ANTONI KÓZŁOWSKI.

(Z Zakładu Fizjologii Roślin i Chemji Rolnej, Poznań—Sołacz).

POWSTAWANIE W ROŚLINACH ANTOCJANU PRZEZ UTLENIANIE ANTOCJANOGENÓW.

(On the formation of anthocyanins in plants by an oxidation
of anthocyanogens).

(Wpłynęło 19. X. 35)

W S T Ę P.

Pojawianie się antocjanu w kwiatach, owocach, czasem też liściach i innych organach roślin wyższych jest wyrazem pewnej normalnej zmiany w metabolizmie komórek. Dzięki temu barwniki te mogą służyć fizjologowi, jako bardzo pożyteczne wskaźniki orjentacyjne w śledzeniu niektórych procesów biochemicznych, a zbadanie genezy i struktury chemicznej drobiny antocjanu przyczyni się nie tylko dla poznania owych substancyj lecz także dla wyjaśnienia mechanizmu przemiany pewnych innych związków, dających im początek.

Już sam fakt obecności lub zupełnego braku antocjanu w niektórych rodzajach i gatunkach roślin, względnie w pewnych tkankach lub nawet w pewnych komórkach tych samych tkanek, stawia fizjologowi pytanie, dlaczego te same zasadnicze składniki treści komórki mogą dać początek antocjanowi w jednych przypadkach, a wcale nie w innych. Zagadnienie to nie prędko jeszcze może być rozwiązane, gdyż wymaga uprzedniego, dokładnego poznania przemiany materji w roślinach. W każdym razie w tym kierunku zmierza badanie genezy antocjanu, które cofać będzie fizjologa krok za krokiem wstecz do coraz bardziej odległych produktów przemiany pewnych związków, zwłaszcza cukrów, aż zostanie wyśledzony cały nieprzerwany łańcuch reakcyj, prowadzących ostatecznie do wytworzenia owych barwników.

Przyczyny jakie ułatwiają względnie utrudniają przemianę prekursorów antocjanu czyli antocjanogenów w antocjan były już od dawna przedmiotem bardzo licznych badań, które jednak bynajmniej nie zostały jeszcze ukończone. W zagadnieniu tem skoncentrowano całą uwagę na to, czy ostateczne przejście bezbarwnych antocjanogenów w antocjan odbywa się na drodze ich redukcji czy też utlenienia. Większość fizjologów była i jest zdania, że w owym zjawisku zachodzi utlenianie a nie redukcja antocjanogenów. Tego poglądu był już Gautier w 1878 r. (cyt. Laborde, 8) i Malvezin (9). Niektórzy nawet sądzili, że biorą w tem udział enzymy utleniające, czyli oksydazy; do zwolenników tej hipotezy należy Buscalioni i Polacci (1904 r.), Miss Wheldale (ś. p. Hon. Mrs. Onslow) (12), Keeble i Armstrong (cyt. Jonesco, 4b) i niektórzy inni. Hipoteza jednak ta nie mogła być poparta przez doświadczenia *in vitro*. Pośrednio tylko można było o tem wnioskować z wyników badań, przeprowadzonych przez Miss Wheldale (12), według których płatki kwiatów mogą zawierać bądźto tylko antocjanogeny, bądź też tylko oksydazy albo też jedne i drugie razem w tych samych komórkach; otóż, podczas gdy w tym ostatnim przypadku antocjan był z reguły wytwarzany, w dwóch innych przypadkach tkanki pozostawały wolne od antocjanu. Hipotezę ową poparła Miss Wheldale na drodze genetycznej, a mianowicie w ten sposób, że poddała skrzyżowaniu odmianę białą *Antirrhinum majus*, posiadającą oksydazy lecz wolną od antocjanogenów, z odmianą żółtą, zawierającą w koronie kwiatowej antocjanogeny lecz pozbawioną w tych samych komórkach oksydaz; mieszaniec w ten sposób otrzymany, rozwinął kwiaty o pięknej barwie czerwonej — Magenta. Doświadczenie to dowodzi, że do powstawania antocjanu jest niezbędny udział dwóch jakichś składników, z których jeden ma cechy antocjanogenu, a drugi zachowuje się jak substancje, nazwane oksydazami, bez względu na to, czy są one rzeczywiście enzymami czy też pewnymi związkami nieenzymatycznymi. Obfite występowanie związków flawonowych w odmianach wolnych od antocjanu skłoniło Miss Wheldale do postawienia hipotezy, że flawony są prekursorami antocjanów. Wkrótce jednak okazało się, że flawonole, wyizolowane z roślin, nie dały antocjanu przez utlenianie, zato utworzyły jakiś barwik czerwony, wskutek ich redukcji pod wpływem wodoru *in statu nascendi*, wywią-

