



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 541.183

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11568

Влияние структуры имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение некоторых флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ

Варвара Михайловна Разницына[✉], Роман Владимирович Шафигулин, Кирилл Юрьевич Виноградов, Анжела Владимировна Буланова

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, Самара, Россия, v_raznitsyna@mail.ru[✉]

Аннотация. Флавоноиды представляют собой наиболее распространенные природные полифенольные соединения сложного строения, обладающие широким спектром биологической активности. Актуальной проблемой фармацевтической промышленности является определение качественного и количественного состава сложных смесей биологически активных соединений (БАС). Наиболее подходящий и используемый для этого метод – обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ). Для увеличения эффективности и селективности разделения смеси в водно-органический элюент вводят добавки различных органических веществ. В настоящей работе проведено исследование влияния добавки в подвижную фазу некоторых имидазолиевых ионных жидкостей (ИЖ) на хроматографическое поведение смеси (+)-катехин гидрата, рутина, гесперидина и кверцетина в условиях ОФ ВЭЖХ. В качестве ИЖ использовали 1-бутил-3-метилимидазолий бромид [C₄MIM][Br], 1-гексил-3-метилимидазолий бромид [C₆MIM][Br], 1-децил-3-метилимидазолий бромид [C₁₀MIM][Br], 1-метил-3-октилимидазолий бромид [C₈IM][Br] и 1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C₄dMIM][BF₄]. Показано, что порядок выхода флавоноидов не меняется в зависимости от природы ИЖ. Установлено, что при добавлении в элюент ИЖ изменяется величина фактора удерживания флавоноидов. Добавление в подвижную фазу ИЖ с длинными алкильными заместителями в имидазольном кольце ([C₁₀MIM][Br] и [C₈IM][Br]) приводит к увеличению удерживания флавоноидов (за исключением высокополярной молекулы гесперидина). Это объясняется, во-первых, возможностью образования гидрофобной ионной пары между молекулой анализируемого вещества и ИЖ, во-вторых – реализацией ионнообменного механизма удерживания молекул, и, в-третьих – изменением ионной силы подвижной фазы и усилением гидрофобного эффекта. ИЖ с более короткими заместителями не склонны к подобным взаимодействиям. Показано неоднозначное влияние имидазолиевых ИЖ на эффективность хроматографического процесса: для каждого сорбата наблюдается различный эффект добавления ИЖ в водно-ацетонитрильный элюент. Хроматографическая система с [C₄dMIM][BF₄] позволяет повысить эффективность для трех исследуемых флавоноидов – катехина, рутина и кверцетина.

Ключевые слова: флавоноиды, ОФ ВЭЖХ, октадецилсиликагель, имидазолиевые ионные жидкости.

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-23-00397, <https://rscf.ru/project/23-23-00397/>

Для цитирования: Разницына В.М., Шафигулин Р.В., Виноградов К.Ю., Буланова А.В. Влияние структуры имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение некоторых флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2023. Т. 23, № 4. С. 592-605. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11568>



Original article

Influence of the structure of imidazolium ionic liquids on the chromatographic behaviour of some flavonoids under RP HPLC conditions

Varvara M. Raznitsyna[✉], Roman V. Shafigulin,
Kirill Yu. Vinogradov, Andzhela V. Bulanova

Samara National Research University, Samara, Russia, v_rznitsyna@mail.ru[✉]

Abstract. Flavonoids are the most common natural polyphenolic compounds of complex structure, possessing a wide range of biological activities. The determination of the qualitative and quantitative composition of complex mixtures of biologically active compounds (BAC) is an urgent problem of the pharmaceutical industry. The most suitable and used method for this task is reverse phase high performance liquid chromatography (RP HPLC). To increase the efficiency and selectivity of separation of the mixture, additives of various organic substances are introduced into the aqueous-organic eluent. In this study we investigated the effect of adding certain imidazolium ionic liquids (ILs) into the mobile phase on the chromatographic behaviour of a mixture of (+)-catechol hydrate, rutin, hesperidin, and quercetin under RP HPLC conditions. 1-Butyl-3-methylimidazolium bromide [C₄MIM][Br], 1-hexyl-3-methylimidazolium bromide [C₆MIM][Br], 1-decyl-3-methylimidazolium bromide [C₁₀MIM][Br], 1-methyl-3-octylimidazolium bromide [MC₈IM][Br] and 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium tetrafluoroborate [C₄dMIM][BF₄]. It was shown that the order of release of flavonoids does not change depending on the nature of the IL. It has been established that when IL is added to the eluent, the value of the flavonoid retention factor changes. Addition of IL with long alkyl substituents in the imidazole ring ([C₁₀MIM][Br] and [MC₈IM][Br]) led to increased retention of flavonoids (with the exception of the highly polar molecule hesperidin). This is explained, firstly, by the possibility of the formation of a hydrophobic ion pair between the analyte molecule and the IL, secondly, by the implementation of the ion exchange mechanism of molecular retention, and thirdly, by a change in the ionic strength of the mobile phase and an increase in the hydrophobic effect. IL with shorter substituents are not prone to such interactions. The ambiguous effect of imidazolium IL on the efficiency of the chromatographic process has been shown: for each sorbate, a different effect of addition of IL to the aqueous-acetonitrile eluent was observed. Chromatographic system with [C₄dMIM][BF₄] allows to increase efficiency for the three studied flavonoids - catechin, rutin, and quercetin.

Keywords: flavonoids, RP HPLC, octadecyl silica gel, imidazolium ionic liquids.

Acknowledgments: research completed with grant support Russian Science Foundation No. 23-23-00397, <https://rscf.ru/en/project/23-23-00397/>.

For citation: Raznitsyna V.M., Shafigulin R.V., Vinogradov K.Yu., Bulanova A.V. Influence of the structure of imidazolium ionic liquids on the chromatographic behaviour of some flavonoids under RP HPLC conditions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2023. 23(4): 592-605. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11568>

Введение

Флавоноиды относятся к биологически активным природным фенольным соединениям сложного строения, содержащимся в лекарственном растительном сырье. Изучение сорбции биологически активных соединений (БАС) из жидких растворов актуально, так как эти соединения используются в фармацевтической, косметической промышленности, в медицине, производстве продуктов питания и др. [1-3]. Наиболее популярным и часто

используемым методом исследования сорбции БАС является обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ) [4, 5].

