

홍화의 후라보노이드 성분

김기현 · 김명녀**

부산대학교 약학대학

*성화대학교 이공학부 화학과

(Received September 21, 1992)

Constituents of *Carthami flos*

Ki Heun Kim and Myung Nyu Kim**

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*Department of Chemistry, Sung-Hwa University, Chunan 330-150, Korea

Abstract—Several flavonoids were isolated from the ethanol extract of *Carthami flos* which has been used in treatment of uterin congestion and also as analgesic and antiinflammatory. They were elucidated as kaempferol, quercetin, 6-hydroxy kaempferol, kaempferol 3-glucoside (Astragal in), quercetin 3-glucoside (isoquercitrin), quercetin 7-glucoside (quercimeritrin), kaempferol 3-rutinoside and quercetin 3-rutinoside (rutin). The structures of the isolated compounds were established by spectroscopic and chemical methods.

Keywords □ *Carthamus tinctorius* L., Asteraceae, flavonoid, 6-hydroxy kaempferol, astragal in, quercimeritrin, kaempferol 3-rutinoside.

이집트가 원산지로서 세계각국에 분포되어 있는 잇꽃 (*Carthamus tinctorius* L.)은 Compositae 혹은 Astera-ceae에 속하는 일년초 혹은 이년초의 식물로^{1,2)} 인도, 중동지방 그리고 유럽등지에서 주로 유지의 원료로 재배되고 있다.³⁾ 그러나 한국, 일본, 중국 등에서는 개화기의 관상화를 말린 것을 홍화(*Carthami flos*)라 하여 월경불순, 통경, 진통 혹은 혈액순환촉진제, 어혈제거제로 쓰이고 있다.⁴⁻⁶⁾ 잇꽃의 알려진 성분으로는 꽃에서 색소성분인 Carthamin(홍색소)와 safflor yellow A와 B(황색소),⁷⁻¹¹⁾ flavonoid류인 kaempferol¹²⁾ 그리고 steryl ester류인 다종의 불포화지방산과^{13,14)} 잎, 줄기, 뿌리 등지에서 여러 종류의 polyacethylene류가¹⁵⁻¹⁹⁾ 있다. 본 연구에서는 홍화의 성분으로는 잘 알려지지 않았던 다종의 flavonoid성분을 분리하여 그 화학구조를 결정하였기에 보고하고자

한다.

실험방법

실험재료

본 실험에서 사용한 홍화는 1989년 6월 경동시장 한약상에서 구입한 것으로 프랑스 국립박물관, 꽃식물교실 Aymonin, G.G. 교수에 의해 감정한 후에 실험재료로 사용하였다.

시약 및 기기

실험에서 사용한 column chromatography는 silica gel, Sephadex, cellulose가 사용되었다. Thin-layer chromatography(TLC)용 precoated plates는 Cellulose F254 Merck(0.1 mm); solvent systems A, B, C, D와 Polyimide G1600(Schleicher and Schull); solvent system E [Solvent systems: A, BuOH-HOAc-H₂O(4:1:5 upper layer); B, HOAc-H₂O(15:85);

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

C, HOAc-H₂O(60 : 40) ; D, HOAc-H₂O-HCl conc. (30 : 10 : 3) (Forestal) ; E, H₂O-EtOH-methylethylketone-acetyl acetone(12 : 4 : 3 : 1) (Egger)]이다. 발색시약은 관계문헌에 쓰여있는 일반적인 flavonoid-용발색시약(2% AlCl₃ 에탄올 용액, vanillin 황산용액, Diphenyl-boric acid-ethanolamine complex, lead acetate)이 사용되었다.

사용기기로는 Unicam SP 1800 UV Spectrometer, Nermag R10-10C Spectrometer, Bruker AM-200 Spectrometer가 이용되었다.

추출 및 분리

홍화 2 kg을 석유에테르 10 l씩 가해 3회 씻어서 지방분을 제거한 후 공기중에 말린다. 추출은 실온에서 80% EtOH 15 l씩에 24시간 8회 침윤법으로 행하였다. 이 추출액의 알코올분을 제거하여 얻은 수층을 용매의 극성 증가순으로 에테르, EtOAc, BuOH, H₂O 가용부로 분획한 후 이들을 감압하에서 건조하여 각각 2.5g, 7.1g, 15.3g의 분말을 얻었다.