zywanego z kwasu solnego za dodaniem pyłku cynkowego lub magnezu (E v e r e s t, 2).

Owo spostrzeżenie stało się punktem wyjścia dla prac W i l l s t ä t t e r'a (13), który otrzymał z flawonolu (kwercetyny), poddanego działaniu magnezu w obecności kwasu solnego, barwik czerwony, wprawdzie przeważnie odmienny od antocyjanidyny czyli t. zw. allocyjanidynę, lecz też nieco barwika rzekomo identycznego z antocyjanidyną. To skłoniło W i l l s t ä t t e r'a do podania wzoru strukturalnego dla antocyjanidyny, który przypomina zasadniczo takież wzór flawonolu, a nadto do postawienia hipotezy, że w naturze antocyjan powstaje przez redukcję flawonoli. Hipoteza owa została nie tylko ogólnie przyjęta lecz też wkrótce wzmocniona przez prace F r e u d e n b e r g'a, K a r r e r'a, A s a h i n'y (I) i innych. Z czasem znaleziono, że najpospolitsze antocyjanidyny mają być pochodniami głównie trzech flawonoli, a mianowicie kemferolu (pelargonidyna), kwercetyny (cyanidyna) i myricetyny (delfinidyna); niektóre zaś inne mają powstawać przez metylowanie owych trzech zasadniczych antocyjanidyn, jak np. peonidyna (eter monometylowy cyanidyny) i syringidyna (eter dwumetylowy delfinidyny) (K a r r e r). Często nie jeden lecz kilka owych związków ma się znajdować w tych samych tkankach. Podobne związki, otrzymane syntetycznie przez W i l l s t ä t t e r'a (1924) i R o b i n s o n'a (1931, 1932) miały być identyczne z antocyjanidynami naturalnymi. Tak więc kwestja sposobu powstawania antocyjanu z jego chromogenów zdawała się być zupełnie rozwiązana.

Autor jednak doszedł do wniosku na podstawie własnych dawniejszych i nowszych badań, że w naturze antocyjany powstają nie przez redukcję lecz przez utlenianie antocyjanogenów, a bliższe wglądnięcie w szczegóły prac W i l l s t ä t t e r'a i innych zwolenników jego hipotezy doprowadziło autora do przekonania, że hipoteza W i l l s t ä t t e r'a zbudowana jest na mylnej interpretacji otrzymanych wyników, oraz na licznych przesłankach teoretycznych, którym brak jest dostatecznego poparcia eksperymentalnego.

HISTORIA I WYNIKI BADAŃ PRZEPROWADZONYCH PRZEZ AUTORA.

Pierwsze badania orientacyjne nad genezą antocyjanu były rozpoczęte przez autora w 1919/20 r. w *Zakładzie Fizjologii Roślin Uniwersytetu Warszawskiego* (obecnie *Józefa Piłsudskiego*), lecz

zostały przerwane w lecie 1920 r. Wyniki owych licznych badań nie były kompletne i dlatego nie zostały ogłoszone. Niektóre z nich przedstawiają się w ogólnych zarysach następująco:

Najpierw przeprowadzono próbę z tkankami całkowitemi, bez wyizolowania chromogenów, by uniknąć ewentualnej zmiany substancyj, z natury już bardzo wrażliwych na działanie odczynników. Do badań służył materiał świeży, zbierany w *Ogrodzie Botanicznym*. Użyto do tego przede wszystkim młodych płatków z pączków kwiatowych, które po rozwinięciu się tworzyły antocjan oraz z takich samych odmian tych samych gatunków, które nie produkowały antocjanu. Badano też jagody zielone, które w okresie ich dojrzewania wytwarzały barwiki czerwone. Chodziło przytem głównie o wykazanie, czy barwiki będą się wytwarzać w badanym materiale w nieobecności tlenu powietrza.

