektronenspektren setzt eine genauere Kenntnis der Anregungsenergien und der Orientierungen der UV-Oszillatoren im Molekül voraus. Es erscheint wünschenswert, die Elektronenstrukturen der Grund- und optischen Anregungszustände zu kennen. Die Ladungsverteilung der Moleküle wird mitverantwortlich dafür sein, ob diese am Substrat adsorbiert werden und ob Metachromasie zu beobachten sein wird. Da Wechselwirkungen der Farbstoffe mit biologischem Substrat komplex sind, z. B. die Ausbildung von Wasserstoffbrücken einschließen, muß eine Untersuchung ihrer UV-Spektren unter diesem Gesichtspunkt auch die Betrachtung derart modifizierter Molekülstrukturen berücksichtigen.

Das erfordert eine mehr quantitative Beschreibung der Elektronenanregungsspektren. Wir verfahren hier wie in vorangegangenen Arbeiten (Seiffert, Zanker, Mantsch und Schneider, 1968; Seiffert, Zanker, Mantsch und Limbach, 1969), und benützen zur Bestimmung der π -Elektronenstrukturen der vier isomeren Monoamino-Acridinium-Kationen (MAAK) semiempirische Kalkulationen nach der Methode von Pariser, Parr und Pople. Die in die Rechnungen eingehenden Parameter (s. Abschnitt 3) sind an experimentellen UV- und Fluoreszenzanisotropie-Spektren geeicht.

Experimentelles

Die Absorptionsspektren (Kurven *A*) der vier MAAK sind in Abb. 1—4 dargestellt. Sie sind an einem Zeiss-PMQ II Spektralphotometer in Lösung Äthanol/Äther 2:1 bei -180°C gemessen mit Ausnahme des 4-MAAK, dessen Spektrum bei Zimmertemperatur (20°C) aufgenommen wurde.

2- und 3-MAAK lumineszieren unter diesen Bedingungen. Ihre Fluoreszenz- (*F*) und Polarisationsgradspektren (*P*) finden sich in Abb. 2 und 3.

Der Polarisationsgrad der Fluoreszenz (*P*) ist eine wichtige Größe für die Bestimmung der relativen Lagen der UV-Oszillatoren zueinander. Außerdem ermöglicht er häufig Übergänge zu trennen, die sich in den UV-Spektren überlagern.

Es seien in der Abb. 7 S_1 — S_3 stationäre Elektronenzustände eines Moleküls. Vom Molekülgrundzustand S_0 her können durch Absorption von Licht geeigneter Energie Übergänge A_1 , A_2 , A_3 usw. nach S_1 , S_2 , S_3 usw. induziert werden. Diese Übergänge sind mit einem zeitlich sich ändernden Dipolmoment, dem Übergangsmoment (Elektronenoszillator) verknüpft, dessen Quadrat der Intensität (*f*-Wert) des Übergangs proportional ist. Dieses Übergangsmoment besitzt für jede Anregung eine bestimmte definierte Lage zum Molekülgerüst. S_1 kann durch Emission einer Strahlung deaktiviert werden. Die Molekel kehrt in den Grundzustand S_0 zurück; die Strahlung ist die Fluoreszenz. Ihr Oszillator ist mit dem der Absorption A_1 identisch.

Wir nehmen an, der Übergang nach S_1 bzw. nach S_3 geschehe durch Oszillatoren, die in der kurzen Molekelachse orientiert sind, die Absorption A_2 soll ein Übergangsmoment besitzen, das in der langen Molekülachse polarisiert ist. Dann werden von Molekülen zweier ausgezeichneter Lagen bei A_1 und A_3 nur solche angeregt, deren lange Achse senkrecht, bei A_2 parallel zur Schwingungsrichtung

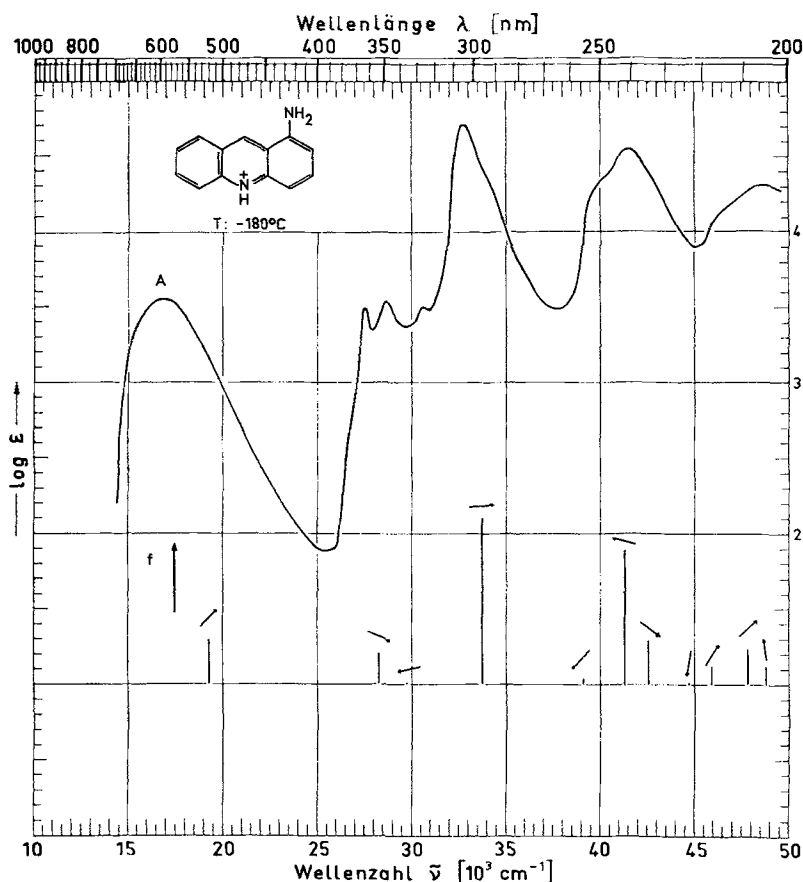


Abb. 1. 1-Amino-Acrininium-Kation: UV-Spektrum (-180°C) und berechnete Elektronenübergänge

des erregenden, polarisierten Lichts liegt. Da die Emission bei beliebiger Anregung immer aus S_1 erfolgt, wird sie bei A_1 und A_3 parallel, bei A_2 senkrecht zum Erregerlicht polarisiert sein. In Realität bei isotroper Verteilung der Moleküle treten auch Zwischenlagen auf. Dann hat das ermittelte Licht sowohl eine Komponente parallel zum Erregerlicht (I_p) als auch senkrecht (I_s) dazu. Der Polarisationsgrad der Fluoreszenz (P) ist definiert als

$$P = \frac{I_p - I_s}{I_p + I_s}$$

(Feofilov, 1961). Wenn absorbierender und emittierender Oszillator miteinander den Winkel α einschließen, so ist bei einem ebenen Molekül mit ein- und zweizähliger Symmetrieachse P eine Funktion von α

$$P = \frac{3 \cos^2 \alpha - 1}{\cos^2 \alpha + 3}$$

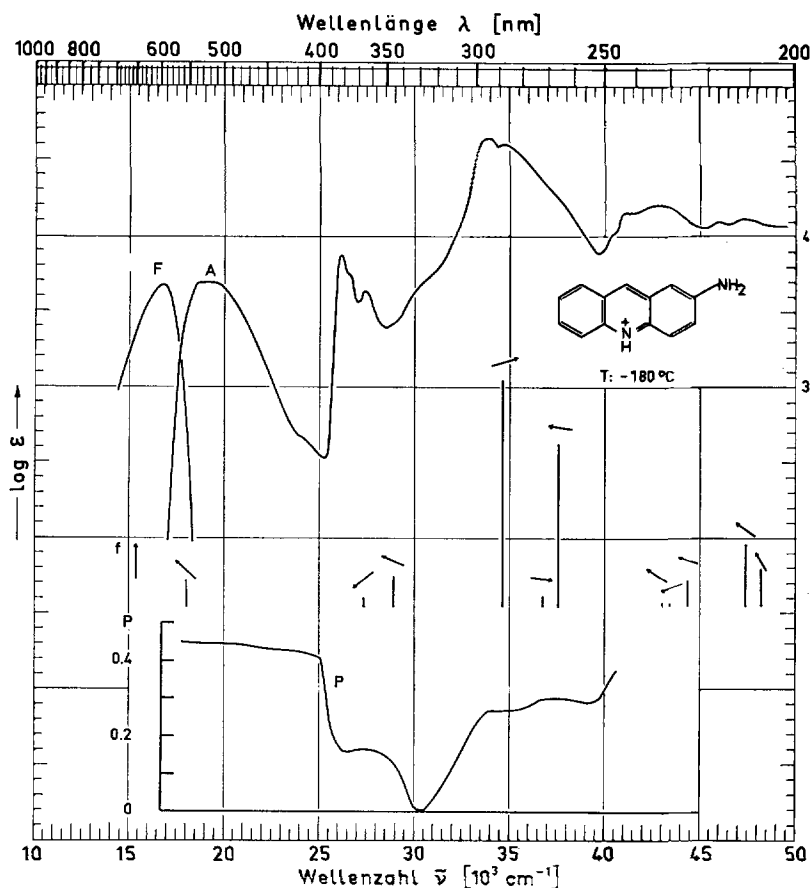


Abb. 2. 2-Amino-Acridinium-Kation: UV- und Polarisationsgrad-Spektrum (-180°C), berechnete Elektronenübergänge

(Feofilov, 1961). Man bestimmt I_p und I_s mit einem Spektrometer folgender Meßanordnung: Als Lichtquelle zur Erregung der Fluoreszenz dient eine stabilisierte Xenon-Hochdrucklampe XBO 450 W (Osram). Deren Licht kann über einen Zeiss-Monochromator M4Q III spektral zerlegt werden; durch ein Glan Thompson-Prisma wird linear polarisiert und auf der Probe abgebildet. Die Substanz kann damit variabel monochromatisch und polarisiert angeregt werden. Um Depolarisation durch Molekularbewegung auszuschließen, wird die Probe glasartig bei -190°C eingefroren.

