

Untersuchungen über die Anthocyane;

von *Richard Willstätter*.

I. Über den Farbstoff der Kornblume;

von *Richard Willstätter* und *Arthur E. Everest*.

[Mitteilung aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem.]

(Eingelaufen am 11. September 1913.)

Theoretischer Teil.

Zur Geschichte.

Zum erstenmal hat F. S. Morot¹⁾ im Jahre 1849 den Farbstoff der Kornblume zu isolieren versucht, indem er einen wäßrigen Auszug der frischen Blüten mit Alkohol fällte. Er erhielt den sehr leicht zersetzlichen Farbstoff nur ganz unrein und betrachtete ihn als stickstoffhaltig. Bald nachher untersuchten E. Frémy und S. Cloëz²⁾ das Anthocyan der Kornblume, des Veilchens und der Schwertlilie, das sie als Cyanin bezeichneten. Sie extrahierten die Blüten mit siedendem Alkohol und bemerkten, daß die blaue Farbe der Flüssigkeit, nach ihrer Annahme infolge von Reduktion, bald verschwinde, daß sie aber nach nicht zu langer Berührung mit dem Alkohol beim Eindampfen wiederkehre. Durch Fällen mit Bleiacetat und Zerlegung des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff erhielten sie bläuliche Flocken einer nicht krystallisierbaren Substanz, die sie nicht analysiert haben. Zu reineren Präparaten des Pigments sind auch Frémy und Cloëz nicht gelangt. In dem Farbstoff der Rose, Paeonie, Dahlie und anderer Blüten vermuteten diese Forscher dasselbe Cyanin.

¹⁾ Ann. d. sciences nat. [3] 13, 160 (1849—1850).

²⁾ Journ. f. prakt. Chem. 62, 269 (1854).

Sechzig Jahre sind vergangen, in denen die chemische Untersuchung des Farbstoffs blauer Blüten keinen Fortschritt gemacht hat und auch die Literatur über die roten Blütenfarbstoffe sehr arm geblieben ist. Es scheint, daß die große Zersetzlichkeit des Anthocyans von seiner Untersuchung abgeschreckt hat.

In der jüngsten Zeit hat aber eine mikroskopische Untersuchung des Botanikers H. Molisch¹⁾ wertvolle Anregungen für die Bearbeitung dieses Gebietes gegeben. Molisch hat nämlich in Blüten und roten Blättern bei einer beträchtlichen Anzahl von Pflanzen beobachtet, daß das Anthocyan „nicht bloß im Zellsaft gelöst, sondern auch in fester Form ausgeschieden vorkommt, entweder krystallisiert oder in amorph erscheinenden Ballen“. Bei einigen Pflanzen ist es Molisch gelungen, auch außerhalb der Zellen mikroskopische Krystallisationen des Anthocyans abzuscheiden: ein Blumenblatt wurde mit Wasser oder Essigsäure zerdrückt und die Lösung unter dem Deckglas verdunstet. Bei dem Versuche mit frischen Pelargonien- und Rosenblüten traten unter dem Rande des Deckgläschens rote Krystalle auf. Molisch bespricht die Literatur über die Anthocyane und hält diese Pigmente für eine Gruppe von mehreren verschiedenen, wahrscheinlich verwandten Verbindungen; gewisse Anthocyane scheinen ihm zu den stickstofffreien Glucosiden zu zählen.

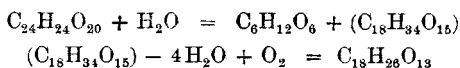
Unter dem Einfluß dieser Arbeit hat V. Grafe²⁾ im Wiener pflanzenphysiologischen Institut eine eingehende Untersuchung über die roten Anthocyane der Malve (Stockrose, *Althaea rosea*) und der Pelargonie (*Pelargonium zonale*) ausgeführt. Nach erfolglosen Versuchen mit dem Farbstoff des Rotkrauts und mit dem Anthocyan der Rose arbeitete Grafe über den Malvenfarbstoff, den schon eine frühere Untersuchung von

¹⁾ Botan. Zeitung **63**, 145 (1905).

²⁾ Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl. **115**, 975 (1906); **118**, 1033 (1909); **120**, 765 (1911).

R. Glan¹⁾ nicht ganz ohne Erfolg behandelt hatte. Nach Grafe soll das Anthocyan der Stockrose aus einem Glucosid von der Formel $C_{20}H_{30}O_{13}$ und einer zuckerfreien Verbindung von der Formel $C_{14}H_{16}O_6$ bestehen. Indessen erkennt man leicht nach einer im folgenden beschriebenen Reaktion, daß die Blüte von *Althaea* den Farbstoff in seiner ganzen Menge als Glucosid enthält.

Eine folgende Untersuchung von Grafe behandelt das Pelargonienanthocyan, das Grafe auf verschiedene Arten, namentlich durch eine Übertragung des Verfahrens von Molisch in den präparativen Maßstab darstellt. Auch hier erhält und beschreibt Grafe zwei Farbstoffe, einen kristallisierten zuckerfreien von der Formel $C_{18}H_{26}O_{13}$ und ein amorphes Glucosid von der Zusammensetzung $C_{24}H_{44}O_{20}$. Aber wieder ist Grafe im Irrtum. In Wirklichkeit enthält die Pelargonienblüte das Pigment ausschließlich in der Form von Glucosid und gerade die von Grafe als zuckerfrei betrachtete Verbindung ist zufolge unserer Nachprüfung ein Glucosid, obwohl sie nach Grafe aus amorphem Glucosid nach der Gleichung:



hervorgegangen sein soll. Die kristallisierte Verbindung soll nach Grafe 2 Mole Krystalleisessig enthalten, aber sie ist richtiger als essigsauerer Salz zu interpretieren. Wir werden auf die Ergebnisse von Grafe später mit genaueren Angaben zurückkommen.

Auch dieser Arbeit von Grafe über den Pelargonienfarbstoff ist eine Untersuchung vorangegangen, die A. B. Griffiths²⁾ im Jahre 1903, also noch vor der Mitteilung von Molisch, veröffentlicht hatte. Griffiths gewann aus der Geranienblüte durch Ausziehen mit 90 prozentigem Alkohol den Farbstoff; durch Verdampfen des Extraktes, Aufnehmen des Rückstandes mit absolutem

¹⁾ Dissertation, Erlangen 1892.

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges. **36**, 3959 (1903).

Alkohol und erneutes Abdampfen beendete er die Isolierung. Der krystallinische Rückstand entsprach der Formel $C_{15}H_{10}O_6$. Auch die Pigmente von Helianthus und Verbena erwähnt Griffiths; sie enthielten Stickstoff und Schwefel, waren also gewiß sehr unrein.

Auf die Frage der Glucosidnatur der Anthocyane bezieht sich eine gründlichere Arbeit, in welcher R. Heise¹⁾ schon vor diesen Studien über die Blütenfarbstoffe die Pigmente des Rotweins und besonders die der Heidelbeere untersucht hat, allerdings ohne abschließende Ergebnisse hinsichtlich der Zusammensetzung der Farbstoffe.

In der Heidelbeere finden sich nach Heise zwei rote Farbstoffe, die in amorphem Zustand beschrieben werden. Den in größerer Menge vorkommenden betrachtet Heise als ein Glucosid von der Formel $C_{20}H_{24}O_{12}$; er gibt bei der Spaltung mit Säure den zweiten Farbstoff von der Zusammensetzung $C_{14}H_{14}O_7$, der auch in der Beere neben dem Glucoside auftreten soll. Diesen zuckerfreien Farbstoff stellt Heise nach seiner Löslichkeit, seinem Verhalten gegen Salzsäure und gegen schmelzendes Ätzkali zu den als „Phlobaphene“ bezeichneten rotbraunen Rindenfarbstoffen.

Die Angaben über das Vorkommen der beiden Pigmente in der Beere müssen richtiggestellt werden, wie oben die Mitteilungen über zuckerhaltiges und zuckerfreies Anthocyan aus Blüten. Die Heidelbeere enthält den Farbstoff nur als Glucosid und dieses ist noch nicht in reinem Zustand bekannt.

Auch über die Anthocyane der Blätter sind nur wenige vorläufige Ermittlungen bekannt geworden. R. Combes²⁾ gibt an, daß er aus dem herbstlichen Laub von *Ampelopsis hederacea* eine in roten Nadelchen krystallisierende, aus den noch grünen Blättern eine hellbraune Substanz

¹⁾ Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte **5**, 618 (1889) und **9**, 478 (1894).

²⁾ *Compt. rend.* **150**, 1186 (1910) und **153**, 886 (1911),

isoliert habe, ohne Mitteilungen über sein Verfahren und über die Zusammensetzung der Produkte zu machen.

Während nach den Anschauungen von Combes die Anthocyane nicht durch eine einfache Oxydation aus zuvor in den Blättern vorhandenen farblosen Verbindungen hervorgehen, entwickelt M. Wheldale¹⁾ in gründlichen Untersuchungen die entgegengesetzte Auffassung, nach welcher die Anthocyane Oxydationsprodukte von Leukoverbindungen wären, welche letztere in der Pflanze als Glucoside vorkämen und bei der Farbstoffbildung in Zucker und Chromogene zerfielen.

Zur Beschreibung des Anthocyanins der Kornblume.

Wir haben eine Anzahl von Anthocyanen vergleichend betrachtet und zuerst das der Kornblume wegen seiner schönen, ziemlich rein blauen Farbe und wegen seines merkwürdigen Verhaltens eingehender zu untersuchen begonnen. Der Farbstoff ist schwer zu isolieren und unbeständig; er ist bisher selbst unter dem Mikroskop noch nicht in kristallinischem Zustand beobachtet worden.

Die Kornblume enthält in ihren Randblüten hauptsächlich blauen Farbstoff; in den Scheibenblütchen fast nur eine violette Form derselben, nicht rein, sondern bald mehr rotviolett, bald blauviolett. Die Farbe der inneren Kronenblätter vertieft sich von einem hellen Rotviolett zu Violett und an den Spitzen bis zu Violettblau.

Um diese Erscheinungen hervorzurufen, bedarf es in der Kornblume nur eines einzigen Farbstoffes, der in der Blüte in verschiedenen Zuständen vorkommt.

Neben der blauen und der violetten Modifikation gibt es noch eine farblose, die auch in der Blüte aufzutreten scheint, und ferner eine rote Form, die seltener, unter besonderen Wachstumsbedingungen, in der Kornblume angetroffen wird.

Die blaue Modifikation ist das Kaliumsalz einer Säure.

¹⁾ Proc. Roy. Soc. B. 81, 44 (1909); Proc. of the Cambridge Phil. Soc. XV, II (1909); Journ. of Genetics 1911, I, 133.

Die violette Modifikation ist die freie Säure. Für diese soll der alte Name Cyanin angewandt werden.

Die rote Modifikation ist eine Verbindung des Cyanins, nämlich ein Oxoniumsalz, mit irgendeiner Pflanzensäure, die bei der Darstellung für die Analyse zweckmäßig durch Salzsäure ersetzt wird.

Das Cyanin isomerisiert sich zu einer farblosen Modifikation, welche gleichfalls sauer ist und farblose Alkalisalze bildet. Daher entsteht ein farbloses Derivat auch aus dem blauen Farbstoff.

Die Kornblume bietet, so wie sie vorkommt und bis jetzt gezüchtet wird, eine viel weniger veränderliche Erscheinung als zahlreiche andere Blüten. Aber schon ihr genauer beschriebenes Beispiel zeigt, mit welchen chemischen Mitteln die Variationen der Blütenfarben zustande kommen. Es handelt sich allgemein im wesentlichen um drei Verbindungsformen: die rote bei Anwesenheit überschüssiger Säure im Zellsaft, welche mit der Sauerstoffbase ein Salz bildet; die violette, d. i. die Farbsäure in freier Form; die blaue, d. i. ein Alkalisalz, auftretend in hinlänglich alkalischem Zellsaft.