Tkanki roztarte w moździerzu pozostawiono w atmosferze wilgotnej w dostępie powietrza w ciągu kilkunastu godzin. Dla porównania zaś, takie same tkanki rozcierano w świeżym 1%-wym roztworze siarczynu sodu i pozostawiono w naczyniu szczelnie zamkniętem. W pierwszym przypadku wytwarzał się wkrótce czasem barwik czerwony, mający liczne cechy mikrochemiczne antocjanu, ale tylko w tkankach takich, które normalnie tworzyły antocjan po rozwoju kwiatów, płatki zaś kwiatów, które nie produkowały antocjanu w naturze, nie tworzyły tego barwika także *in vitro*. W roztworze zaś siarczynu tkanki pozostawały w obu przypadkach wolne od antocjanu. Widocznie więc tlen sprzyja zmianom prowadzącym do wytwarzania barwików. Najdogodniejszym materiałem do wykazania takiego wpływu tlenu okazały się dojrzewające, lecz jeszcze blado-zielono zabarwione, jagody *Viburnum prunifolium*, które wytwarzały momentalnie w ich miększysu barwik czarny w chwili ich zranienia lecz pozostawały niezmiennione w swej pierwotnej barwie, jeśli roztarto je w roztworze siarczynu i trzymano następnie w naczyniu zamkniętem. Takie same jagody, niezranione i trzymane w wodzie w naczyniu otwartem, brunatniały w ciągu kilku dni lub nawet przed upływem jednej doby, podczas gdy jagody, trzymane w wodzie lub w alkoholu bez dostępu powietrza, nie czerniały nawet w ciągu kilku tygodni. Jakkolwiek barwik ten jest odmienny od antocjanu, sposób jego powstawania wskazuje w każdym bądź razie na to, że na takiej drodze, t. j. przez utlenianie, powstaje czerwony barwik w jagodach

pokrewnego gatunku kaliny, a mianowicie *Viburnum Opulus*, który pojawiał się, jeśli mięksisz owoców rozcierano w dostępie powietrza.

Równolegle z owymi próbami badano też reakcję chromogenów wyizolowanych z niektórych roślin. Woda utleniona nie powodowała powstawania barwików, prawdopodobnie wskutek jej zbyt silnego działania; kwas osmowy ulegał wprawdzie mniej lub więcej redukcji i wywoływał czasem bardzo nietrwałe i lekkie zabarwienie lecz antocjanu tą drogą nie otrzymano. Kwas siarkowy, niezbyt stężony, nie wytwarzał barwika; pięciotlenek fosforu, dodany do suchej substancji, wywoływał często powstawanie barwika czerwonego, nawet bardzo intensywnie lecz szybko powodował też jego dalszą zmianę. Chlorek glinu, zmieszany z suchą substancją, wywoływał czasem pojawienie się barwika czerwonego. Stosunkowo najlepiej reagowały substancje wyizolowane z miększu kory drzew, jak np. *Salix viminalis*, *Rhamnus cathartica* i *Prunus* sp. Prawdopodobnie zachodziła w owych reakcjach kondensacja i równocześnie utlenianie jakichś glukozydów, z wytworzeniem barwików o charakterze nieznanym. Wogóle trudno było znaleźć jakiś środek utleniający, któryby utleniał tylko grupę chromoforową, a równocześnie nie atakował reszty drobinę badanego związku.

Badania tego rodzaju były kontynuowane przez jakiś czas w 1921 r. podczas pobytu autora we Francji. Związki o barwie żółtej, wyizolowane z korzeni buraka morskiego (*Beta maritima*) i buraka cukrowego, dały przez utlenianie, a nie przez redukcję barwik czerwony, przypominający barwik éwikły (6a). Trudno jednak było wykazać, czy barwik ów był identyczny z naturalnym. J o n e s c o (4a), posługując się metodą autora, zamienił w barwik czerwony chromogen, wyizolowany ze skórki kwiatów *Cobaea scandens* i zdołał też otrzymać antocjan przy pomocy preparatu oksydaz z *Russula delica*. Autor jednak, w dalszej swej pracy, przeprowadzonej w *Zakładzie Fizjologii Instytutu im. Nenckiego* w 1922 r., próbował, między innymi, także działania oksydaz lecz bez powodzenia; możliwe więc, że w doświadczeniu, opisanem przez J o n e s c o, czynne były jakieś substancje zawarte w ekstrakcie kwiatów, a nie produkty grzybów.

