

Flawonoidy wybranych gatunków z rodzin Caprifoliaceae i Cornaceae

LUCYNA PAWŁOWSKA-ĆWIEK

PAWŁOWSKA-ĆWIEK, L. 1997. Flavonoids of selected species of the families Caprifoliaceae and Cornaceae. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Series Polonica Suppl. 2*: 297–309. Kraków. PL ISSN 1233–0132.

ABSTRACT: The fruits and some flowers taken from specimens belonging to the families *Caprifoliaceae* and *Cornaceae* were studied on the basis of their flavonoid composition.

KEY WORDS: *Caprifoliaceae*, *Cornaceae*, flavonoids, Poland

L. Pawłowska-Ćwiek, Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Instytut Biologii, ul. Podbrzezie 3, PL-31-054 Kraków, Polska

WSTĘP

Chociaż rodzina *Caprifoliaceae* była przedmiotem bardzo wielu badań (anatomicznych, morfologicznych, kariologicznych i innych), to jednak dyskusja nad jej systematyką trwa w dalszym ciągu. Pierwotnie Bentham i Hooker (1873) zaproponowali podział tej rodziny na dwa plemiona: *Sambuceae* i *Lonicereae*. Do pierwszego z wymienionych autorzy zaliczyli rodzaje *Adoxa*, *Sambucus* i *Viburnum*. Natomiast plemię *Lonicereae* miało być według nich znacznie liczniejsze i obejmować rodzaje: *Lonicera*, *Microsplenium*, *Triosteum*, *Symphoricarpos*, *Abelia*, *Linnaea*, *Leycesteria*, *Diervilla*, *Pentaptyxis* i *Alseuosmia*. W kilkanaście lat później Fritsch (1892) wysunął pogląd, że z plemienia *Sambuceae* należałoby wydzielić rodzaj *Viburnum* i połączyć z rodzajem *Triosteum* z plemienia *Viburneae*. Należy zaznaczyć, że powyższy podział rodziny *Caprifoliaceae* jest do dziś stosowany.

Natomiast według Höcha (1892) rodzaj *Sambucus*, ze względu na baldaszkowate kwiatostany, winien być w ogóle wyłączony z rodziny *Caprifoliaceae*. Tę ostatnią sugestię zdają się potwierdzać badania fitoserologiczne Hillebranda i Fairbrothersa (1970), które wskazywały na większe podobieństwo rodzaju *Sambucus* do rodzaju *Cornus* (*Cornaceae*), niż do jakiegokolwiek z rodzajów omawianej rodziny. Natomiast Sax i Kribs (1930), na podstawie badań kariologicznych, stwierdzili odrębność dwóch rodzajów (*Sambucus* i *Viburnum*) od pozostałych tej rodziny. Badania anatomiczne De Vosa (1951) oraz analiza chemotaksonomiczna związków cyjanogennych wykonanych przez Gibbsa, (1958) potwierdzają to ostatnie stwierdzenie. Z kolei Wilkinson (1949), opierając się na

wynikach badań anatomiczno-morfologicznych, wysunął przypuszczenie, że dyskutowana rodzina ma charakter polifiletyczny. Do tego poglądu przychyliła się Hutchinson (1967), który uważał, iż rodzaje *Sambucus* i *Viburnum* są bardziej prymitywne niż pozostałe.

Dotychczas przeprowadzono wiele badań fitochemicznych, obejmujących analizy kumaryn, związków cyjanogennych, czy kwasów fenolowych z liści i kwiatów rodziny *Caprifoliaceae* (Charaux 1911; Evans i in. 1945; Imaseki 1959; Imaseki & Yamamoto 1961; Cocker & Cantan 1963). Były to jednak prace wykonane przede wszystkim dla celów farmakognozji. Od lat 50. natomiast rozpoczęto badania metabolitów wtórnych, a tym samym bardziej interesujących z punktu widzenia taksonomii, tj. flawonoidów (King & Schwairting 1949; Stroh 1958; Egolf 1962; Hörhammer i in. 1965; Bohm & Glennie 1969). Również w niniejszej pracy flawonoidy, a zwłaszcza antocyjany były przedmiotem analizy chemotaksonomicznej.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto osobniki następujących gatunków: *Sambucus nigra*, *S. racemosa*, *S. ebulus*, *Lonicera nigra*, *L. xylosteum*, *L. periclymenum* i *Viburnum opulus*. Dla celów porównawczych w badaniach uwzględniono także nieliczne osobniki *Cornus sanguinea*. Wykaz stanowisk osobników badanych prezentuje tabela 1.

Przeprowadzono analizy flawonoidów występujących głównie w owocach oraz kwiatostanach, ale tylko niektórych osobników *Sambucus nigra*, *S. racemosa* i *Viburnum opulus*.

Homogenizat z co najmniej 3 g owoców zalewano mieszaniną wody i metanolu (1:1, v/v) i odstawiano do lodówki na 24 godz. Wyciąg zlewano, zaś pozostałość ponownie zalewano mieszaniną metanolu i wody. Czynność powtarzano do uzyskania niemal bezbarwnego wyciągu. Wyciągi z jednego osobnika łączono i zagęszczano w temperaturze $<10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (w lodówce). Podobnie postępowano z kwiatostanami, z tą jednak różnicą, że do ekstrakcji stosowano octan etylu.

