



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544.723

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12584

Сорбция флавоноидов из водно-ацетонитрильных растворов, содержащих имидазолиевые ионные жидкости, на октадецилсиликагеле 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 биологически активные соединения, содержащиеся в лекарственных растениях и широко использующиеся при производстве фитопрепаратов. В связи с этим, важным аспектом при их качественном и количественном определении методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ) является изучение взаимосвязи структуры сорбатов с их удерживанием и изучение влияния различных добавок на хроматографический анализ. В работе исследовано влияние структуры некоторых флавоноидов на их удерживание в системах «водно-ацетонитрильный раствор – имидазолиевая ионная жидкость (ИЖ) – октадецилсиликагель». В качестве специфических добавок в элюент использовали следующие ИЖ: 1-бутил-2,3-диметилимидазолий бромид [C4dMIM][Br], 1-бутил-3-метилимидазолий бромид [C4MIM][Br], 1-гексил-3-метилимидазолий бромид [C6MIM][Br], 1-децил-3-метилимидазолий бромид [C10MIM][Br], 1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C4dMIM][BF4], 1-гексил-3-метилимидазолий тетрафторборат [C6MIM][BF4], 1-децил-3-метилимидазолий тетрафторборат [C10MIM][BF4]. Показано, что одним из определяющих факторов, влияющих на удерживание, является планарность флавоноидов. Установлено, что планарные молекулы агликонов флавоноидов удерживаются на октадецилсиликагеле в водно-ацетонитрильных системах с ИЖ значительно сильнее, чем гликозиды флавоноидов. Показано, что природа и структура ИЖ, используемой в качестве специфической добавки к водно-ацетонитрильному элюенту, значительно изменяет величину факторов удерживания исследуемых флавоноидов. В частности, установлено, что факторы удерживания флавоноидов увеличиваются в системах с бромидными ИЖ в следующем ряду: [C4dMIM][Br] < [C4MIM][Br] < [C6MIM][Br] < [C10MIM][Br]. Удерживание флавоноидов в системах с бромидными имидазолиевыми ИЖ выше, чем в системах с аналогичными тетрафторборатными ИЖ ([C6MIM][BF4] < [C6MIM][Br] и [C10MIM][BF4] < [C10MIM][Br]). Обратная тенденция наблюдается для ИЖ, содержащих дополнительную метильную группу во втором положении имидазольного кольца: удерживание с бромидной ИЖ ниже, чем с тетрафторборатной ИЖ ([C4dMIM][BF4] > [C4dMIM][Br]). Изменения факторов удерживания в системах с различными ИЖ связано с изменением гидрофобного эффекта в системе, за счет различного влияния космотропного и хаотропного эффектов катионов и анионов ИЖ на водно-ацетонитрильный раствор. Проанализированы концентрационные зависимости факторов удерживания в рамках моделей Снайдера-Сочевинского и Сочевинского-Вахтмейстера (диапазон содержания ацетонитрила 20÷40 об.%). Получены соответствующие линейные уравнения, характеризующиеся высокими значениями коэффициентов детерминации, для которых найдены значения угловых коэффициентов в рамках рассматриваемых моделей.

Ключевые слова: флавоноиды, сорбция, 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. Сорбция флавоноидов из водно-ацетонитрильных растворов, содержащих имидазолиевые ионные жидкости, на октадецилсиликагеле в условиях ОФ ВЭЖХ // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 6. С. 975-993. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12584>



Original article

Sorption of flavonoids from aqueous acetonitrile solutions containing imidazolium ionic liquids on octadecyl silica gel under RP-HPLC conditions

Varvara M. Raznitsyna[✉], Roman V. Shafigulin, Kirill Yu. Vinogradov, Andzhela V. Bulanova
Korolev Samara National Research University, Samara, Russian Federation, v_rznitsyna@mail.ru[✉]