Die Lumineszenz bzw. ihre beiden senkrecht zueinander polarisierten Komponenten werden in Durchsicht gemessen. Die Achsen von Erreger- und Emissionsteil der Apparatur sind um 20° gegeneinander geneigt, um das Erregerlicht abzutrennen. Durch ein zweites Glan Thompson-Prisma, den Analysator, gelangt das Lumineszenzlicht auf den Eintrittspalt eines Leitz-Monochromators. Nach spektraler Zerlegung erfolgt Intensitätsmessung mit den Sekundärelektronenverviel-

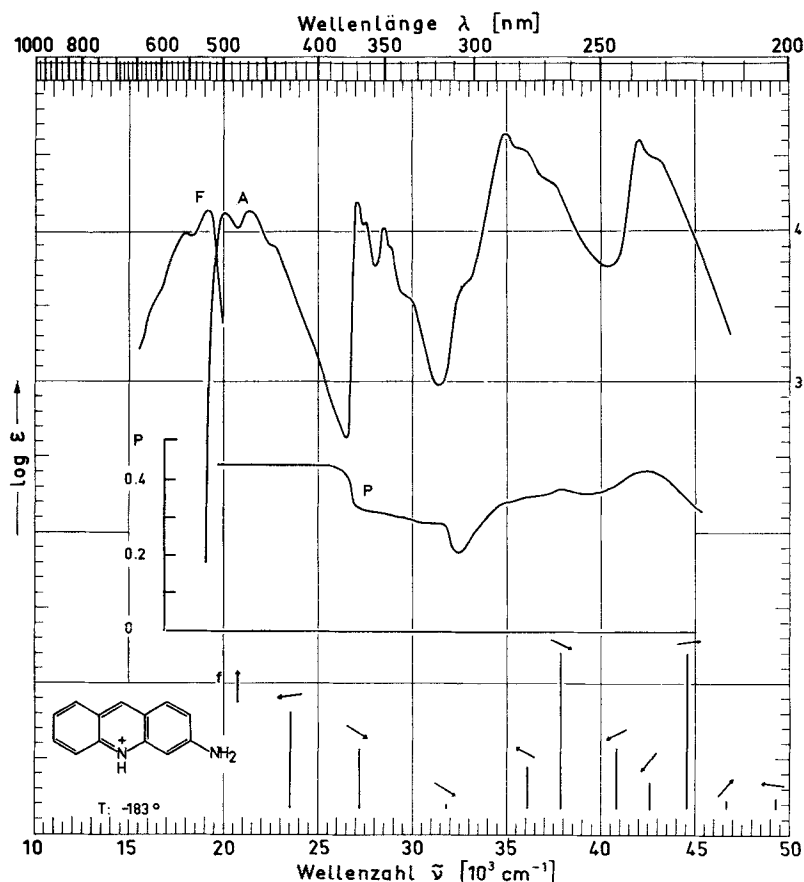


Abb. 3. 3-Amino-Acridinium-Kation: UV- und Polarisationsgrad-Spektrum (-183°C), berechnete Elektronenübergänge

fachern RCA 1 P 28 bzw. HTV R 213 und Anzeige auf dem Verstärkerteil des Zeiss-Spektralphotometers PMQ II. Die Spektren müssen auf Eigenpolarisation der Apparatur und auf Streulicht korrigiert werden. Das Spektrometer kann nach Entfernen der Glan Thompson-Prismen auch zur Messung der Fluoreszenz verwendet werden (Körber und Zanker, 1964; Dörr, 1966).

Bestimmt man P bei einer Wellenlänge des Lumineszenzspektrums, indem man die Erregerfrequenz im Absorptionsspektrum variiert, so ergeben sich Polarisationsgradspektren, wie sie in Abb. 2 und 3 sowie 5 und 6 dargestellt sind.

Da die Emission immer aus dem ersten angeregten Elektronenzustand erfolgt, geben experimentelle Polarisationsgradspektren Abfolge und relative Lage der Oszillatoren zum Übergangsmoment des längstwelligen Elektronenübergangs wieder. Um die absolute Orientierung zum Molekülgerüst zu erhalten, muß die Lage des Oszillators von A_1 bestimmt werden. Das ist entweder durch Ausrichtung der Moleküle, etwa bei Adsorption an Trägermaterialien, oder im elektrischen

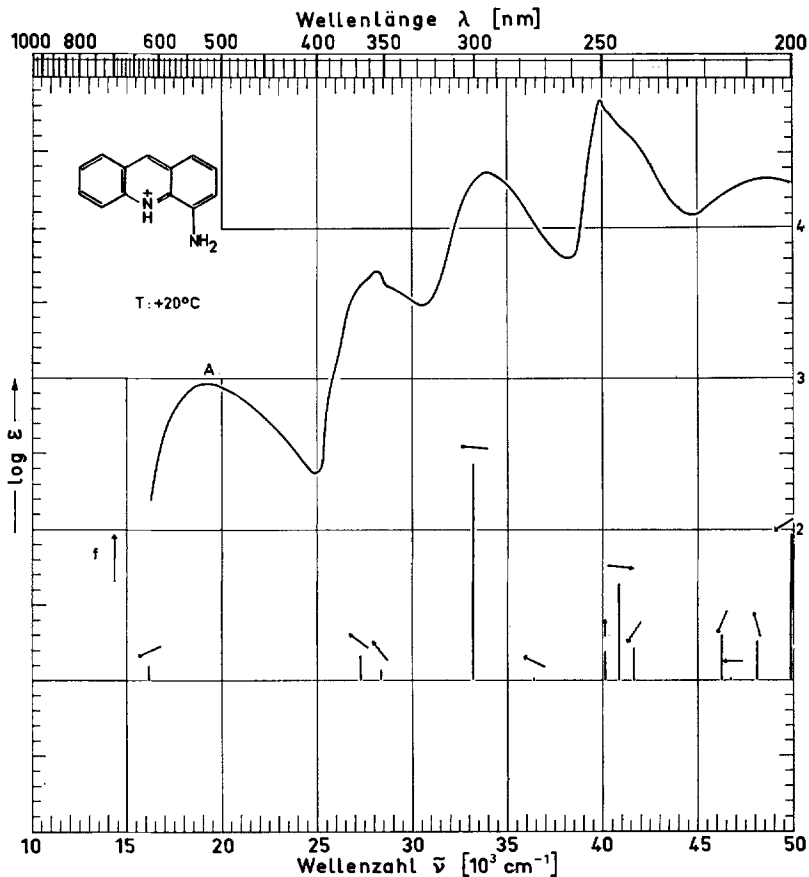


Abb. 4. 4-Amino-Acridinium-Kation: UV-Spektrum (+20°C) und berechnete Elektronenübergänge

Feld bei Molekülen mit permanentem Dipolmoment möglich oder aber mit Hilfe von Modellrechnungen.

Semiempirische Modellrechnungen

Die Wahl des Rechenverfahrens wird allein schon durch die Größe der zu untersuchenden Moleküle getroffen. Wir benützen ein semiempirisches PPP-Modell, da es sich bei den Monoamino-Acridinium-Kationen um Verbindungen mit leicht anregbaren π -Systemen handelt. Die Methode kann an dieser Stelle nicht in Einzelheiten abgehandelt werden; wir verweisen auf entsprechende Literatur (Pariser, 1953; Pariser und Parr, 1953; Pariser, 1956; Pople, 1953). Es sollen aber die wesentlichen Formeln dargestellt werden, um folgendes verständlich zu machen: Ausgangspunkt einer theoretischen Beschreibung der Elektronenstrukturen von Molekülen ist die Schrödingergleichung

$$\mathcal{H}\psi = E\psi, \quad (1)$$

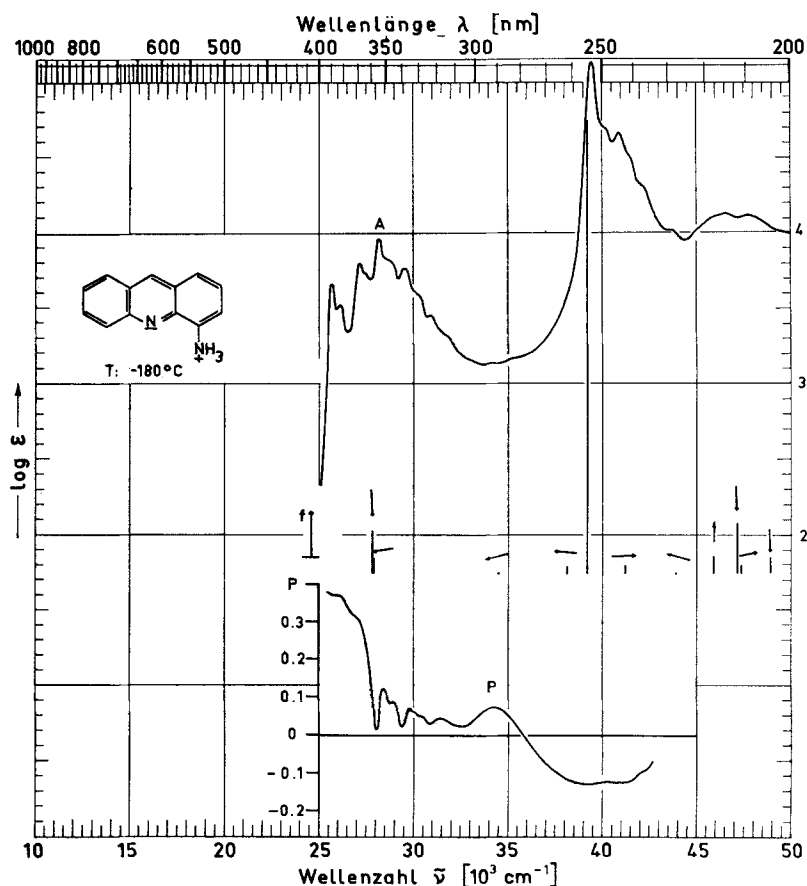


Abb. 5. 4-Amino-Acridin-Kation: UV-Spektrum (-180°C), Polarisationsgrad-Spektrum und berechnete UV-Übergänge