Zagęszczone ekstrakty poddawano rozdzielaniu metodą chromatografii kolumnowej: – ekstraktów wodno-metanolowych na kolumnie ($1,5 \times 15\text{ cm}$) wypełnionej poliamidem Koch-Light 120/500, frakcje wymywano w gradiencie stężenia metanolu (w wodzie) z dodatkiem kwasu solnego (10^{-5} M HCl w metanolu); – ekstraktów octanu etylu na kolumnie ($1,5 \times 30\text{ cm}$) wypełnionej celulozą (ECTAOLA–Al C-50), frakcje wymywano w gradiencie stężenia metanolu w wodzie.

Otrzymane frakcje poddawano chromatografii cienkowarstwowej, dwukierunkowej na celulozie MN 300, rozwijając chromatogramy w układach: BAW – n-butanol : kwas octowy : woda (4:1:5, v/v); B – woda : stęż. kwas solny : 80% kwas octowy (5:1:5, v/v); C – 2 M kwas solny; D – 10 % kwas mrówkowy; E (cukry) – pirydyna : benzen : n-butanol : woda (3:1:5:3, v/v).

Celem identyfikacji składników flawonoidowych stosowano: 1. określanie barwy plam na chromatogramach w świetle widzialnym (VIS) i ultrafioletowym (UV); 2. wyznaczenie wartości Rf i porównanie z analogicznymi dla substancji wzorcowych oraz podawanymi w literaturze (Hegnauer 1964; Harborne 1967; Hahlbrock & Grisebach 1975;); 3. reakcje charakterystyczne dla flawonów i flawonoli z tlenochlorkiem cyrkonu (ZrOCl_2) i kwasem cytrynowym ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ – Pawłowska 1980a); 4. hydrolizę kwaśną (wyciągów plam z chromatogramów dwukierunkowych), a następnie analizę chromatograficzną hydrolyzatów i porównanie z substancjami wzorcowymi (Pawłowska 1976, 1980b); 5. analizę spektralną wyciągów (z chromatogramów dwukierunkowych) w zakresie VIS–UV przy pomocy spektrofotometru Beckman Model 25, porównując wartości maksimów absorpcji z analogicznymi, charakterystykami zestawionymi w dziele Mabryego i in. (1970).

WYNIKI

Analiza identyfikacyjna

Przeprowadzone analizy pozwoliły na stwierdzenie obecności w ekstraktach badanych roślin trzech zasadniczych grup flawonoidów: flawonów, flawonoli oraz ich antocyjanowych odpowiedników: 3-dezoksy-flawonoli i 3-dezoksy-flawonów. Poza wymienionymi analiza chromatograficzna i porównanie ich wartości R_f z analogicznymi dla substancji wzorcowych wykazała obecność kwasów fenolowych i ich pochodnych, a mianowicie p-kumarowego, kawowego, ferulowego, p-hydroksybenzoesowego, prokatechusowego i wanilinowego. Jednak ze względu na to, że były one obecne w ekstraktach z wszystkich badanych osobników, nie uwzględniono ich ani w tabelach ani na rysunkach.

Flawony

Identyfikacja tej grupy flawonoidów obejmowała obok analizy chromatograficznej żółtych frakcji z kolumny oraz produktów hydrolizy kwaśnej i analizy spektralnej również reakcje charakterystyczne (Tab. 2 i 3). Najprawdopodobniej dwa flawony (oznaczone w tabelach numerami „1” i „2”) występują w formie glikozydów: 7-O-glukozydu apigeniny (5,7,4'-trihydroksy-flawon) i 7-O-glukozydu luteoliny (5,7,3',4'-tetrahydroksy-flawon). Są one obecne przede wszystkim w kwiatostanach badanych osobników.

Flawonole

Podobnie jak w przypadku flawonów, identyfikację tej grupy barwników oparto na analizach chromatograficznych i spektralnych oraz reakcjach charakterystycznych (Tab. 2 i 3). Obok kwercetyny (3,5,7,3',4'-pentahydroksy-flawon – w tabelach nr „3”) znaleziono trzy jej glikozydy: 3-O-glukozyd (kwercytryna – nr „4”), 5-O-glukozyd (izokwercytryna – nr „5”) i 3-O-ramnoglukozyd (rutyna – „6”). Te składniki występowały głównie w kwiatostanach i tylko w niewielkich ilościach w owocach.

Antocyjany

3-dezoksy-flawony

Identyfikacja tej grupy flawonoidów jest jedynie prawdopodobna, ponieważ ich ilości w ekstraktach tylko z owoców była bardzo niewielka, co uniemożliwiło wykonanie analizy spektralnej (Tab. 4 i 5). W łososiowo-różowych frakcjach, uzyskanych po chromatografii kolumnowej, wyróżniono trzy prawdopodobnie formy glikozydowe: jedna apigenidyny 7-O-glukozyd (nr „7”) oraz dwa luteolidyny 7-O-glukozyd (nr „8”) i 7-O-galaktozyd (nr „9”).

3-dezoksy-flawonole

Ta grupa barwników nie tylko występuje jedynie w owocach badanych osobników, ale determinuje ich barwę. Spośród izolowanych flawonoidów, była to najliczniej reprezen-

towana grupa glikozydów (Tab. 4 i 5). Dwa z nich były glikozydami pelargonidyny (3,5,7,4'-tetrahydroksy antocyjanidyna): 3-O-glukozyd (celestefina nr „10”) i 5-O-glukozyd (nr „11”). Sześć było pochodnymi glikozydowymi cyjanidyny (3,5,7,3',4'-pentahydroksyantocyjanidyna): 3-O-ramnozyd (nr „12”), 3-O-glukozyd (chryzantemina nr „13”), 3-O-ksyloglukozyd (nr „14”), 3-O-ramnoglukozyd (keracycina nr „15”), 3,5-O-diglukozyd (cyjanina nr „16”) i 5-O-glukozyd (nr „17”). Pozostałe dwa były glikozydami delfinidyny (3,5,7,3',4',5'-heksahydroksy antocyjanidyna): 3-glukozyd (nr „18”) i prawdopodobnie 5-glukozyd (nr „19”).