Ether 분획을 silica gel(용매 : CHCl₃-MeOH gradient), Sephadex LH 20(용매 : CHCl₃-MeOH 50 : 50, MeOH-H₂O 50 : 50) column chromatography를 차례로 행하여 물질 1과 2을 얻었고 EtOAc 분획을 silica gel(용매 : ethyl acetate-MeOH gradient), cellulose(용매 : H₂O), Sephadex LH 20(용매 : CHCl₃-MeOH 50 : 50, MeOH-H₂O 50 : 50) column chromatography를 여러 차례 행하여 물질 3, 4, 5, 6을 얻었으며 BuOH분획에서 Sephadex LH 20(용매 : MeOH-H₂O 50 : 50), cellulose(용매 : H₂O) column chromatography를 반복하여 물질 7, 8을 얻었다. 그리고 정제가 필요한 경우 재결정이나 TLC법에 의해 정제하였다.

물질 1²¹⁻²³- 황색의 침상결정, mp 276~273°C, TLC : A, Rf=0.9 ; C, Rf=0.45 ; D, Rf=0.57 ; UV : Table I, CI-MS, m/z : 287[M+H]⁺ 279, 257, 167, ¹H-NMR : Table II

물질 2²¹⁻²³- 황색 결정, mp 316~317°C, TLC : A, Rf=0.76 ; C, Rf=0.25 ; D, Rf=0.36, UV : Table I, EI-MS, m/z : 302, 286, 137, 124, 94

물질 3- 녹황색 결정, TLC : A, Rf=0.30 ; C, Rf=0.33 ; D, Rf=0.48, UV : Table I, CI-MS, m/z : 303 [M+H]⁺, 116, 102, 78, ¹H-NMR : Table II

물질 4- 황녹색 결정, mp 298~300°C, TLC : A,

Rf=0.58 ; B, Rf=0.42 ; E, Rf=0.17, UV : Table I, CI-MS, m/z : 449[M+H]⁺, 287, 180, 130, ¹H-NMR : Table II

물질 5- 황적색 결정, mp 248°C, TLC : A, Rf=0.50 ; B, Rf=0.48 ; E, Rf=0.16, UV : Table I, CI-MS, m/z : 465[-H]⁺, 303, 227, 180, 162, ¹H-NMR : Table II

물질 6- 황색 결정, mp 247°C, TLC : A, Rf=0.66 ; B, Rf=0.01 ; E, Rf=0.16, UV : Table I, CI-MS, m/z : 465[M+H]⁺, 303, 180, ¹H-NMR : Table II

물질 7- 담황녹색 결정, TLC : A, Rf=0.48 ; B, Rf=0.62 ; E, Rf=0.35, UV : Table I, CI-MS, m/z : 595[M+H]⁺, 449, 287, 180, 164, ¹H-NMR : Table II, ¹³C-NMR(용매 : DMSO-d₆) δ , ppm : 177.48(C-4), 164.43(C-7), 161.28(C-5), 160.05(C-4'), 156.97(C-9), 156.62(C-2), 133.31(C-3), 130.98(CO₂', C-6'), 120.97(C-1'), 115.23(C-3', C-5'), 104.04(C-10), 101.40(C-1-glc), 100.8(C-1-rha), 98.90(C-6), 93.96(C-8), 76.49(C-3-glc), 75.85(C-5-glc), 74.29(C-2-glc), 71.96(C-4-rha), 70.73(C-3-rha), 70.46(C-2-rha), 70.05(C-4-glc), 68.36(C-5-rha), 66.99(C-6-glc), 17.83(C-6-rha), 70.05(C-4-glc), 68.36(C-5-rha), 66.99(C-6-glc), 17.83(C-6-rha)

물질 8- 담황색 침상결정, mp 189~190°C, TLC : A, Rf=0.48 ; B, Rf=0.65 ; E, Rf=0.36, UV : Table I, CI-MS, m/z : 611[M+H]⁺, 465, 303, 180, 164

물질 4, 5, 6, 7, 8의 산가수분해- 물질 4(5 mg), 5(5 mg), 6(5 mg), 7(10 mg) 및 8(5 mg)에 각각 2 N-H₂SO₄을 가하고 수욕상에서 환류냉각하여 2시간 가열, 가수분해하였다. 반응액을 Ether로 추출하여 물로 세척한 후 농축하여 각각의 aglycone(4a, 5a, 6a, 7a, 8a)을 얻었다. 이 aglycone들은 스펙트럼 분석(UV, MS ¹H-NMR), 표준품과의 대조 등에 의해 kaemferol(4a, 7a)와 quercetin(5a, 6a, 8a)로 동정하였다.

