15. Studien über Anthocyane, XV¹⁾.

Über Uliginosin, einen neuen Farbstoff aus den Beeren von
Vaccinium uliginosum.

Von Kôzô HAYASHI.

(Mitteilung aus dem Iwata Institut für Pflanzenbiochemie in Tokyo.)

(Comm. by K. SHIBATA, M. I. A., May 12, 1947.)

Am Herbst des vorigen Jahres habe ich gelegentlich über die Natur des Farbstoffs in der schwarz-rot aussehenden Beerenhaut von *Vaccinium uliginosum* Linnaeus (Ericaceae) untersucht, und gefunden, dass es ein neues Anthocyanin vorliegt. In dieser Mitteilung wurden die bisher erhaltenen Versuchsergebnisse über diesen Farbstoff, welcher einstweilen als „Uliginosin“ genannt werden soll, kurz zusammengefasst.

Beim Eintauchen der frischen Beeren²⁾ in 2-proz. methylalkoholischer Salzsäure wurde der Farbstoff sofort mit schön roter Farbe ausgelaugt. Schliesslich habe ich gefunden, dass sich der Farbstoff bequem mit verdünnter Salzsäure extrahieren lässt. Dasselbe Verfahren macht die weitere Aufarbeitung sehr leicht, indem sich der Farbstoff daraus als Pikrat gut abscheiden lässt. Auf diese Weise konnte ich diesmal etwa 0.5 g reines, nadliges Farbstoffpikrat isolieren; die genauere Angabe über die prozentuale Ausbeute des Farbstoffs aus Beeren soll durch spätere Arbeiten ergänzt werden.

Das Uliginosin, welches man aus schwerlöslichem, pikrinsaurem Salz zurückgewinnen kann, wird mit keiner von organischen Säuren verestert. Es gibt mit Eisen(III)chlorid keine Farbenänderung, was darauf hinweist, dass der Farbstoff methoxyl-haltig ist. Bei der Säurespaltung gibt er tatsächlich ein schön krystallisierendes, methoxyliertes Anthocyanidin, welches hauptsächlich auf spektrographischem Wege als Malvidin identifiziert wurde. Der Zucker, ein anderes Spaltstück des Uliginosins, kann man ohne Zweifel als Galactose betrachten, indem er mit α -Methylphenylhydrazin die farblosen, breiten Nadelkristalle des Hydrazones liefert. Weiter durch quantitativ ausgeführte Hydrolyse wurde bewiesen, dass beim Uliginosin diese zwei Komponente miteinander in gleichmolekularem Verhältnis zur Verbindung kommen. Hiermit ist es zu konstatieren, dass das Uliginosin ein Malvidin-monogalactosid ist. Was die Stellung der Zuckerbindung anbetrifft, gelang es mir noch nicht, sie experimentell eindeutig festzustellen. Unter Berücksichtigung des Tatbestands, dass bei zahlreichen natürlichen Anthocyaninen das 3-Hydroxyl immer mit Zuckerrest besetzt ist, neigen wir mit grosser Wahrscheinlichkeit zur Ansicht,

1) XIV Mitteil.: Proc., 22 (1946), 251.

2) Die farbstoff-führende Beerenhaut hängt sich mit dem farblosen Fleisch fast untrennbar zusammen, so dass die ganzen Beeren zur Extraktion verwendet werden mussten.

dass auch beim Uliginosin den Galactoserest an der 3-Stellung des Malvidins steht.

[Gal. = Galactoserest.]

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Isolierung des Uliginosins als Pikrat.

Eine Menge von den essbaren *Vaccinium*-Beeren, die in der Umgebung von der Stadt Karuisawa gesammelt und feilgeboten werden, hat Herr Kollege Dr. H. HARA mir freundlichst zur Verfügung gestellt. Sie sahen in frischem Zustand fast schwarz aus. Sie können zweckmässig mit salzsäure-haltigem Wasser extrahiert werden, und aus diesem Extrakt lassen wir den Farbstoff als Pikrinsäure-Verbindung abscheiden. Die letztere wird einige Male aus pikrinsäure-haltigem Wasser umkrystallisiert und rein erhalten. Das reine Pikrat ist in heissem Wasser leicht löslich, aber sehr schwer in kaltem und es scheidet sich daraus in Nadelbüscheln mit karminroter Farbe ab (Fig. 1). Diese Verbindung zersetzt sich bei 203–4° unter schwachem Aufbrausen, mit gleichzeitigem Verkohlen der Schmelze.

Fig. 1.

Uliginosinpicrat. (× 400.)

Das Pikrat, welches rein dargestellt wurde, wog nur 0.6 g in lufttrockenem Zustand. Mit dieser geringen Substanzmenge wurden die folgenden Experimente ausgeführt.

Darstellung und Beschreibung des Uliginosinchlorids.

0.5 g oben erhaltenen Uliginosinpikrats wurden mit 20 ccm 5-proz. methylethanolischer Salzsäure digeriert, und darauf mit 3-fachem Volumen Ather versetzt. Das flockig ausgefällte Chlorid wurde in wenig Wasser gelöst und sorgfältig mit konz. Salzsäure vermischt, bis die Salzsäure-Konzentration annähernd zu 20 Prozenten anstieg.

Beim übernächtigen Stehen im Eisschrank schied sich das Chlorid in dünnen, verfilzten Nadeln ab, die unterm Mikroskop eine violettrote Farbe aufwiesen (Fig. 2). In massivem Zustand erscheinen sie rotbraun mit einem goldenen Glanz.