Abstract. Flavonoids are biologically active compounds in medicinal plants, they are widely used in the production of herbal medicines. In this regard, it is important to study the relationship between the structure of sorbates and their retention and to understand the influence of various additives on the chromatographic analysis for their qualitative and quantitative determination by reversed-phase HPLC (RP HPLC). In this paper, we studied the influence of the structure of some flavonoids on their retention in the aqueous acetonitrile solution/imidazolium ionic liquid (IL)/octadecyl silica gel systems. The following ILs were used as specific additives to the eluent: 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium bromide [C4dMIM][Br], 1-butyl-3-methylimidazolium bromide [C4MIM][Br], 1-hexyl-3-methylimidazolium bromide [C6MIM][Br], 1-decyl-3-methylimidazolium bromide [C10MIM][Br], 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium tetrafluoroborate [C4dMIM][BF₄], 1-hexyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate [C6MIM][BF₄], 1-decyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate [C10MIM][BF₄]. It was shown that the planarity of flavonoids is one of the main factors influencing the retention. It was found that planar molecules of flavonoid aglycones are retained on octadecyl silica gel in aqueous acetonitrile systems containing ILs much better than flavonoid glycosides. It was determined that the nature and structure of the IL used as a specific additive to the aqueous acetonitrile eluent significantly change the retention factors of the studied flavonoids. In particular, it was found that retention factors of flavonoids increase in systems with bromide ILs in the following series: [C₄dMIM][Br]<[C₄MIM][Br]<[C₆MIM][Br]<[C₁₀MIM][Br]. The retention of flavonoids in systems with imidazolium bromide ILs is greater than in systems with similar tetrafluoroborate ILs: ([C₆MIM][BF₄]<[C₆MIM][Br] and [C₁₀MIM][BF₄]<[C₁₀MIM][Br]). ILs containing an additional methyl group in the 2-position of the imidazole ring show the opposite trend: the retention factor with bromide ILs is lower than with tetrafluoroborate ILs ([C₄dMIM][BF₄]>[C₄dMIM][Br]). Changes in the retention factors in systems with different ILs are associated with changes in the hydrophobic effect in the system due to the different impacts of the cosmotropic and chaotropic effects of IL cations and anions on the aqueous acetonitrile solution. We analysed the concentration dependences of retention factors using the Snyder-Sochevinsky and Sochevinsky-Wachtmeister models (the range of acetonitrile content was 20÷40 vol.%). We obtained the corresponding linear equations with high values of the determination coefficients, which were used to find the angular coefficients within the considered models.

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

Acknowledgements: The study was supported by Russian Science Foundation grant 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. Sorption of flavonoids from aqueous acetonitrile solutions containing imidazolium ionic liquids on octadecyl silica gel under RP-HPLC conditions. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(6): 975-993. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12584>

Введение

Флавоноиды представляют собой полифенольные соединения сложного строения, которые широко распространены в растительном сырье. Этот класс веществ привлекает внимание благодаря ряду фармакологических и биологически активных свойств, за счет чего флавоноиды имеют большую пищевую и лекарственную ценность. Они способствуют профилактике сердечно-сосудистых заболева-

ний, обладают антиоксидантными, противомикробными и противовоспалительными свойствами [1, 2]. Обращенно-фазовая ВЭЖХ (ОФ ВЭЖХ) является одним из распространенных и универсальных методов качественного и количественного анализа состава лекарственного растительного сырья. Анализ растительных объектов сложен, поскольку в составе анализируемых образцов нередко содержится большое число фенольных соединений схожего строения и близких физико-химических свойств, что приводит к



проблемам с разделением компонентов смеси и наложению хроматографических пиков [3]. В связи с этим, подбор оптимальных хроматографических условий для разделения многокомпонентных смесей является сложной и актуальной задачей, требующей новых современных подходов, обеспечивающих наибольшую эффективность процесса. Одним из способов воздействия на селективность и эффективность хроматографического разделения является подбор органического растворителя и состава подвижной фазы, а также использование специфических добавок в элюент, например, кислот, буферных растворов или ионных жидкостей [4, 5].