한편 수층은 BaCO₃로 중화시킨 후 여과하여 감압하에서 농축하여 TLC(전개용매 : BuOH-isopropanol-H₂O=5 : 3 : 1)로 확인한 결과 물질 4, 5와 6에서 D-글루코오스를 물질 7과 8에서 D-글루코오스와 rhamnose를 확인하였다.

실험결과 및 고찰

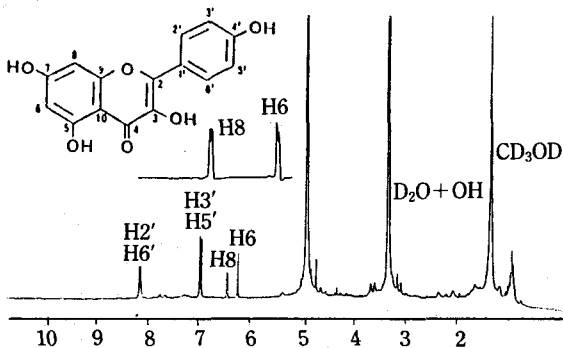
물질 1과 2는 TLC, UV 및 ¹H-NMR 스펙트럼 분

Table I—UV spectral data of compounds **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7** and **8**

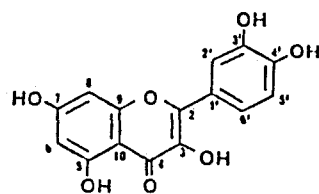
Solvent	Compound 1	Compound 2	Compound 3	Compound 4
MeOH	266, 293sh, 322sh, 364	256, 272sh, 300sh, 372	256, 275sh, 310sh, 350	266, 298sh, 350
+ NaOMe	275, 312, 410	244sh, 273, 332	280, 310sh, 398	275, 326, 400
+ AlCl ₃	270, 302sh, 355, 425	271, 334sh, 458	264, 308sh, 402	275, 305sh, 352, 399
+ AlCl ₃ + HCl	268, 298sh, 352, 420	263, 298sh, 364sh, 428	258, 296sh, 380	275, 305sh, 352, 400
+ NaOAc	275, 310, 395	274, 330, 400	274, 358, 386sh	275, 308sh, 390
+ NaOAc + H ₃ BO ₃	266, 294sh, 320sh, 368	261, 294sh, 336sh, 390	272, 356, 380sh	269, 300sh, 354
Solvent	Compound 5	Compound 6	Compound 7	Compound 8
MeOH	258, 300sh, 360	257, 270sh, 375	267, 300sh	257, 270sh, 375
+ NaOMe	272, 328sh, 408	258, 292sh, 428	276, 327, 404	258, 292sh, 428
+ AlCl ₃	274, 302sh, 334, 435	272, 462	276, 304, 350, 399	272, 462
+ AlCl ₃ + HCl	269, 300, 365, 402	267, 361sh, 431	276, 304, 350, 399	267, 361sh, 431
+ NaOAc	272sh, 322sh, 400	260, 420	276, 316sh, 396	260, 420
+ NaOAc + H ₃ BO ₃	266, 295ksh, 382	261, 392	268, 300sh, 360	261, 392

Table II—¹H-NMR(270 MHz) data of compounds **1**, **3**(solvent: CD₃OD), **4**, **5**, **6**, **7**(solvent: DMSO-d₆)

Proton	Comp. 1	Comp. 3	Comp. 4	Comp. 5	Comp. 6	Comp. 7
H-6	6.22 d (2.0)	—	6.12 d (2.0)	6.15 d (2.0)	6.4 d (2.0)	6.12 d (2.0)
H-8	6.42 d (2.0)	6.48 s	6.37 d (2.0)	6.35 d (2.0)	6.75 d (2.0)	6.33 d (2.0)
H-2'&6'	8.2 d (7.0)	8.13 d (7.0)	8.02 d (7.0)	7.6 d (7.2)	7.7 d(H-2') ; 7.55 dd(H-6') (2.0, 2.0)	7.95 d (7.0)
H-3'&5'	6.94 d (7.0)	6.94 d (7.0)	6.87 d (7.0)	6.8 d(H-5') (7.0)	6.9 d(H-5') (7.0)	6.85 d (7.0)
H-1"	—	—	5.45 d (7.0)	5.46 d (6.8)	5.05 m (7.0)	5.3 m; 5.1 m
CH ₃ (sugar)						0.98 d (4.0)

**Fig. 1**—Structural formula and ¹H-NMR spectrum of Compound **1**.

석과 표준품과의 직접 대조에 의해 각각 kaempferol과 quercetin으로 동정하였다(Fig. 1, 2).