W dalszych swych badaniach posługiwał się autor (6b) metodą E v e r e s t'a dla wykazania antocjanogenów, bez przesądzenia kwestji, czy antocjan powstaje w naturze przez redukcję

chromogenów, jak to przyjął Willstätter. Jakkolwiek barwiki, ową metodą otrzymywane, miały pewne ogólne cechy antocjanu, trudność otrzymania takiego barwika z chromogenów pewnych roślin nie pozwalała na poparcie hipotezy Willstättera. Chromogen, wyizolowany np. z białych kwiatów pelargonji, zadany kwasem solnym i magnezem, nie zmieniał się z początku i dopiero przy nadmiernie długim działaniu dawał w końcu osad czerwono-brunatny, różniący się znacznie od barwika pelargonji czerwonej.

Chociaż autor nie mógł znaleźć jakiegoś łagodnego środka utleniającego, przy pomocy którego udałoby się odtworzyć sztucznie reakcję naturalną, wyniki badań, opisanych na wstępie, utrzymywały go w przekonaniu, że antocjan powstaje w naturze przez utlenianie, a nie przez redukcję jego chromogenów. Dalsze badania w tym kierunku zostały przerwane na długie lata wskutek walki o byt, która rzuciła autora w czasie jego pobytu w gościnnych Stanach Zjednoczonych w dziedzinę badań zakaźnych chorób zwierząt i drzew owocowych. Dopiero w 1935 r. autor miał znów sposobność powrócić do owego zagadnienia i to tylko okolicznościowo, kiedy przy badaniu procesów oksydacyjno-redukcyjnych zostały znalezione w nasionach grochu i fasoli substancje, które były bardzo czynne w owych procesach, a nadto dawały pod wpływem bardzo łagodnych środków utleniających barwiki (fioletowo-niebieski z grochu i ceglasto-czerwony lub różowy z fasoli), bardzo podobne do barwików spotykanych w kwiatkach tych gatunków roślin. Substancje owe jednak nie dały przez redukcję żadnego barwika lecz wprost przeciwnie, traciły zupełnie swą naturalną barwę żółtawą. Ponieważ środki utleniające, użyte do owej redukcji, nie atakowały zbytnio drobiny owych związków, barwik, przy ich pomocy otrzymany, jest prawdopodobnie blisko pokrewny, jeśli nie identyczny, z barwikiem naturalnym. Powyższe spostrzeżenia skłoniły autora do tymczasowego przerwania badań procesów oddychania roślin, w celu ponownego zajęcia się kwestją genezy antocjanów.

I. DOŚWIADCZENIA Z CHROMOGENAMI NASION GROCHU I FASOLI.

Nasiona grochu wzgl. białe nasiona fasoli zadano podwójną ilością wody i pozostawiono przez kilkanaście godzin, by napęczniały. Potem zalano je metanolem. uprzednio oczyszczonym przez

destylację z nad wapna palonego. Po dwudziestu godzinach ekstrakt odlano, przesączono i uwolniono od metanolu przez destylację przy możliwie niskiej temperaturze, używając ku końcowi zmniejszonego ciśnienia. Pozostały płyn miał barwę żółtą.

R e a k c j e:

1. Metanolowy ekstrakt z grochu, ogrzewany ostrożnie z kwasem solnym, przybierał stopniowo barwę fioletową o odcieniu niebieskawym, a w końcu winowo-czerwoną. Takież ekstrakt z nasion fasoli przybierał w takich samych warunkach barwę różowo-czerwoną.

2. Ekstrakt, uwolniony od metanolu i zadany odcinkiem wstążki magnezowej w obecności kwasu solnego, uległ zupełnemu odbarwieniu.