Das Uliginosinchlorid wird durch seine grosse Löslichkeit in Salzsäure charakterisiert. Es kommt sogar aus 10-proz. Salzsäure nicht zur Abscheidung, wodurch es sich vom anderen bekannten natürlichen Galactosid des Cyanidins (Idaeinchlorid) unterscheiden lässt. Die Auskrystallisation des Uliginosins ist bedingt, wie oben gesagt, durch eine sich auf 15–20 Proz. ansteigende Salzsäurekonzentration. Ein lufttrockenes Präparat des Uliginosins sintert von 143° ab und zersetzt sich bei 145° unter lebhaftem Aufschäumen. Mit Eisen(III)chlorid gibt es keine bemerkenswerte Farbenänderung. Das Absorptionsspektrum ist nicht wesentlich verschieden von dem des Aglykons (Fig. 4). Die Bestimmung des Krystallwassers und des Methoxylgehaltes gab die folgenden Zahlen:

Fig. 2.

Uliginosinchlorid. ($\times 400$.)

Ein über CaCl_2 einige Tage aufbewahrtes Präparat:

7.424 mg Subst. : Gew.-Verl. 1.030 mg (100° , P_2O_5 , 5–10 mm Hg).

$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_{12}\text{Cl} \cdot 4\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. Ber. H_2O 13.29.

$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_{12}\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Ber. „ 14.55.

Gef. „ 13.87.

Methoxylbestimmung eines wasserfreien Glykosids:

6.394 mg Subst. : 4.548 mg AgJ.

$\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_{10}\text{Cl}(\text{OCH}_3)_2$. Ber. OCH_3 11.73.

Gef. „ 9.40.

Nachweis und Bestimmung der Hydrolyseprodukte des Uliginosins.

Eine kleine Portion des Glykosids wurde mit etwa 100 Teilen 20-proz. Salzsäure 3 Minuten zum Sieden erhitzt, wobei sich das Aglykon in Nadelkrystallen abschied. Die Abscheidung war praktisch vollkommen und die Mutterlauge wurde fast farblos. Die Krystalle zeigten alle Reaktionen des Malvidins, welches ich früher aus *Iris*-Blüten u. a.¹⁾ dargestellt hatte. Die Substanz gab ein Fig. 3 angegebenes Krystallbild und zeigte eine charakteristische Absorptionskurve, die in Fig. 4 dargestellt wird. Das Präparat enthielt $1\frac{1}{2}$ Mole Krystall

1) K. Hayashi: Acta Phytochim., **12** (1941), 65; **14** (1944), 39.

wasser und 2 Methoxylgruppen, was aus folgenden Daten ersichtlich ist :

3.768 mg Subst. : Gew.-Verl. 0.251 mg (100°, P₂O₅, 3 mm Hg).

$C_{17}H_{15}O_6Cl \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$. Ber. H₂O 6.86.

Gef. „ 6.66.

3.517 mg Subst. (wasserfrei) : 3.595 mg AgJ.

$C_{15}H_9O_5Cl(OCH_3)_2$. Ber. OCH₃ 16.92.

Gef. „ 13.51.

Die saure Hydrolyseflüssigkeit wurde mit reinem Äther gründlich ausgezogen. Diese Ätherlösung hinterliess nach dem Verdampfen kein Rückstand, woraus geschlossen wird, dass keine organische Säure am Aufbau des ursprünglichen Glykosids beteiligt ist. Die Restlösung wurde dann mit Soda neutralisiert und nach dem Einengen zum Nachweis des Zuckers benutzt. Mit dieser Lösung fielen die Reaktionen für Pentose (Orcin- und Phloroglucin-Reaktion) sowie die Reaktion für Rhamnose (Aceton-Salzsäure-Reaktion) alle negativ aus. Weiter konnte man aus dieser Zuckerlösung ein bei 177–180° schmelzendes Osazon und ein breitnadeliges, farbloses Methylphenylhydrazon darstellen. Trotz der Knappheit an Material, wobei eine Mischprobe leider ausbleiben musste, kann man mit grosser Wahrscheinlichkeit sagen, dass es sich um Galactose handelt. Endgültiger Beweis hierfür soll beim späteren Versuch gegeben werden.

Fig. 3.

Malvidinchlorid. (× 400.)

Zur quantitativen Bestimmung von den oben beschriebenen zwei Komponenten, Malvidin und Galactose, habe ich sorgfältig mit 20.6 mg lufttrockenen Uliginosins ganz gleich wie oben ausgearbeitet, wobei 13.4 mg lufttrockenes Malvidinchlorid und 6.01 mg Galactose gewonnen wurden. Die letztere wurde auf titrimetrischem Wege nach Bertrand bestimmt. Also wurde es festgestellt, dass die hydrolytische Spaltung genau nach folgendem Schema verläuft :

Zum Schluss möchte ich Herrn Ehrenprof. Dr. Keita Shibata für sein freundliches Entgegenkommen während dieser Arbeit einen tiefgefühlten Dank aussprechen. Herrn Dr. Hiroshi Hara für seine freundliche Versorgung mit Versuchsmaterial und Herrn Assistenten D. Ohata und Frl. T. Isaka, die mich bei der Ausführung dieser

Arbeit eifrig unterstützten, sage ich auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aus.

Fig. 4.