**Fig. 2**—Structural formula of Compound **2**.

물질 **3**은 CI Mass 스펙트럼에서 $[M+H]^+$ m/z 303인 물질임을 알 수 있었고 정색반응과 UV 스펙트럼 관측 결과(NaOMe 용매에서의 흡수 띠 I의 변화 및 NaOAc 용매에서 흡수 띠 II와 NaOAc+H₃BO₃ 용매에서의 흡수 띠 I의 변화를 비교)를 종합하여 볼 때 A 고리에 orthodiphenol의 system을 가지며 C-3, 7, 4'에 유리 히드록시가 있는 flavonol aglycone임을

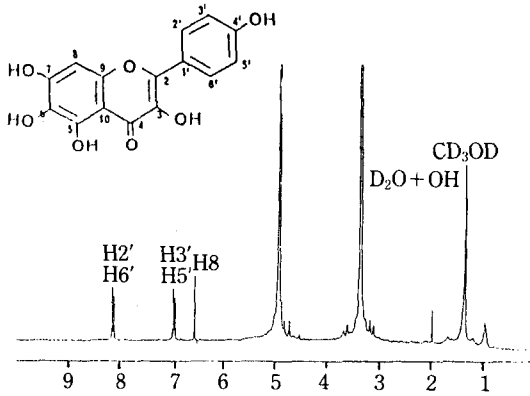


Fig. 3—Structural formula and ¹H-NMR spectrum of Compound 3.

암시하고 있다. ¹H-NMR 스펙트럼의 δ 6.48에서 나타나는 1H에 해당하는 singlet는 A 고리의 H-8을 나타내며 δ 8.13, 6.94의 2H에 해당하는 피크는 H-2', 6' 및 H-3', 5'가 ortho coupling하며 나타난다. 이상의 결과로부터, 물질 3은 6-hydroxy kaempferol (3,4',5,6,7-pentahydroxy flavone)임을 알 수 있다(Fig. 3).

물질 4는 TLC와 여러 shift reagent를 가했을 때의 UV 스펙트럼 데이터를 종합하여 볼 때 이물질은 C-3 위치에 당이 결합되어 있고 orthodiphenol system 이 없는 flavonol glycoside임을 추정할 수 있고 또한 CI 질량스펙트럼으로 [M+H]⁺ m/z 449인 물질임을 알 수 있다. ¹H-NMR 스펙트럼에서 δ 6.37, 6.12에 나타나는 피크는 A 고리의 양성자가 H-8, H-6에서 meta coupling하고 있으며, δ 8.02, 6.87에서는 H-2', 6' 및 H-3', 5'가 ortho coupling하며 나타난다. 또한 δ 5.4에서 aglycone에 연결된 당의 H-1"이 나타나므로 이물질은 kaempferol glycoside임을 알 수 있다. 물질 4의 산 가수분해로 얻어진 aglycone은 각종 스펙트럼 데이터 분석으로 kaempferol임이 분명하고 당 부분은 표준품과의 비교 TLC에 의해 글루코오임을 확인 하였다. D-글루코오스의 결합위치는 UV 스펙트럼 측정결과와 함께 ¹H-NMR 스펙트럼 관측에서 당의 H-1"의 신호가 이중선인 것처럼 나타나는 것으로 보아 kaempferol의 C-3의 위치에 당이 결합하고 있다는 것을 알 수 있으며 결합양식은 ¹H-NMR 스펙트럼에서 아노머 양성자의 짝지음상수가 7.0 Hz로서 β-배열하고 있다. 그러므로 물질 4는 kaempferol 3-O-β-D-glucop-