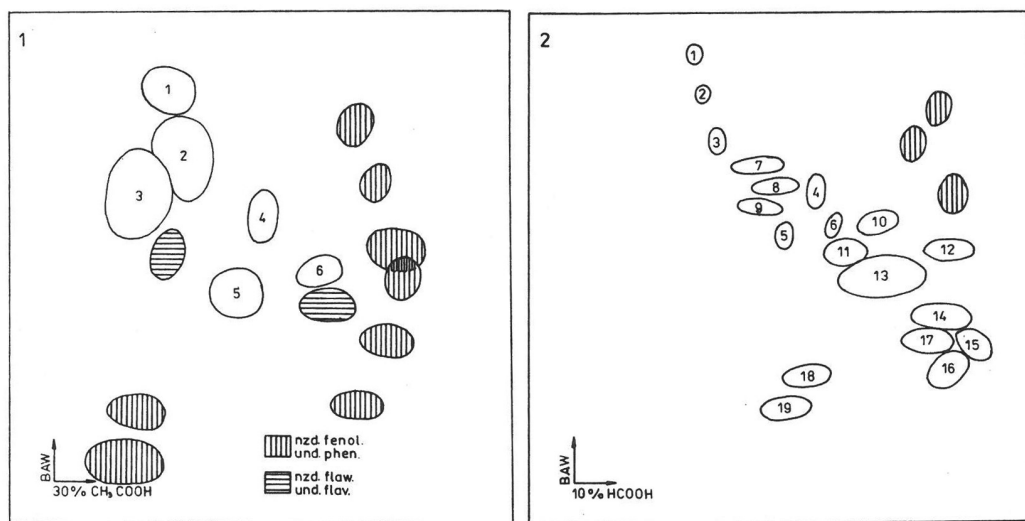
DYSKUSJA

Barwniki flawonoidowe są roślinnymi metabolitami wtórnymi dogodnymi do badań chemotaksonomicznych, ponieważ są bardzo liczną grupą powszechnie występujących związków. Jednocześnie różnice w ich budowie chemicznej są uwarunkowane posiadaniem przez roślinę odrębnego, specyficznego enzymu, zdeterminowanego przez określony gen (Harborne 1967; Hahlbrock & Grisebach 1975). Z tego względu występowanie określonego (choćby w przybliżeniu zidentyfikowanego) flawonoidu uznawane jest za cechę biochemiczną (Hegnauer 1964).

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono analizę identyfikacyjną 19 związków flawonoidowych wyizolowanych z owoców (Ryc. 2). Wprawdzie badaniami objęto także kwiatostany (Ryc. 1), to jednak z uwagi na zbyt ograniczoną liczbę osobników poddanych tym badaniom (Tab. 1), nie uwzględniono ich w rozważaniach taksonomicznych. Spośród wspomnianych 19 flawonoidów tylko jeden był w formie aglikonu – kwercetyna (oznaczona w tabelach 2 i 3 numerem „3”). Jej występowanie stwierdzono jedynie w owocach *Sambucus ebulus* i *Cornus sanguinea* (Tab. 6) oraz wszystkich badanych kwiatostanach. Obecność kwercetyny obok jej glikozydów jest mało znaczącym faktem z punktu widzenia taksonomii. Dowodzi jedynie, że reakcja glikozylacji kwercetyny jest znacznie wolniejsza w porównaniu z procesami jej syntezy. W związku z tym nie uwzględniono obecności kwercetyny (jako cechy biochemicznej) w obliczeniach podobieństwa między badanymi taksonami.

Spośród pozostałych 18 glikozydów, dwa były prawdopodobnie glikozydami flawonowymi: 7-glukozyd apigeniny („1”) i 7-glukozyd luteoliny („2” – Tab. 2 i 3). Wyizolowano je (zwłaszcza 7-glukozyd luteoliny) z owoców wszystkich badanych osobników *Lonicera*, co jeśli zostanie potwierdzone dla innych gatunków tego taksonu, będzie można uznać za cechę charakterystyczną dla tego rodzaju. Wymienione glikozydy flawonowe występowały także u *Viburnum opulus* i *Cornus sanguinea*, jednak w ilościach śladowych.

Wszystkie trzy wyizolowane i zidentyfikowane pochodne flawonolowe okazały się glikozydami wspomnianej kwercetyny. Jej 3-glukozyd (kwercytrynę – „4”) znaleziono u wszystkich osobników *Sambucus* i *Viburnum opulus* (Tab. 6). Związek ten został wcześniej stwierdzony przez Glenniego & Bohma (1971) w liściach i kwiatostanach *Sambucus nigra*, *S. racemosa* i *Viburnum opulus*. Autorzy ci nie stwierdzili kwercytryny w żadnym z badanych przez siebie gatunków *Lonicera*, co jest zgodne z obecnymi wyni-



Ryc. 1. Schemat chromatogramu dwukierunkowego wyciągów octanu etylowego z kwiatostanów. **nzd. fenol.** – niezidentyfikowane kwasy fenolowe, **nzd. flav.** – niezidentyfikowane flawonoidy, 1 – 7-glukozyd apigeniny, 2 – 7-glukozyd luteoliny, 3 – kwercetyna, 4 – kwercytryna, 5 – izokwercytryna, 6 – rutyna.