Das Anthocyan der Kornblume wird von Wasser extrahiert; die tiefblaue Lösung entfärbt sich rasch. Diese Veränderung beruht nicht auf einer Zersetzung, auch nicht, wie früher Frémy und Cloëz und noch in jüngster Zeit P. Q. Keegan¹⁾ angenommen haben, auf einer Reduktion des Farbstoffs. Beim Ansäuern wird die farblos gewordene Lösung auch nach langem Stehen ebenso rot wie die blaue.

Auch die rote Modifikation entfärbt sich, aber nur beim Fehlen von überschüssiger Säure, in verdünnter wäßriger oder alkoholischer Lösung.

Beim Abstumpfen mit Calciumcarbonat wird die saure Cyaninlösung rein violett; die violette Flüssigkeit erleidet gleichfalls rasch Umwandlung in den farblosen Zustand.

¹⁾ Chem. News 107, 181 (1913).

Beim Abdampfen oder starken Einengen der farblosen Lösung kehrt die ursprüngliche Farbe, die blaue, rote oder violette, zurück.

Bei der Neutralisation mit Soda schlägt die frische rote Farbstofflösung in schönes Blau um, die beim Stehen entfärbte aber in Grün.

Manche Blüten, z. B. gewisse violette Sorten von Rittersporn, liefern einen wäßrigen Extrakt, dessen Farbe bei gewöhnlicher Temperatur beständig ist. Andere Blüten hingegen geben weit unbeständigere Anthocyanlösungen, die nicht durch Isomerisation, sondern durch Zerstörung des Farbstoffs verblassen, vielleicht durch eine enzymatische Wirkung, z. B. Mohn, Eisenhut, Aster. In solchen Fällen kann man mit säurehaltigem Wasser das Anthocyan unversehrt extrahieren, manchmal auch mit heißem Wasser (Mohn).¹⁾

Weder aus saurerer, neutraler, noch aus alkalischer Lösung gehen die Anthocyane in organische Lösungsmittel über (z. B. in Äther, Chloroform, Amylalkohol).

Gruppen der Anthocyane.

Die durch Wasser oder wasserhaltigen Alkohol extrahierbaren, ätherunlöslichen blauen, violetten und roten Farbstoffe der Blüten, vieler Früchte und mancher Blätter heißen Anthocyane. Von früheren Autoren, z. B. von L. Weigert²⁾, ist es versucht worden, sie nach dem Verhalten gegen basisches Bleiacetat und nach einigen anderen Erscheinungen der Salzbildung in zwei Gruppen (Weinrot- und Rübenrotgruppe) einzuordnen; es wäre aber schwierig, eine so einfache Abgrenzung scharf durchzuführen und es müßten sehr verschiedene Pigmente

¹⁾ Eine andere Erscheinung und zwar wahrscheinlich die Folge einer Reduktion ist die in der Blüte selbst unter gewissen Bedingungen eintretende Entfärbung, die F. Keeble, E. F. Armstrong und W. N. Jones beschreiben [Proc. Roy. Soc. **86**, 308 (1913)].

²⁾ Jahresber. d. önolog. und pomolog. Lehranstalt Klosterneuburg 1895.

zu einer Gruppe zusammengefaßt werden. Eher ließen sich außer dem ziemlich vereinzelt stehenden Pigment der roten Rübe, das am meisten von den übrigen Anthocyanen differiert, noch zwei Gruppen nach dem verschiedenen Verhalten gegen Natriumcarbonat unterscheiden. Die angesäuerte Lösung gewisser Anthocyane wird mit Soda blau oder, wenn der Extrakt auch gelbe Blütenfarbstoffe enthält, blaugrün. Mit überschüssigem Alkali-carbonat, viel schneller mit Alkalihydroxyd, schlägt die Farbe in grün und weiter in gelb um. Hingegen wird die saure Lösung anderer Anthocyane beim Neutralisieren mit Soda grünlichrot, violettstichig rot oder violett, mit mehr Alkali gelb. Aber auch eine derartige Einteilung wäre willkürlich und unzureichend. Allein nach den Farberscheinungen in saurerer, in schwach alkalischer Lösung und beim Fällen mit Bleiacetat lassen sich schon zahlreichere Gruppen von Anthocyanen kennzeichnen. Vielleicht sind manche vorläufig nach ihrer Herkunft unterschiedene Pigmente identisch, doch kann man zu jeder Gruppe Beispiele stellen, die nach ihren Reaktionen nicht übereinstimmen, aber näher verwandt sind als die Vertreter verschiedener Gruppen. Es gibt also in den leicht zugänglichen Pflanzenstoffen eine erhebliche Zahl verschiedener Anthocyane.

Anthocyane von Kornblume, Rose, Lathyrus. In saurerer Lösung rot, mit Soda blau, von Bleiacetat blau gefällt; der Farbstoff isomerisiert sich leicht zu einer farblosen Modifikation.

Anthocyane der Weintraube, Heidelbeere, von Feldrittersporn¹⁾. In saurerer Lösung rot, mit Soda blau, Bleisalz blau, der Farbstoff entfärbt sich weniger leicht und nicht.

Anthocyan von Radieschen. In saurerer Lösung gelblich rot, mit Soda blau, mit Bleiacetat rote Fällung.

Anthocyane von Mohn, von Pelargonium. In saurerer Lösung gelbrot (Pelargonie) und blaurot (Mohn); mit Soda violett; durch Isomerisation entfärbt.

¹⁾ Mit getrockneten Blüten untersucht.

Anthocyane der Nelke, der Aster. In saurerer Lösung rot, mit Soda in dicker Schicht rot, in dünner blaugrün (Nelke) oder rotviolett bis rotbraun (Aster).

Anthocyane der roten Rübe (sowie der Melde). In saurerer Lösung violett, mit Soda rot, Bleisalz rot.

Neben den Anthocyanen enthalten die Blüten, und zwar auch blaue und rote Blüten, in Wasser oder verdünntem Alkohol lösliche gelbe Farbstoffe. Manche von ihnen sind schon bekannt, namentlich durch die schönen Arbeiten von A. G. Perkin, z. B. Quercetin, Rhamnetin und Isorhamnetin, Kämpferol, Gossypetin, Luteolin, Genistein, Butein und ihre Glucoside; diese Blütenfarbstoffe sind teils identisch, teils nahe verwandt mit den ausgezeichnet untersuchten natürlichen, gelben Beizenfarbstoffen aus Hölzern, Wurzeln, Rinden und Knospen. Die gelben Pflanzenfarbstoffe, für die sich noch kein Klassenname eingebürgert hat, könnte man mit dem schon von L. C. Marquart¹⁾ gebrauchten Namen Anthoxanthine bezeichnen.

Ganz verschieden von den durch Wasser oder Alkohol extrahierbaren, salzbildenden gelben Farbstoffen sind die häufig neben ihnen in Blüten und Früchten vorkommenden chemisch indifferenten Carotinoide.

Isolierung und Analyse des Cyanins.

Man hat zumeist Bedenken getragen, Anthocyane aus getrockneten Blüten darzustellen, und Molisch sowie Grafe haben sogar ihre mikroskopischen Krystallisationen nur mit frischen Blütenblättern erzielt. Man kann aber auch die Blüten, welche leicht mikroskopische Krystalle geben, trocknen (z. B. Rosen zwischen Filtrierpapier oder die Scharlachpelargonie im Exsiccator oder kürzere Zeit im Trockenschrank) und braucht sie dann nur unter etwas anderen Bedingungen wie bei dem Versuche von Molisch mit Essigsäure zu behandeln, um

¹⁾ Die Farben der Blüten, Bonn 1835.

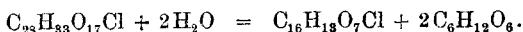
Krystallisationen in kleinem Maßstab entstehen zu lassen. Auf die getrockneten Blüten ließen wir im Reagierglas 75 prozentige Essigsäure einwirken und dunsteten einen Tropfen des Auszugs auf dem Objektträger unter dem Deckglas langsam ein.

Aus denselben Gründen, die für die Gewinnung von Chlorophyll das Verarbeiten getrockneter Pflanzen vorziehen lassen, haben wir als Ausgangsmaterial trockne Blüten verwendet; man wird dadurch von der Jahreszeit und dem Standort der Pflanzen unabhängig, man kann größere Mengen verarbeiten und begegnet weniger den störenden Enzymwirkungen. Unser Ausgangsmaterial sind die ohne Kelche gesammelten Blüten der Kornblume in der Form eines feinen Pulvers; bei colorimetrischem Vergleich ihres Farbstoffgehalts stehen die getrockneten Blüten nicht viel hinter den frischen zurück, sie enthalten etwa $\frac{2}{3}$ Proz. Cyanin.

Der blaue Farbstoff läßt sich bei sehr raschem Arbeiten mit Wasser oder alkoholhaltigem Wasser extrahieren, ohne daß er in erheblichem Maße Umwandlung in die farblose Form erleidet; leichter gelingt dies bei Zusatz von viel Natriumnitrat oder Natriumchlorid (nicht von Kaliumchlorid), wodurch die Veränderung des Farbstoffs hintangehalten wird. Aus der Lösung fällen wir das Cyaninsalz mit Alkohol und trennen es von einer bedeutenden Menge farbloser Begleitstoffe durch wiederholte fraktionierte Umfällung mit Alkohol aus Wasser. Das Präparat wird sehr schön, aber es bleibt mit viel farbloser Substanz, Kohlenhydraten und Eiweißverbindungen vermischt, mindestens mit der doppelten Menge. Nur in kleinem Maßstab erhielten wir es durch Dialyse prächtig krystallisierend. Immerhin war der Farbstoff auch in der größeren Menge hinreichend rein, daß die Analyse das Vorliegen einer Kaliumverbindung ergab.

Bei der Überführung des Kaliumsalzes in Cyanin, am besten in die Verbindung mit Salzsäure, fallen Bei-

mischungen aus, hauptsächlich Pentosane. Das Cyaninchlorid krystallisiert nach einigen Reinigungsoperationen aus salzsäurehaltigem Weingeist und entspricht der Formel: $C_{23}H_{33}O_{17}Cl + 3H_2O$. Die Verbindung ist ein Glucosid. Sie wird von Säuren in die eigentliche Farbstoffkomponente, die als Cyanidin bezeichnet werden soll, und 2 Mol. Glucose gespalten, nach der Gleichung:



Der zuckerfreie Farbstoff ist als Chlorid in prächtigen Krystallen gewonnen worden, auch er bildet eine säurefreie Form von violetter, ein Alkalisalz von blauer Farbe.

Zur Konstitution der Anthocyane.

Obwohl hier nur über die Analyse eines einzigen Glucosides berichtet werden soll, ist es keine zu gewagte Verallgemeinerung, wenn wir aus der Übereinstimmung im Verhalten vieler Anthocyane, die wir geprüft, den Schluß ziehen, daß sie sämtlich Glucoside sind und ausschließlich als Glucoside in den Pflanzen auftreten, während in den früheren Arbeiten angegeben worden ist, daß diese Farbstoffe teils an Zucker gebunden, teils ohne Zucker vorkommen.

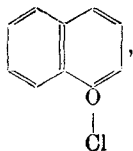
Wir beschreiben im experimentellen Teil eine Reaktion, die gleichmäßig bei allen Anthocyanen verläuft und als eine Erscheinung der Glucosidspaltung zu erklären ist. Die saure, zweckmäßig verdünnt schwefelsaure Lösung des Anthocyanes gibt beim Durchschütteln mit Amylalkohol nichts an diesen ab. Kocht man die saure Farbstofflösung einige Minuten, so läßt sich der gespaltene Farbstoff gänzlich mit Amylalkohol ausziehen.

Mit der Abspaltung des Zuckers ändert sich also die Löslichkeit. Der zuckerfreie Farbstoff geht als schwefelsaures Salz mit rotvioletter Farbe in den Amylalkohol; beim Waschen mit viel Wasser schlägt die Farbe in blauviolett um.