wobei \mathcal{H} ein Energieoperator ist, welcher, auf die SCF-Einelektronen-Moleküleigenfunktionen ψ_n angewendet, die stationären Energiezustände E_n des Systems liefert. Diese können optisch angeregt werden. Jede Eigenfunktion ψ_n zu einem Energieeigenwert E_n ist durch Anzahl und Lage ihrer Knotenflächen charakterisiert; sie gehört zu einer irreduziblen Darstellung, die wir beispielsweise im Falle des Anthracens der Punktgruppe D_{2h} durch Symbole $b_{2g}, b_{3u}, a_u, b_{1g}$ usw. bezeichnen werden (s. S. 235) (Salem, 1966). Für ein System von 16 π -Elektronen der MAAK besitzt der Hamiltonoperator die Form¹

$$\mathcal{H}(1, 2, \dots, 16) = \sum_{i=1}^{16} h_{\text{eff}}(i) + \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^{16} \frac{1}{r_{ij}}. \quad (2)$$

Term 2 beschreibt die Wechselwirkung der π -Elektronen untereinander, Term 1 die kinetische Energie der Elektronen und die Kern-Elektronen-Wechselwirkung.

¹ Alle Formeln sind in atomaren Einheiten angegeben.

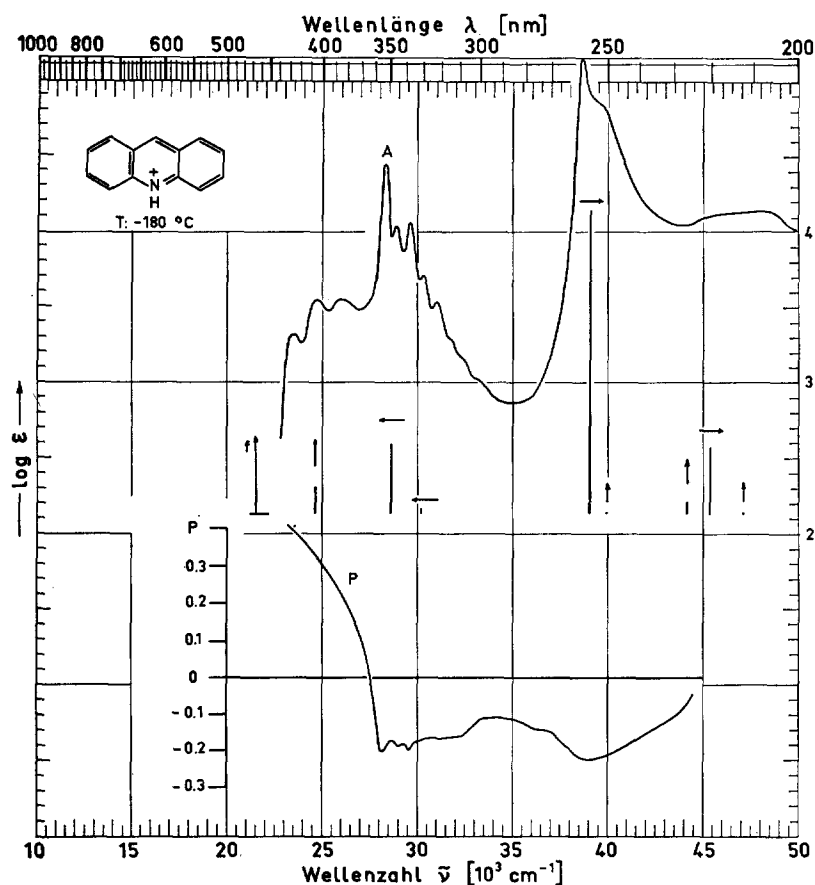


Abb. 6. Acridinium-Kation: UV-Spektrum (-180°C), Polarisationsgrad-Spektrum und berechnete UV-Übergänge

Die antisymmetrischen Moleküleigenfunktionen ψ_n werden aus Atomorbitalen $\varphi_v(i)$ aufgebaut (LCAO Ansatz). Sie sollen der Beziehung $\varphi_v(i) \varphi_\mu(i) = 0$ genügen (zero differential overlap). Dadurch verschwinden alle bei der Integration von (1) auftretenden Elektronenwechselwirkungsintegrale außer den Coulombintegralen

$$\gamma_{\mu\nu} = \int \varphi_\mu^*(i) \varphi_\mu(i) \frac{1}{r_{ij}} \varphi_\nu^*(j) \varphi_\nu(j) d\tau_i d\tau_j. \quad (3)$$

Die Einzentren-Coulombintegrale $\gamma_{\mu\mu}$ sind als empirische Parameter behandelt, die Zweizentren-Coulombintegrale werden nach einer von Mataga und Nishimoto (1957) angegebenen Beziehung berechnet

$$\gamma_{\mu\nu} = \frac{1}{R_{\mu\nu} + a_{\mu\nu}}. \quad (4)$$

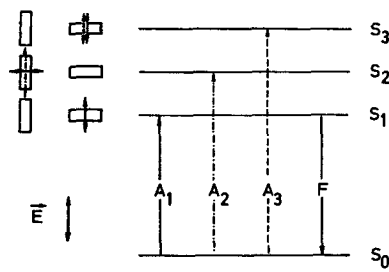


Abb. 7. Termschema und relative Lage absorbierender und emittierender Oszillatoren

Tabelle 1. Parameter der SCF-Rechnungen

Atom	δW_A [eV]	$\gamma_{\mu\mu}$ [eV]	Bindung	$X_{\mu\nu}$	$Y_{\mu\nu}$
C ⁺		11,13	C—C	0,51	2,00
N ⁺⁺ _{Ring}	15,54	17,44	C—N	0,53	2,20
N ⁺⁺ _{Subst.}	14,54	17,44			

$R_{\mu\nu}$ ist der Abstand zweier Zentren (Atome) μ und ν . Für $\mu = \nu$ ist $1/a_{\mu\mu} = \gamma_{\mu\mu}$, für große $R_{\mu\nu}$ geht $\gamma_{\mu\nu}$ gegen $1/R_{\mu\nu}$. Die Diagonalelemente α_μ des effektiven Gerüstoperators $h_{\text{eff}}(i)$ ergeben sich nach

$$\alpha_\mu(A) = \delta W_A - \sum_{\nu \neq \mu} n_\nu \gamma_{\mu\nu} \tag{5}$$

bei geeigneter Wahl des Energienullpunkts. n_ν ist die Zahl der π -Elektronen, die ein Atom ν zum konjugierten System beisteuert, δW_A die Differenz des Ionisierungspotentials eines Atoms A im Valenzzustand zu demjenigen eines trigonalen C-Atoms.

Die Außerdiagonalelemente $\beta_{\mu\nu}$ des Operators $h_{\text{eff}}(i)$

$$\beta_{\mu\nu} = \int \varphi_\mu^*(i) h_{\text{eff}}(i) \varphi_\nu(i) d\tau_i \tag{6}$$

sind linear abhängig von den π -Bindungsordnungen $p_{\mu\nu}$ der Bindung zwischen den Zentren μ und ν

$$\beta_{\mu\nu} = -X_{\mu\nu} p_{\mu\nu} - Y_{\mu\nu} \tag{7}$$

und werden iterativ nach Nishimoto (1967) in fünf Schritten berechnet. Die in den Rechnungen verwendeten Werte für δW_A , $\gamma_{\mu\mu}$, $X_{\mu\nu}$ und $Y_{\mu\nu}$ sind in Tabelle 1 zusammengestellt².

Die Molekülgrundzustände werden durch die Ergebnisse dieses Rechenverfahrens gut geschrieben. Zur Ermittlung der Elektronenanregungszustände wird die Methode der Konfigurationswechselwirkung angewandt. Wir lassen in unserem Fall Wechselwirkungen zwischen 30 niedersten, einfach angeregten Konfigurationen zu. Wir verstehen unter derartigen Elektronenkonfigurationen Zustände, bei denen ein Elektron aus irgendeinem im Molekülgrundzustand besetzten SCF-orbital in ein leeres, angeregtes SCF-Niveau gehoben ist. Im Grundzustand der

² Computer-Programme stellt das Deutsche Rechenzentrum Darmstadt zu Verfügung.

Molekel sind bei $2n$ π -Elektronen im System n SCF-Energiezustände doppelt mit Elektronen antiparallelen Spins besetzt.