3. Płyn, pozostały po usunięciu metanolu z ekstraktu, zadano roztworem octanu ołowiu. Wytrącony osad odsączono. Filtrat po osadzie, zadany małą ilością rozcieńczonego amoniaku, dał jeszcze nieco związku ołowiowego.

Osady, otrzymane z ekstraktu grochu, rozłożono rozcieńczonym kwasem siarkowym. Filtrat po siarczanie ołowiu miał barwę fioletową o odcieniu niebieskawym. Związek ołowiowy, otrzymany z ekstraktu z białych nasion fasoli, wysuszony i rozłożony kwasem solnym w obecności metanolu, dał barwik różowo-czerwony.

Barwiki owe przechodzą w alkohol amyłowy podczas ogrzewania płynu w obecności kwasu solnego, a ulegają odbarwieniu przez redukcję t. j. przez działanie wodoru *in statu nascendi*, wywiązywanego przez magnez z kwasu solnego.

4. Takie same barwiki powstają, jeśli ekstrakt z nasion zadano roztworem chlorku rtęci.

5. Ekstrakt z nasion grochu, uwolniony od metanolu, nie zmieniał swej żółtawej barwy po zakwaszeniu kwasem siarkowym. Jeśli zadano go uprzednio kroplą roztworu chlorku żelaza, zobojętniono ostrożnie amoniakiem i pozostawiono przez kilka godzin w naczyniu otwartem, następne zakwaszenie kwasem siarkowym spowodowało wystąpienie barwy winowo-czerwonej, co wskazuje, że utlenienie chromogenu było niezbędne do powstania barwika.

Po powyższych ogólnych próbach orjentacyjnych przystąpiono do badania antocjanu z kwiatów, przyczem oparto się na następującem założeniu: jeśli antocjan powstaje przez redukcję anto-

cyanogenów, barwik ten powinien być odporny na dalsze działanie łagodnych środków redukujących, a powinien natomiast ulegać odbarwieniu pod działaniem środków utleniających. Poniżej jednak opisane doświadczenie wskazuje, że antocjan, wprost przeciwnie, reaguje na działanie środków redukujących bardzo łatwo przez utratę swej barwy, a odzyskuje ją spowrotem pod następnym wpływem środków utleniających. Pod tym względem barwik, otrzymany sztucznie metodą Everesta przez redukcję flawonoli, zachowuje się odmiennie, co dowodzi, że nie jest on identyczny z antocjanem.

II. DOŚWIADZENIA Z ANTOCJANEM.

Ponieważ antocjan ulega bardzo łatwo zmianie pod wpływem odczynników stosowanych do jego wyizolowania, przeprowadzono doświadczenia z świeżym surowym ekstraktem antocjanu, sporządzonym z świeżych kwiatów. Płatki kwiatów wyciągnięto gorącym 5%-ym roztworem kwasu cytrynowego lub octowego.

1. Redukcja antocjanu zapomocą magnezu

Świeży ekstrakt zadano odcinkiem wstążki magnezowej i zatkano probówkę korkiem gumowym tak, by go nie wysadziły wywiązujące się gazy. (Pożądanem jest przytem używanie aparatu, z którego można zupełnie usunąć powietrze; w braku jednak takiego, autor posługiwał się tylko odcięciem dalszego dopływu tlenu). W ciągu kilku minut płyn uległ częściowemu, niemal zupełnemu odbarwieniu. Po następnem otwarciu próbówki powracała dawna barwa czerwona. Jeśli nastąpiło zupełne odbarwienie płynu, następny dopływ tlenu przywracał barwę czerwoną tylko częściowo.

2. Redukcja antocjanu zapomocą hydrosiarczynu sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$).

Świeży ekstrakt antocjanu z kwiatów *Pelargonium zonale* zadawano po kropli świeżym 1%-ym roztworem hydrosiarczynu sodu aż do zupełnego odbarwienia płynu. Potem dodawano po kropli roztworu jodu w alkoholu. W pewnym momencie, a mianowicie skoro hydro-siarczyn uległ zupełnie utlenieniu, wystąpiła spowrotem pierwotna barwa czerwona płynu, która potęgowała

się przy dalszem dodawaniu jodu. (Ewentualny nadmiar tego ostatniego można spowrotem usunąć przez dodanie kropli silnie rozcieńczonego roztworu hydrosiarczynu).