Die zuckerfreien Spaltungsprodukte der Anthocyane,

die eigentlichen Farbstoffkomponenten, sollen als Anthocyanidine bezeichnet werden; es wäre zweckmäßig, analog die Farbstoffkomponenten der glucosidischen gelben Blütenfarbstoffe Anthoxanthidine zu nennen.

Die Analyse des Cyanins und des Cyanidins hat ergeben, daß die beiden Verbindungen in der saueren Lösung als Salze mit einem Äquivalent Chlorwasserstoff existieren. Sie sind starke Sauerstoffbasen, die Salze verlieren auch beim Erwärmen im Hochvakuum keinen Chlorwasserstoff. Nun ist die Salzbildung mit Mineralsäure auch eine Eigenschaft vieler Flavone, die nach den grundlegenden Arbeiten von J. N. Collie und Th. Thickle¹⁾ sowie von A. v. Baeyer und V. Villiger²⁾ über den vierwertigen Sauerstoff A. G. Perkin und Ch. R. Wilson³⁾ als Salzbildung des Pyronsauerstoffs erklärt haben. Aber es gibt einen großen Unterschied zwischen den natürlichen gelben Beizenfarbstoffen und den Anthocyanen; die ersteren sind sehr schwache Sauerstoffbasen, so daß ihre Salzbildung mit Säuren eine nebensächliche Eigenschaft ist; durch Wasser werden die Salze quantitativ zerlegt. Mehr als an das Verhalten der Flavone erinnern die Anthocyanosalze an die von J. J. Hummel und A. G. Perkin⁴⁾ beschriebenen Verbindungen des Isohämateins und des Isobrasileins mit Mineralsäuren. Sie sind Verbindungen von der Art der Phenopyryliumsalze:



welche H. Decker und Th. von Fellenberg⁵⁾ aufgefunden haben.

¹⁾ Journ. chem. Soc. **75**, 710 (1899).

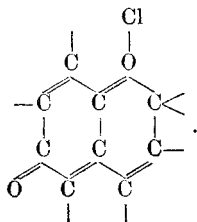
²⁾ Ber. d. d. chem. Ges. **34**, 2679 (1901).

³⁾ Journ. chem. Soc. **83**, 129 (1903).

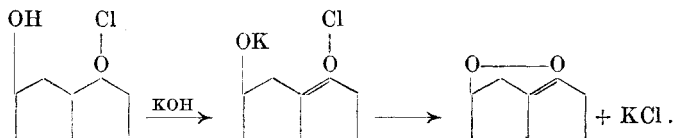
⁴⁾ Ber. d. d. chem. Ges. **15**, 2337 (1882).

⁵⁾ Diese Annalen **356**, 281 (1907) und **364**, 1 (1908).

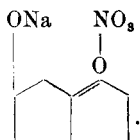
Die beobachteten Erscheinungen lassen sich am besten mit der Annahme verstehen, daß der salzbildende Sauerstoff des Anthocyanins und des Anthocyanidins chinoid gebunden ist entsprechend der Formel



Cyanin und Cyanidin scheinen als farbige Substanzen nur existenzfähig zu sein, so lang sie Verbindungen mit chinoidem vierwertigem Sauerstoff sind, sowohl in der roten, wie in der violetten und blauen Form. Die freie Säure Cyanin (oder Cyanidin) ist als ein inneres Salz der Oxoniumbase mit einer saueren Gruppe, wahrscheinlich einem Phenolhydroxyl zu erklären, sie entsteht aus dem roten Chlorid mit einem Äquivalent Alkali nach dem Schema¹⁾:



Die Eigenschaft des Farbstoffes, in Gegenwart bestimmter Salze (wie Chlornatrium) haltbarer zu sein, wird durch die Bildung mehr oder weniger beständiger Additionsprodukte erklärt, z. B.



Das in der Natur vorkommende blaue Farbsalz läßt sich durch Salzbildung in einem weiteren Phenolhydroxyl

¹⁾ Der Ort der salzbildenden Gruppe ist willkürlich angenommen.

ohne Störung der inneren Oxoniumsalzgruppe von der violetten Form ableiten. Gegen überschüssige Alkalien sind die Anthocyane ganz unbeständig.

Die Abhängigkeit der Farbnatur von der Oxoniumsalzbildung scheint eine allgemeine Eigenschaft der Anthocyane zu sein. Diese stellen eine große Klasse von natürlich vorkommenden chinoiden Oxoniumverbindungen dar und zwar sind sie wahrscheinlich die ersten in der Natur beobachteten Oxoniumsalze. Die Formulierung der blauen und violetten Formen als innerer Oxoniumphenolate ist freilich hypothetisch, aber die Erklärung der roten Formen als Salze der Sauerstoffbasen mit Säuren ist durch die Versuche bewiesen.

Diese Betrachtung läßt sich mit irgend einer roten Blüte durch den Versuch veranschaulichen, z. B. mit der Scharlachpelargonie. Beim Verreiben mit Wasser und Calciumcarbonat schlägt ihre Farbe in Violett um. Dabei nimmt der Farbstoff kein Calcium auf, es wird nur die Pflanzensäure neutralisiert, an welche der (bekanntlich stickstofffreie) Farbstoff durch Oxoniumsalzbildung gebunden war.

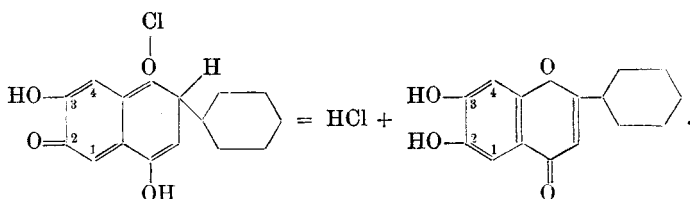
Eine weitere Eigentümlichkeit, die nicht nur dem Kornblumenfarbstoff, sondern auch vielen anderen Anthocyanen zukommt, ist die beschriebene Isomerisation zu einer farblosen¹⁾ Modifikation. Dieselbe Reaktion zeigt der zuckerfreie Farbstoff. Sie tritt bei diesem ein, wenn man die wäßrige alkoholische Lösung des Chlorids kurze Zeit im Wasserbad erhitzt; die Farbe verschwindet und sie kehrt quantitativ wieder beim Kochen mit Säure. Das farblose Derivat des Cyanidins ist ätherlöslich, während das Cyanidin selbst und das Cyanin in seinen verschiedenen Modifikationen in Äther und vielen organischen Lösungsmitteln unlöslich ist.

Die wichtige Reaktion beruht gewiß auf einer konstitutionellen Eigentümlichkeit der Anthocyane. Wir

¹⁾ Farblos in ihrer verdünnten Lösung erscheinend; die Substanz kann farblos oder schwach farbig sein.

nehmen an, sie ist bedingt durch die Bewegung von zwei Wasserstoffatomen, von welchen das eine mit dem Anion (z. B. Cl) austritt, das andere an ein chinoides Carbonyl wandert, den chinoiden Kern in einen aromatischen verwandelnd.

Eine solche Möglichkeit ist in jeder Gruppe der beizenziehenden gelben Pflanzenfarbstoffe gegeben, wenn in die Parastelle zum Pyronsauerstoff ein Hydroxyl eintritt. Das folgende Schema soll von der Umwandlung eines chinoiden Oxoniumsalzes, wie wir uns irgend ein beliebiges¹⁾ Anthocyan konstituiert denken, in ein farbloses Isomeres ein Bild geben:

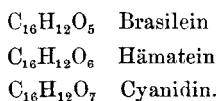


Es ist gewiß auffallend, daß unter den vielen Flavonfarbstoffen nie solche mit Hydroxyl in der Stelle 2 gefunden wurden.²⁾ Die Erklärung dafür könnte darin liegen, daß diese Substitution die Eigenschaften erheblich ändert, die Beständigkeit vermindert, die Isolierung erschwert. Es ist zu prüfen, ob nicht vielleicht gerade die in der Stelle 2 hydroxylierten Verbindungen in den bunten Blüten und Früchten verbreitet sind. Von verschiedenen Typen der Xanthone, Flavone, Flavonole, der Gruppe des Brasilins und Hämatoxyllins könnten sich durch diese Substitution Farbstoffe mit der Eigentümlichkeit der Aufhellung durch Umlagerung ableiten lassen. Die Berechtigung dieser Hypothese wollen wir experimentell prüfen.

¹⁾ Nicht speziell das Cyanin, denn dieses enthält ein Kohlenstoffatom mehr, das durch Jodwasserstoff nicht abgespalten wird.

²⁾ Für Gossypetin ist dieser Ort der Substitution vermutet [Rupe, Chemie der natürlichen Farbstoffe, II, 42 (1909)], aber nicht festgestellt worden.

Es ist ein eigentümlicher Fall, daß die Betrachtung der Konstitution mit feinen Einzelheiten beginnt, noch ehe die Substanz für die ersten Ermittlungen des Abbaus hingereicht hat, während man bei den am besten untersuchten Farbstoffen wie denjenigen des Blau- und Rotholzes gerade die besonderen Eigentümlichkeiten des Strukturbildes, welche für die Erklärung der Farbe von Interesse sind, noch nicht genau genug gezeichnet hat. Aber die Beziehung zwischen den empirischen Formeln der Beizenfarbstoffe und des Kornblumenanthocyans sind so nahe, daß eine Ähnlichkeit im größeren Bau des Moleküls von vornherein wahrscheinlich ist. Der empirischen Formel nach scheint nämlich das Cyanidin vom Brasilein und Hämatein nur durch den Sauerstoffgehalt unterschieden zu sein:



Einen einfachen Zusammenhang zwischen den gelben Pflanzenfarbstoffen und den Anthocyanen haben schon M. Nierenstein und M. Wheldale¹⁾ vermutet und durch die Darstellung von Oxydationsprodukten des Quercetins und des Chrysin zu bestätigen gesucht. Die erhaltenen sauerstoffreicheren Chinone, Querceton und Chryson, waren rote Substanzen, die sich in Alkalien mit blauer, in konz. Schwefelsäure mit roter Farbe lösten. Doch sind diese Oxydationsprodukte nicht mit Recht als anthocyanartige Verbindungen angesprochen worden. Nämlich nicht Rotfärbung mit konz. Schwefelsäure, wie Nierenstein und Wheldale anführen, ist eine Anthocyanreaktion, sondern die Anthocyane sind Indicatoren, sie schlagen in der verdünntesten saueren Lösung von blau in rot um.

Unsere Versuche der Isolierung und Analyse eines Anthocyans sind gegenüber der gewaltigen Arbeit, die

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. **44**, 3487 (1911); M. Nierenstein, ebenda **45**, 499 (1912).

in den anderen Gruppen von Pflanzenfarbstoffen geleistet worden ist, nur ein sehr bescheidener Anfang. Wir hoffen aber, in den nächsten Jahren die begonnenen Versuche fortführen und unsere Betrachtungen über die Konstitution der Anthocyane vertiefen zu können.

Experimenteller Teil.

Die Anthocyanidinreaktion.

Die Anthocyane geben eine schöne Reaktion, welche die glucosidischen Farbstoffe und ihre durch Abspaltung des Zuckers entstehenden Farbstoffkomponenten zu unterscheiden und nebeneinander zu bestimmen erlaubt. Sie beruht auf der entgegengesetzten Verteilung der Anthocyane und Anthocyanidine zwischen Wasser (verdünnter Säure) und Amylalkohol. Das Anthocyan bleibt bei geeigneten Versuchsbedingungen vollständig in der wäßrigen Schicht, das Anthocyanidin geht quantitativ in den Amylalkohol über.

Diese Reaktion ist neu, nur die Anwendung des Amylalkohols zur Prüfung des Weinfarbstoffs ist oft, zuerst von J. Erdmann¹⁾, versucht und in der Literatur erörtert worden, aber man hat die Erdmannsche Probe stets mißverstanden.