Die Rechnungen liefern außer den π -Elektronendichteverteilungen und π -Bindungsordnungen der Grund- und optischen Anregungszustände (Tabellen 2–5) die Anregungsenergien, die Intensitäten und die Polarisationen der Übergänge. Letztere sind als Strichspektren in den Abb. 1–6 den experimentellen Absorptionen gegenübergestellt.

Resultate und Diskussion der Rechenergebnisse

Die Resultate der Rechnungen reproduzieren die experimentellen Spektren (*A*) und (*P*) gut: Wie bei den entsprechenden hydroxysubstituierten Verbindungen ergibt sich im Vergleich zu den korrespondierenden Basen bei den Kationen MAAK die gemessene langwellige Verschiebung vor allem der ersten, niederenergetischen Übergänge. Die Rechnung bestätigt den aus den Spektren zu ziehenden Schluß, daß die Protonierung der Base zum Kation am Ringheteroatom erfolgt (Wittwer und Zanker, 1959). Eine Ausnahme bildet das 4-Amino-Kation, welches nur bei Normaltemperatur ringprotoniert vorliegt. In glasartig erstarrter Lösung bei -180°C ist der Aminostickstoff das stärker basische Zentrum. Die unter diesen Bedingungen zu messenden Spektren (*A*) und (*P*) sind denen des Acridins sehr ähnlich (s. Abb. 5). Sie werden durch Rechnungen reproduziert, in die Werte der Molekülparameter δW_N , γ_{NN} und β_{CN} des Ringstickstoffs eingehen, wie sie bei den Basen Verwendung finden (Seiffert, Zanker, Mantsch und Schneider, 1968). Der Einfluß der positivierten, protonierten Aminogruppe auf den Ringkohlenstoff, an den sie gebunden ist, kann als induktiv angesehen und so bei der Kalkulation berücksichtigt werden. Daraus resultiert folgender Schluß: Änderungen der Basizitäten beider Heteroatome durch äußere Einflüsse, beispielsweise durch Adsorption an Substratmolekülen, die zu einer Protonierung am Aminostickstoff anstatt im Heteroring führt oder zumindest zu einer Wasserstoffbrückenbindung eines Protons zum *N*-Atom des Substituenten, haben eine beträchtlich hypsochrome Verschiebung der langwelligen UV-Bande zur Folge. Dasselbe gilt für die Bildung von Dikationen, da der Einfluß der positivierten $-\text{N}^+\text{H}_3$ -Gruppe auf das π -System der Ringe vorwiegend induktiv ist (Abb. 5). Dikationen liefern dem Acridiniumion ähnliche Spektren (Abb. 6). Entsprechend sollten Wasserstoffbrückenbindungen zum NH_2 -Substituenten von Aminoacridiniumverbindungen zunehmend mit der Bindungsstärke hypsochrome Verschiebungen der langwelligen UV-Bande bis etwa 25000 cm^{-1} (Wert des Acridiniumions, s. Abb. 6) als Grenze verursachen.

Bevor die UV-Übergänge der MAAK einzeln und detailliert charakterisiert werden, soll eine erste, qualitative Sichtung der Spektren und ein Vergleich mit Rechnungen durchgeführt werden: Alle langstwelligen Banden werden bei den vier Verbindungen durch jeweils einen Elektronenübergang hervorgerufen. Da dessen Oszillator identisch mit dem der Emission ist, wird der Polarisationsgrad positiv sein und nahezu einen theoretischen Grenzwert (für Moleküle mit ein- und zweizähliger Symmetrieachse von 0,5 (Feofilov, 1961) erreichen (s. Abb. 2 und 3). Die Lage der Oszillatoren in den Molekülen wird durch die Stellung der Substituenten stark beeinflusst (s. Pfeilrichtung in den Strichspektren der Abb. 1–4; sie geben die Polarisationsrichtungen der Übergänge an). Im Bereich von 25000 bis

31 000 cm^{-1} liefert die Rechnung bei allen MAAK zwei Übergänge. Der Verlauf des Polarisationsgradspektrums zeigt, daß das Übergangsmoment mindestens des einen (Abb. 2) oder auch beider (Abb. 3) mit demjenigen des längstwelligsten Übergangs einen stark von null verschiedenen Winkel α einschließt. Da α kleiner als 90° ist, sinkt (P) zwar ab, erreicht aber nicht einen theoretischen Grenzwert von $-0,33$ (Feofilov, 1961), wie er zu erwarten wäre, wenn die Übergänge senkrecht zu A_1 , der längstwelligsten Absorption, polarisiert wären.

Die intensiven Absorptionen zwischen 33 000 und 38 000 cm^{-1} rühren von einem Dipolübergang her, dessen Polarisationsrichtung sich von derjenigen der Anregung A_1 nur sehr wenig unterscheidet. Die Werte von (P) liegen deshalb in diesem Bereich nur gering, aber noch deutlich unter denen für A_1 . Die errechneten Polarisationen bestätigen diesen Befund. Die Banden zwischen 40 000 und 45 000 cm^{-1} werden durch mehrere Oszillatoren unterschiedlicher Orientierung hervorgerufen. Diese Übergänge sind nicht mehr durch Minima in den UV-Spektren getrennt.

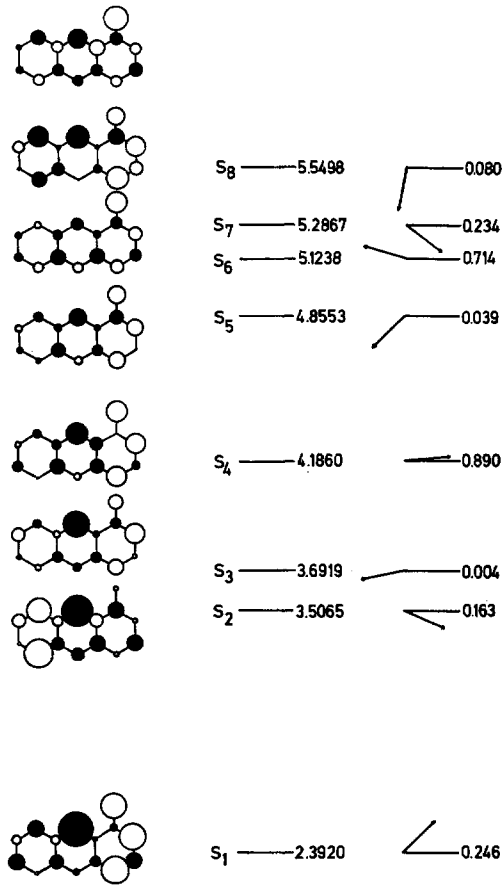
Bei der Base (Abb. 5) und dem Acridiniumkation (Abb. 6) zeigt der sehr starke Abfall von (P) im Bereich von 27 000 cm^{-1} die Existenz eines Übergangs an, der senkrecht zum längstwelligsten (1L_a) orientiert ist. Dieser Übergang (1L_b) sollte bei der Base schwächer sein als im Falle des Kations; deshalb wird (P) im Bereich von 27 000—33 000 cm^{-1} in Abb. 5 nicht negativ. Das geschieht erst durch die starken Dipolübergänge (1B_b) ab 39 000 cm^{-1} , welche senkrecht zur Anregung A_1 polarisiert sind (Abb. 5 und 6).

Bandencharakteristik

In den Abb. 8—11 sind die Singulett-Termschemata für die ersten acht Mehr-elektronen-Energieniveaus S_1 — S_8 dargestellt, wie sie sich aus den SCF-Ein-elektronenzuständen (der Energien E_n) durch Konfigurationswechselwirkung ergeben. Zusätzlich sind Polarisationen und Intensitäten (f -Werte) der optischen Übergänge aus den Grundzuständen S_0 wiedergegeben. Die Spalten 1 zeigen in graphischer Darstellung die Änderungen der π -Elektronendichten, die das System während der Anregung erfährt (ausgefüllte Kreise bedeuten Elektronenzunahme, weiße Kreise Elektronenabnahme).

Um UV-Übergänge substituierter Verbindungen charakterisieren zu können, wird allgemein mit dem Grundkörper verglichen. Von allen bisher beschriebenen Acridinderivaten (Seiffert, Zanker, Mantsch und Schneider, 1968; Seiffert, Zanker und Mantsch, 1969) stößt ein Vergleich der Amino-Acridinium-Spektren mit demjenigen des den Verbindungen zugrunde liegenden Kohlenwasserstoffs Anthracen auf besondere Schwierigkeiten: Schon der Einfluß des positivierten Ringstickstoffs allein bedeutet eine beträchtliche Störung des π -Systems, wie es im Kohlenwasserstoff vorliegt. Die zu anderen Substituenten stärker ausgeprägte Konjugationsfähigkeit der Aminogruppe mit den Aromaten stört Eigenfunktionen und Energieeigenwerte zusätzlich noch erheblich.

