98. Studien über Anthocyane. XXI.¹⁾
Über den Farbstoff der dunkel braunroten
Calycanthus-Blüten.*

Von Kôzô HAYASHI und Tatsuo NOGUCHI.

Botanische Abteilung der Forschungsanstalt für Naturerzeugnisse, Tokyo.
(Comm. by Y. ASAHINA, M.J.A., Oct. 13, 1952.)

Der dunkel braunrote Blütenfarbstoff von *Calycanthus fertilis* Walt., ein aus Amerika eingeführter Strauch der Calycanthaceae, wurde von uns in der Absicht untersucht, Kenntnis darüber zu gewinnen, ob sein Anthocyanin strukturechemisch etwa zum Meratin (Quercetin-3-diglucosid)²⁾ (aus *Meratia praecox*=*Calycanthus praecox*) entspricht, und ob auch das letzte sich in den Blüten begleitet vorfindet oder nicht.

Gelegentlich am Mai dieses Jahres standen uns die Blüten in kleiner Menge zur Verfügung³⁾. Es hat sich dabei gezeigt, dass die Blüten, trotz anscheinend tiefer Farbe, an krystallisierbarem Farbstoff sehr arm waren. Der Extraktionsversuch hat aber ergeben, dass der Blütenfarbstoff einheitlich war und aus einzigem Anthocyanin bestand. Auch bei papier-chromatographischer Analyse liessen sich andere Farbkörper nicht nachweisen. Die Ausbeute an gereinigtem Anthocyanin war so gering, dass seine chemische Analyse nicht nach allen Richtungen durchgeführt werden konnte. Immerhin hat es uns geglückt, das gewonnene Anthocyanin als Chrysanthemin (3-Monoglucosid des Cyanidins) eindeutig festzustellen. Hierbei hat man das Produkt natürlich auch mit authentischem Präparat in allen Punkten sorgfältig verglichen.

Versuchsteil.

Isolierung des Anthocyanins als Pikrat. 425 g frische Blütenblätter wurden mit 800 ccm 2-proz. methanolischer Salzsäure extrahiert. Aus den klar filtrierten, roten Auszügen wurde der Farbstoff durch Zugabe von Bleisubacetatlösung gründlich niedergeschlagen, abfiltriert, und die graulich blau gefärbte Bleiverbindung mit 120 ccm 5-proz. methanolischer Salzsäure zersetzt. Das in

* Contribution from the Research Institute for Natural Resources, No. 569.

1) XX. Mitteil.: Vgl. Proc. Japan Acad., **27**, 430 (1951).

2) K. Hayashi u. K. Ouchi: Proc. Japan Acad., **22**, 251 (1946); **23**, 56 (1947).

3) Für die Beschaffung dieses Versuchsmaterials sind wir Herrn Direktor des botanischen Gartens und auch Kollegen Dr. Shunji Watari (Univ. zu Tokyo) zu Dank verpflichtet.

Lösung gegangene Anthocyaninchlorid liess sich sodann durch Äther-Zusatz in Form von Syrup ausfallen. Durch abermaliges Auflösen in Alkohol und Fällern mit Äther erhielt man den Farbstoff als braunrote Flocken. Darauf wurde das Produkt mit kleinster Menge kalter 20-proz. Salzsäure behandelt, wobei es sehr leicht in Lösung ging. Innerhalb 20 Stunden schied es sich in halb-krystalliner Form wieder aus. Darauf wurde die Substanz in 7 ccm schwach salzsaurem Wasser in der Wärme gelöst, eine beträchtliche Menge unlöslicher Stoffe abfiltriert, und dem Filtrat wurde etwa gleiche Menge gesättigter Pikrinsäurelösung versetzt. Bald krystallisierte das Pikrat in glänzenden, karminroten, breiten Nadeln, die etwa 100 mg (lufttrocken) wogen. Das gereinigte Präparat zersetzte sich bei 174.5° unter Zusammensintern und Verkohlen.