Erdmannsche Probe. Die Beobachtung liegt ihr zugrunde, daß junger oder nur wenige Jahre alter Rotwein beim Neutralisieren mit Ammoniak eine flaschengrüne Färbung, dagegen beim Versetzen mit Salzsäure und darauffolgenden Neutralisieren mit Ammoniak eine grünlich dunkelblaue Farbe zeigt. Dieses Verhalten wird unrichtig nach Erdmann so erklärt, daß die Salzsäure eine Spaltung des Weinfarbstoffes in zwei Farbstoffe bewirke, von denen der eine mit Ammoniak blau und der andere mit demselben Reagens grün werde.

Die angenommenen zwei Farbstoffe trennt Erdmann durch Ausschütteln mit Amylalkohol; die violett-

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 11, 1870 (1878).

rote amyalkoholische Schicht gibt an verdünntes Ammoniak den Farbstoff mit anfangs hellgrüner, dann bräunlichgrüner Farbe ab, während die wäßrig-salzsauere Flüssigkeit bei vorsichtigem Neutralisieren indigoblau wird.

In Wirklichkeit erfolgt keine Spaltung durch die Säure, sondern bei der Gärung des Traubensaftes ist ein Teil, und zwar der kleinere, des Anthocyans zum Anthocyanidin hydrolysiert worden. Aus diesem Grunde sind in der Tat zwei Farbstoffe im Wein vorhanden, sie werden nicht erst durch das Ansäuern gebildet. Beim Alkalischemachen mit Ammoniak führt dessen Einwirkung auf den Weinfarbstoff wie auf die Blütenfarbstoffe rasch über die blaue Stufe hinweg zu einem grünlichen Zersetzungsprodukt. Wenn man aber zuvor ansäuert und dann erst alkalisch macht, ist das blaue Farbsalz beständiger. Eine solche Wirkung läßt sich öfters statt mit Salzsäure auch mit Chlornatrium oder Chlorammonium allein erreichen. Diese Salze verbinden sich mit den Anthocyanen zu beständigeren, auch gegen Alkalien beständigeren Additionsprodukten. Es mag sein, daß die Bildung derselben beim Ansäuern und Alkalischemachen vollständiger ist als beim Versetzen mit den Salzen.

Bei der Farbstofflösung z. B. aus Heidelbeere oder Weintraube beobachten wir beim Versetzen mit Natriumcarbonat den Umschlag in einen graubraunen Ton. Versetzen wir aber die Lösung des Heidelbeerfarbstoffes zuerst mit etwas Kochsalz, so schlägt sie mit Ammoniak oder Soda in schönes Blau um, ganz ähnlich wie beim Ansäuern und darauffolgenden Alkalischemachen. Es ist einleuchtend, daß das Kochsalz keine Spaltung des Farbstoffes bewirkt hat.

Beim Ausschütteln des angesäuerten Weines mit Amylalkohol geht in diesen der geringe Anthocyanidinanteil des Pigmentes als Oxoniumsalz. Wenn wir aber den Rotwein mit etwas Salzsäure oder die salzsauere Schicht der Erdmannschen Probe eine halbe Stunde

lang im Wasserbad erhitzen, dann erst wird der Farbstoff, und zwar der gesamte, hydrolytisch gespalten und läßt sich mit Amylalkohol quantitativ extrahieren. Bei stundenlangem Stehen mit der Salzsäure in der Kälte erfolgt diese Spaltung nicht.

Traubensaft (aus frischen Beeren) gibt nach Ansäuern mit Salzsäure nur wenig Farbstoff an Amylalkohol ab. Wäscht man die amyalkoholische Schicht einmal oder ein paarmal mit schwefelsäurehaltigem Wasser, so ist sie beinahe entfärbt. Die in den Amylalkohol anfangs übergegangene kleine Farbstoffmenge ist nicht hydrolysiert. Der Teilungskoeffizient des Oxoniumsalzes für Amylalkohol-Salzsäure ist nämlich nicht unendlich, sondern nur sehr groß, für Amylalkohol-Schwefelsäure ist er fast unendlich. Für unsere Anthocyanidinreaktion wendet man besser Schwefelsäure an.

Erdmann hat noch kurz angegeben, daß von anderen Pflanzenfarbstoffen sich manche bei der Amylalkoholprobe gleich dem Weinfarbstoff verhalten, und Weigert¹⁾ bemerkt sogar, daß die mit Bleiacetat grüne oder blaue Niederschläge liefernden Pflanzenfarbstoffe allgemein dies Verhalten in mehr oder minder ausgesprochener Weise zeigen. Doch ist dies irrtümlich. Abgesehen von dem kleinen Betrag von Glucosidsalz, das sofort aus dem Amylalkohol wieder gewegewaschen werden kann, bleibt der Farbstoff der Blüten, Beeren und Blätter vollständig in der wäßrig-sauerer Schicht. H. W. Vogels²⁾ Beobachtung, daß der Malvenfarbstoff aus angesäuertem Wein leichter als der Weinfarbstoff extrahiert werde, kann nur für vor der Gärung zugesetztes und bei der Gärung gespaltenes Anthocyan gelten.

Die neue Reaktion. Ein paar Krystalle (z. B. 0,05–0,1 mg) von Cyaninchlorid werden mit einigen Kubikzentimetern normaler bis doppeltnormaler Schwefelsäure aufgenommen,

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Praktische Spektralanalyse irdischer Stoffe, Berlin 1889, S. 438.

worin es sich mit etwas gelbstichig roter Farbe leicht löst, weit leichter als in Salzsäure. Die saure Lösung gibt an Amylalkohol nicht das mindeste ab. Sie wird im Tropftrichter abgelassen, im siedenden Wasserbad $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunde erhitzt und aufs neue mit Amylalkohol durchgeschüttelt. Nun geht das Cyanidinsalz vollständig in den Amylalkohol mit prächtig rotvioletter Farbe, die beim Waschen oder rascher mit Natriumacetat in schönes blaueres Violett umschlägt.

Um die Reaktion auf Pflanzenfarbstoffe, anthocyanhaltige Blätter, Blüten und Früchte zu übertragen, extrahieren wir, damit kein Farbstoff durch Zersetzung verloren gehe, mit 5—7 prozentiger Schwefelsäure. Daß beim Extrahieren mit Wasser oder verdünntem Alkohol ein Teil des Anthocyans oder die ganze Menge durch Isomerisation farblos wird (z. B. bei Rose), würde nichts schaden, aber in nicht seltenen Fällen erleidet der Farbstoff gänzliche Zerstörung, wahrscheinlich infolge von Enzymwirkungen. Durch den Säurezusatz wird dies vermieden.

Wir verreiben etwa $\frac{1}{2}$ —2 g des frischen Pflanzenmaterials mit dem Fünf- bis Zehnfachen von Seesand und mit einigen Kubikzentimetern verdünnter Schwefelsäure, oft unter Zusatz von etwas Alkohol, und setzen zur Erleichterung des Filtrierens etwas Talk hinzu. Der Auszug wird an der Pumpe auf einer kleinen Nutsche abgesaugt. Beim Ausschütteln der Anthocyanlösung mit Amylalkohol entstehen oft lästige Emulsionen; sie lassen sich beseitigen, indem man die Mischung durch ein feuchtes Filter gießt und das darauf Zurückbleibende durch ein zweites trocknes Filter laufen läßt. Die amylnalkoholische Schicht muß mit Wasser oder Natriumacetatlösung gewaschen werden, weil die Begleitstoffe in den Säften oder der im Extrakt enthaltene Äthylalkohol zunächst etwas Anthocyan in den Amylalkohol mitzunehmen pflegen. Während sich das Anthocyan quantitativ aus dem Amylalkohol wegwaschen läßt, kann

vom Anthocyanidin nicht das geringste aus dem Amylalkohol ausgeschüttelt werden.

Ergebnis. Wir fanden bei allen untersuchten Beispielen von Pflanzenstoffen das gesamte Anthocyan in seiner Verteilung zwischen Amylalkohol und wäßriger Säure dem beschriebenen Cyanin entsprechend und vermochten fast immer die vollständige Hydrolyse zum amyalkohollöslichen Anthocyanidin auszuführen.

	Pflanzenstoff	Farbe des angesäuerten Extraktes	Farbe des-selben nach Zusatz von Soda	Farbe der amyalkohol. Schicht nach der Hydrolyse
Blüte	Rittersporn	violettstichig rot	blau	rotviolett
„	Rose	rot	„ ¹⁾	violettrot
„	Stockrose	dunkelrot	„	rotviolett
„	Paeonie	hellrot	„	tief violettrot
„	Salbei (<i>S. fulgens</i>)	gelbrot	blauviolett	rot
„	Mohn	braunrot	tiefviolett	tiefrot, violett tingierend
„	Pelargonie	gelbrot	violett	rot
Frucht	Kirsche	hellrot	„	rotviolett
„	Himbeere	„	blau	violettstichig rot
„	Erdbeere	„	„	„
„	Heidelbeere	rot	„	violettrot
„	Weintraube	violettstichig rot	„	rotviolett
„	Apfel (Schale)	rot	blauviolett	violettrot
Blätter	Blutbuche	„	„	dunkel rotviolett
„	Haselnuß	„	—	violettstichig dunkelrot
„	Melde	violett	rot	zerstört, gelbbraun
Wurzel	Radieschen	gelbrot	blau	rot, etwas violettstichig

Isolierung des Anthocyans.

a) Unter Anwendung von Natriumnitrat.

Die wäßrigen oder verdünnt-alkoholischen Auszüge der Blüten werden rasch farbschwächer. Wir extrahierten z. B. 0,5 g trockne Blüten mit Wasser (Filtrat 50 cm) und beobachteten nach einer Stunde 85, nach

¹⁾ Grün, wenn die Blüte Anthoxanthin enthält; ebenso bei Paeonie u. a.

2 Stunden 73, nach 4 Stunden 59, nach 5 Stunden ungefähr 38 Proz. des anfänglichen Farbgehalts. Bei Zusatz einer Spur Oxalsäure verlief die Aufhellung noch rascher.

Zum Schutze des Farbsalzes eignet sich ein Zusatz von Natriumchlorid oder Natriumnitrat. Letzteres hat den Vorzug, die Ausfällung von Cyaninblei aus der Mutterlauge des Farbstoffs nicht zu stören und es läßt sich vom Farbsalz mit Hilfe von 75 prozentigem Alkohol trennen, der noch nicht verdünnt genug ist, um das blaue Salz zu lösen.

Es ist fast unmöglich, den wäßrigen Extrakt von dem aufquellenden Blütenpulver abzufiltrieren, aber es gelingt rasch und leicht, wenn man das Pflanzenmaterial mit einer großen Menge Sand verdünnt. Wenden wir das dreifache Gewicht Sand an, so filtrierte der Extrakt einer Charge in 1—3 Stunden, beim Sechsfachen an Sand genügen 10 bis höchstens 20 Minuten. Wir extrahieren mit Wasser oder mit 20 prozentigem Alkohol, und zwar auf dem Nutschenfilter ähnlich wie bei der Chlorophyllgewinnung.

Wir vermischen in einer Reibschale 1 kg Kornblumenmehl gründlich mit 6 kg reinem Sand und lassen in die Schale schnell 4800 ccm Wasser fließen. Den gründlich verriebenen dicken Brei füllen und pressen wir schnell auf eine große, sehr flache Steinzeugnutsche¹⁾, die mit Filtrierpapier, darüber mit Koliertuch und einer zentimeterhohen Schicht von feuchtem Sand bedeckt ist. Der Extrakt wird sofort mit dem Maschinenvakuum abgesaugt und der Filterrückstand mit zweimal 600 ccm Wasser nachgewaschen. Im Filtrierstutzen der Nutsche befinden sich 500 g feingepulverter Natronsalpeter, auf den gerade das Filtrat fließt; die Auflösung befördert man, indem während des Saugens durch den Abflußhahn von Zeit zu Zeit Luft eingelassen wird.

¹⁾ Beschrieben bei Willstätter und Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll, Berlin, J. Springer (1913).