Fig. 1. Two-dimensional chromatogram of ethyl acetate extract from flowers. **und. phen.** – unidentified phenolic acids, **und. flav.** – unidentified flavonoids 1 – apigenin 7-glucoside, 2 – luteolin 7-glucoside, 3 – quercetin, 4 – quercitrin, 5 – isoquercitrin, 6 – rutin.

Ryc. 2. Schemat chromatogramu dwukierunkowego wyciągów alkoholowych z owoców. **nzd. fenol.** i 1 – 6 jak na rycinie 1, 7 – 7-glukozyd apigenidyny, 8 – 7-glukozyd luteolidyny, 9 – 7-galaktozyd luteolidyny, 10 – celestefina, 11 – 5-glukozyd pelargonidyny, 12 – 3-ramnozyd cyjanidyny, 13 – chryzantemina, 14 – 3-ksylo-glukozyd cyjanidyny, 15 – keracynina, 16 – cyjanina, 17 – 5-glukozyd cyjanidyny, 18 – 3-glukozyd delfinidyny, 19 – 5-glukozyd delfinidyny.

Fig. 2. Two-dimensional chromatogram of alcohol extract from fruits. **und. phen.** and 1 – 6 as shown in figure 1, 7 – apigenidin 7-glucoside, 8 – luteolidin 7-glucoside, 9 – luteolidin 7-galactoside, 10 – celestephin, 11 – pelargonidin 5-glucoside, 12 – cyanidin 3-rhamnoside, 13 – chrisantemin, 14 – cyanidin 3-xylo-glucoside, 15 – ceracinin, 16 – cyanin, 17 – cyanidin 5-glucoside, 18 – delphinidin 3-glucoside, 19 – delphinidin 5-glucoside.

kami. Z kolei rutynę (3-ramnoglukozyd – „6”) wyizolowano z owoców wszystkich osobników *Sambucus* i *Lonicera* (Tab. 6). Tak więc obecność kwercytryny wskazywałaby na powiązanie rodzajów *Sambucus* i *Viburnum*, zaś rutyna *Sambucus* z *Lonicera*. Oba omawiane tu związki znaleziono także u badanych osobników *Cornus sanguinea*.

Występowanie glikozydów 3-dezoksy-flawonowych ograniczało się (z nielicznymi wyjątkami) do osobników *Viburnum opulus* (Tab. 6). Biorąc pod uwagę fakt, że końcowe etapy ich biosyntezy przebiegają przy udziale specyficznych enzymów (innych od izolowanych tu grup flawonoidów), należy je uznać za cechy wyróżniające ten gatunek. Jednak nie wszystkie osobniki *Viburnum opulus* zawierały 7-glukozydy apigenidyny i luteolidyny. Na podstawie występowania tych związków, można by ten gatunek podzielić na dwa taksony niższego szczebla.

Główną, a jednocześnie najliczniejszą grupą flawonoidów w owocach badanych osobników są antocyjany. Wśród nich najistotniejszą jest chryzantemina (3-glukozyd cyjani-

dyny – „13”), która występowała u wszystkich badanych osobników rodziny *Caprifoliaceae*. Związek ten był nie tylko wspólną cechą biochemiczną, ale także głównym (dominującym) barwnikiem owoców *Sambucus nigra*, *S. racemosa* i *Lonicera nigra* (Tab. 6). Obok chryzanteminy za cechy charakterystyczne dyskutowanej rodziny można by uznać obecność 5-glukozydu cyjanidyny („17”) i cyjaniny (3,5-diglukozyd cyjanidyny – „16”). Jednakże ich występowanie należałoby potwierdzić u większej liczby osobników *Sambucus ebulus* i *Lonicera periclymenum*. Brak cyjaniny u ostatnio wymienionego gatunku wydaje się szczególnie kontrowersyjny, ze względu na jej występowanie jako jednego z głównych antocyjanów u osobników pozostałych dwóch gatunków *Lonicera* (Tab. 6).

Ponadto w owocach wszystkich osobników *Lonicera* znaleziono 5-glukozyd delfinidyny, a w przeważającej ich liczbie również 5-glukozyd pelargonidyny (Tab. 6). Wyższa zawartość 5-glukozydów (dwóch poprzednio i dwóch ostatnio omawianych), a także znacznie większa częstotliwość ich występowania u osobników *Lonicera* w porównaniu z pozostałymi badanymi jest szczególnie interesującym zagadnieniem chemotaksonomicznym. Dowodzi bowiem, że osobniki *Lonicera* nie tylko posiadają odpowiednie glikozydazy katalizujące podstawienie glukozy w grupie hydroksylowej w pozycji C₅ antocyjanidyn, ale są one znacznie aktywniejsze niż u pozostałych. Cecha biochemiczna, jaką jest zdolność glikozylacji w tej pozycji, uznawana jest za cechę progresywną w stosunku do glikozylacji grupy hydroksylowej w pozycji C₃ (Harborne 1967). Obecnie uzyskane wyniki przemawiałyby więc za słusznością sugestii Hutchinsona (1967) uznania konserwatywnego (prymitywnego) charakteru rodzajów *Sambucus* i *Viburnum* w zestawieniu z pozostałymi np. *Lonicera*.