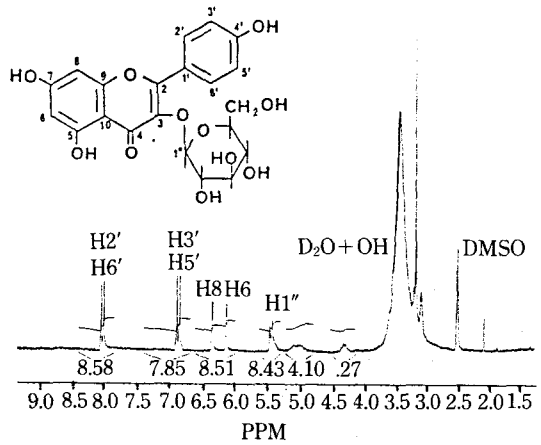


Fig. 4—Structural formula and ¹H-NMR spectrum of Compound 4.

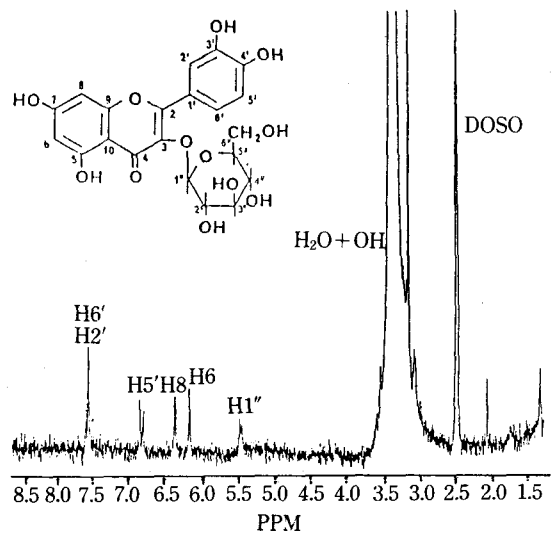


Fig. 5—Structural formula and ¹H-NMR spectrum of Compound 5.

yranose로 확정하였다(Fig. 4).

물질 5는 TLC, UV, MS 및 ¹H-NMR 스펙트럼 분석과 산 가수분해 후의 aglycone과 당의 분석 결과 그리고 표준품과의 직접 대조에 의해 quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside로 확정하였다(Fig. 5).

물질 6은 CI 질량스펙트럼에서 [M+H]⁺ m/z 465 인 물질임을 알 수 있으며 TLC의 결과를 볼 때 orthodiphenol system을 가진 monoside일 가능성을 보인다. UV 스펙트럼의 분석, 즉 메탄올 용매에서의 띠 I과 띠 II의 위치, NaOMe 용매에서의 흡수 띠 I의 ba-

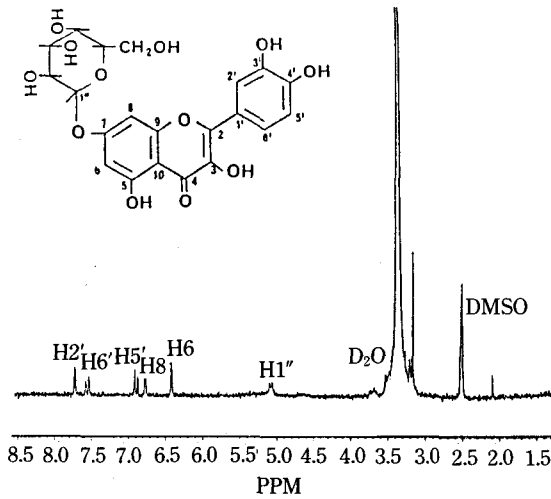


Fig. 6—Structural formula and $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Compound 6.

thochrome(53 nm)으로 C-3과 C-4' 위치에 유리히드록시기가 관측되며, NaOAc 용매에서 흡수띠 I의 파장 변화가 거의 보이지 않음으로서 C-7의 위치에 당이 결합된 flavonol glycoside임을 알 수 있다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 6.75, 6.4의 피이크는 A-고리의 양성자가 H-8, H-6에서 서로 meta coupling하고 있으며, δ 7.7, 7.55, 6.9에서 나타나는 1H에 해당하는 피이크는 각각 B-고리의 H-2', H-6'와 H-5' 양성자에 해당하며 δ 5.1에서 aglycone에 연결된 당의 H-1"이 다중선의 형태로 나타나므로 이 물질은 aglycone의 C-7 위치에 당이 결합되어 있다는 것을 다시 확인할 수 있다. 물질 6의 산 가수분해로 얻어진 aglycone과 당은 물리, 화학적 및 각종 스펙트럼 데이터 분석과 이들의 문헌치와의 비교로 quercetin과 D-glucopyranoside임이 확인되었으며 D-글루코오스의 결합위치는 UV와 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼 관측으로 aglycone의 C-7의 위치에 당이 결합하고 있다는 것을 확인할 수 있으므로 물질 6은 quercetin 7-O- β -D-glucopyranose로 동정하였다 (Fig. 6).