Will man an der Deutung wenigstens einiger Banden in den Spektren nach Platt (1949) festhalten, so empfiehlt es sich, diese UV-Übergänge mit solchen des Anthracens zu korrelieren, welche durch vergleichbare Konfigurationen beschrieben werden. Wir untersuchen dazu die Knotenverteilung der SCF-Ein-elektronenorbitale, aus denen die Konfigurationen aufgebaut sind, welche bei den



$\Delta \pi$ -Elektronendichten angeregte Singulett- Polarisation f-Werte
zustände (eV)



Abb. 8. Termschema der angeregten Singulettzustände [eV] von 1-Amino-Acrininium-Kation, Oszillatorenstärken und Orientierungen der Übergangsmomente

Anregungsenergien zu den Niveaus S_1 — S_8 auftreten. Vergleichbare Elektronenzustände S_n sind dann solche, die mit großem Gewicht Konfigurationen enthalten, deren SCF-orbitale ähnliche Knotenverteilungen aufweisen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß jede Konfiguration, die in S_n bzw. in die Anregungsenergie nach S_n

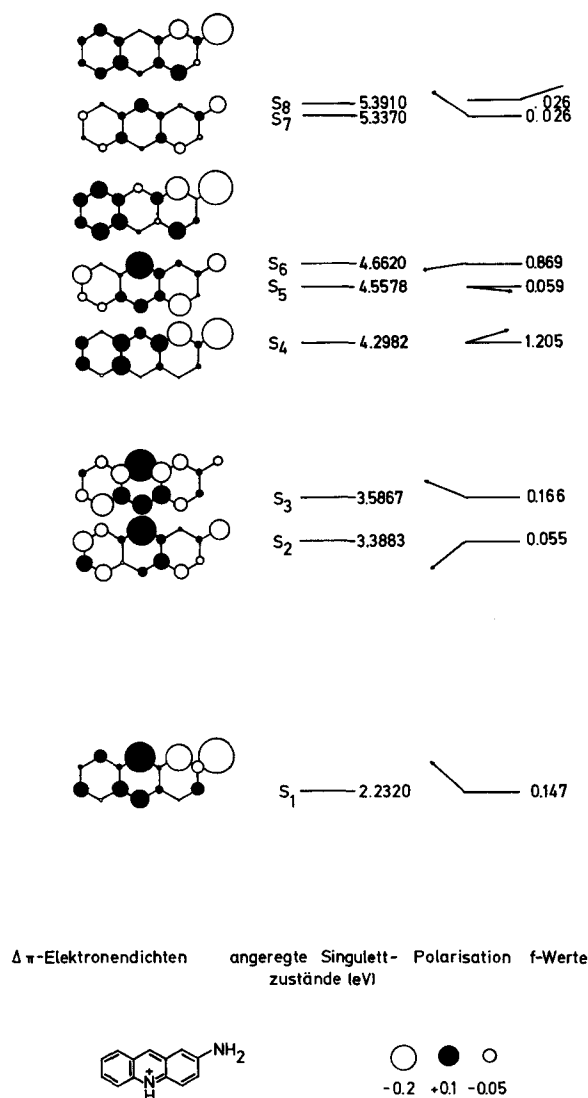


Abb. 9. Termschema der angeregten Singulettzustände [eV] von 2-Amino-Acrininium-Kation, Oszillatorenstärken und Orientierungen der Übergangsmomente

eingeht, aus jeweils zwei SCF-orbitalen gebildet wird (s. S. 228). Ist die Zahl der Elektronen im π -System $2n$ (14 bei Anthracen, 16 bei den MAAK), dann sind im Termsystem der Eielektronen-SCF-Näherung n -Zustände besetzt (7 bei Anthracen, 8 bei den MAAK).

Die Anregungsenergie der ersten Bande im Anthracenspektrum (1L_a -Bande) und die der längstwelligen Übergänge nach S_1 der MAAK werden im wesentlichen durch einen Übergang E_n nach E_{n+1} beschrieben, d. h. diese Banden sind nahezu

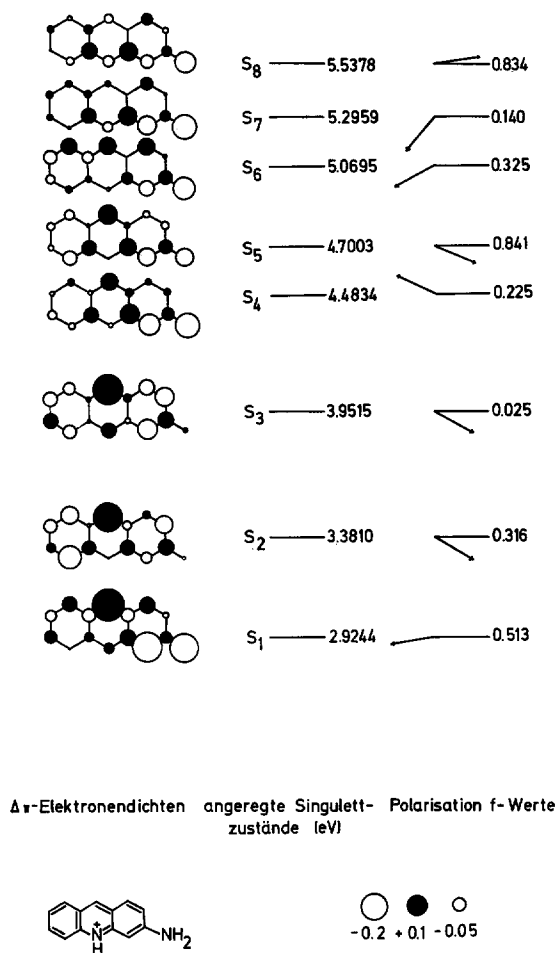


Abb. 10. Termschema der angeregten Singulettzustände [eV] von 3-Amino-Acrininium-Kation, Oszillatorenstärken und Orientierungen der Übergangsmomente

reine Konfigurationsübergänge. Die beiden SCF-Niveaus besitzen bei Anthracen die Symmetrie b_{2g} und b_{3u} . Nun sind die vier tiefsten unbesetzten Einelektronenniveaus der Amino-Acridine mit denjenigen des Anthracens noch gut zu vergleichen, nämlich den Termen $n+1$ (b_{3u}), $n+2$ (a_u), $n+3$ (b_{1g}) und $n+5$ (b_{3u}). Bei allen MAAK außer dem in 3-Stellung substituierten ist auch noch der höchste besetzte SCF-Einelektronenzustand demjenigen des Anthracens der Symmetrie b_{2g} zu korrelieren, auch wenn der Einfluß des Ringstickstoffs und des NH_2 -Substituenten sich schon sehr viel stärker bemerkbar macht. Dann sind aber die Übergänge nach S_1 der MAAK dem des Anthracens der 1L_a -Bande weitgehend ähnlich. Jedoch sind beispielsweise die Änderungen der Polarisationsrichtungen der Übergangsmoment nach S_1 verglichen mit der 1L_a -Bande des Anthracens erheblich.

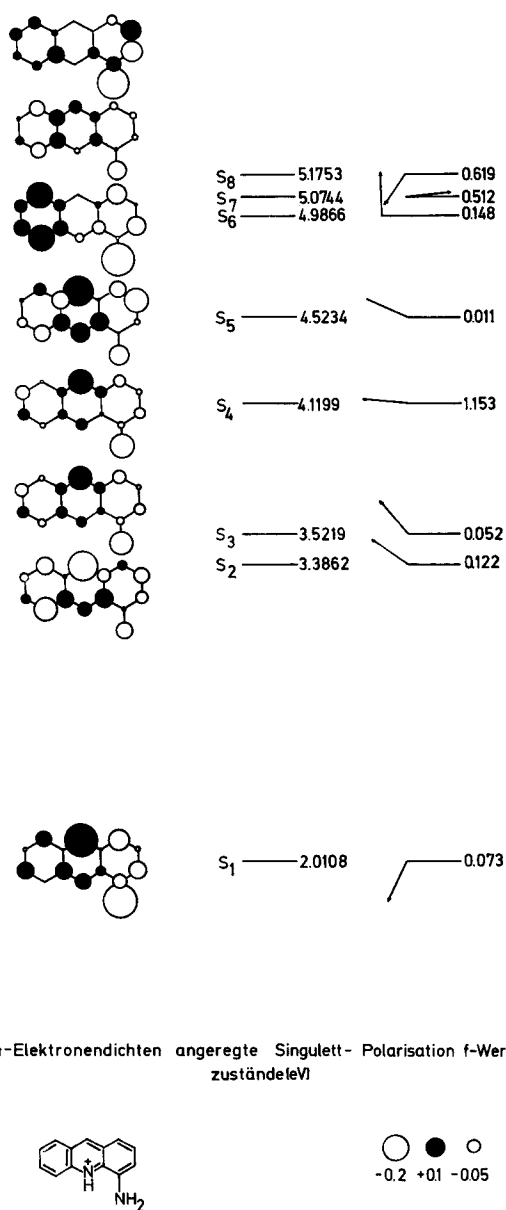


Abb. 11. Termschema der angeregten Singulettzustände [eV] von 4-Amino-Acrininium-Kation, Oszillatorenstärken und Orientierungen der Übergangsmomente

Diese ist bekanntlich in der kurzen Molekülachse polarisiert, die langwelligen Übergänge der MAAK liegen schräg im Molekül.

Die 1L_b - und 1B_b -Banden des Kohlenwasserstoffs werden durch Linearkombinationen verschiedenen Vorzeichens von je zwei Konfigurationen beschrieben,

nämlich $n \rightarrow n+2$ und $n-1 \rightarrow n+1$. Die entsprechenden Einelektronenniveaus sind von der Rasse b_{2g} , a_u , b_{1g} und b_{3u} (in gleicher Reihenfolge). Konfigurationen mit SCF-Termen ähnlicher Knotenverteilung ihrer Eigenfunktionen finden sich wieder bei Übergängen nach S_2 bei 2-Aminosubstitution und nach S_3 bei 1- und 4-Stellung der NH_2 -Gruppen für diejenigen Banden, die sich von dem intensitäts-schwachen 1L_b -Übergang des Kohlenwasserstoffs herleiten lassen. Von der intensiven 1B_b -Bande des Anthracens kommen die Übergänge nach S_4 bei 1-, 2- und 4-Substitution her, wie entsprechende Vergleiche zeigen.