Der Extrakt ist tief blau; sein Volumen wird gemessen, es pflegt zwischen $3\frac{1}{4}$ und $3\frac{1}{2}$ Liter zu betragen. Dann vermischen wir in einem großen gläsernen Dekantiertopf die Flüssigkeit unter starkem Rühren mit 96 prozentigem Alkohol, und zwar mit 2,5—2,6 Volumen für je 1 Volumen Extrakt und fällen dadurch das Pigment in blauen Flocken aus. Nach 1—2 Stunden ist die Flüssigkeit genügend geklärt, um bis auf etwa 4 Liter dekantiert zu werden, die wir im „Bol metallique“ der Jouan-Zentrifuge (von Leune, Paris¹⁾) aufarbeiten. Statt dessen kann man auch die Suspension mit Talk vermischen und absaugen. Der im Bol als ringförmige Kruste gesammelte Niederschlag wird mit Sprit und mit absolutem Alkohol gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Die Ausbeute beträgt 27 g eines Präparates, das etwa 3,2 Proz. reinen Farbstoff enthält.

Nebeneinander lassen sich gut zwei solche Chargen extrahieren und gemeinsam an der Zentrifuge aufarbeiten. Das Filtrat ist hell rotbraun und wird beim Ansäuern schön rot; es enthält also viel von der farblosen Modifikation des Cyanins, die hier hauptsächlich aus der violetten entstanden ist.

Die ersten Reinigungsoperationen bestehen im Umfällen aus wäßriger Lösung mit Alkohol. Dabei werden schwererlösliche Stoffe zurückgelassen und der schwerst lösliche Teil des in Lösung Gehenden als unreine erste Fraktion abgetrennt.

Das Rohprodukt aus 5 kg Blüten wird feingepulvert und durch Vermischen mit dem Sechsfachen von Seesand und Anrühren mit 4 Liter Wasser in einer Reibschale in Lösung gebracht oder durch langsames Eintragen des Pulvers (ohne Sand) in das stark gerührte Wasser. Dann gießen wir die Flüssigkeit auf 250 g feingepulvertes Natriumnitrat und rühren lebhaft weitere 5 Minuten, ehe wir auf der Nutsche (wieder auf Papier;

¹⁾ Untersuchungen über Chlorophyll, S. 400.

Tuch und Sand) absaugen; man wäscht mit einem Liter Wasser nach. Das Filtrat, wieder gemessen (ungefähr 5 Liter), wird unter kräftigem Rühren mit nur $1\frac{1}{4}$ Vol. 96 prozentigem Alkohol gefällt. Nach 5 Minuten weiteren Rührens wird in der Zentrifuge die tiefblaue Lösung von dem in der Hauptmenge farblosen Niederschlag befreit.

Wir fällen sie weiter mit Sprit und zwar mit beinahe dem gleichen Volumen, nämlich etwa 10 Litern. Nun wird wieder dekantiert und der Niederschlag im Bol der Zentrifuge isoliert, mit Sprit und absolutem Alkohol gewaschen; seine Menge ist nur noch 22—25 g aus 5 kg Blüten, der Reinheitsgrad¹⁾ erst auf 12,2 gestiegen.

Das Filtrat, schwach rotviolett, enthält viel von der farblosen Modifikation, aber mit dem 25 fachen farbloser Nebenprodukte vermischt. Es lohnt sich, die Substanz durch Eindampfen zu gewinnen. Das hinterbleibende violette Produkt läßt sich mit salzsäurehaltigem Alkohol auf Cyaninchlorid verarbeiten. Den aus solchen Mutterlaugen der Umfällung isolierten Farbstoff, der hauptsächlich vom Gehalt der Blüten an violetter Anthocyanmodifikation stammte, haben wir mit Säure gespalten und als Cyanidinchlorid identifiziert.

Eine zweite Umfällung nehmen wir ohne Zusatz von Salpeter vor, und zwar mit der Ausbeute aus 20 kg Kornblumen. Das gepulverte Farbsalz wird mit 500 g feinem Seesand vermischt und mit 1500 ccm Wasser angerührt und ausgezogen; zum Nachwaschen dienen 750 ccm. Eine geringe erste Fraktion scheiden wir mit dem doppelten Volumen Sprit ab und fällen die in der Zentrifuge geklärte, schön dunkelblaue Farbstofflösung mit dem doppelten des nunmehrigen Volumens an Alkohol. Auf gleiche Weise wie beim früheren Male werden nun

¹⁾ Wir verstehen darunter den Prozentgehalt des Präparats an reinem Farbstoff.

25 g Cyaninsalz isoliert, die 27 Proz. reinen Farbstoffs enthalten. Auch diesmal ist das Filtrat durch seinen Gehalt an isomerer Modifikation wertvoll.

b) *Ohne Zusatz von Salzen.*

Nach dem ausgearbeiteten Verfahren kann man bei einiger Übung das Cyaninsalz rasch genug auch ohne den Schutz durch Natriumchlorid oder Nitrat isolieren. Man muß darauf verzichten, wenn man den natürlichen Mineralbestandteil des Cyaninsalzes ermitteln, nämlich dieses in seiner ursprünglichen Zusammensetzung isolieren will. Denn unter den beschriebenen Bedingungen wird natürlich Natrium das ursprünglich vorhandene Kalium verdrängen.

1 kg Blütenmehl vermischen wir wieder gründlich mit 6 kg gewaschenem und getrocknetem Sand und verarbeiten es mit 4 Liter verdünntem Alkohol (80 Vol. Wasser + 20 Vol. 96 prozentigem Sprit) zu einem gleichmäßigen Brei; dies muß möglichst rasch geschehen, weil bei längerer Dauer die Pflanzensubstanz immer mehr Flüssigkeit aufnimmt. Die Masse wird als Schicht von 7—8 cm Höhe in die große Steinzeugnutsche gefüllt, gleichmäßig gepreßt und scharf abgesaugt. Zum Verdrängen des Extraktes wäscht man mit einem Liter noch verdünnteren, nämlich $9\frac{1}{2}$ prozentigen Alkohols nach. Im ganzen erfordert die Verarbeitung kaum mehr als eine Viertelstunde, der Extrakt beträgt 2600—2800 ccm. Er wird sofort unter starkem Rühren gefällt, wofür man auf je 3 Volumenteile des Filtrates 5 Tle. 96 prozentigen Alkohol nimmt. Die Isolierung des Niederschlags geschah sogleich mit dem Bol der Jouan-Zentrifuge; er wird möglichst rasch im Vakuumexsiccator getrocknet.

Es ist zweckmäßig, wieder zwei Nutschen nebeneinander zu beschicken. Während die erste Ausbeute in die Zentrifuge einläuft, läßt man die Fällung der zweiten Charge absitzen, so daß davon mittlerweile die Hälfte oder zwei Drittel dekantiert werden können.

Die Ausbeute an Rohprodukt betrug zwischen 20 und 24,5 g (aus 1 kg).

Zur Reinigung von dem größten Teile der schleimartigen Extraktstoffe fällten wir das Cyaninsalz um, ähnlich wie beschrieben, aber aus verdünnt alkoholischer Auflösung. Die Ausbeute aus etwa 5 kg, nämlich 100 g, trugen wir feingepulvert in $2\frac{1}{2}$ Liter 20 prozentigen Alkohol ein, der mit dem Rührer in starker Bewegung gehalten war. Wir setzten das Rühren noch 10 Minuten fort und saugten die gebildete Lösung auf einer mit feuchtem Sand bedeckten Nutsche ab; der beträchtliche Rückstand wurde mit einem Liter desselben Lösungsmittels nachgewaschen. Aus dem Filtrat ließ sich als erste Fällung die Hauptmenge der Begleitstoffe abscheiden durch Zusatz von 73 Raumteilen Sprit für 100 Tle. der Lösung. Nach dem Klären in der Zentrifuge war die Flüssigkeit prächtig dunkelblau, sie wurde vollends mit wenig mehr als ihrem eigenen Volumen Sprit gefällt; isoliert und getrocknet wie zuvor war die Ausbeute (aus 1 kg), nämlich die zweite Fraktion, auf 5—8 g zurückgegangen.

Eine zweite Umfällung nahmen wir mit dem Präparate aus 10 kg vor; zum Auflösen und Nachwaschen dienten 27,5—29 ccm 20 prozentigen Alkohols für je 1 g einmal umgefällter Substanz. Die geringwertige erste Fraktion schieden wir mit $1\frac{1}{3}$ Volumen, die Hauptfraktion mit $1\frac{1}{5}$ Volumen (bezogen auf das Filtrat der ersten Fällung) Alkohol ab. Aus verschiedenen Ernten von Kornblumen gewannen wir 1,2, 1,4, 1,9 und 2,05 g etwa 20 prozentiger Präparate (aus 1 kg).

Colorimetrische Bestimmung des Cyanins.

Frische und getrocknete Blüten sowie Darstellungen des Farbstoffs werden colorimetrisch analysiert durch den Vergleich mit dem reinen Cyaninchlorid. Bei der Untersuchung der Blüten ist zu unterscheiden zwischen ihrem Gehalt an dem blauen Farbsalz und dem Gesamt-

gehalt an Cyanin in seinen verschiedenen Modifikationen, der blauen, violetten und farblosen. Beim Trocknen verschiebt sich das Verhältnis zuungunsten des blauen Salzes.

Frische Blüten. Wir verreiben 2 g von den Kelchen befreite Blüten mit 15—20 g Seesand in der Schale und rühren sie unter Zusatz von 5—10 g Talk, um das Filtrieren von der schleimigen Pflanzensubstanz zu erleichtern, mit einigen Kubikzentimetern Wasser zu einem Brei an. Er wird auf eine Nutsche gefüllt, die mit doppeltem Filtrierpapier und darüber mit einer dünnen Schicht von feuchtem Sand bedeckt ist, und unter Saugen mit Wasser (etwa 60 ccm) vollends ausgezogen. Das Filtrat fließt in einen mit 10 g feingepulvertem Natriumchlorid (das Farbsalz wird nicht allein dadurch haltbarer, die Lösung wird auch besser mit dem reinen Pigment vergleichbar) beschickten Saugkolben, das Volumen wird schließlich im Meßkolben auf 100 ccm ergänzt.

Die blaue Lösung analysieren wir im Colorimeter, wobei sie nicht mit Metall in Berührung kommen soll, mittelst eines Präparates des Cyaninkaliums von bestimmtem Farbwert, oder besser mit der Vergleichslösung, die aus reinem Cyaninchlorid bereitet ist, z. B. aus 5,0 mg in 250 ccm Lösung. Zwei Bestimmungen sind auszuführen.

a) Die Vergleichslösung von Cyaninchlorid wird mit Salzsäure, dann mit Soda und mit Kochsalz versetzt für die Bestimmung des blauen Farbsalzes der Blüte.

b) Der Auszug der Blüte wird angesäuert und der Gesamtgehalt an den verschiedenen Farbstoffmodifikationen ermittelt, soweit diese mit Wasser extrahierbar sind. Das Cyaninkalium befindet sich quantitativ, der violette Farbstoff unvollständig im Extrakt.

Trockene Blüten. 1 kg frischer Blüten gab 250 g trockne, das Blütenmehl enthielt gewöhnlich 8 Proz. Feuchtigkeit. Von feingepulverten Blüten kann man 1 g, mit 10 g Seesand und 5 g Talk vermischt, wie im vorigen Beispiel mit Wasser extrahieren.

Die Bestimmung mit der in Blau übergeführten Vergleichslösung ergibt das in der Form von Alkalisalz vorhandene Anthocyan. Um die Gesamtmenge des Anthocyan (einschließlich des farblos gewordenen und des mit Wasser nicht so leicht extrahierten violetten) zu finden, ist es besser, die gepulverten Blüten mit ätherischer Salzsäure anzuschütteln¹⁾ und auf der Nutsche abzusaugen; dann extrahiert man sogleich auf der Nutsche mit Sprit und filtriert die Lösung einige Male von gallertiger Ausscheidung. Die Vergleichslösung dafür wird aus Cyaninchlorid durch Lösen mit etwas verdünnter Schwefelsäure und mit Alkohol hergestellt.