물질 7은 CI mass 스펙트럼으로 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 595인 물질이며 TLC 분석결과 bioside인 것으로 추정된다. 여러 shift reagent에 의한 UV 스펙트럼의 변화가 물질 4와 동일하므로 이물질은 C-3 위치에 당이 결합되어 있는 flavonol glycoside임을 알 수 있다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 물질 4의 스펙트럼과 거의

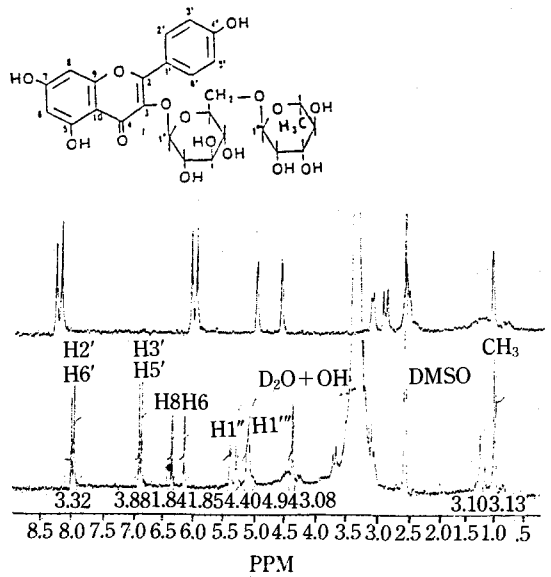


Fig. 7—Structural formula and $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Compound 7.

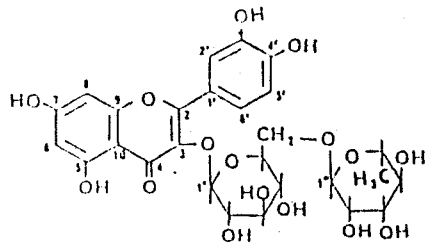


Fig. 8—Structural formula of Compound 8.

동일하나 다만 여기서는 aglycone에 결합된 H-1"이 δ 5.3에, 다른 당에 결합되어 있는 H-1"'이 δ 5.1에 나타나며 δ 0.98에 3H(-CH₃)에 해당하는 피이크가 나타나는 것으로 보아 aglycone에 결합되어 있는 두 개의 당중에 하나는 rhamnose일 것으로 추정되며 이 사실은 이 물질의 산 가수분해 후에 행한 TLC에서 확인된 바와 같다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼의 δ 66.99에 나타난 글루코오스의 C-6에 해당하는 신호는 저자장 쪽으로 약 6ppm이 이동한 것으로 보아 여기에 두 개의 당(글루코오스와 rhamnose)이 1→6의 결합(rutinose)을 하고 있음을 알 수 있다. 산 가수분해시 생긴 aglycone은 여러 분석치를 종합한 결과 kaempferol이며 당은 D-글루코오스와 rhamnose임이 확실하며 UV, $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼을 종합하여 물질 7은 kaempferol 3-O-rhamnopyranosyl(1→6)glucopy-

ranoside임을 확인하였다(Fig. 7).

물질 8은 정성반응 UV, MS 분석 그리고 산가수 분해 후의 aglycone과 당의 TLC와 UV 스펙트럼의 분석을 종합하여 quercetin 3-rutinoside(rutin)으로 동정하였다(Fig. 8).

결 론

홍화(*Carthami flos*)로부터 8가지 flavonoid 성분을 분리하여 이들의 물리화학적 성질과 각종 스펙트럼 데이터로 각각 kaempferol, quercetin, 6-hydroxy kaempferol, kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside, quercetin 3-O- β -D-glucopyranoside, quercetin 7-O- β -D-glucopyranoside, kaempferol 3-O-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 6)glucopyranoside 및 quercetin 3-O-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 6) glucopyranoside로 밝혀내었다.