Особый интерес представляет изучение влияния строения флавоноидов на их хроматографическое поведение в условиях ОФ ВЭЖХ. Флавоноиды представляют собой сложные по структуре соединения, содержащие полярные гидроксильные группы и гидрофобные объемные конденсированные ароматические

кольца. Согласно основным закономерностям удерживания в ОФ ВЭЖХ, чем больше гидрофобность соединения, тем больше время его удерживания на неполярных сорбентах [6]. Однако в случае флавоноидов подобная закономерность не всегда соблюдается. При анализе этих соединений необходимо учитывать возможность диссоциации ОН-групп при изменении рН элюента, так как этот фактор влияет на гидрофильно-липофильный баланс соединений [7]. Хроматографический анализ соединений, склонных к диссоциации, нередко проводят в присутствии кислот, буферных растворов и других добавок в элюент, снижающих рН подвижной фазы, но в то же время приводящих к уменьшению срока эксплуатации хроматографических колонок. Свойства флавоноидов могут изменяться в зависимости от положения функциональных групп [7], что обусловлено возможностью образования внутримолекулярных водородных связей. Кроме того, флавоноиды очень чувствительны к изменению состава элюента в ОФ ВЭЖХ: их времена удерживания значительно сокращаются даже при незначительном увеличении содержания органического компонента в подвижной фазе. Так, время удерживания нарингенина на колонке С18 варьируется от 108 до 6,4 мин при изменении содержания ацетонитрила в подвижной фазе от 25 до 50 об.% соответственно [8]. В связи с этим, важно провести подбор оптимальных хроматографических условий с целью обеспечения наибольшей эффективности процесса разделения многокомпонентных смесей.

Свойства подвижной фазы можно изменять, используя ионные жидкости [4, 9-13]. Ионные жидкости (ИЖ) представляют собой соли, имеющие низкие температуры плавления и состоящие только из ионов [14]. Кроме того, ионные жидкости отвечают требованиям зеленой химии, поэтому могут стать альтернативной заменой летучих органических растворителей, используемых в хроматографии. При

введении ИЖ в состав водно-органического элюента, они обеспечивают ряд важных межмолекулярных взаимодействий как с компонентами неподвижной фазы, экранируя остаточные силанолы, так и с анализируемыми веществами, образуя с ними ионные пары, что, в свою очередь, приводит к изменению удерживания аналитов и улучшению формы хроматографических пиков [9, 12, 15].

Целью работы являлось изучение сорбции некоторых флавоноидов из водно-ацетонитрильных элюентов, содержащих имидазолиевые ионные жидкости, на октадецилсиликагеле методом ОФ ВЭЖХ.

Экспериментальная часть

Хроматографический эксперимент проводили с предельно разбавленными растворами флавоноидов, что обеспечивало работу в линейной области изотермы сорбции (области Генри). Использовали микроколоночный жидкостный хроматограф «Милихром А-02» с УФ-спектрофотометрическим детектором и плунжерный насос высокого давления Varian ProStar. Детектирование флавоноидов проводили при длинах волн 254, 280 и 300 нм. Использовали хроматографическую колонку Phenomenex Luna C18(2) (250x3 мм) с размером зерна 5 мкм. Температура хроматографической колонки поддерживалась с помощью твердотельного электрического термостата в диапазоне 35÷55°C ($\pm 0.3^\circ\text{C}$). Хроматографическую колонку перед началом нового эксперимента термостатировали и промывали соответствующим рабочим элюентом. Элюентами являлись водно-ацетонитрильные смеси $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ в объемном соотношении компонентов 80/20 об.% с добавками имидазолиевых ионных жидкостей в количестве 1.76 ммоль/дм³ – 1-бутил-3-метилимидазолий бромид $[\text{C}_4\text{MIM}][\text{Br}]$, 1-гексил-3-метилимидазолий бромид $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{Br}]$, 1-децил-3-метилимидазолий бромид $[\text{C}_{10}\text{MIM}][\text{Br}]$, 1-метил-3-октилимидазолий бромид

[MC₈IM][Br] и 1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C₄dMIM][BF₄]. Элюенты подвергали процессу ультразвукового диспергирования на ультразвуковой установке марки «МЭЛФИЗ» для оптимального перемешивания водно-ацетонитрильных растворов с ИЖ для получения истинных растворов и устранения пузырьков воздуха. Объем вводимых проб флавоноидов – 20 мкл. Объемная скорость элюента – 500 мкл/мин. Свободный объем хроматографической колонки определяли по времени выхода системного пика. На основании первичных хроматографических данных рассчитывали факторы удерживания (*k*). Проводили не менее пяти параллельных хроматографических экспериментов. Погрешность расчета факторов удерживания не превышала 3%. Число теоретических тарелок рассчитывали по результатам трех экспериментов. Ошибка воспроизводимости параметров хроматографических пиков (высота и ширина на полувысоте) не превышала 3%.

В работе использовали коммерческие имидазолиевые ионные жидкости, приобретенные у фирм «Sigma-Aldrich», «abcг» и «BLDpharm». В качестве сорбатов использовали коммерческие стандарты (+)-катехин гидрата, рутина, гесперидина и кверцетина фирмы «Sigma-Aldrich». Расчёт молекулярных параметров флавоноидов проводили путём квантово-химического моделирования структур молекул с последующей дополнительной обработкой оптимизированных структур. Квантово-химическое моделирование осуществляли при помощи программного обеспечения Gaussian 09 с применением функционала плотности B3LYP и базиса CC-pVDZ и учётом растворителя – ацетонитрила, методом SCRF. В табл. 1 приведены структура и молекулярные дескрипторы исследованных флавоноидов. В табл. 2 приведены структурные формулы имидазолиевых ионных жидкостей и их некоторые физико-химические параметры.