Powyższa reakcja wskazuje aż nadto wyraźnie, że antocjan powstaje przez utlenianie, a nie przez redukcję.

III. REAKCJA CZERWONEGO BARWIKA OTRZYMANEGO SZTUCZNIE PRZEZ REDUKCJĘ FLAWONOLI METODĄ EVEREST'A.

Chodziło tu przede wszystkim o zbadanie, czy barwik otrzymany przez Willstättera z flawonoli będzie tak samo się zachowywał wobec powyższych odczynników redukujących, by w ten sposób stwierdzić, czy jest on identyczny z barwikiem naturalnym. W tym celu wyizolował autor flawonol z kwiatów żółtej odmiany bratka ogrodowego (*Viola tricolor*), który dał barwik czerwony pod działaniem magnezu w obecności kwasu solnego. Barwik jednak taki, w przeciwstawieniu do antocjanu wyciągniętego z niebieskich kwiatów bratka lub jakiegokolwiek innej rośliny, nie ulegał odbarwieniu przy dalszem działaniu wodoru, wywiązywanego z kwasu solnego przez magnez ani też pod wpływem hydrosiarczynu; nawet przy nadmiarze tego ostatniego utrzymywała się barwa czerwona, która przy następem dodaniu jodu przeszła w pomarańczową. Flawonole, wyizolowane przez autora z kwiatów, nie dawały antocjanu ani jakiegokolwiek innego czerwonego barwika pod redukującym działaniem hydrosiarczynu. Płyn, traktowany tym odczynnikiem, pozostał w swej oryginalnej barwie żółtawej niezmieniony i nie wykazał przejścia w barwę czerwoną po następem dodaniu jodu.

Ekstrakty z kwiatów, zawierających flawonole, sporządzone zapomocą alkoholu w obecności kwasu cytrynowego, nie dały barwika czerwonego po następem dodaniu magnezu i działaniu wywiązywanego w ten sposób wodoru. Redukcja więc owemi środkami nie przeprowadziła flawonoli w antocjan. Pojawienie się czerwonego barwika w roztworze flawonoli, zadanyim silnym kwasem mineralnym i magnezem, wskazuje, że musiała tu zajść kondensacja drobin flawonoli z wytworzeniem jakiegoś barwika, zupełnie zresztą odmiennego od antocjanu. Reakcja bowiem taka nie zachodzi przy użyciu kwasów organicznych, mimo nawet bardzo energicznego wywiązywania wodoru pod wpływem magnezu dodanego do ekstraktu.

Wyniki owych doświadczeń nie zgadzają się zupełnie z hipotezą postawioną przez Willstättera.

DYSKUSJA I WNIOSKI.

Willstätter, jak już wyżej wspomniano, opierając się na reakcji powstawania barwika czerwonego z flawonoli pod wpływem wodoru *in st. n.*, nie tylko postawił mylną hipotezę co do sposobu powstawania antocjanu w naturze lecz także na tej samej podstawie podał błędny zasadniczy wzór strukturalny dla drobin antocjanidyn, który został przyjęty, podobnie jak i owa hipoteza, przez innych uczonych, mimo, że Willstätter nie dał żadnych konkretnych dowodów dla słuszności jego hipotez, a opierał się głównie na znanych już oddawna wzorach strukturalnych flawonoli, przyczem wysnuwał dalsze wnioski na drodze czysto spekulatywnej.

Według Willstättera drobina antocjanidyny zawiera pierścień pyryljowy, w którym atom tlenu jest czterowartościowy i ma zdolność wiązania chloru kwasu solnego z wytworzeniem chlorku oksoniowego. Przejście np. kwercetyny w barwik, uznany przez niego za cjanidynę, przedstawił Willstätter następującymi wzorami:

Przyjęcie takiego wzoru dla antocjanidyny naturalnej jest czemś zupełnie nowem w chemji związków organicznych i nie jest poparte przez żadne dowody eksperymentalne.