Auf dieselbe Weise bestimmen wir das Rohprodukt von blauem Cyaninsalz und die verschiedenen bei der Reinigung erhaltenen Fraktionen durch Auflösen von 8,0 mg Substanz in 100 ccm 7 prozentiger Schwefelsäure und durch Vergleich mit Cyaninchloridlösung.

Ergebnis.

Unsere trocknen Kornblumen enthalten 50—60 Proz. des blauen Farbsalzes, das sie im frischen Zustand enthalten hatten, aber an gesamtem Anthocyan 80 Proz. der ursprünglichen Menge. Beim Trocknen der Blüten ist mehr Farbstoff isomerisiert als zerstört worden.²⁾ Es ist daher zu empfehlen, die getrockneten Blüten direkt auf Cyaninchlorid zu verarbeiten anstatt auf das Alkalisalz.

Die trocknen Kornblumen (Ernte 1912, von E. Merck in Darmstadt bezogen) enthielten nur ein Drittel vom

¹⁾ Bei frischen Blüten arbeitet man nicht ganz ebenso; der Farbstoff läßt sich leicht ausziehen, wenn man sie mit etwas wäßriger Säure verreibt und dann mit Alkohol extrahiert.

²⁾ Beim Trocknen verblassen manche Blüten leicht, z. B. Kornblume und Cichorie. Bei der Kornblume beobachten wir, daß die Scheibenblütchen fast ausnahmslos ihre violette Farbe beim Trocknen behalten, während die blauen Randblüten häufig ausbleichen. Das tritt bei diesen ein, wenn die Blüten schon einige Zeit geöffnet waren; frisch geöffnete Randblüten bewahren hingegen die blaue Farbe.

Cyanin in der Form des blauen Salzes; 1 kg enthielt blauen Farbstoff äquivalent 2,4 g Cyaninchlorid und von den verschiedenen Modifikationen des Anthocyans im ganzen äquivalent 6,5—7 g Cyaninchlorid.

Reinigung des Cyaninalkalisalzes.

Das unter Anwendung von Natriumnitrat gewonnene blaue Farbsalz enthielt auch nach drei Umfällungen noch von dem anorganischen Salze. Um es zu entfernen, wurden 15 g des feingepulverten Präparates in Portionen mit 300 ccm 75prozentigem Alkohol in der Reibschale angerieben und in den Gläsern der Zentrifuge von der Flüssigkeit getrennt. Nach Wiederholung des Verfahrens enthielt das Farbsalz (11,7 g, 28 prozentig) nur noch Spuren von Salpeter. Wir konnten den Reinheitsgrad noch etwas steigern durch fraktioniertes Lösen mit 65 prozentigem Alkohol, wovon 360 ccm angewandt wurden. Ungelöst blieben 4,5 g (Reinheitsgrad 32,5), aus dem Filtrat wurden mit 1150 ccm absolutem Alkohol und mit 1 Liter Äther 5,2 g Farbsalz (26 prozentig) gefällt als prächtig tiefblaues Pulver, das nach dem Trocknen kupfrigen Glanz zeigte. Durch weitere Behandlung mit Lösungsmitteln vermochten wir die Präparate noch etwas zu verbessern, namentlich einen kleinen Phosphorgehalt zu beseitigen, aber die colorimetrische Bestimmung ergab fast keine weitere Erhöhung des Farbwertes. Wir lösten 4 g der ungelösten Fraktion unserer letzten Reinigung in 300 ccm 60 prozentigem Alkohol auf unter Abtrennung von 0,45 g eines aschereichen, sehr schwach gefärbten Rückstands und fällten die Lösung mit 600 ccm absolutem Alkohol und 100 ccm Äther (Niederschlag 0,7 g), sodann mit weiteren 2 Liter Äther (Niederschlag 2,1 g). Die Isolierung geschah in allen Fällen, um die schädliche Einwirkung der Lösungsmittel abzukürzen, mit Hilfe der Zentrifuge von hoher Tourenzahl.

Die letzte Fällung war die reinste; ihre Asche ent-

hielt viel Kalium und Natrium und eine kleine Menge Calcium.

Das Natrium rührt nur von der Anwendung des Salpeters her. Von dem ohne Zusatz anorganischen Salzes gewonnenen Präparat des Verfahrens b reinigten wir die Ausbeute von 10 kg nach dem beschriebenen Umfällen, es waren 18,3 g, noch weiter durch Auflösen in 750 ccm 20 prozentigem Alkohol und fraktioniertes Ausfällen. Zunächst wurden mit $1\frac{1}{3}$ Volumen Alkohol 5 g, dann aus der zentrifugierten Flüssigkeit mit nochmals ihrem gleichen Volumen Alkohol 10,3 g Cyaninsalz niedergeschlagen. Das Präparat war Kaliumsalz, es enthielt kein Natrium.

Dem Farbstoff blieb hauptsächlich ein kolloidales Kohlenhydrat beigemischt, und zwar ein Pentosan. Es läßt sich durch Dialyse davon trennen, aber man muß für diesen Zweck das Cyaninsalz in starker (20 prozentiger) Chlornatriumlösung aufnehmen und es auch in solche Lösung hineindialysieren lassen. In dieser Flüssigkeit ist das Anthocyan monatelang beständig, während in 10 prozentiger Kochsalzlösung schon in 24 Stunden die Aufhellung merklich ist.

Die Dialyse erfolgt sehr langsam. Beim Eindunsten des Dialysates traten neben dem Kochsalz durchwegs schöne dunkelblaue, sechseckige Täfelchen auf (Fig. 1). Es ist wahrscheinlich, daß sie aus einem Additionsprodukt des Cyaninalkalisalzes mit Natriumchlorid bestehen. Sie lassen sich vom Überschuß des anorganischen Salzes mit Hilfe von Äthylenglykol trennen, worin sie sehr leicht löslich sind. Durch Äthylalkohol oder Alkohol-Äther wird das Pigment in dunkelblauen Flocken gefällt. Eine Darstellung des Farbstoffs, die noch viel stickstoffhaltige Beimischungen aufwies, enthielt nach der Dialyse höchstens eine Spur von Stickstoff.

Das Alkalisalz ist umso leichter löslich in Wasser, je reiner es ist; schon die durch fraktionierte Fällungen gereinigten Präparate lösen sich spielend. Eine konz.

Lösung zeigt erst in einem oder in 2 Tagen deutliche Abnahme der Farbe, eine sehr verdünnte Lösung entfärbt sich gänzlich in ein paar Stunden und sofort beim Erwärmen. Dagegen zeigt sich die Farbe sehr licht- und luftbeständig, wenn man die konz. Lösung auf Filtrierpapier eintrocknen läßt und dem Sonnenlicht aussetzt.

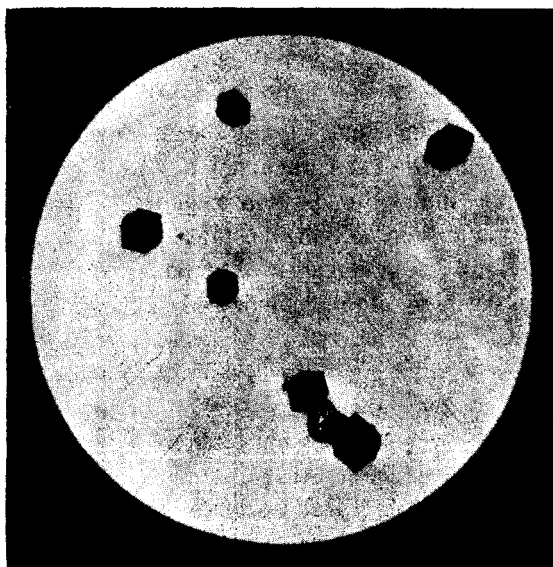


Fig. 1.

Die Isomerisation wird am besten von Natriumchlorid und gut von Natriumnitrat, aber nicht oder wenig von Kaliumnitrat oder Kaliumchlorid hintangehalten. Es handelt sich also um eine spezifische Wirkung des anorganischen Salzes, nicht um eine Folge verminderter Dissoziation der Cyanin-Alkaliverbindung. Wahrscheinlich wird in der Blüte das Farbsalz in analoger Weise durch Bestandteile des Zellsaftes geschützt.

Die reine blaue Farbstofflösung zeigt auf Zusatz von wenig Soda zunächst keine Farbänderung, eine gestandene Lösung wird hingegen grünblau oder blaugrün

weil die Lösung nun auch die farblose Modifikation enthält. Dies ist das Verhalten eines wäßrigen Blütenauszugs, worin sich überdies noch gelbe Farbstoffe befinden, deren Alkalisalze intensiv gelb sind.

Darstellung des Cyaninchlorides.

Bei der Umwandlung in sein chlorwasserstoffsauerer Salz trennen wir das Glucosid von den beigemischten Kohlenhydraten, namentlich Pentosanen, die aus der salzsauerer Lösung durch Alkohol gefällt werden. Der Farbstoff wird aus dem Filtrat durch Zusatz von Äther abgeschieden. Durch Aufnehmen mit absolutem Alkohol befreit man ihn vollends von ziemlich viel kolloidaler Substanz und von Mineralbestandteilen. Das Chlorid ist im gefällten, amorphen Zustand bereits rein; es wird aus wäßrig-alkoholischer Salzsäure krystallisiert erhalten.

Das zweimal umgefällte Cyanin-Alkalisalz lösen wir in 20 prozentiger Salzsäure, 10 g in 75 ccm, indem wir das feine Pulver in kleinen Anteilen unter starkem Rühren in die Säure eintragen und nachher noch eine Viertelstunde mit dem Rühren fortfahren. Die Auflösung vervollständigt sich noch, während wir, immer unter Rühren, einen Liter absoluten Alkohol einfließen lassen. Dadurch wird das Kohlenhydrat niedergeschlagen. Wir schließen nun die Flasche und schütteln sie noch eine halbe Stunde an der Maschine, um den roten Farbstoff möglichst quantitativ in Lösung zu bringen. Dann filtrieren wir von dem hellen Niederschlag ab und scheiden den roten Farbstoff aus dem Filtrat mit dem fünffachen Volumen Äther ab, den wir wieder unter gutem Rühren zufließen lassen. Das Chlorid wird auf dem Filter mit Äther gewaschen und getrocknet; die Ausbeute beträgt $3\frac{1}{2}$ —4 g.

Das Kohlenhydrat wurde durch Umfällen aus Wasser, womit es aufquillt und leicht eine kolloidale Lösung gibt, mit Alkohol und etwas Salzsäure gereinigt.

0,1754 g gaben 0,2907 CO₂ und 0,0961 H₂O.

	Ber. für (C ₅ H ₈ O ₄) _x	Gef.
C	45,45	45,2
H	6,06	6,1

Es ist nach seinem Verhalten Xylan mit einer Beimischung von anderen Polyosen. Wir fanden für eine Lösung von 0,265 g in 100 ccm 4,5 prozentiger Schwefelsäure $[\alpha]_D = -70^\circ$ (für Xylan gehen die Angaben von -69 bis -84°), nach einstündigem Kochen unter Rückfluß war $[\alpha]_D = +26,8^\circ$, während für Xylose $[\alpha]_D = +18,4$ bis $23,7^\circ$ angegeben wird. Die Bestimmung in der Form des Furophloroglucides ergab 66,5 Proz. Pentosan in dem Präparat.