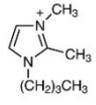
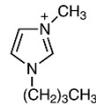
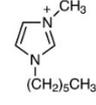
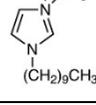
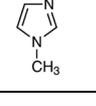
Таблица 1. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры исследуемых флавоноидов

Table 1. Structural formulas and some physicochemical parameters of the studied flavonoids

№	Название	Структурная формула	Дипольный момент (μ), Дебай	Поляризуемость (α), Бор ³	Объем (V), Å ³	Площадь (S), Å ²	LogP [16]	pK _a [16]
1	(+)-катехин гидрат		5.18	235.54	250.52	287.56	1.8	9.00
2	Рутин		6.47	484.63	499.75	547.40	-0.87	6.37
3	Гесперидин		10.15	464.99	518.96	582.22	-0.31	8.61
4	Кверцетин		6.30	286.14	243.89	271.26	2.16	6.38

Таблица 2. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры используемых ионных жидкостей

Table 2. Structural formulas and some physicochemical parameters of the ionic liquids used

Название	Структурная формула	Молекулярная масса (Mr), г/моль	Т.пл., °С [17]	Плотность (ρ), г/см ³ [17]	LogP [18]	Rotable Bond Count [18]	Heavy Atom Count [18]	E _T (30), ккал/моль ⁻¹ [19]
1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C ₄ dMIM][BF ₄]		240.05	38-40	1.20 (20°C)	5.298	3	16	49.4
1-бутил-3-метилимидазолий бромид [C ₄ MIM][Br]		219.12	65-75	1.30 (25°C)	3.590	3	11	51.61
1-гексил-3-метилимидазолий бромид [C ₆ MIM][Br]		247.18	-54.9	1.23	4.728	5	13	50.5
1-децил-3-метилимидазолий бромид [C ₁₀ MIM][Br]		303.28	30	1.13 (25°C)	7.004	9	17	—
1-метил-3-октилимидазолий бромид [MC ₈ IM][Br]		275.23	-61.9	1.17	5.866	7	15	—

Обсуждение результатов

Хроматографическое поведение флавоноидов в условиях ОФ ВЭЖХ имеет свою специфику, в связи с особенностями строения их молекул. Флавоноиды достаточно гидрофобные за счет наличия ароматических структур, но и склонные к специфическим взаимодействиям с компонентами полярного элюента из-за наличия большого количества гидроксильных групп, связанных с атомами углерода ароматического кольца. Обычно для подавления их диссоциации используются добавки кислот или кислых буферов в водно-органический элюент. В настоящей работе было изучено влияние добавок имидазолиевых ионных жидкостей на хроматографическое поведение четырех флавоноидов различной струк-

туры. В табл. 3 приведены времена и факторы удерживания флавоноидов в изучаемых хроматографических системах.

Показано, что порядок выхода флавоноидов не меняется в зависимости от природы имидазолиевых ионных жидкостей. С увеличением температуры удерживание закономерно уменьшается для всех сорбатов во всех исследуемых системах. Рассмотрим некоторые особенности удерживания флавоноидов, являющиеся общими для всех исследуемых хроматографических систем. Для изучаемых флавоноидов не наблюдается корреляции между факторами удерживания и рассчитанными физико-химическими параметрами молекул сорбатов. На рис. 1 представлены сравнительные диаграммы для факторов удерживания флавоноидов в исследуемых хроматографических системах.

Таблица 3. Времена удерживания и факторы удерживания флавоноидов
 Table 3. Retention times and retention factors of flavonoids

ПФ H ₂ O/MeCN – 80/20	1		2		3		4	
	(+)-катехин гидрат		Рутин		Гесперидин		Кверцетин	
	t _R	k	t _R	k	t _R	k	t _R	k
35°C								
без ИЖ	3.70	0.59	6.46	1.78	13.02	4.61	30.20	12.02
[C ₄ dMIM][BF ₄]	3.52	0.52	5.59	1.41	10.25	3.42	24.86	9.72
[C ₄ MIM][Br]	3.53	0.52	5.07	1.19	9.96	3.29	22.38	8.65
[C ₆ MIM][Br]	3.76	0.62	6.19	1.67	11.50	3.96	27.46	10.84
[C ₁₀ MIM][Br]	3.79	0.63	7.41	2.19	10.19	3.39	34.24	13.76
[MC ₈ IM][Br]	3.81	0.64	7.59	2.27	10.93	3.71	33.38	13.39
45°C								
без ИЖ	3.43	0.48	5.36	1.31	11.07	3.77	22.75	8.81
[C ₄ dMIM][BF ₄]	3.33	0.44	5.09	1.19	9.03	2.89	20.40	7.79
[C ₄ MIM][Br]	3.31	0.43	4.66	1.01	8.71	2.75	18.04	6.78
[C ₆ MIM][Br]	3.48	0.50	5.52	1.38	10.07	3.34	21.77	8.38
[C ₁₀ MIM][Br]	3.52	0.52	6.55	1.82	8.94	2.85	26.57	10.45
[MC ₈ IM][Br]	3.53	0.52	6.43	1.77	9.35	3.03	24.07	9.38
55°C								
без ИЖ	3.23	0.39	4.66	1.01	9.74	3.20	17.54	6.56
[C ₄ dMIM][BF ₄]	3.19	0.38	4.68	1.02	8.07	2.48	16.73	6.21
[C ₄ MIM][Br]	3.16	0.36	4.20	0.81	7.61	2.28	14.00	5.03
[C ₆ MIM][Br]	3.30	0.42	4.79	1.06	8.48	2.66	15.67	5.75
[C ₁₀ MIM][Br]	3.29	0.42	5.81	1.50	7.86	2.39	20.81	7.97
[MC ₈ IM][Br]	3.33	0.44	5.59	1.41	8.13	2.50	18.38	6.92