문 헌

- 1) *Index Kewensis*, Oxford Clarendon Press Ed., (1893).
- 2) Heywood, V. H., Harborne, J. B. and Turner, B. L.: *The Biology and Chemistry of Compositae*, Academic Press Ed., London (1977).
- 3) Hanelt, P.: *Flora Europaea*, Vol. 4, Cambridge University Press Ed., London (1976).
- 4) Wang, X. M., Terasaki, P. I., Loon, J. and Park, M. S., Chia, D. and Bernoco, D.: Detection of Lewis: Antigenic determinants in Chinese medicinal herbs. *Vox Sang*, **45**, 320-325 (1983).
- 5) Chang, H. M. and But, P. P.: *Pharmacology and Application of Chinese Materia Medica*, Vol. 1, World Scientific Ed., Singapore (1986).
- 6) Xu, G. Z., Cai, W. M., Qin, D. X., Yan, J. H., Wu, X. L., Zhang, H. X., Hu, Y. H. and Gu, X. Z.: Chinese herb "destagnation" series I: Combination of radiation with destagnation in the treatment of nasopharyngeal carcinoma (NPC): a prospective randomized trial on 188 cases. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, **16**, 297-300 (1989).
- 7) Obara, H. and Onodera, J.: Structure of carthamin. *Chemistry Letters*, 201-204 (1979).
- 8) Onodera, J., Saito, T. and Obara, H.: Hydrolysis of carthamin. *ibid*, 1327-1330 (1979).
- 9) Onodera, J., Obara, H., Osone, M., Maruyama, Y. and Sato, S.: The structure of safflomin-A, a component of safflower yellow. *ibid*, 433-436 (1981).
- 10) Takahashi, Y., Miyasaka, N., Tasaka, S., Mijura, I., Urano, S., Ikura, M., Matsumoto, T. and Wada, M.: Constitution of two coloring matters in the flower petals of *C. tinctorius* L. *Tetrahedron Letters*, **23**, 5163 (1982).
- 11) Takahashi, Y., Saito, K., Yangiya, M., Ikura, M., Hikichi, K., Matsumoto, T. and Wada, M.: Chemical constitution of safflower yellow B, A quinochalcone C-glycoside from the flower petals of *C. tinctorius* L. *ibid*, **25**, 2471-2474 (1984).
- 12) Murti, V. S., Raman, P. V., Seshadri, T. R. and Thakur, R. S.: Components of ivory-white flower of *Carthamus tinctorius*. *J. Sci. Ind. Res.*, **21B**, 80-83 (1962).
- 13) Snyder, J. M., Frankel, E. N. and Selke, E.: Capillary gas chromatographic analysis of head space volatiles from vegetable oil. *The Journal of Am. Oil Chemists Society-Chicago*, **62**(12), 1675 (1985).
- 14) 서석수 : 홍화의 성분연구(II), 약학연구지, **17**(1), 29-33 (1983).
- 15) Bohlmann, F. and Zdero, C.: Nematicidal polyacetylenes from *Carthamus tinctorius*. *Chem. Ber.*, **103**, 285 (1970).
- 16) Kogiso, S., Wada, K. and Munakata, K.: Isolation of nematicidal polyacetylenes from *Carthamus tinctorius*. *Agr. Biol. Chem.*, **40**, 2085-2089 (1976).
- 17) Kogiso, S., Wada, K. and Munakata, K.: Nematicidal polyacetylenes, 3Z, 11E and 3E, 11E-trideca-1,3,11-triene-5,7,9-triynone from *Carthamus tinctorius*. *Tetrahedron Letters*, **2**, (1976).
- 18) Ichihara, K. I. and Noda, M.: Distribution and metabolism of polyacetylenes in safflower. *Biochimica et Biophysica Acta* **487**, 249-260 (1977).
- 19) Binder, R. G., Lundin, R. E., Kint, S., Klishwicz, J. M. and Waiss, A. C.: Polyacetylenes from *Carthamus tinctorius*. *Phytochemistry*, **17**, 315-317 (1978).
- 20) Stahl, E.: *Analyse chromatographique et microscopique des drogues*. Entreprise Moderne d'Edition, Paris (1970).
- 21) Harborne, J. B.: *The flavonoids*, Chapman and Hall,

- London (1988).
- 22) Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B.: *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, New York (1970).
- 23) Markham, K. R.: *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Press, New York (1982).