Andere Banden in den Spektren der MAAK sind nach Platt nicht mehr zu klassifizieren: UV-Übergänge nach S_2 sind bei 1- und 4-Substitution, nach S_3 bei 2-Substitution von einer verbotenen B_{3g} -Anregung des Anthracens abzuleiten. Ein Übergang nach S_5 kann bei 1- und 2-Amino-Acridinium-Kation der ersten, verbotenen A_g -Anregung des Anthracens korreliert werden, bei 4-Amino-Acridinium-Kation einer verbotenen B_{3g} -Bande des Kohlenwasserstoffs.

Der Versuch einer Korrelation von Übergängen der 3-Aminoverbindung mit denen des Anthracens soll nicht unternommen werden. Aufgrund der besonderen Stellung des Substituenten ist die erste Bande im Spektrum in der langen Molekülachse polarisiert, der Richtung eines Chromophors, der sich zwischen beiden Heteroatomen erstreckt und cyaninähnlich formuliert werden könnte. Diese Bande ist intensiver als bei den übrigen Amino-Kationen. Das in 3-Stellung substituierte Derivat steht offensichtlich zwischen einem Aromaten und einem Cyaninsystem, wie es etwa bei Acridinorange vorliegt.

Die Abb. 12 zeigt Korrelationsdiagramme für Übergänge der vier Kationen mit denjenigen der korrespondierenden Basen. Dabei stehen jeweils in den ersten Zeilen die gemessenen Absorptionen³. Die Zeilen 3 bis 5 zeigen hypothetische Spektren, wie sie etwa bei zunehmend stärkerer Verbrückung des $\text{N}^+\text{-H}$ -Protons mit Acceptorzentren, beispielsweise eines Substratmoleküls auftreten könnten. Diese H-Brücken würden also eine hypsochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsbanden besonders bei 2- und 4-, aber auch bei 1-Substitutionen bewirken.

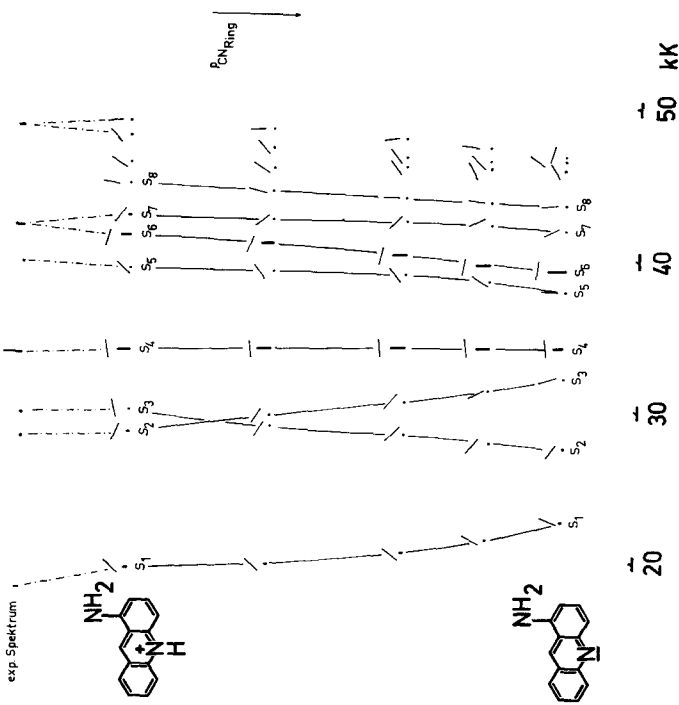
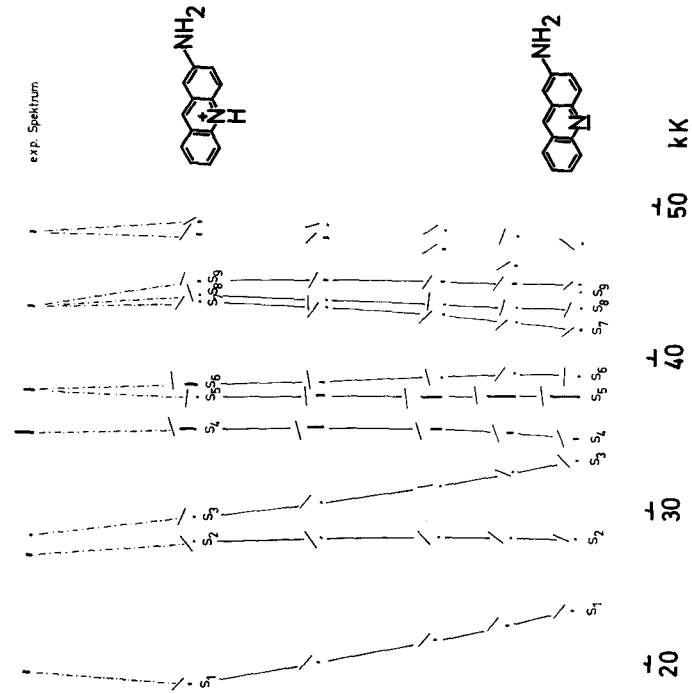
Die Übergänge der Basen (Zeilen 6) sind in einer früheren Arbeit bereits charakterisiert worden (Seiffert, Zanker, Mantsch und Schneider, 1968).

Elektronendichten und Bindungsordnungen

Die Tabellen 2–5 zeigen einen Vergleich der π -Elektronendichten und π -Bindungsordnungen der vier isomeren Monoamino-Acridine (Basen) und der korrespondierenden protonierten Ionen (MAAK) für die Molekülgrundzustände (S_0) und bei den Ionen für die ersten vier angeregten Singulettzustände S_1 – S_4 .

Es fällt auf, daß etwa nur $2/5$ der positiven Ladung des Kations am Ringstickstoff lokalisiert ist (Position 6). Da die Rumpfladung des N-Atoms im Ring um eine Einheit wächst bei dem Übergang von der Base zum Kation, ist die π -Elektronendichte höher (um ca. 0,3) als bei der neutralen Verbindung.

³ Die etwas kurzweilige Lage der ersten Absorptionsbande des 4-Amino-Acridinium-Kations kann durch eine schwache innermolekulare Wasserstoffbrückenbindung des $\text{N}^+\text{-H}$ -Protons des Heterorings zum Aminostickstoff erklärt werden, die in der Rechnung nicht berücksichtigt ist.



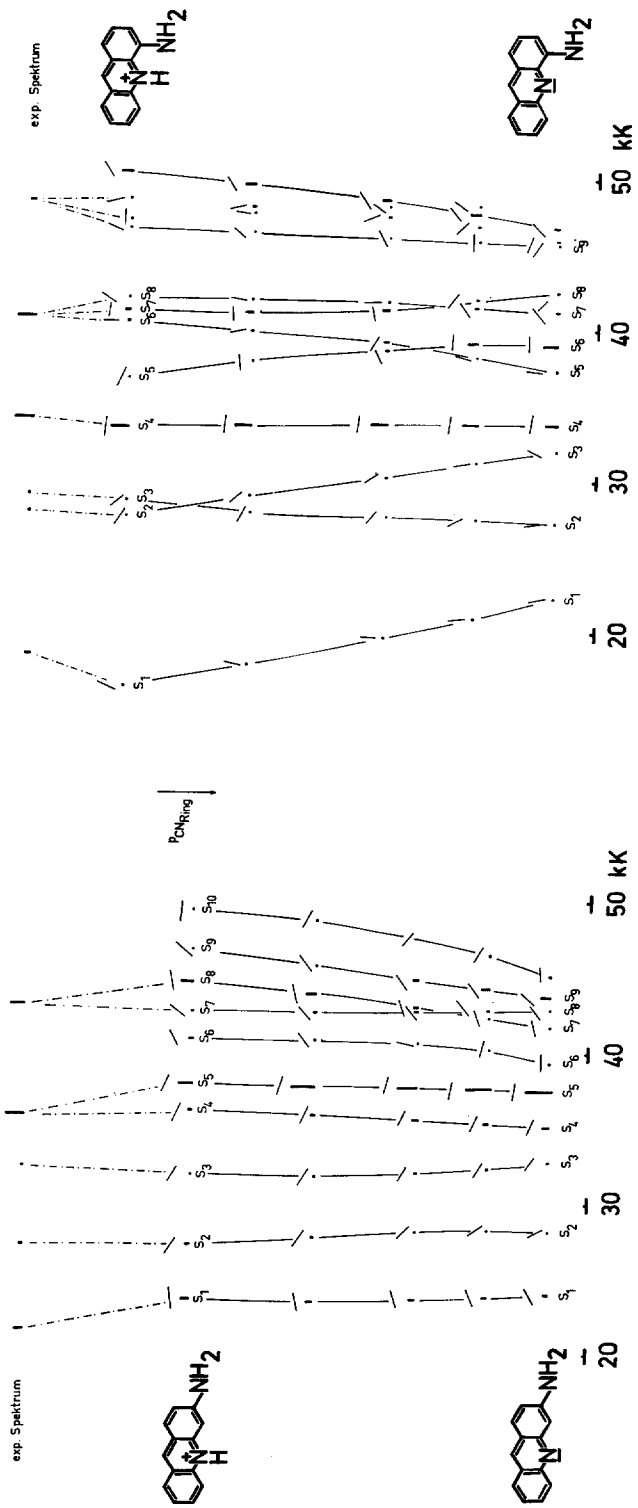
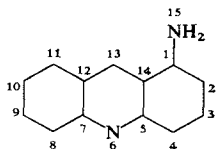