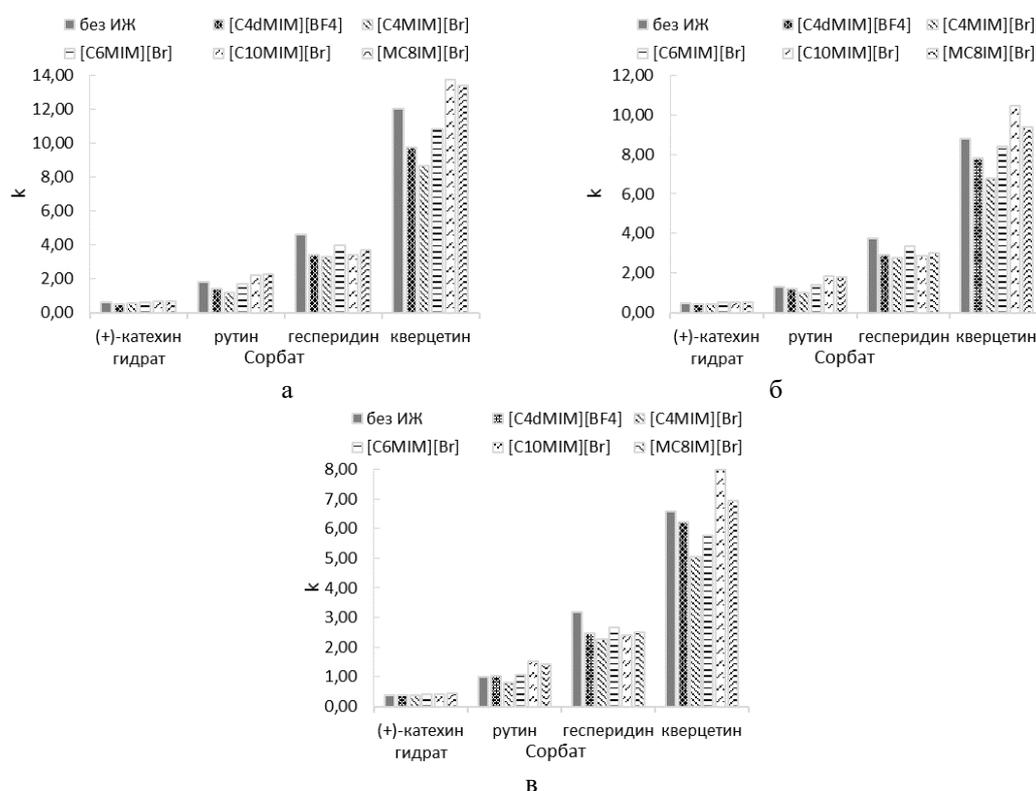


Рис. 1. Сравнительные диаграммы факторов удерживания изучаемых флавоноидов в исследуемых хроматографических системах при а – 35, б – 45 и в – 55°C.

Fig. 1. Comparative diagrams of retention factors of the studied flavonoids in the investigated chromatographic systems at a – 35, b – 45 и c – 55°C.

Показано, что кверцетин сорбируется на октадецилсиликагеле гораздо сильнее остальных флавоноидов. Катехин, характеризующийся сопоставимыми с кверцетином физико-химическими параметрами, напротив, сорбируется значительно слабее. По-видимому, это связано с тем, что в молекуле кверцетина реализуется внутримолекулярная связь между карбонильным кислородом (в положении 4) и находящимися рядом гидроксильными группами (в положениях 3 и 5). Таким образом, эти ароматические гидроксильные группы дезактивированы и не усиливают специфические взаимодействия с компонентами водно-ацетонитрильного элюента.

Значительная разница в удерживании, возможно, связана и с реализацией специфических конформаций у молекул катехина и кверцетина. Для выявления наиболее энергетически устойчивой конформации было проведено дополнительное сканирование энергии кверцетина и катехина в зависимости от угла вращения по С-С связи между ароматическими кольцами в среде ацетонитрила. Полученное энергетическое распределение приведено на рис. 2. Основываясь на распределении Больцмана для дискретных значений энергетического распределения, можно сделать вывод, что более половины молекул кверцетина находятся в планарном или почти планарном состоянии с двугранным углом менее 10° ; доля молекул с двугранным углом более 20° , составляет менее 15%. Для катехина наблюдается противоположная картина: наиболее выгодным энергетическим состоянием является двугранный угол 145° , а также чуть более лёгкое вращение относительно С-С связи. Таким образом, с применением квантово-химических расчетов показано, что молекула кверцетина является более планарной молекулой, по сравнению с молекулой катехина. Вероятно, при сорбции молекула кверцетина будет ориентирована на границе раздела фаз таким образом, что ее проникновение в слой октадецилсиликагеля будет более

глубоким, по сравнению с более конформационно подвижной и непланарной молекулой катехина. Это и может привести к усилению сорбции молекулы кверцетина на неполярном сорбенте, по сравнению с катехином. Рутин и гесперидин являются неплоскими структурами и сорбируются слабее кверцетина. Наблюдается некоторое несоответствие их удерживания относительно друг друга при сопоставлении их дипольных моментов. Гесперидин характеризуется более высоким дипольным моментом, чем рутин. Однако гесперидин сорбируется значительно сильнее рутина. По-видимому, это связано с тем, что в молекуле рутина реализуется внутримолекулярная связь между карбонильным кислородом (в положении 4) и гидроксильной группой (в положении 5), а также гидроксильной группой в углеводном заместителе (в положении 3). Таким образом, некоторые ароматические гидроксильные группы будут дезактивированы и склонность к специфическим взаимодействиям молекулы рутина с компонентами элюента несколько снижается.

Установлено, что добавление имидазолиевых ионных жидкостей по-разному влияет на удерживание флавоноидов в зависимости от их строения и физико-химических свойств молекулы. Например, для сильнополярной молекулы гесперидина при добавлении всех исследуемых имидазолиевых ИЖ удерживание снижается. Вероятно, это связано с реализацией конкурентной сорбции между гесперидином и молекулами ИЖ на межфазной границе раздела. Ионные жидкости более склонны к модифицированию поверхности октадецилсиликагеля, поэтому происходит выталкивание гесперидина в объемную фазу элюента. Для других менее полярных флавоноидов наблюдаются близкие закономерности удерживания в системах с различными по структуре имидазолиевыми ИЖ. Показано, что в системе с $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$ их удерживание возрастает, по сравнению с