Anthocyaninchlorid (Chrysantheminchlorid). Etwa 100 mg Pikratkrystalle wurden in 1 ccm kalter 5-proz. methanolischer Salzsäure aufgelöst und mit Glasstab angerieben. Bald schied sich das Farbstoffchlorid in Aggregaten von winzigen Krystallblättchen wieder aus. Die Umkrystallisation geschah durch Auflösen in 1 ccm 0.5-proz. Salzsäure und Vermischen mit etwa 3-fachem Volumen von 4-proz. äthanolischer Salzsäure. Unter dem Mikroskop waren die abgeschiedenen Krystalle linsenförmig und schienen rotviolett. Aber beim Abnutschen waren sie ziegelrot, und zeigten prachtvollen Goldglanz. Nach der Reinigung ging das Präparat stark zurück; also konnte man schliesslich die analysenreine Substanz nur 18 mg erhalten. Dieses Farbstoffchlorid besass keinen Schmelzpunkt, aber zersetzte sich bei 221–222° unter Zusammensintern und Verkohlen. Die Verteilungszahl zwischen 0.5-proz. Salzsäure und *iso*-Amylalkohol war normal-monoglykosidisch, nämlich wurden die Werte als 10~12 ermittelt. Eine alkoholische Lösung des Farbstoffs zeigte mit Eisen(III)chlorid eine intensive blaue Farbe. Methoxylgruppe war nicht nachweisbar.

Krystallwasser-Bestimmung und Elementaranalyse.

Sbst.(lufttrocken) 3.341 mg: Gew.-Verl. 0.063 mg (100°, P₂O₅, 2–3 mm Hg).

C₂₁H₂₁O₁₁Cl·H₂O. Ber. $\frac{1}{2}$ H₂O 1.79. Gef. $\frac{1}{2}$ H₂O 1.88.

Sbst. (getrockn.) 3.278 mg: CO₂ 6.082 mg, H₂O 1.423 mg.

C₂₁H₂₁O₁₁Cl· $\frac{1}{2}$ H₂O. Ber. C 51.06, H 4.55. Gef. C 50.61, H 4.82.

Aus oben angeführten Versuchsergebnissen geht am ehesten hervor, dass man dieses *Calycanthus*-Anthocyanin wohl mit dem längst bekannten Chrysanthemin identifizieren lässt. Auch durch den Vergleich mit dem authentischen Präparat des Chrysanthemins wurde die Identität der beiden Substanzen bestätigt⁴⁾.

4) Bezüglich der Papier-chromatographie der Anthocyanfarbstoffe wollen wir anderswo eingehend diskutieren.

Hydrolyse des Glucosids (Nachwei des Cyanidins und der Glucose). Einige mg krystallisierten Glucosids wurden in kleinem Proberröhrchen mit 20-proz. Salzsäure während 2.5 Minuten gekocht, wobei sich der zucker-freie Farbstoff in schönen, rotbraunen Nadeln abschied. Unterm Mikroskop sahen die Krystalle ganz einheitlich aus⁵⁾. Der Krystallisationshabitus, die Lösungsfarbe und die Farbenreaktionen bestätigen die Identität dieses Aglykons mit dem Cyanidin. Die papier-chromatographische Analyse führte auch zu demselben Resultat¹⁾.

Zur Prüfung von Zucker und anderen Komponenten benutzten wir die Krystallisationsmutterlauge des Glucosides. Zweckmässig haben wir von der Flüssigkeit Hauptmenge von Alkohol im Vakuum verjagt, und nach dem Vermischen mit gleichem Volumen konz. Salzsäure wurde die rote Anthocyaninlösung, wie üblich, zum Sieden gekocht. Hierauf hat man ein amorph ausgefallenes Roh-Aglukon abfiltriert und das Filtrat mit Äther durchgeschüttelt. Die Ätherschicht hinterliess nach dem Abdampfen keine Spur von festem Stoff, woraus man zweifelsohne die Veresterung mit organischer Säure ausser Acht lassen kann.

Die mit Äther gewaschene, wässrige Schicht wurde zum Aufhellung zuerst mit Amylalkohol, dann mit Äther durchgeschüttelt. Die wässrige Restlösung zeigte keine Reaktionen von Pentosen, Methylpentosen, sowie von Ketohexosen. Dagegen bestand das daraus hergestellte Phenylosazon aus ganz einheitlich aussehenden, garbenförmig gruppierten Nadeln, welche ohne besondere Reinigung bei 195–197° unter Aufbrausen schmolzen. Papier-chromatographisches Verhalten dieses Zuckers hat eindeutig bewiesen, dass am Aufbau des genannten Anthocyaninmoleküls nur Glucose teilnimmt.

Herrn Dr. Yasuhiko Asahina, Direktor des Institutes, möchten wir an dieser Stelle für seine stetige Anregung und Unterstützung unseren besten Dank aussprechen. Wir sind auch dankbar, Herrn D. Ohata für Durchführung der Elementaranalyse und Herrn Y. Abe für die Anschaffung der chromatographischen Daten.

Ausgeführt mit Hilfe von einem Stipendium aus dem Unterrichtsministerium.

5) Das Krystallbild ist dasselbe wie man früher beim *Lycoris*-Cyanidin beobachtet hatte (Siehe Fig. 3 in Acta Phytochim., **10**, 145 (1937)).