U osobników rodzaju *Sambucus* poza chryzanteminą znaleziono w dość znacznej zawartości 3-ksylo-glukozyd cyjanidyny („14”). Związek ten był również obecny u *Viburnum opulus*. Natomiast keracyninę (3-ramno-glukozyd cyjanidyny – „12”) wyizolowano z owoców wszystkich osobników *Lonicera* oraz *Viburnum opulus*, a także *Sambucus racemosa* (Tab. 6). Ostatnio wymienione dwuglikozydy wskazują na związki filogenetyczne między omawianymi rodzajami.

Wartości stosunku cech podobnych do różnych mogą, jak się wydawało, stanowić podstawę do wnioskowania o stopniu pokrewieństwa. Obliczone wartości są rzeczywiście, z reguły, najwyższe dla gatunków w obrębie tego samego rodzaju. Z tego względu zaskakującym były wyższe wartości omawianego stosunku *Lonicera nigra* do *Sambucus nigra* czy *S. racemosa* niż do *Lonicera periclymenum*, a także wymienionych gatunków *Sambucus* do *S. ebulus* (Tab. 7). Powyższe wątpliwości wymagają zatem poszerzenia zakresu badań taksonomicznych. Odnosi się to przede wszystkim do *S. ebulus*. Tym niemniej obliczone wartości wskazują na powiązanie rodzaju *Sambucus* z *Cornus sanguinea*, co potwierdzają fitoserologiczne badania Hillebranda i Fairbrothersa (1970).

LITERATURA

- BENTHAM G. & HOOKER J. D. 1873. Genera plantarum. 2. ss. 1297. Reeve and Co., Londyn.
- BOHM B. A. & GLENNIE C. W. 1969. The isolation of 2', 4', 4-trihydroxy-dihydro-chalkone from *Viburnum davidi*. – Phytochem. 8: 905–908.

- CHARAUX C. 1911. The occurrence of fraxin in *Dervilla lutea*. – J. Pharm. Chim. **4**: 248–250.
- COCKER W. & CANTAN A. L. 1963. Extractives from *Symphoricarpos rivularis*. – Perfum. Essent. Oil Rec. **54**: 171–174.
- DE VOS F. 1951. The stem anatomy of some species of the *Caprifoliaceae* with reference to the phylogeny and identification of the species. Ph. D. Thesis, Cornell University, Ithaca N.Y.
- EGOLF K. 1962. A cytological study of the genus *Viburnum*. – J. Arnold Arbor. Harvard Univ. **43**: 132–172.
- EVANS W. E. JR., IWAMOTO H. K. & KRUNTZ J. C. 1945. A note on the pharmacology of *Viburnum prunifolium* and its glycosides. – J. Am. Pharm. Assoc. **34**: 207–208.
- FRITSCH C. 1892. The genera *Caprifoliaceae*. – Bot. Centralbl. **50**: 137–139.
- GIBBS R. D. 1958. Biochemistry as an aid to establishing the relationships of some families of dicotyledonous plants. – Proc. Lin. Soc. London **56**: 49–57.
- GLENNIE C. W. & BOHM B. A. 1971. Chemotaxonomy study of *Carifoliaceae*. – Can. J. Bot. **49**: 1799–1811.
- HAHLBROCK R. & GRISEBACH K. 1975. Biosynthesis of flavonoids. – W: J. B. HARBORNE, T. J. MABRY & H. MABRY (red.), The Flavonoids. ss. 866–915. Chapman and Hall, London.
- HARBORNE J. B. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids. ss. 185–213. Acad. Press, London.
- HEGNAUER R. 1964. Chemotaxonomie der Pflanzen. 3. ss. 365–373. Birkhäuser Verlag, Basel.
- HILLEBRAND G. R. & FAIRBROTHERS D. E. 1970. Phytoserological systematic survey of the *Caprifoliaceae*. – Brittonia **22**: 125–133.
- HÖCH F. 1892. Zur systematischen Stellung von *Sambucus*. – Bot. Centralbl. **51**: 233–234.
- HÖRHAMMER L., WAGNER H. & REINHARDT H. 1965. Isolierung des bis-(5,7,4' -trihydroxy)-flavon „Amentoflavon“ aus der Rinde von *Viburnum prunifolium*. – Naturwissen. **52**: 161–162.
- HUTCHINSON J. 1967. The genera of flowering plants. **2**. ss. 127. Clarendon Press, Oxford.
- IMASEKI H. 1959. Browning and blacking of plant tissues. V. Chlorogenic acid and its isomers in the leaves of *Viburnum* species. – Bot. Mag. (Tokyo) **72**: 316–318.
- IMASEKI H. & YAMAMOTO T. 1961. A furcatin-hydrolysing glycosidase of *Viburnum furcatum*. – Arch. Biochem. Biophys. **92**: 467–474.
- KING B. C. & SCHWARTING A. E. 1949. The occurrence of rutin in *Sambucus canadensis*. – J. Am. Pharm. Assoc. **38**: 531–532.
- MABRY T. J., MARKHAM K. R. & THOMAS M. B. 1970. The systematic identification of flavonoids. ss. 394. Springer Verl., Berlin.
- PAWŁOWSKA L. 1976. The chemotaxonomic investigations on flavonoid compounds in the leaves of *Saxifraga aizoon* Jacq. – Acta Soc. Bot. Pol. **45**: 383–393.
- PAWŁOWSKA L. 1980a. Flavonoids in the leaves of Polish species of the genus *Betula* L. I. The flavonoids of *B. pendula* Roth. and *B. obscura* Kot. leaves. – Acta Soc. Bot. Pol. **49**: 281–296.
- PAWŁOWSKA L. 1980b. Flavonoids in the leaves of Polish species of the genus *Betula* L. II. The flavonoids of *B. „nova”* and *B. humilis* Schrk. leaves. – Acta Soc. Bot. Pol. **49**: 297–310.
- SAX K. & KRIBS D. A. 1930. Chromosomes and phylogeny in *Caprifoliaceae*. – J. Arnold Arbor. Harvard Univ. **11**: 147–153.
- STROH H. H., SCHAFTER H. & HASCHKE E. 1962. D-Glicosester von Hydroxyzimt-sauren in *Sambucus nigra* L. – Z. Chem. **12**: 373–374.
- WILKINSON A. M. 1949. Floral anatomy and morphology of *Triosteum* and of the *Caprifoliaceae* in general. – Am. J. Bot. **36**: 481–489.