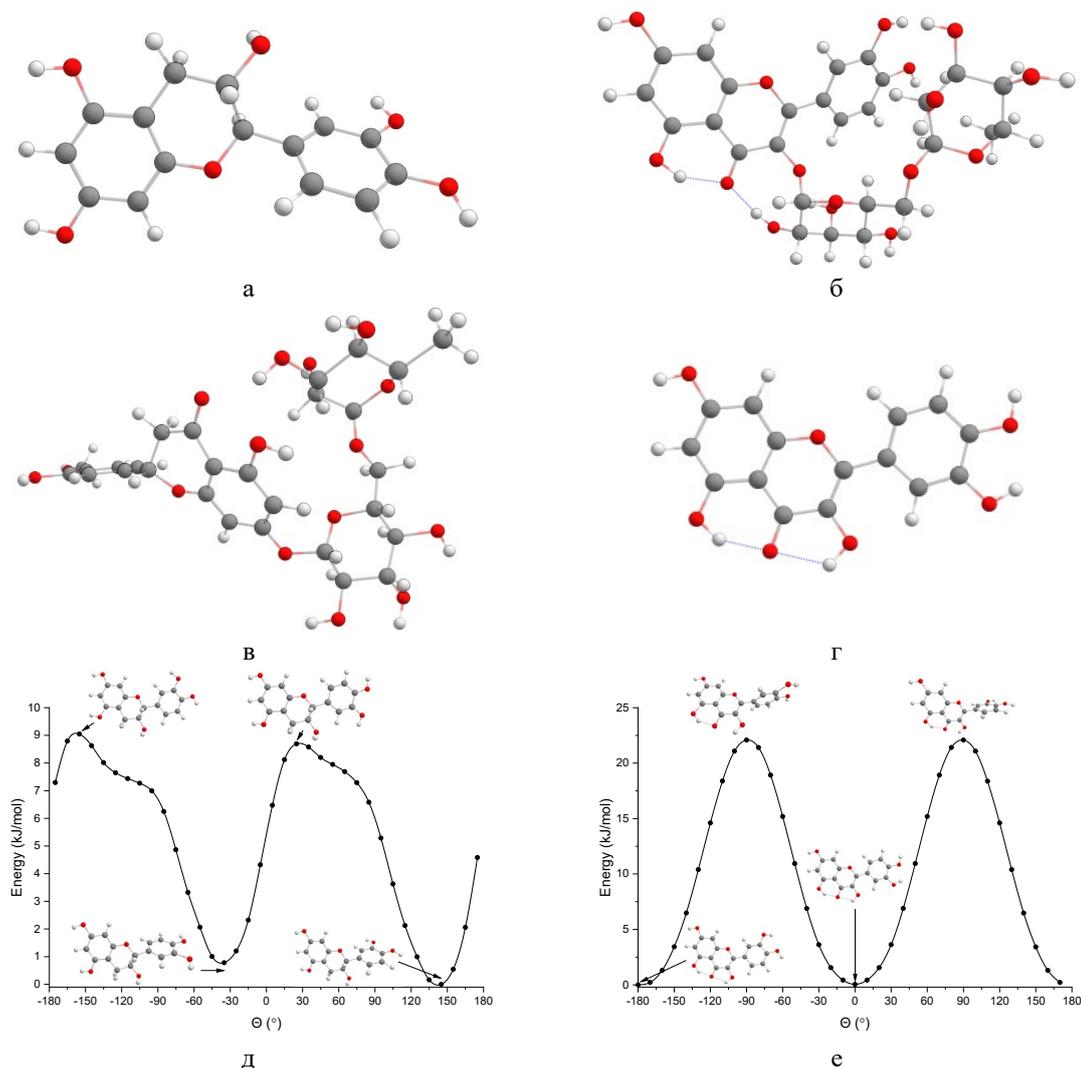


Рис. 2. Визуализация структур молекул а – катехина, б – рутина, в – гесперидина, г – кверцетина в программе Chemcraft и энергетическое распределение структурных конформаций в зависимости от угла в среде ацетонитрила: д – катехин, е – кверцетин.

Fig. 2. Visualization of the structures of a – catechin, b – rutin, c – hesperidin, d – quercetin molecules in the Chemcraft program and energy distribution of structural conformations depending on the angle in the acetonitrile medium: e – catechin, f – quercetin.

элюентом не содержащим ИЖ. Этот эффект можно объяснить с нескольких точек зрения. Во-первых, может реализовываться так называемый ион-парный механизм между молекулами флавоноидов и ионными жидкостями $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$. Образуется достаточно гидрофобная ионная пара склонная к сильным дисперсионным взаимодействиям с неполярным октадецилсиликагелем. Другие ионные жидкости, содержащие более короткие углеводородные заместители, вероятно не способны к образова-

нию ионных пар. Вероятно, в этих системах реализуется конкурентная сорбция между молекулами ИЖ и флавоноидов, что приводит к снижению факторов удерживания последних, по сравнению с системой без добавок ИЖ.

Во-вторых, достаточно гидрофобные ионные жидкости $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$, сорбируясь на октадецилсиликагеле, модифицируют его, и реализуется взаимодействие между положительным зарядом в имидазольном кольце и ароматическими фрагментами флаво-