Wadliwość teoretycznego rozumowania Willstättera można też zauważyć w jego interpretacji natury barwika powstającego z flawonolu. Już sam Willstätter spostrzegł się, że przeważająca większość barwika, otrzymanego sztucznie, nie jest identyczna z antocjanem i dlatego nazwał go allocjanidyną, dla której podał następujący wzór strukturalny:

Również przyjęcie tego wzoru nie zostało poparte przez żadne dowody eksperymentalne i jest zupełnie nieuzasadnione nawet czysto teoretycznie, gdyż rozerwanie pierścienia pyronowego pociągnęłoby za sobą raczej zniknięcie niż wystąpienie barwy. Przyjęcie równoczesnego powstania grupy chinonowej w aromatycznym pierścieniu, który był pierwotnie skondensowany z pierścieniem pyronowym, stawia Willstätter'owi pytanie, w jaki sposób mogło to nastąpić podczas działania wodoru *in statu nascendi* na flawonol.

Prócz owej rzekomej allocjanidyny, która zapewne przedstawiała produkt kondensacji kwercetyny, otrzymał Willstätter jakiś, nieco odmienny barwny produkt kondensacji, jakkolwiek w bardzo małej ilości, a mianowicie zaledwie 0,165 g z 30 g użytej ku temu kwercetyny, który zdaniem Willstättera był z całą pewnością identyczny z naturalną cjanidyną. Powyższe jednak dwa przykłady wzorów strukturalnych i interpretacji, podanych przez Willstättera, podkopują ową pewność.

Dla wyjaśnienia budowy chemicznej drobin antocjanów trzeba rozpocząć badania na nowo, przyczem należy najpierw poznać naturę antocjanogenów, które zdaniem autora nie są flawonolami, jakkolwiek są blisko z nimi spokrewnione i mogą prawdopodobnie przechodzić w nie w roślinach.

Wnioski, wysnute przez autora na podstawie jego własnych badań, znajdują swe poparcie w spostrzeżeniach poczynionych przez Freudenberg'a (3), który stwierdził, że antocjanidyny, poddane redukcji, przechodzą w związki bezbarwne, określone przez niego jako epikatechiny. Na szczególną jednak uwagę zasługują doświadczenia opisane przez Kuhn'a (7), który zdo-

łał przeprowadzić cjanidynę, poddaną redukcji w roztworze pirydyny, zobojętnionej kwasem octowym, przy pomocy pyłku cynkowego w nieobecności tlenu, w związek barwny, określony przez niego jako leuko-cjanidyna, który na powietrzu odzyskiwał pierwotną barwę cjanidyny. Mamy więc tu to samo zjawisko, jakie obserwujemy w wyżej opisanym doświadczeniu z hydrosiarczynem i jodem, a do pewnego stopnia także w przypadku działania magnezu w obecności kwasów organicznych.

Przechodzenie naturalnych związków bezbarwnych w zabarwione bez stosowania odczynników redukujących było obserwowane już przez L a b o r d e (8) i M e l v e z i n (9), którzy otrzymali barwiki czerwone przez ogrzewanie ekstraktu z nasion winogron w obecności rozcieńczonego kwasu solnego wzgl. czystej wody. Takie same „sztuczne antocjany” otrzymał T s w e t t (11). Nowsze badania, przeprowadzone przez małżonków R o b i n s o n (10c) wykazały, że bezbarwne związki, niewłaściwie nazwane leuko-cjanidynami, mające cechy antocjanogenów, są bardzo rozpowszechnione w tkankach roślin wyższych, gdzie związki te, zdaniem autora, odgrywają bardzo ważną rolę w procesach oksydacyjno-redukcyjnych i funkcjonują obok innych chromogenów jako t. zw. barwiki oddychania (*Atmungspigmente*) P a l l a d i n'a.

Wyniki badań, przeprowadzonych przez autora, poparte przez wyżej omawiane spostrzeżenia wielu innych badaczy, dowodzą, że antocjam powstaje w roślinie przez utlenianie a nie przez redukcję antocjanogenów.