SUMMARY

Extracts of the fruits (and some flowers) of specimens representing seven species of *Caprifoliaceae* and one species of *Cornaceae* families (Table 1) were studied chromatographically (Figs. 1 and 2). On the basis of spectral analysis (UV-VIS), thin-layer chromatography of the fractions obtained and the products of acid hydrolysis, 19 flavonoids were identified. Apart from antocyan glycosides (Tables 4 and 5) flavonols and flavons (Tables 2 and 3) were also found. Among those identified chrysantemin (cyanidine 3-O-glucoside) turned out to be common to all the species investigated, quercitrine (quercetine 3-O-glucoside) and cyanidine (3-O-xilo-glucoside) common to *Sambucus* and *Viburnum*, while rutin (quercetine 3-O-rhamno-glucoside) and delphinidine (3-O-glucoside) were present among all the specimens of *Sambucus* and *Lonicera* (Table 6). Further flavon glycosides and delphinidine (5-O-glucoside) were present among all the specimens of *Lonicera* and *Viburnum*. For *Viburnum opulus* 3-desoxi-flavone glycosides were characteristic. The presence of four flavonoids identified as antocyan 5-glycosides in *Lonicera* fruits indicates further phylogenetic development of this genus. The ability to gli-cozile group – OH in C₅ position is regarded as progressive. The presence of certain flavonoid compounds (equivalent to biochemical characters) was used to obtain the coefficient of similar vs different characters (Table 7).

The coefficients (apart from those mentioned above) suggest a connection between *Cornus sanguinea* and species of *Sambucus* in particular *S. ebulus*. This result, however, needs to be confirmed using larger numbers of individuals of both species.

TABELE

Tabela 1. Stanowiska badanych osobników.
Table 1. Localities of investigated specimens.

Gatunek/L. osobników Species/v. species	Stanowisko Locality	Gatunek/L. osobników Species/v. species	Stanowisko Locality
<i>Sambucus nigra</i>		<i>Sambucus racemosa</i>	
4*	Włosań	2*	Włosań
2	Laskowa	1	Konary
1	Motkowice	2	Ostra
2	Dąbrówka	1	Ełk
1	Podrzecze	1*	Karpacz
		1	Bielice
		1*	Mieleszyn
		1	Babsk
<i>Sambucus ebulus</i>		2	Gronik
1	Marcinkowice	1*	Jasień
<i>Lonicera nigra</i>		<i>Viburnum opulus</i>	
1	Bielice	2*	
1	Zakopane	1*	
1	Świdna Kępa	1*	
2	Gronik	1*	Raciąż
1*	Marcinkowice	1	Góra Opatowska
<i>Lonicera xylosteum</i>		1	Pobierowo
1	Wiselka	1	Osadowo
1	Świętousź	1	Świdna Kępa
1	Motkowice	1	Dąbrówka
1	Kowalki	1	Kolbudy
1	Brzozowiec	1	Długopole
1	Promno	1	Bachów
<i>Lonicera periclymenum</i>		1	Podrzecze
1	Budy		
1	Żurawnica	<i>Cornus sanguinea</i>	
		2*	Kolbudy (Grot)

* – analiza obejmowała również kwiatostany (analysed inflorescences too)

Tabela 2. Charakterystyka chromatograficzna i spektralna flawonów i flawonoli.
Table 2. Chromatographic and spectral values of flavons and flavonols.

Związek Compound	Barwa Colour		Układ rozwijający Solvent system			Reakcje z Test with		Maks. absorpcji* Max. absorption*
	VIS	UV	BAW	B	D	ZrOCl ₂ +CHO		(nm)
„1”	z-ż	c-ż	0,67	0,56	0,62	sel	cyt	250;260;332
„2”	sel	c-ż	0,60	0,51	0,52	ż-sel	c-cyt	254;269;343
„3”	cyt	c-ż	0,76	0,34	0,17	ż	b.z.	255;269;301;370
„4”	ż	c-ż	0,57	0,45	0,59	ż	znika	256;265;300;350
„5”	ż	c-ż	0,53	0,43	0,55	ż	znika	257;267;301;353
„6”	ż	c-ż	0,50	0,86	0,69	ż	znika	258;266;299;359
wzorce (standards)								
kwercytryna (quercitrin)	ż	c-ż	0,58	0,46	0,59	ż	znika	256;266;300;351
rutyna (rutin)	ż	c-ż	0,50	0,87	0,69	ż	znika	258;266;299;360

* – w metanolu (in methanol); c – ciemna (dark), cyt – cytrynowa (lemon-coloured), sel – seledynowa (celadon), z – zielona (green), ż – żółta (yellow), b.z. – bez zmian (no changes), znika (disappears).