Das Rohprodukt von salzsauerem Glucosid tragen wir feingepulvert in Portionen in eine Schüttelflasche ein, die schon eine 2—3 ccm hohe Schicht absoluten Alkohols enthält. Nun schütteln wir kräftig eine Stunde lang und filtrieren die schöne, dunkelrote Lösung von einem sehr voluminösen, noch farbstoffhaltigen Gel, das in die Schüttelflasche zurückgegeben und ein zweites Mal in derselben Weise mit absolutem Alkohol extrahiert wird. Die vereinigten alkoholischen Lösungen versetzen wir mit 10—15 Tropfen konz. Salzsäure und stellen sie in flachen Schalen in einem großen Steinzeugexsiccator neben Schalen mit Äther auf. Der Exsiccator wird etwas evakuiert. Nach 12—20 Stunden ist die erste Ausscheidung des Cyaninchlorids abzufiltrieren; sie ist nicht ganz rein, sie enthält nämlich noch ein wenig kolloidale Substanz, die in absolutem Alkohol unlöslich, aber in 96 prozentigem schon sehr leicht löslich ist. Das Filtrat (ohne Waschäther) stellen wir weitere 2 oder 3 Tage in den mit Äther beschickten Exsiccator und erhalten nun eine zweite reine Fraktion (z. B. 1 g aus 4 g Rohprodukt), die auf dem Filter mit Äther gewaschen wird. Aus dem Filtrat schlagen wir durch Zusatz von Äther den Rest des Farbstoffs in weniger reinem Zustand nieder.

Die Mittelfraktion ist unter dem Mikroskop einheit-

lich und besteht aus regelmäßigen dunkelroten Kügelchen, die wahrscheinlich von einer äußerst feinen, farblosen Kolloidhaut umgeben sind. Für die Krystallisation ist ein solches Präparat rein genug, für die Analyse haben wir seine fraktionierte Ausscheidung wiederholt.

Das amorphe Produkt, das nur, solange ihm Salzsäure anhaftet, hygroskopisch, sonst luftbeständig ist, eignet sich für viele Reaktionen besonders gut, weil es leichter löslich ist als das krystallisierte Chlorid. Es ist in Äthyl-, auch in Methylalkohol und in Wasser leicht löslich, und zwar in allen mit zuerst schön roter Farbe, die sich in einigen Minuten aufhellt. In absolutem Alkohol erfolgt die Entfärbung viel langsamer als bei Gegenwart von Wasser.

Beschreibung und Analyse von Cyaninchlorid.

Das feine Pulver des amorphen Salzes wird in der beschriebenen Weise unter Schütteln wieder in absolutem Alkohol aufgelöst, filtriert und mit einem Drittel seines Volumens an etwa 7 prozentiger wäßriger Salzsäure vermischt. Die Flüssigkeit bleibt, mit Filtrierpapier lose bedeckt, in flachen Schalen stehen. Sehr konz. Lösungen beginnen in einigen Stunden, mäßig konzentrierte nach einem Tage das Chlorid in regelmäßigen, gut ausgebildeten Krystallen von dunkelblauer Oberflächenfarbe und prächtigem Goldglanze abzuscheiden (0,34 g aus 0,41 g Pulver). Sie haben stets die Form rhombenförmiger Blättchen (Fig. 2), sie sind dünn und erscheinen daher in der Durchsicht unter dem Mikroskop grauviolett bis braungelb. Die Farbe ihres feinen Pulvers ist braunrot, der Strich beinahe schwarz.

Das Chlorid krystallisiert mit 3 Mol. Wasser, die im Vakuumexsiccator abgegeben werden.

I.	0,23765 g	verloren	0,01685	H ₂ O.
II.	0,27820 g	„	0,01980	H ₂ O.

	Ber. für	Gef.
	C ₂₈ H ₃₃ O ₁₇ .Cl.3H ₂ O	I II
3H ₂ O	7,39	7,09 7,12

Die Substanz wird durch die Trocknung sehr hygroskopisch, es ist notwendig, diese unter sehr niedrigem Druck im Acetonbad zu vervollständigen und die Substanz für die Analyse mit Differenzwägung des Trocknungskölchens in das Schiffchen abzufüllen. Chlorwasserstoff wird unter den Bedingungen der Trocknung

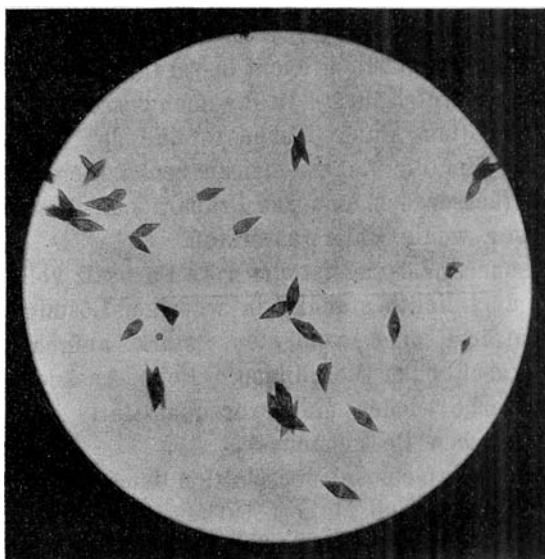


Fig. 2.

nicht abgegeben, auch nicht beim Waschen mit Alkohol oder Äther, aber ein Teil des Chlorwasserstoffs wird beim Waschen mit Wasser verloren. Das getrocknete Salz sintert im Röhrchen bei $196,5$ — 197° und schmilzt bei 203 — 204° (korr.).

Amorphes Präparat.

- I. $0,1635$ g gaben $0,29395$ CO_2 und $0,0750$ H_2O .
- II. $0,1047$ g „ $0,02677$ AgCl (nach Carius).
- III. $0,0893$ g „ $0,02297$ AgCl (nach Carius).

Krystallisiertes Präparat.

- IV. $0,1118$ g gaben $0,20205$ CO_2 und $0,0509$ H_2O .
- V. $0,1029$ g „ $0,0222$ AgCl (nach Carius).
- VI. $0,1139$ g „ $0,0234$ AgCl (nach Carius).

	Ber. für	Gef.					
	$C_{28}H_{38}O_{17}Cl$	I	II	III	IV	V	VI
C	49,67	49,03	—	—	49,29	—	—
H	4,88	5,10	—	—	4,86	—	—
Cl	5,25	—	6,33	6,36	—	5,33	5,08

Das kristallisierte Cyaninchlorid ist fast unlöslich in Wasser, sehr schwer und langsam in kaltem Alkohol löslich, äußerst schwer in Aceton und Chloroform, unlöslich in Benzol. Auch in verdünnter Salzsäure löst es sich wenig, dagegen ziemlich leicht in verdünnter (etwa 7 prozentiger) Schwefelsäure. In Brunnenwasser löst es sich leicht, aber mit blauer Farbe infolge der Bildung von Kalksalz. Um die Reaktionen zu beobachten, löst man das Salz (besser das amorphe Präparat) in Wasser unter Zusatz von wenig Chlorwasserstoff.

In saurerer Lösung ist das rote Farbsalz vollkommen haltbar, auch lichtbeständig, in wäßriger Lösung wird es rasch entfärbt oder wenigstens stark aufgehellt, besonders rasch beim Verdünnen. Beim Ansäuern kehrt die rote Farbe wieder, und zwar quantitativ zufolge den colorimetrischen Bestimmungen.

Auch die farblose Modifikation ist sehr beständig, sie liefert noch nach langem Aufbewahren den Farbstoff zurück, und zwar erhält man auch bei vorsichtigem Eindampfen der wäßrigen oder alkoholischen Lösung die rote, violette oder blaue Form des Cyanins wieder, je nachdem das farblose Glucosid aus der einen oder anderen durch Isomerisation hervorgegangen war. Durch Erwärmen des Cyaninchlorides mit absolutem Alkohol entsteht gleichfalls die farblose Lösung. Diese gibt mit Bleiacetat eine grüne Fällung und sie wird auf Zusatz von wenig Soda grüngelb, wahrscheinlich durch eine Beimischung von etwas blauem Farbsalz zum gelben Alkalisalz der isomeren Modifikation. Bei raschem Ansäuern schlägt die Farbe wieder in Rot um. Mit überschüssigem Natriumcarbonat, rascher mit Natronlauge, entsteht eine haltbare gelbe Lösung, die beim Ansäuern nicht mehr rot wird.

Das rote Farbsalz gibt bei Gegenwart von sehr wenig Chlorwasserstoff mit Eisenchlorid ein schönes Violett, in alkoholischer Lösung ein prachtvolles, sehr intensives Blau. Mit überschüssigem Eisenchlorid wird die Flüssigkeit mißfarbig, schließlich gelb.

Von Bleiacetat wird es quantitativ gefällt in schön violettblauen Flocken mit kupfrigem Schimmer. Das (aus dem Cyaninkalium dargestellte) Bleisalz gibt bei der Zersetzung mit Kohlensäure oder bei vorsichtiger Behandlung mit wenig Schwefelwasserstoff eine anscheinend primäres Bleisalz enthaltende schön blaue Lösung, die mit Alkohol fällbar ist. Mit überschüssigem Schwefelwasserstoff wird das Blei vollständig gefällt und der Farbstoff beim Eindunsten in seiner violetten Form erhalten.

Das Cyaninchlorid reagiert mit Alkalien stufenweise. Mit Calciumcarbonat (oder Silbercarbonat) erhalten wir eine schön violette Lösung, die sich besonders rasch entfärbt. Frisch wird sie mit Soda blau und gibt mit Bleiacetat die blaue Fällung; nach kurzem Stehen liefert sie ein grünes Bleisalz und wird nun noch gelbgrün oder gelb mit Natriumcarbonat. In festem Zustand erhielten wir das violette Glucosid beim Eindunsten seiner farblos gewordenen Lösung; es ist in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich.

Mit Natriumcarbonat wird die rote Cyaninlösung durch Violett hindurch schön kornblumenblau und bleibt, wenn man Überschuß von Soda vermeidet, eine halbe bis ganze Stunde beständig. Mit Alkalilauge verdirbt die Farbe rascher und wird gelb.

Von Zink und Essigsäure wird das Cyaninchlorid reduziert, von Natriumbisulfit wird es sofort ganz entfärbt und durch Säure quantitativ regeneriert.

Das Glucosid reduziert Fehlingsche Lösung gar nicht, nach Kochen mit Mineralsäure natürlich sehr stark.

Hydrolyse des Cyanins.

In der Kälte wird das Glucosid selbst von konz. Salzsäure sehr langsam gespalten, die Hydrolyse war nach 8 Tagen nicht beendet. In der Hitze verläuft sie rasch, wir fanden dafür 20 prozentige Salzsäure besonders geeignet.

1 g kristallisiertes Glucosid wird mit 300 ccm der Säure rasch zum Kochen und dann noch 3 bis höchstens 3 $\frac{1}{2}$ Minuten erhitzt. In einer Minute nach dem Beginn des Siedens ist die Substanz klar gelöst. Schon in der Hitze scheidet sich die Hauptmenge des Cyanidinchlorides in prächtigen Nadeln aus, die nach dem Erkalten von der sehr hellen Mutterlauge abfiltriert, mit 20 prozentiger Salzsäure gut ausgewaschen und zwischen Filtrierpapier getrocknet werden.

Im Filtrat haben wir die Glucose nach dem Verfahren von G. Sonntag¹⁾ und von G. Bertrand²⁾ bestimmt. Das dafür angewandte Glucosid war hochvakuumtrocken.

I.	0,1238 g	Glucosid gaben	0,0630	Glucose.			
II.	0,2126 g	„	„	0,1123	„	.	
III.	0,2126 g	„	„	0,1148	„	.	
IV.	0,22105 g	„	„	0,11513	„	.	
		Ber. für				Gef.	
		$C_{25}H_{33}O_{17}Cl$		I	II	III	IV
$2 C_6H_{12}O_6$		53,2		50,9	52,9	54,0	52,1

Für die polarimetrische Bestimmung war die Zuckermessung zu verdünnt, das Drehungsvermögen stimmte so genau, als es zu erwarten war, für Traubenzucker. Wir haben diesen mittelst des Osazons identifiziert, welches bei 195° sinterte und scharf bei 205° schmolz.

Auch die Ausbeute an Farbstoff stand in Einklang mit der Bildungsgleichung des Cyanidins.

Zu den abfiltrierten Krystallen des Chlorids kam

¹⁾ Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt 19, 447 (1903).