Abb. 12. Korrelationsdiagramme Kationen/Basen

Tabelle 2. π -Elektronendichten und π -Bindungsordnungen des 1-Amino-Acridinium-Kations und seiner korrespondierenden Base. S_0 Grundzustand, S_1 — S_4 angeregte Singulettzustände

1-Amino-Acridin						
Nr.	S_0	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4
	Base	Kation				
π -Elektronendichten:						
1	0,989	0,939	0,956	1,010	0,968	0,939
2	1,126	1,080	0,885	1,074	0,970	0,968
3	0,969	0,889	0,962	0,959	0,882	0,909
4	1,066	1,085	0,868	1,077	1,013	0,967
5	0,895	0,967	0,998	1,037	1,000	1,016
6	1,273	1,597	1,809	1,639	1,619	1,582
7	0,905	0,965	1,019	1,009	0,995	1,025
8	1,001	1,029	1,026	0,795	1,016	1,030
9	0,987	0,907	0,979	0,904	0,914	0,941
10	1,010	0,967	0,941	0,912	0,916	0,954
11	1,000	0,956	1,024	0,787	0,975	0,976
12	1,024	1,042	1,014	1,010	1,027	1,068
13	0,949	0,843	1,158	1,111	1,026	0,968
14	1,043	1,060	1,065	1,010	1,071	1,106
15	1,761	1,672	1,496	1,664	1,608	1,549
π -Bindungsordnung:						
1—2	0,684	0,608	0,496	0,601	0,567	0,545
2—3	0,566	0,664	0,675	0,656	0,552	0,559
3—4	0,760	0,647	0,620	0,633	0,626	0,630
4—5	0,499	0,637	0,552	0,638	0,601	0,567
5—6	0,601	0,463	0,439	0,384	0,426	0,461
6—7	0,597	0,468	0,422	0,426	0,441	0,462
7—8	0,486	0,572	0,588	0,522	0,563	0,550
8—9	0,783	0,726	0,692	0,552	0,693	0,713
9—10	0,533	0,579	0,596	0,665	0,495	0,483
10—11	0,787	0,747	0,702	0,592	0,690	0,707
11—12	0,492	0,526	0,557	0,445	0,543	0,541
12—13	0,602	0,556	0,513	0,552	0,524	0,527
13—14	0,652	0,678	0,583	0,533	0,616	0,635
14—1	0,428	0,426	0,433	0,461	0,437	0,412
5—14	0,494	0,458	0,533	0,497	0,398	0,384
7—12	0,516	0,529	0,522	0,564	0,419	0,399
1—15	0,478	0,565	0,617	0,511	0,564	0,607

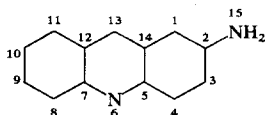


Bei Anregung in die ersten Singulettzustände wird die positive Überschußladung des Ringstickstoffs schwach geringer.

Wie bei den entsprechenden Hydroxyverbindungen führt die Protonierung des Ringsystems zu einer beträchtlichen Erhöhung des Elektronendefizits am

Tabelle 3. π -Elektronendichten und π -Bindungsordnungen des 2-Amino-Acridinium-Kations und seiner korrespondierenden Base; S_0 Grundzustand, S_1 — S_4 angeregte Singulettzustände

2-Amino-Acridin						
Nr.	S_0	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4
	Base	Kation				
π -Elektronendichten:						
1	1,122	1,088	0,886	1,083	1,022	0,922
2	1,001	0,968	0,926	0,980	0,979	0,983
3	1,035	0,962	1,009	0,944	0,979	0,970
4	0,991	1,020	1,022	0,957	0,963	1,021
5	0,923	0,988	1,004	1,060	1,080	1,005
6	1,261	1,564	1,653	1,588	1,664	1,563
7	0,918	0,971	1,038	0,968	1,048	1,063
8	1,001	1,031	1,028	0,949	0,897	1,028
9	0,992	0,906	0,965	0,978	0,858	0,960
10	1,008	0,962	0,967	0,845	0,976	1,010
11	0,999	0,953	1,000	0,902	0,910	0,955
12	1,011	1,022	1,029	1,039	0,917	1,101
13	0,957	0,834	1,083	1,056	1,111	0,871
14	0,998	1,011	1,014	1,038	0,902	1,087
15	1,781	1,719	1,373	1,612	1,696	1,458
π -Bindungsordnung:						
1—2	0,698	0,642	0,507	0,608	0,617	0,554
2—3	0,468	0,482	0,460	0,490	0,498	0,420
3—4	0,803	0,765	0,745	0,646	0,649	0,734
4—5	0,468	0,538	0,543	0,590	0,583	0,499
5—6	0,612	0,491	0,431	0,389	0,397	0,502
6—7	0,598	0,495	0,391	0,493	0,411	0,463
7—8	0,485	0,554	0,603	0,485	0,584	0,522
8—9	0,784	0,741	0,678	0,715	0,565	0,690
9—10	0,531	0,560	0,599	0,553	0,584	0,519
10—11	0,784	0,763	0,717	0,609	0,722	0,706
11—12	0,486	0,501	0,524	0,563	0,410	0,486
12—13	0,616	0,609	0,554	0,547	0,556	0,576
13—14	0,617	0,587	0,529	0,554	0,543	0,558
14—1	0,502	0,547	0,587	0,552	0,450	0,524
5—14	0,501	0,494	0,504	0,481	0,496	0,421
7—12	0,512	0,509	0,533	0,457	0,517	0,428
2—15	0,461	0,527	0,652	0,530	0,523	0,593

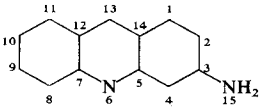


C-Atom der Position 13, para-ständig zum Ringstickstoff. Gleichzeitig füllen sich die Elektronenlücken in 5- und 7-Stellung leicht auf.

Bei Anregung nach S_1 verändern sich die Verhältnisse völlig. Die Position 13, die im Grundzustand der MAAK eine hohe positive Partialladung besitzt, hat nun

Tabelle 4. π -Elektronendichten und π -Bindungsordnungen des 3-Amino-Acridinium-Kations und seiner korrespondierenden Base; S_0 Grundzustand, S_1 — S_4 angeregte Singulettzustände

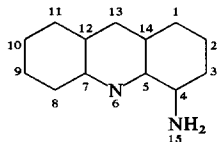
3-Amino-Acridin						
Nr.	S_0	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4
	Base	Kation				
π -Elektronendichten:						
1	0,984	0,936	1,005	0,958	0,861	0,922
2	1,057	1,027	1,015	0,939	0,922	1,005
3	0,983	0,913	0,951	0,983	0,979	0,970
4	1,128	1,154	0,907	1,115	1,038	1,066
5	0,893	0,949	1,019	1,011	0,939	1,033
6	1,287	1,601	1,631	1,600	1,661	1,600
7	0,904	0,975	0,998	1,030	0,970	1,037
8	1,006	1,032	1,030	0,879	0,982	0,970
9	0,988	0,913	0,960	0,937	0,972	0,901
10	1,014	0,969	0,932	0,913	0,905	0,948
11	0,996	0,951	1,012	0,860	0,909	0,921
12	1,025	1,038	0,987	1,033	1,046	1,042
13	0,933	0,831	1,123	1,057	1,073	0,938
14	1,032	1,045	0,992	1,019	1,066	1,068
15	1,769	1,667	1,440	1,664	1,675	1,579
π -Bindungsordnung:						
1—2	0,806	0,811	0,764	0,678	0,615	0,710
2—3	0,462	0,458	0,468	0,488	0,488	0,433
3—4	0,690	0,591	0,484	0,576	0,571	0,571
4—5	0,520	0,638	0,627	0,620	0,530	0,562
5—6	0,595	0,476	0,408	0,436	0,427	0,453
6—7	0,594	0,456	0,430	0,419	0,383	0,440
7—8	0,488	0,575	0,586	0,557	0,517	0,537
8—9	0,782	0,724	0,690	0,606	0,690	0,658
9—10	0,535	0,583	0,576	0,641	0,587	0,518
10—11	0,780	0,744	0,707	0,616	0,619	0,669
11—12	0,493	0,529	0,544	0,511	0,518	0,519
12—13	0,602	0,551	0,535	0,537	0,524	0,517
13—14	0,643	0,668	0,563	0,537	0,593	0,609
14—1	0,467	0,456	0,479	0,544	0,485	0,480
5—14	0,488	0,464	0,504	0,463	0,481	0,409
7—12	0,516	0,535	0,496	0,539	0,539	0,451
3—15	0,476	0,583	0,620	0,535	0,538	0,564



unter allen C-Atomen die höchste π -Elektronendichte. Das bedeutet, daß bei Reaktionen im Grundzustand der MAAK in Position 13 nukleophil substituiert wird, wogegen bei Photoreaktionen elektrophile Substituenten an gleicher Stelle im Molekül angreifen sollten.