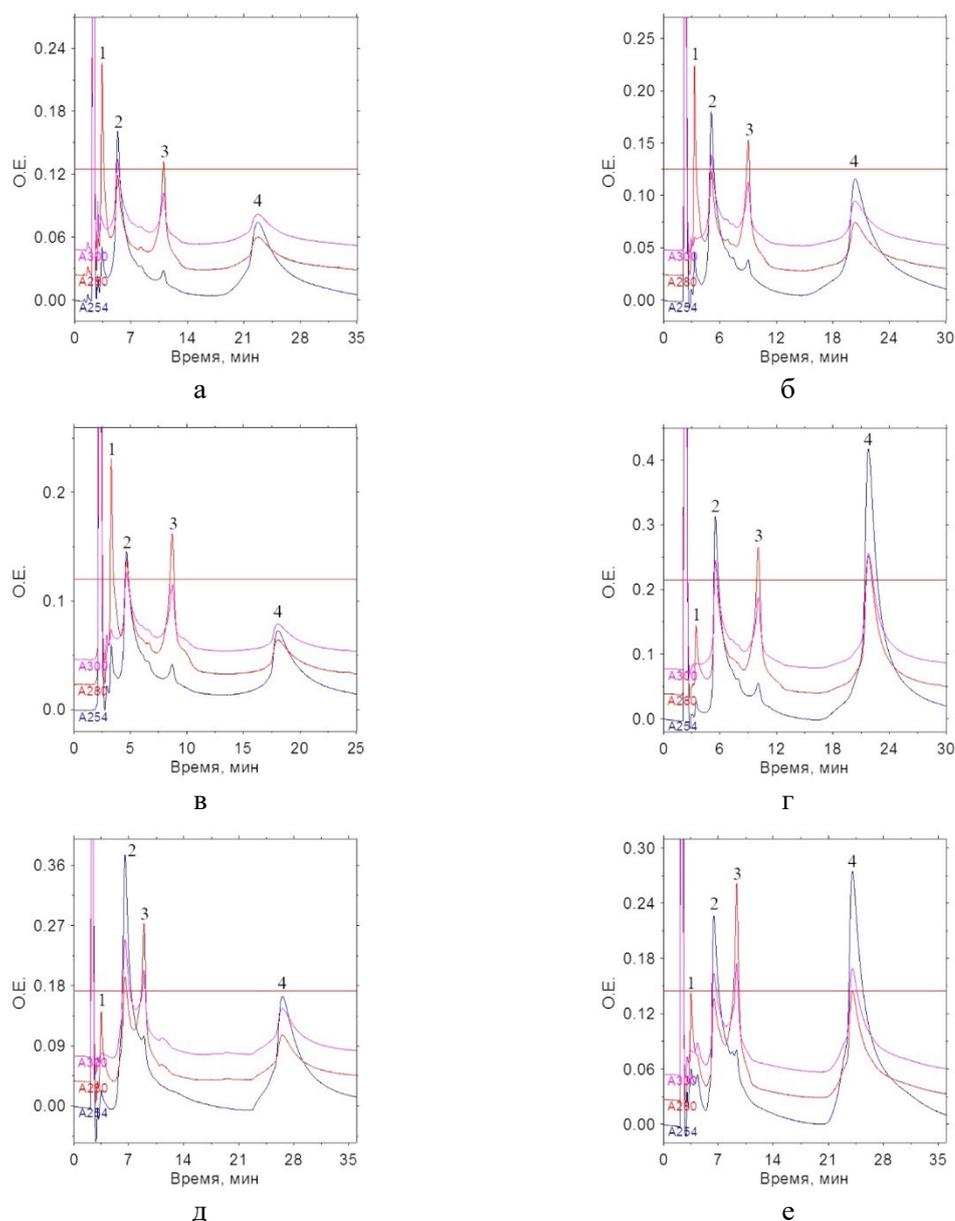


Рис. 3. Хроматограмма разделения смеси флавоноидов (вода/ацетонитрил – 80/20 об.%, температура эксперимента 45°C): а – без добавок ИЖ, б – $[C_4dMIM][BF_4]$, в – $[C_4MIM][Br]$, г – $[C_6MIM][Br]$, д – $[C_{10}MIM][Br]$, е – $[MC_8IM][Br]$ (Номера сорбатов соответствуют табл. 1).
 Fig. 3. Fig. Chromatogram of flavonoid mixture separation ($H_2O/MeCN - 80/20$ v/v, experiment temperature 45°C): а – without additives of ILs, б – $[C_4dMIM][BF_4]$, в – $[C_4MIM][Br]$, г – $[C_6MIM][Br]$, д – $[C_{10}MIM][Br]$, е – $[MC_8IM][Br]$, ф – $[MC_8IM][Br]$ (Numbers of the sorbates correspond to Table 1).

ноидов, а также частично диссоциированными гидроксильными группами. Таким образом, реализуется ионнообменный механизм удерживания молекул, приводящий к возрастанию факторов удерживания. Ионные жидкости, содержащие короткие углеводородные заместители, вероятно, не способны к моди-

фицированию октадецилсиликагеля и реализуется конкурентная сорбция их с молекулами флавоноидов на межфазной границе раздела.

В-третьих, ионные жидкости, являясь по сути солями, могут изменить ионную силу водно-ацетонитрильного элюента и таким образом повлиять на структурированность водородной сетки. Это, в свою

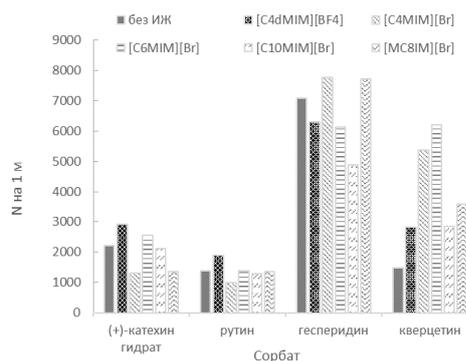


Рис. 4. Сравнительная диаграмма по величинам числа теоретических тарелок для флавоноидов в исследуемых хроматографических системах.

Fig. 4. Comparative diagram on the values of the theoretical plate number for flavonoids in the studied chromatographic systems.

очередь, может привести к усилению или ослаблению гидрофобного эффекта при сорбции флавоноидов из полярного водно-ацетонитрильного элюента. Вероятно, что ИЖ $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$ усиливают влияние гидрофобного эффекта и происходит более интенсивное выталкивание молекул флавоноидов в слой октадецилсиликагеля. В системах с другими ИЖ влияние гидрофобного эффекта несколько снижается, относительно системы без ИЖ.

При сравнении факторов удерживания рутина и кверцетина для большинства хроматографических систем выявлено, что их удерживание увеличивается при увеличении фактора гидрофобности имидазольевых бромидных ИЖ, содержащихся в элюенте – $[C_4MIM][Br] > [C_6MIM][Br] > [MC_8IM][Br] > [C_{10}MIM][Br]$. Для катехина наблюдаются близкие значения факторов удерживания для всех систем, но тенденция также прослеживается. Для высокополярной молекулы гесперидина эта закономерность нарушается из-за высокой склонности этого сорбата к сильным специфическим взаимодействиям с компонентами водно-ацетонитрильного элюента. В системе с ИЖ $[C_4dMIM][BF_4]$ факторы удерживания флавоноидов выше, чем в системе с $[C_4MIM][Br]$ и в некоторых случаях сопоставимы с системой, содержащей $[C_6MIM][Br]$.

На рис. 3 представлены хроматограммы смеси флавоноидов в изучаемых хроматографических системах.

Показано, что разделение четырех флавоноидов удовлетворительное во всех рассматриваемых хроматографических системах. Для оценки влияния ионных жидкостей на эффективность процесса было рассчитано количество теоретических тарелок для каждого исследуемого флавоноида. Сравнительная диаграмма по числу теоретических тарелок в изучаемых системах представлена на рис. 4.