Tabela 3. Wartości chromatograficzne produktów hydrolizy kwaśnej flawonów i flawonoli.
Table 3. Chromatographic values acidic hydrolysing products of flavons and flavonols.

Nr związku Compound No.	Układ rozwijający – Solvent system				Identyfikacja Identification
	Aglikon – Aglicone		Cukier* – Sugar*		
	BAW	B	BAW	E	
„1”	0,85	0,56	0,10	0,35	7-glukozyd apigeniny (apigenin 7-glucoside)
„2”	0,76	0,40	0,10	0,36	7-glukozyd luteoliny (luteolin 7-glucoside)
„3”	0,76	0,34	–	–	kwercetyna (quercetin)
„4”	0,75	0,34	0,10	0,36	3-glukozyd kwercetyny (kwercytryna) (quercitrin)
„5”	0,75	0,34	0,10	0,35	5-glukozyd kwercetyny (izokwercytryna) (isoquercitrin)
„6”	0,75	0,35	0,10	0,36	3-ramno-glukozyd kwercetyny (rutyna) (rutin)
			0,32	0,69	
wzorce (standards)					
apigenina (apigenin)	0,86	0,56			
luteolina (luteolin)	0,77	0,42			
kempferol (kaempferol)	0,80	0,43			
kwercetyna (quercetin)	0,75	0,34			
glukoza (glucose)	0,09	0,35			
galaktoza (galactose)	0,11	0,39			
ramnoza (rhamnose)	0,32	0,68			

* – po wywołaniu AgNO₃ w wodzie amoniakalnej (after development with an ammonia solution of AgNO₃).

Tabela 4. Charakterystyka chromatograficzna i spektralna antocyjanów.
Table 4. Chromatographic and spectral values of antocyanins.

Nr związku Compound No.	Barwa Colour		Układ rozwijający Solvent system			Maks. absorcji* Max. absorption* (nm)
	VIS	BAW	B	C	D	
„7”	ł	0,61	0,65	0,65	0,38	
„8”	p-r	0,53	0,61	0,59	0,35	
„9”	p-r	0,55	0,60	0,57	0,35	
„10”	c-cz	0,56	0,50	0,56	0,41	508
„11”	c-cz	0,50	0,53	0,50	0,45	514
„12”	c-r	0,48	0,63	0,35	0,48	522
„13”	c-r	0,45	0,60	0,38	0,42	523
„14”	amr	0,27	0,83	0,31	0,55	527
„15”	amr	0,40	0,87	0,32	0,58	526
„16”	bisk	0,37	0,88	0,39	0,62	532
„17”	bisk	0,38	0,57	0,27	0,53	530
„18”	f	0,23	0,50	0,12	0,38	538
„19”	f-n	0,18	0,43	0,07	0,35	545
wzorcowa chryzantemina (chrysantemin standard)	c-r	0,46	0,62	0,39	0,42	523

* – 1 % HCl w metanolu (1 % HCl in methanol); amr – amarant (the colour amaranth), bisk – biskupi (pink-heather), c – ciemna (dark), cz – czerwien (red), f – fiolet (violet), ł – łososiowa (salmon), n – niebieska (blue), p – pomarańczowa (orange), r – różowa (pink).

Tabela 5. Wartości chromatograficzne produktów hydrolizy kwaśnej antocyjanów.
Table 5. Chromatographic values for acidic hydrolysing products of antocyanins.

Nr związku Compound No.	Układ rozwijający – Solvent system				Identyfikacja Identification
	Aglikon – Aglicone		Cukier* – Sugar*		
	BAW	B	BAW	E	
„7”	0,78	0,62	0,09	0,35	7-glukozyd apigenidyny (apigenidin 7-glucoside)
„8”	0,67	0,95	0,10	0,35	7-glukozyd luteolidyny (luteolidin 7-glucoside)
„9”	0,67	0,95	0,09	0,35	7-galaktozyd luteolidyny (luteolidin 7-galactoside)
„10”	0,73	0,82	0,12	0,39	3-glukozyd pelargonidyny (celestefina) (celestephin)
„11”	0,73	0,82	0,09	0,35	5-glukozyd pelargonidyny (pelargonidin 5-glucoside)
„12”	0,68	0,40	0,32	0,69	3-ramnozyd cyjanidyny (cyanidin 3-rhamnoside)
„13”	0,68	0,41	0,10	0,35	3-glukozyd cyjanidyny (chryzantemina) (chrisantemin)
„14”	0,68	0,41	0,09	0,36	3-ksylo-glukozyd cyjanidyny (cyanidin 3-xylo-glucoside)
„15”	0,68	0,40	0,09	0,36	3-ramno-glukozyd cyjanidyny

(cd.)

Tabela 5. Ciąg dalszy. – Table 5. Continued.