Tabelle 5. π -Elektronendichten und π -Bindungsordnungen des 4-Amino-Acridinium-Kations und seiner korrespondierenden Base; S_0 Grundzustand, S_1 — S_4 angeregte Singulettzustände

4-Amino-Acridin						
	S_0	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4
	Base	Kation				
π -Elektronendichten:						
1	1,064	1,008	0,881	1,032	0,958	0,959
2	0,989	0,947	0,939	0,879	0,938	0,934
3	1,113	1,016	0,925	0,972	0,977	0,981
4	0,997	1,018	0,953	1,022	1,000	1,004
5	0,934	1,020	1,044	1,111	1,034	1,026
6	1,274	1,580	1,646	1,633	1,613	1,617
7	0,919	0,965	1,043	1,043	1,002	0,989
8	1,006	1,036	1,036	0,881	1,015	1,024
9	0,989	0,899	0,980	0,923	0,936	0,935
10	1,006	0,961	0,957	0,937	0,912	0,902
11	0,994	0,945	1,012	0,852	0,934	0,942
12	1,012	1,026	1,025	1,021	1,061	1,052
13	0,942	0,806	1,113	1,055	0,964	0,973
14	1,002	1,016	1,019	0,960	1,053	1,054
15	1,757	1,757	1,429	1,679	1,603	1,609
π -Bindungsordnung:						
1—2	0,767	0,727	0,645	0,688	0,676	0,670
2—3	0,559	0,607	0,677	0,537	0,559	0,559
3—4	0,685	0,635	0,500	0,601	0,581	0,579
4—5	0,427	0,505	0,458	0,523	0,474	0,476
5—6	0,615	0,472	0,424	0,398	0,432	0,426
6—7	0,592	0,493	0,399	0,428	0,454	0,453
7—8	0,487	0,559	0,597	0,547	0,529	0,531
8—9	0,783	0,737	0,687	0,601	0,722	0,726
9—10	0,532	0,563	0,598	0,624	0,488	0,480
10—11	0,784	0,761	0,714	0,644	0,672	0,671
11—12	0,487	0,502	0,537	0,460	0,538	0,544
12—13	0,614	0,607	0,541	0,582	0,566	0,559
13—14	0,621	0,595	0,548	0,496	0,568	0,568
14—1	0,484	0,525	0,513	0,543	0,519	0,520
5—14	0,510	0,500	0,553	0,492	0,431	0,434
7—12	0,514	0,508	0,531	0,524	0,404	0,404
4—15	0,481	0,480	0,631	0,486	0,536	0,533



Steht der NH_2 -Substituent in 1- oder 3-Stellung, so alternieren die π -Elektronendichten in den aromatischen Ringen, wie das ausgeprägt bei Cyaninsystemen der Fall ist (Scheibe, Seiffert, Hohlneicher, Jutz und Springer, 1966; Seiffert und Mantsch, 1969; s. Tabelle 2 und 4).

Die C-N⁺-Bindungsordnung nimmt bei der Protonierung der Base ab. Etwa 20% des Doppelbindungscharakters gehen verloren. Die peripheren nächsten Nachbarbindungen werden stärker. Eine schwache Tendenz zum Bindungsausgleich in den anellierten Benzolringen ist bei Ionenbildung zu konstatieren.

Der Grad der Wechselwirkung der exocyclischen NH₂-Gruppe mit dem aromatischen System ist bei den Kationen nicht sehr verschieden von dem der Basen. Der Aminostickstoff ist bei den Ionen nur wenig stärker positiviert. Dagegen nimmt die Konjugationsfähigkeit der NH₂-Gruppen mit dem aromatischen π -System bei Anregung nach S₁ beträchtlich zu, die π -Elektronendichte am exocyclischen Stickstoff nimmt drastisch ab; die π -Elektronen gehen vorzugsweise an das C-Atom der Position 13. Ähnliches kann auch bei Anregung in höhere Singulettzustände erwartet werden.

Wir danken der D. F. G. und den Rechenzentren in Darmstadt und Freiburg.

Literatur

- Appel, W., Zanker, V.: Über die Bildung reversibler Assoziate des Acridinorange-Metachromasie durch Heparin. *Z. Naturforsch.* **13b**, 126—134 (1958).
- Dörr, F.: Zur Spektroskopie mit polarisiertem Licht. *Z. angew. Chemie* **78**, 457—474 (1966).
- Feofilov, P. P.: The physical basis of polarized emission. New York: Consultants Bureau 1961.
- Körber, W., Zanker, V.: Zuordnung von π -Elektronenabsorptionsbanden mit Hilfe der Methode der Fluoreszenzpolarisation. *Z. angew. Physik* **17**, 398—404 (1964).
- Kubota, Y., Miura, M.: Photochemistry of DNA-acridine dye complexes. *Bull. Chem. Soc. Japan* **40**, 2989—2990 (1967).
- Lang, H., Löber, G.: Elektronenstruktur und UV-Spektren kationischer Aminoacridine. *Tetrahedron Letters* **46**, 4043—4047 (1969).
- Löber, G.: On the fluorescence of acridine derivatives in the presence of DNA. *Photochemistry and Photobiology* **4**, 607—612 (1965).
- Neuere Ergebnisse der Fluoreszenzspektrometrie. *Z. Chem.* **6**, 124—138 (1966).
- On the complex formation of acridin dyes with DNA-IV. The equilibrium constants of substituted proflavine and acridine orange derivatives. *Photochemistry and Photobiology* **8**, 23—30 (1968).
- Mantsch, H., Seiffert, W., Zanker, V.: π -Electronic structure of acridine N-oxide. *Revue Roumaine de Chimie* **14**, 125—133 (1969).
- Mataga, N., Nishimoto, K.: Electronic structure and spectra of nitrogen heterocycles. *Z. Phys. Chem., N. F.* **13**, 140—157 (1957).
- Nishimoto, K.: Electron interaction in molecules II. π -Electronic structure of some aromatic hydrocarbons and their derivatives. *Theoret. Chim. Acta* **7**, 207—219 (1967).
- Pariser, R.: An improvement in the π -electron approximation in LCAO MO theory. *J. Chem. Phys.* **21**, 568—569 (1953).
- Theory of the electronic spectra and structure of the polyacenes and of alternant hydrocarbons. *J. Chem. Phys.* **24**, 250—268 (1956).
- Parr, R. G.: A semi-empirical theory of the electronic spectra and electronic structure of complex unsaturated molecules, I. *J. Chem. Phys.* **21**, 466—471 (1953).
- Platt, J. R.: Classification of spectra of cata-condensed hydrocarbons. *J. Chem. Phys.* **17**, 484—495 (1949).
- Klevens, H. B.: Spectral resemblances of cata-condensed hydrocarbons. *J. Chem. Phys.* **17**, 470—481 (1949).
- Pople, J. A.: Electron interaction in unsaturated hydrocarbons. *Transact. Farad. Soc.* **49**, 1375—1385 (1953).
- Salem, L.: The molecular orbital theory of conjugated systems. New York-Amsterdam: W. A. Benjamin, Inc. 1966.

- Scheibe, G., Seiffert, W., Hohlneicher, G., Jutz, Ch., Springer, H. J.: Trans-Protonenkopplungskonstanten und C-C-Abstände bei Cyaninen, Merocyaninen und Olefinen. *Tetrahedron Letters* **41**, 5053—5059 (1966).
- Seiffert, W., Limbach, H., Zanker, V., Mantsch, H.: SCF-Rechnungen an Monohydroxyacridinium Kationen. *Tetrahedron* (1970) im Druck.
- Mantsch, H.: Betrachtungen zur Struktur und Reaktivität von N-Methylpyridon-2, N-Methylpyridon-2-methid und deren Benzhomologen. *Tetrahedron* **25**, 4569—4578 (1969).
- Zanker, V., Mantsch, H.: UV-Spektroskopische Untersuchungen an N-Heterocyclen. *Tetrahedron Letters* **30**, 3437—3442 (1968).
- — — UV-Spektroskopische Untersuchungen an 9-substituierten Acridinen. *Tetrahedron Letters* **40**, 4303—4306 (1968).
- — — Untersuchungen zur UV-Spektroskopie der Mono-Hydroxyacridine. *Tetrahedron* **25**, 1001—1012 (1969).
- — — Schneider, B.: UV-Spektroskopische Untersuchungen an monoamino-substituierten Acridinen. *Tetrahedron Letters* **54**, 5655—5660 (1968).
- Staubesand, J., Wittekind, D., Rentsch, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Feinbau der Reticulocyten, I: Farbstoffabhängige Variationen in der Struktur der Substantia Granulo-Filamentosa. *Z. Zellforsch.* **69**, 344—362 (1966).
- Wittekind, D., Kunze, J.: Über Monoaminoacridine als Fluorochrome in der Hämatologie. *Hämatologie und Bluttransfusion*, Bd. 8, S. 146—149. München: J. F. Lehmanns 1969.
- Rentsch, G.: Über biologische Wirkungen von Farbstoffen, speziell von Fluorochromen. *Acta histochemica* (Jena), Suppl. VII, 221 (1965).
- Wittwer, A., Zanker, V.: Absorptions- und Fluoreszenzpolarisationsspektren einiger Mono- und Diaminoacridine bei Tieftemperatur. *Z. Phys. Chem., N. F.* **22**, 417—439 (1959).
- Zanker, V.: Über den Nachweis definierter reversibler Assoziate („reversible Polymerisate“) des Acridinorange durch Absorptions- und Fluoreszenzmessungen in wäßriger Lösung. *Z. Phys. Chem. Frankfurt* **199**, 225—258 (1952).
- Quantitative Absorptions- und Emissionsmessungen am Acridinorange-kation bei Normal- und Tieftemperatur im organischen Lösungsmittel und ihr Beitrag zur Deutung des meta-chromatischen Fluoreszenzproblems. *Z. Phys. Chem. Frankfurt* **200**, 250—291 (1952).

Dr. W. Seiffert
Institut für Physikalische Chemie
der Universität
D-7800 Freiburg i. Br., Albertstr. 21