Wprawdzie barwna reakcja flawonoli z kwasem solnym w obecności magnezu lub cynku, nadaje się do wykrycia obecności flawonoli w tkankach roślin, lecz bynajmniej nie może służyć jako dowód, że antocjany powstają przez redukcję flawonoli. Hypoteza, postawiona przez W i l l s t ä t t e r'a, nie wytrzymuje krytyki doświadczalnej i nie może się dłużej utrzymać. Badania przeto nad genezą antocjanów należy prowadzić w zupełnie nowym kierunku, odmiennym od tego, jaki podał W i l l s t ä t t e r.

Autor pozwala sobie złożyć w tem miejscu wyrazy głębokiej wdzięczności J. W. Panu S t a n i s ł a w o w i M i c h a ł s k i e m u, Dyrektorowi *Funduszu Kultury Narodowej*, przy którego zasiłku była wykonana zarówno powyższa praca, jak i badania nad rolą glutationu w fermentacji alkoholowej, ogłoszone w tem czasopiśmie, tom XII, str. 75—82 (1935).

S U M M A R Y.

The anthocyanins were extracted from the flowers of *Pelargonium zonale* and of some other plants by means of a hot, 5 per cent solution of citric acid.

The extracts became more or less decolorized after magnesium was added, and a further access of air was cut off; the original red color of the liquid was only partly restored when extract, so treated, was again exposed to the influence of air.

Sodium hydrosulfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), when carefully added, caused that an extract of anthocyanins became quick and completely colorless; a consecutive treatment of such liquid with a proper amount of tincture of iodine caused the immediate reappearance of the red color in both its original intensity and its shade.

No red pigment could be produced when flavonols, extracted from the flowers, were treated either with magnesium in the presence of citric and other organic acids, or under influence of sodium hydrosulfite and a consecutive action of iodine.

A red pigment which was obtained by an action of magnesium upon flavonols in the presence of hydrochloric acid has been found to be different from the anthocyanins already in this respect that it did not become decolorized by sodium hydrosulfite, and it turned orange-yellow after a consecutive action of iodine.

The above findings corroborate the old hypothesis on the formation of anthocyanins by oxidation, and, on the other hand, they indicate that the hypothesis, put by Willstätter, according to which anthocyanidins are formed in nature by a reduction of flavonols, demands a revision.

L I T E R A T U R A.

1. Asahina u. Inubuse: Ber. chem. Ges., 64, 1256 (1931).
2. Everest: Proc. Roy. Soc. London, B., 87, 444 (1913/14).
3. Freudenberg: Liebig's Ann. 444, 135 (1925).
4. Freudenberg u. Kammüller: Liebig's Ann. 451, 209, 213 (1926).
Ber. chem. Ges. 53, 1416 (1920).
55, 1734 (1922).
Freudenberg, Carrara u. Cohn: Liebig's Ann. 446, 87 (1925).
Freudenberg, Fikenscher u. Wenner: Liebig's Ann. 442, 309 (1925).
4. Jonesco: a) C. R. Ac. Sc. Paris, 173, 1006 (1921).
b) C. R. Ac. Sc. Paris, 175, 592 (1922).

5. Karrer u. Widmer: *Helv. chim. Acta*, *10*, 23, 67, 729 (1927).
 6. Kozłowski: a) *C. R. Ac. Sc. Paris*, *173*, 858 (1921).
b) *Prace Instytutu im. M. Nenckiego* Nr. 27, 1923.
 7. Kuhn u. Winterstein: *Ber. Chem. Ges.* *65*, 1742 (1932).
 8. Laborde: *C. R. Ac. Sc. Paris*, *146*, 1411 (1908).
 9. Malvezin: *C. R. Ac. Sc. Paris*, *147*, 384 (1908).
 10. Robinson: a) *Biochem. J.*, *25*, 1687 (1931).
b) Robinson a. Todd: *J. Chem. Soc.* 2293, 229, 2488 (1932).
c) Robinson a. Robinson: *J. Chem. Soc. London*, 744 (1935).
 11. Tswett: *Biochem. Ztschr.*, *58*, 225 (1914).
 12. Wheldale: *The anthocyanin pigments of Plants*. Cambridge 1916.
 13. Willstätter i współpracownicy: *Sitzungsber. K. Akad. Wiss. Berlin*, 769 (1914).
Liebig's Ann. 408, *1*, (1915).
412, 164, 178 (1916).
Ber. Chem. Ges., *57*, 1938, 1945 (1924).
-