Ионные жидкости (ИЖ) – соли, имеющие двойственную природу и находящиеся в жидком состоянии при температуре ниже 100°C, являются объектами исследования многих ученых [6]. Благодаря совокупности уникальных физико-химических свойств (хорошая растворяющая способность, низкое давление паров, высокая полярность, негорючесть и нетоксичность) ИЖ используются как «зеленые» растворители в катализе, органическом синтезе, экстракции, электрохимии, процессах разделения, успешно заменяя обычные летучие и токсичные органические растворители (метанол, ацетонитрил, тетрагидрофуран, ацетон) [6, 7]. ИЖ имеют высокую вязкость, но обладают хорошей растворимостью в воде и органических растворителях, поэтому чаще ИЖ используются в качестве модификаторов электрофоретических и хроматографических систем. В ряде работ показано, что природа ИЖ и их концентрация влияет на время удерживания аналитов и форму их пиков [5, 8-12]. Наиболее распространены сорбентами в ОФ ВЭЖХ служат силикагели с привитыми алкильными группами [13]. Предполагается, что ИЖ могут действовать как подаватели остаточных силанольных групп сорбентов на основе кремнезема, что мо-

жет способствовать увеличению эффективности процесса и селективности разделения [9, 14, 15]. Катионы ИЖ эффективно экранируют силанольные группы в ионизированном состоянии за счет электростатических взаимодействий, снижая их активность [15]. При определенных условиях анализа возможны случаи динамического модифицирования сорбента ионными жидкостями и реализация варианта гидрофильной хроматографии (HILIC) [9, 16, 17]. Отмечается, что ИЖ могут образовывать ионные пары различной степени гидрофобности с анализируемыми веществами, которые дальше участвуют в процессе сорбции [18, 19]. Наконец, может происходить конкурентная сорбция между молекулами ИЖ и анализируемыми веществами на границе раздела фаз [20]. Таким образом, в системах с ИЖ может реализовываться сложный механизм удерживания, включающий различные типы взаимодействий.

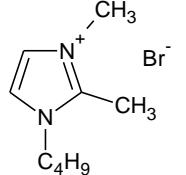
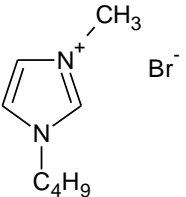
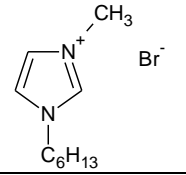
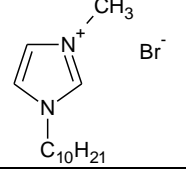
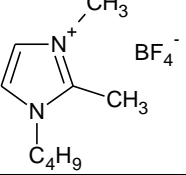
В работе [20] изучено влияние имидазолиевых ИЖ на удерживание четырех флавоноидов в ОФ ВЭЖХ в водно-ацетонитрильных системах без подкисления элюента (рН составлял около 6). Настоящее исследование является продолжением работы по изучению влияния ионных жидкостей на сорбцию биологически активных соединений в условиях ОФ ВЭЖХ. Расширен набор флавоноидов и имидазолиевых ИЖ, а также в водно-ацетонитрильные элюенты была добавлена трифторуксусная кислота для создания кислого значения рН среды.

Цель работы заключается в изучении влияния природы и структуры имидазолиевых ионных жидкостей на сорбцию некоторых флавоноидов из водно-ацетонитрильных растворов на октадецилсиликагеле в условиях ОФ ВЭЖХ.

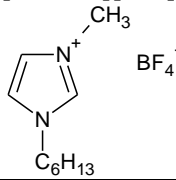
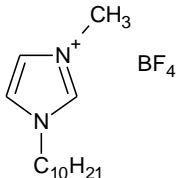
Экспериментальная часть

Исследования проводили в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). Все эксперименты выполняли в

Таблица 1. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры ионных жидкостей
 Table 1. Structural formulas and some physicochemical parameters of ionic liquids

Название и структурная формула	Mr, г/моль	Т.пл., °С	Плотность (ρ), г/см ³	LogP	Rotable Bond Count	Heavy Atom Count	Et (30), ккал·моль ⁻¹
1-бутил-2,3-диметилимидазолий бромид [C ₄ dMIM][Br] 	233.15	104	1.294 (25°C)	4.223	3	12	—
1-бутил-3-метилимидазолий бромид [C ₄ MIM][Br] 	219.12	65-75	1.300 (25°C)	3.590	3	11	51.61
1-гексил-3-метилимидазолий бромид [C ₆ MIM][Br] 	247.18	-54.9	1.230 (25°C)	4.728	5	13	50.5
1-децил-3-метилимидазолий бромид [C ₁₀ MIM][Br] 	303.28	30	1.130 (25°C)	7.004	9	17	—
1-бутил-2,3-диметилимидазолий тетрафторборат [C ₄ dMIM][BF ₄] 	240.05	38 - 40	1.198 (20°C)	5.298	3	16	49.4