Показано неоднозначное влияние имидазольевых ИЖ на эффективность процесса: для каждого сорбата эффект добавления ИЖ различный. Например, для кверцетина наблюдается увеличение числа теоретических тарелок и, соответственно, его хроматографических пик становится более узким. Для других флавоноидов также существуют системы с ИЖ, в которых эффективность повышается. Однако выбрать одну систему с имидазольевой ИЖ, где эффективность процесса повышается для всех четырех флавоноидов не представляется возможным. Хроматографическая система с $[C_4dMIM][BF_4]$ позволяет повысить эффективность для трех исследуемых флавоноидов – катехина, рутина и кверцетина.



Заключение

В работе проведено исследование по хроматографическому поведению четырех флавоноидов в системах с имидазолиевыми ионными жидкостями. Изучено влияние структуры флавоноидов на их удерживание. Показано, что удерживание на октадецилсиликагеле из водно-ацетонитрильных растворов не коррелирует с их физико-химическими параметрами и сильно зависит от планарности их молекул и взаимного расположения заместителей в структуре. Молекулы флавоноидов, содержащие углеводные заместители, удерживаются на октадецилсиликагеле гораздо слабее кверцетина. По-видимому, из-за непланарности структуры, эти молекулы на границе раздела фаз будут ориентироваться таким образом, что неспецифические взаимодействия с сорбентом будут несколько слабее для этих молекул, по сравнению с кверцетином. С применением квантово-химических расчетов показано, что молекула кверцетина является более планарной молекулой, по сравнению с молекулой катехина. Это способствует, по-видимому, различным энергетически устойчивым ориентациям этих молекул на границе раздела фаз, приводящее к существенным различиям в реализации комплекса межмолекулярных взаимодействий. Установлено, что добавление имидазолиевых ионных жидкостей по-разному влияет на удерживание флавоноидов в зависимости от их строения и физико-химических свойств молекулы. Выявлено, что удерживание рутина и кверцетина увеличивается при увеличении фактора гидрофобности имидазолиевых бромидных ИЖ, содержащихся в элюенте – $[C_4MIM][Br] > [C_6MIM][Br] >$

Список литературы

1. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически

$[MC_8IM][Br] > [C_{10}MIM][Br]$. Для катехина наблюдаются близкие значения факторов удерживания для всех систем, но тенденция также прослеживается. Для высокополярной молекулы гесперидина эта закономерность нарушается из-за высокой склонности этого сорбата к сильным специфическим взаимодействиям с компонентами водно-ацетонитрильного элюента. Сделано предположение о реализации так называемого ион-парного механизма между молекулами флавоноидов и ионными жидкостями $[C_{10}MIM][Br]$ и $[MC_8IM][Br]$. Образуются достаточно гидрофобные ионные пары, склонные к сильным дисперсионным взаимодействиям с неполярным октадецилсиликагелем. Ионные жидкости с более короткими углеводородными заместителями не способны к образованию ионных пар с исследуемыми флавоноидами, и реализуется конкурентная сорбция между молекулами ИЖ и флавоноидов, что приводит к снижению факторов удерживания последних, по сравнению с системой без добавок ИЖ.

Показано неоднозначное влияние имидазолиевых ИЖ на эффективность хроматографического процесса; для каждого сорбата наблюдается различный эффект добавления ИЖ в водно-ацетонитрильный элюент. Хроматографическая система с $[C_4dMIM][BF_4]$ позволяет повысить эффективность для трех исследуемых флавоноидов – катехина, рутина и кверцетина.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

активные соединения лекарственных растений // *Фундаментальные исследования*. 2013. № 11-9. С. 1897-1901.



2. Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R. Flavonoids: an overview // *Journal of nutritional science*. 2016. Vol. 5. P. e47.
3. Dias M.C., Pinto D.C.G.A., Silva A.M.S. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity // *Molecules*. 2021. Vol. 26, Issue 17. P. 5377.
4. Ядрова А.А., Гриневич О.И., Шафигулин Р.В., Нестерова Н.В., Буланова А.В. Влияние природы ионных жидкостей на сорбцию бензимидазола и некоторых его производных из водно-ацетонитрильных растворов на октадецилсиликагеле // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2020. Т. 20, № 6. С. 674-686.
5. Сайфутдинов Б.Р., Буряк А.К. О различиях в механизме адсорбции ароматических гетероциклов из водно-ацетонитрильных растворов на силикагелях с привитыми октадецильными группами // *Коллоидный журнал*. 2019. Т. 81, № 5. С. 605-612.
6. Цивадзе А.Ю. Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз. М.: ЛКИ. 2008. 544 с.
7. Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Блинова И.П., Костенко М.О., Олейниц Е.Ю. О хроматографическом поведении флавоноидов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2016. Т. 16, № 3. С. 377-383.
8. Дмитриенко С.Г., Степанова А.В., Кудринская В.А., Апяри В.В. Особенности разделения флавоноидов методом обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии на колонке Luna 5u C18(2) // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. 2012. Т. 53, № 6. С. 369-373.
9. Tang Y., Sun A., Liu R., Zhang Y. Simultaneous determination of fangchinoline and tetrandrine in *Stephania tetrandra* S. Moore by using 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the RP-HPLC mobile phase additives // *Anal. Chim. Acta*. 2013. Vol. 767. P. 148-154.
10. Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Колобова Е.А. Ионные жидкости – модификаторы хроматографических и электрофоретических систем // *Журнал аналитической химии*. 2016. Т. 71, №. 2. С. 147-158.
11. García-Alvarez-Coque M.C., Ruiz-Angel M.J., Berthod A., Carda-Broch S. On the use of ionic liquids as mobile phase additives in high-performance liquid chromatography. A review // *Anal. Chim. Acta*. 2015. Vol. 883. P. 1-21.
12. Axente R.E., Stan M., Chitescu C.L., Nitescu V.G., Vlasceanu A.M., Baconi D.L. Application of Ionic Liquids as Mobile Phase Additives for Simultaneous Analysis of Nicotine and Its Metabolite Cotinine in Human Plasma by HPLC–DAD // *Molecules*. 2023. Vol. 28, Issue 4. P. 1563.
13. Cui G., Yu H., Ma Y.J. Ionic liquids as mobile phase additives for determination of thiocyanate and iodide by liquid chromatography // *J. Sep. Sci.* 2019. Vol. 42, Issue 9. P. 1733-1739.
14. Welton T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis // *Chem. Rev.* 1999. Vol. 99, no 8. P. 2071-2084.
15. Ruiz-Ángel M.J., Carda-Broch S., García-Álvarez-Coque M.C. Ionic liquids as mobile phase additives and immobilized on stationary phases in liquid chromatography. *Ionic Liquids in Analytical Chemistry*. Elsevier. 2022. P. 203-234.
16. DrugBank. Режим доступа: <https://go.drugbank.com/> (дата обращения: 01.08.2023).
17. Chemical Book. Режим доступа: <https://www.chemicalbook.com/> (дата обращения: 01.03.2023).
18. LabNetwork. Режим доступа: <https://www.labnetwork.com/> (дата обращения: 01.03.2023).
19. Wang X, Zhang S, Yao J, Li H. The polarity of ionic liquids: relationship between relative permittivity and spectroscopic parameters of probe // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019. Vol. 58, Issue 17. P. 7352-7361.