²⁾ Bull. soc. chim. [3] 35, 1285 (1906).

für die quantitative Bestimmung noch eine kleine Menge (1—2 mg) aus der zuckerhaltigen Mutterlauge hinzu, indem wir sie mit Amylalkohol ausschüttelten und ihn zur Trockne verdampften.

I. 0,2126 g Glucosidsalz gaben 0,118 g Cyanidinchlorid (luft-trocken).

II. 0,22105 g Glucosidsalz gaben 0,11295 g Cyanidinchlorid (vakuumtrocken).

Die berechnete Ausbeute ist 52,1, die gefundene 55 und 51 Proz.

Cyanidinchlorid.

Der Farbstoff krystallisiert in schönen, lebhaft metallglänzenden, langen Nadeln (Fig. 3), die man als

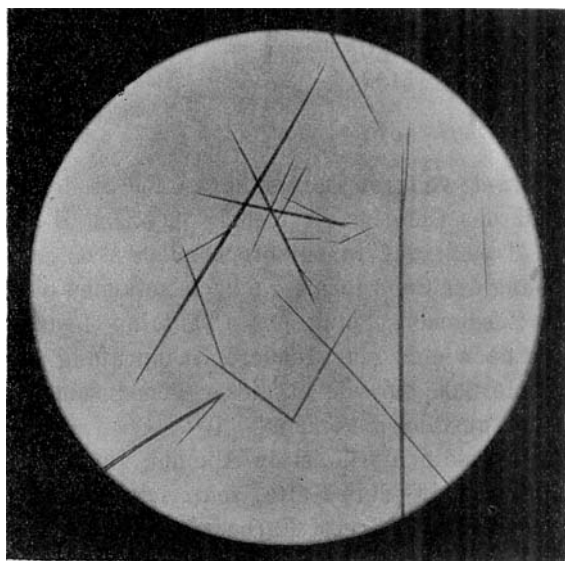


Fig. 3.

Wachstumsformen sehr langgezogener rhombenförmiger Blättchen beobachtet. In weniger reinem Zustand, z. B. bei der Gewinnung aus amorphem Cyanin neigt das

Chlorid dazu, sichel- und haarartig gebogene Formen zu bilden. Unter dem Mikroskop sind die Krystalle braunrot, auch das Pulver ist braunrot, der Strich dunkelviolett. Beim Erwärmen im Schmelzpunktsapparat sintert die Substanz und zersetzt sich allmählich; sie schmilzt beim Eintauchen in ein Bad von 220° sofort, von 218° allmählich unter Zersetzung, beim Einführen in ein Bad von 200° und weiterem Erhitzen erfolgt Zersetzung ohne Schmelzen.

Das Cyanidinchlorid enthält kein Krystallwasser, es ist luftbeständig und bleibt auch im Hochvakuum beim Erwärmen im Acetonbad unverändert; hingegen verliert es Chlorwasserstoff an Wasser.

0,11280 g gaben 0,22560 CO_2 und 0,04045 H_2O .

0,10765 g „ 0,04210 AgCl (nach Carius).

	Ber. für	Gef.	
	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_7\text{Cl}$	I	II
C	54,47	54,55	—
H	3,69	3,98	—
Cl	10,07	—	9,67

Bei zwei weiteren Darstellungen wurde der Kohlenstoffgehalt des Chlorids zu niedrig (C 52,82, H 3,79 und C 53,15, H 3,82) und in entsprechendem Maße bei einer Bestimmung der Chlorgehalt zu hoch gefunden (Cl 12,70). Um die Zusammensetzung des Cyanidins festzustellen, ist daher noch eine eingehendere Nachprüfung der Analyse erforderlich, die wir in dieser gemeinsamen Arbeit nicht mehr ausführen können.

Das Cyanidinchlorid ist in Alkohol, auch in Methylalkohol schon in der Kälte sehr leicht löslich mit wunderschöner violetter Farbe, aber sehr schwer löslich, selbst in der Hitze, in verdünnter und in mäßig konz. Salzsäure. Man erhält z. B. mit 20 prozentiger Salzsäure nur eine 0,001 prozentige Lösung. Das Chlorid läßt sich daher gut umkrystallisieren durch Auflösen in Alkohol, Vermischen mit dem halben Volumen 7 prozentiger Salzsäure und Abdampfen des Alkohols. Auch

aus Alkohol allein krystallisiert das Salz schon bei mäßig raschem Eindampfen der Lösung.

Das Sulfat ist gleichfalls schwer löslich und scheidet sich aus der warmen Lösung in 7 prozentiger Schwefelsäure beim Erkalten reichlich in Krystallen ab. Ferner zeichnet sich das überchlorsauere Salz, das sich in Alkohol sehr leicht löst und beim Eindunsten abscheidet, durch große Krystallisationskraft aus; es bildet Drusen schöner dunkelroter Prismen.

Aus seiner saueren (schwefelsauren) Lösung läßt sich der Farbstoff gar nicht mit Äther, Essigester, Chloroform oder Benzol ausschütteln, ausschließlich, und zwar quantitativ mit Amylalkohol. Auch das krystallisierte Cyanidinchlorid ist in Amylalkohol löslich mit schön violettstichig roter Farbe, die beim Auswaschen mit Wasser und sofort mit Alkaliacetat in schönes Violett umschlägt. Schüttelt man die violette Lösung mit etwas Soda, so geht der Farbstoff mit schön blauer Farbe vollständig in die wäßrige Schicht. In der amylnalkoholischen Lösung, namentlich einer feuchten, ist der Farbstoff nicht haltbar; in einigen Tagen wird sie braungelb bis braun.

Die Verbindungen mit den Mineralsäuren gehen unter verschiedenen Bedingungen durch Verlust der Säure in den violetten Farbstoff über, der in Alkohol leicht, in Amylalkohol in der Hitze ziemlich leicht, in Aceton auch warm sehr schwer löslich ist. Auch in kaltem Eisessig löst er sich schwer, warmes Wasser wird etwas angefärbt. Die konz. alkoholische Lösung des Cyanidinchlorides gibt beim Versetzen mit viel Wasser in der Wärme eine Ausscheidung der dunkelvioletten Flocken.

Mit Natriumcarbonat liefert das Chlorid in verdünntem Alkohol über Violett eine schöne blaue Lösung (nur dann eine grüne, wenn die farblose Modifikation zugegen ist), mit Kaliumacetat in Alkohol entsteht eine violettblaue Fällung.

Mit Bleiacetat gibt das Cyanidin einen blauen

Niederschlag, mit wenig Eisenchlorid in der alkoholischen Lösung eine wunderschöne und beständige, sehr intensive blaue Färbung; in 30 prozentigem Alkohol ist die Eisenchloridreaktion violett. Mit überschüssigem Reagens wird die Flüssigkeit mißfarbig, dann farblos, weiterhin gelb.

Beim Kochen mit Jodwasserstoffsäure spaltet Cyanidin kein Methyl ab; die Substanz bleibt als Jodhydrat unverändert.

Von Oxydationsmitteln wird der Farbstoff leicht angegriffen, Salpetersäure verwandelt ihn in eine schön krystallisierende, in Wasser und Äther lösliche Verbindung, die gelb ist und intensiver gelbe Alkalisalze bildet.

Isomerisation zur farblosen Modifikation. Das Cyanidin wird schwerer als Cyanin isomerisiert und die Rückverwandlung der farblosen Form erfolgt auch viel schwieriger. Wenn die Lösung des Chlorids in viel Alkohol mit dem doppelten Volumen Wasser vermischt und einige Minuten gekocht oder besser $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad von 85° erwärmt wird, so hellt sich die Flüssigkeit auf und wird schwach braungelb. Nur sehr langsam tritt diese Umwandlung in der Kälte ein. Die Lösung wird auf Zusatz von Mineralsäure nicht rot. Erst wenn man sie mit etwas Salzsäure einige Minuten kocht, kehrt die Farbe quantitativ wieder.

Die entfärbte Lösung gibt mit Soda ein schönes und bleibendes Gelb.

Die farblose Modifikation ist ätherlöslich und nicht erheblich basisch; sie läßt sich nämlich auch aus stark saurer Lösung vollständig ausäthern. Beim Abdampfen des Äthers hinterbleiben farblose Krystalle, die beim Kochen mit verdünnter Säure eine intensiv rote Lösung geben. Läßt man indessen die entfärbte alkoholisch-wäßrige Lösung oder ihren ätherischen Auszug längere Zeit stehen, so ist eine zweite, in größeren Nadeln krystallisierende Verbindung entstanden, die nicht mehr den roten Farbstoff zurückbildet. Diese Unbeständigkeit der

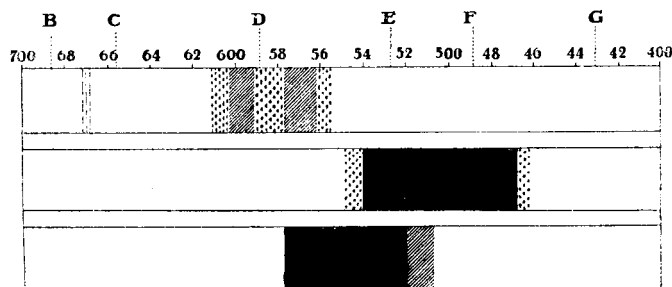
farblösen Form ist durch eine freie Hydroxylgruppe bedingt, welche im Cyanin mit Zucker verbunden war.

Eine interessante Umwandlung erleidet das Cyanidin, wenn wir seine alkoholische Lösung mit verdünntem Wasserstoffsperoxyd anstatt mit Wasser erwärmen. Nach der Entfärbung setzen wir einige Tropfen verdünnter Salzsäure zu und erhitzen im Wasserbad weiter. Die Flüssigkeit wird gelb, durch Extrahieren mit Äther läßt sich ein Produkt isolieren, das schöne, hellgelbe Krystalle bildet und mit Alkalien tief gelbe Lösungen liefert.

Absorptionsspektren (Fig. 4).

a) *Das blaue Cyaninsalz.*

Von dreimal umgefälltem Alkalisalz, dessen Reinheitsgrad 25 war, wurden 0,01324 g in 25 ccm 16 pro-



- I. Cyaninkalium 2,5 mm
- II. Cyaninchlorid 2,5 mm
- III. Cyanidinchlorid 2,5 mm

Fig. 4.

zentiger Natriumchloridlösung aufgelöst; 1 Mol ist in 5000 Litern enthalten.

Das Spektrum zeigt einen unscharf begrenzten schwachen Streifen im Rot und die Hauptabsorption im Orange und Gelb bis in die grüne Region hinein. Dieses breite Band teilt sich in dünnerer Schicht in zwei Streifen; gegen Violett hin ist es sehr unscharf begrenzt.

Schicht in mm	2,5	5	10
Band I	Schatten bei etwa 670	etwa 681.5 — 663	etwa 683 — 656
„ II	611.602 — 593..	626..618 —	633..629 —
„ III	577 — 562.556	549.521	521..514

Reihenfolge nach der Intensität: III, II, I.

b) *Cyaninchlorid.*

Vom krystallwasserhaltigen Chlorid wurden 0,01461 g in 50 ccm 7 prozentiger Schwefelsäure gelöst, d. i. 1 Mol in 2500 Litern.

Die Absorption besteht in einem gegen Violett hin sich ganz allmählich verlierenden breiten Bande, welches einen großen Teil des grünen und das blaue Gebiet einnimmt.

Schicht in mm	2,5	5
	549.540 — 467.462	561.553 — 448

c) *Cyanidinchlorid.*

0,00705 g in 50 ccm Alkohol, d. i. 1 Mol in 2500 Litern.

Das breite Band ist gegen Rot hin verschoben, so daß es in der gelben Region beginnt und bis in die blaue hineinreicht. Auf dieser Seite verflacht die Absorption allmählich ohne scharfe Begrenzung.

Schicht in mm	2,5	5	10
	577 — 520...507	583 — 486	589 — 474