Nr związku Compound No.	Układ rozwijający – Solvent system				Identyfikacja Identification
	Aglikon – Aglicone		Cukier* – Sugar*		
	BAW	B	BAW	E	
„16”			0,33	0,69	(keracynina) (ceracinin)
	0,67	0,40	0,10	0,35	3,5-di-glukozyd cyjanidyny (cyjanina) (cyanin)
„17”			0,10	0,35	5-glukozyd cyjanidyny (cyanidin 5-glucoside)
„18”			0,10	0,35	3-glukozyd delfinidyny (delphinidin 3-glucoside)
„19”			0,10	0,35	5-glukozyd delfinidyny (delphinidin 5-glucoside)
wzorce (standards)					
pelargonidyna (pelargonidin)	0,73	0,83			
cyjanidyna (cyanidin)	0,68	0,41			
delfinidyna (delphinidin)	0,55	0,37			
ksyloza (xylose)	0,22	0,39			
arabinoza (arabinose)	0,18	0,33			
kwas galakturonowy (galacturonic acid)	0,06	0,05			

* – po wywołaniu roztworem AgNO₃ w NH₄OH (after development AgNO₃ in NH₄OH)

Tabela 6. Flawonoidy owoców.
Table 6. Fruit flavonoids.

Związek – Compound	<i>Sambucus</i>			<i>Lonicera</i>			<i>Viburnum</i> <i>opulus</i>	<i>Cornus</i> <i>sanguinea</i>
	<i>nigra</i>	<i>racemosa</i>	<i>ebulus</i>	<i>nigra</i>	<i>xylostereum</i>	<i>periclymenum</i>		
7-glukozyd apigeniny (apigenin 7-glucoside)	–	–	–	–	xx	xx	×	×
7-glukozyd luteoliny (luteolin 7-glucoside)	–	–	–	x;xx	xx	×	×	×
kwercetyna (quercetin)	–	–	xx	–	–	–	–	xx
kwercytryna (quercitrin)	xx	xx	xx	–	–	xx	xx	–
izokwercytryna (isoquercitrin)	–	–	×	(xx)	(xx)	–	xx	–
rutyna (rutin)	xx	xx	xx	xx	xx	xx	–	xx
7-glukozyd apigenidyny (apigenidin 7-glucoside)	–	–	–	–	(x)	xx	(xx)	–
7-glukozyd luteolidyny (luteolidin 7-glucoside)	–	–	–	–	(x)	×	(xx)	–
7-galaktoz. luteolidyny (luteolidin 7-galactoside)	–	–	–	–	–	–	(xx)	–
celestefina (celestephin)	×	(x)	–	×	×	×	(x)	–
5-glukozyd pelargonidy (pelargonin 5-glucoside)	×	–	–	(x)	×	×	–	–

Tabela 6. Ciąg dalszy. – **Table 6.** Continued.

Związek – Compound	<i>Sambucus</i>			<i>Lonicera</i>			<i>Viburnum opulus</i>	<i>Cornus sanguinea</i>
	<i>nigra</i>	<i>racemosa</i>	<i>ebulus</i>	<i>nigra</i>	<i>xylosteum</i>	<i>periclymenum</i>		
3-ramnozyd cyjanidyny (cyanidin 3-rhamnoside)	–	xx;xxx	–	xx	xx	xx	xx	–
chryzantemina (chrisantemin)	xxxxx	xxxx	x	xxxx	xx	xx	xx	–
3-ksyloglukozyd cyjanidyny (cyanidin 3-xylo-glucoside)	xxx	xx	xxx	–	–	–	xx	–
keracynina (ceracinin)	xx	xx	–	xx	xx	–	(xx)	xx
cyjanina (cyanin)	(xx)	(xx)	x?	xxxx	xxx	– ?	–	xx
5-glukozyd cyjanidyny (cyanidin 5-glucoside)	xx	(xx)	–	xx	xx	xx	xx	xx
3-glukozyd delfinidyny (delphinidin 3-glucoside)	xx	xx	x	x	x	–	–	x
5-glukozyd delfinidyny (delphinidin 5-glucoside)	(x)	(x)	–	xx	xx	xx	x	–

ilość znaków × odpowiada szacunkowej zawartości związku (number of × signs corresponds approximately to the amount of compound present); (x) – u niektórych osobników (some specimens only); x; xx – osobnicze zróżnicowanie zawartości (specimens show differences of content).

Tabela 7. Podobieństwo analizowanych cech biochemicznych*.
Table 7. Similarity of analysed biochemical characters*.

	<i>Sambucus</i>			<i>Lonicera</i>			<i>Viburnum opulus</i>
	<i>ebulus</i>	<i>racemosa</i>	<i>nigra</i>	<i>nigra</i>	<i>xylosteum</i>	<i>periclymenum</i>	
<i>Sambucus</i>							
<i>ebulus</i>		2,000	2,000	1,000	0,500	0,286	0,385
<i>racemosa</i>	2,000		8,000	2,600	0,800	0,800	1,000
<i>nigra</i>	2,000	8,000		2,600	1,250	0,800	0,636
<i>Lonicera</i>							
<i>nigra</i>		1,000	2,600	2,600	5,000	1,571	0,800
<i>xylosteum</i>	0,500		0,800	1,250	5,000	3,500	1,571
<i>periclymenum</i>	0,286	0,800	0,800		1,571	3,500	1,571
<i>Viburnum opulus</i>	0,385	1,000	0,636	0,800	1,571	1,571	
<i>Cornus sanguinea</i>	1,571	1,250	1,250	1,000	0,800	0,500	0,385

* – obliczone ze stosunku cech podobnych: różnych (calculated from the ratio of similar vs different characters)