References

1. Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeeva E.V. Flavonoidy kak biologicheski aktivnye soedinenija lekarstvennyh rastenij, *Fundamental'nye issledovanija*. 2013; 11-9: 1897-1901.
2. Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R., Flavonoids: an overview, *Journal of nutritional science*. 2016; 5: e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
3. Dias M.C., Pinto D.C.G.A., Silva A.M.S., Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity, *Molecules*. 2021; 26(17): 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
4. Yadrova A.A., Grinevich O.I., Shafigulin R.V., Nesterova N.V., Bulanova A.V. The effect of the ionic liquids' nature on sorption of the benzimidazole and some of its derivatives from aqueous-acetonitrile solutions on octadecyl silica gel, *Sorbtsionnye I Khromatograficheskie Protssesy*. 2020; 20(6): 674-686. <https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2020.20/3135>
5. Saifutdinov B.R., Buryak A.K. On the Differences in the Mechanisms of Adsorption of Aromatic Heterocycles from Water-Acetonitrile Solutions on Octadecyl-Bonded Silica Gels, *Colloid Journal*. 2019; 81(5): 555-562. <https://doi.org/10.1134/S1061933X19050107>
6. Civadze A.Ju. Ctrukturnaja samorganizacija v rastvorah i na granice razdela faz. Moskva, LKI, 2008, 544 p.
7. Deineka V.I., Deineka L.A., Blinova I.P., Kostenko M.O., Oleinitz E.Yu. About chromatographic behavior of flavonoids in reversed-phase HPLC, *Sorbtsionnye I Khromatograficheskie Protssesy*. 2016; 16(3): 377-383.
8. Dmitrienko S.G., Stepanova A.V., Kudrinskaya V.A., Apyari V.V. Specifics of separation of flavonoids by reverse phase high performance liquid chromatography on the Luna 5u C18(2) column, *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2012; 67: 254-258. <https://doi.org/10.3103/S0027131412060041>
9. Tang Y., Sun A., Liu R., Zhang Y. Simultaneous determination of fangchinoline and tetrandrine in *Stephania tetrandra* S. Moore by using 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the RP-HPLC mobile phase additives, *Anal. Chim. Acta*. 2013; 767: 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.01.001>
10. Kartsova L.A., Bessonova E.A., Kolobova E.A. Ionic liquids as modifiers of chromatographic and electrophoretic systems, *Journal of Analytical Chemistry*. 2016; 71(2): 141-152. <https://doi.org/10.1134/S1061934816020064>
11. García-Alvarez-Coque M.C., Ruiz-Angel M.J., Berthod A., Carda-Broch S. On the use of ionic liquids as mobile phase additives in high-performance liquid chromatography. A review, *Anal. Chim. Acta*. 2015; 883: 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.042>
12. Axente R.E., Stan M., Chitescu C.L., Nitescu V.G., Vlasceanu A.M., Baconi D.L. Application of Ionic Liquids as Mobile Phase Additives for Simultaneous Analysis of Nicotine and Its Metabolite Cotinine in Human Plasma by HPLC–DAD, *Molecules*. 2023; 28(4): 1563. <https://doi.org/10.3390/molecules28041563>
13. Cui G., Yu H., Ma Y.J. Ionic liquids as mobile phase additives for determination of thiocyanate and iodide by liquid chromatography, *J. Sep. Sci.* 2019; 42(9): 1733-1739. <https://doi.org/10.1002/jssc.201801277>
14. Welton T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis, *Chem. Rev.* 1999; 99(8): 2071-2084. <https://doi.org/10.1021/cr980032t>
15. Ruiz-Angel M.J., Carda-Broch S., García-Álvarez-Coque M.C. Ionic liquids as mobile phase additives and immobilized on stationary phases in liquid chromatography. *Ionic Liquids in Analytical Chemistry*. Elsevier, 2022; 203-234. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823334-4.00003-5>
16. DrugBank. Available at: <https://go.drugbank.com/> (accessed: 01 August 2023).



17. Chemical Book. Available at: <https://www.chemicalbook.com/> (accessed: 01 March 2023).

18. LabNetwork. Available at: <https://www.labnetwork.com/> (accessed: 01 March 2023).

19. Wang X, Zhang S, Yao J, Li H. The polarity of ionic liquids: relationship between relative permittivity and spectroscopic parameters of probe, *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019; 58(17): 7352-7361. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00485>

Информация об авторах / Information about the authors

В.М. Разницына – аспирант кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Россия

Р.В. Шафигулин – к.х.н., доцент кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Самара, Россия

К.Ю. Виноградов – аспирант кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Россия

А.В. Буланова – д.х.н., профессор кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Самара, Россия

V.M. Raznitsyna – postgraduate student of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: v_raznitsyna@mail.ru

R.V. Shafigulin – Dr.Sci (Chemistry), associate Professor of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: shafiro@mail.ru

K.Yu. Vinogradov – postgraduate student of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: winyur@yandex.ru

A.V. Bulanova – Dr.Sci (Chemistry), professor of the Department of Physical Chemistry and Chromatography, Samara University, Russia, e-mail: av.bul@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 24.04.2023; одобрена после рецензирования 11.08.2023; принята к публикации 16.08.2023.

The article was submitted 24.04.2023; approved after reviewing 11.08.2023; accepted for publication 16.08.2023.