Продолжение табл. 1

1-гексил-3-метил- имидазолий тетра- фторборат $[C_6MIM][BF_4]$ 	254.08	-82	1.149 (20°C)	6.200	5	17	53.6
1-децил-3-метил- имидазолий тетра- фторборат $[C_{10}MIM][BF_4]$ 	310.18	-4	1.064 (25°C)	8.476	9	21	-

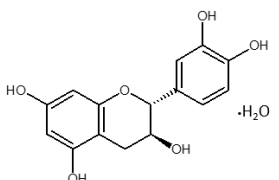
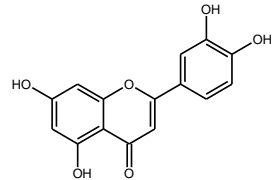
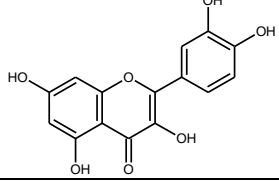
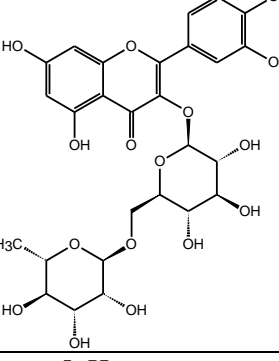
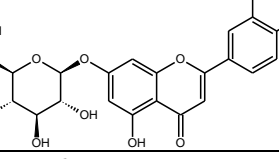
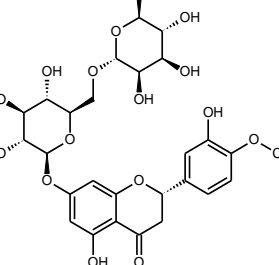
линейной области изотермы сорбции (область Генри) с предельно разбавленными растворами сорбатов. Подтверждением этому являлись симметричные хроматографические пики сорбатов и неизменность их времени выхода (в пределах ошибки эксперимента) при увеличении и уменьшении объема вводимой пробы в 3 раза от экспериментально используемой в работе. Эксперименты выполняли на жидкостном хроматографе Милихром А-02 со спектрофотометрическим детектором. Детектирование проводили при различных длинах волн (254, 280, 300 нм). Использовали неполярный коммерческих сорбент: октадецилсиликагель ProntoSil 120-5-C18 AQ – размер зерна 5 мкм, удельная площадь поверхности – 300 м²/г. Размер колонки – 75×2 мм. Температура колонки поддерживалась с помощью твердотельного электрического термостата (35°C). Хроматографические эксперименты проводили в изократическом режиме элюирования. Скорость потока элюента – 50 мкл/мин. Использовали водно-ацетонитрильные смеси в достаточно широком диапазоне концентраций (вода/ацетонитрил – 80/20, 75/25, 70/30, 65/35, 60/40 об.%). Для создания

pH среды добавляли 0.1 об.% трифторуксусной кислоты (ТФУ) (pH≈2). Перед началом хроматографического анализа элюенты дегазировали на ультразвуковой установке «МЭЛФИЗ». В качестве специфических модификаторов водно-ацетонитрильного элюента использовали коммерческие имидазолиевые ионные жидкости (ИЖ) (чистота > 96%), приобретенные у фирм «Sigma-Aldrich» (Германия), «abcг» (Германия) и «BLDpharm» (Китай). Растворы ИЖ готовили путем растворения соответствующих навесок в элюенте с последующей ультразвуковой обработкой. Наиболее оптимальная экспериментально установленная концентрация ИЖ – 2.64 ммоль/дм³. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры используемых ИЖ приведены в таблице 1.

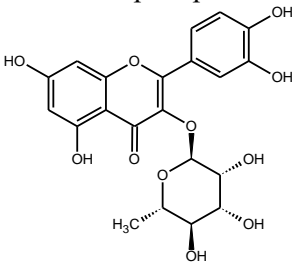
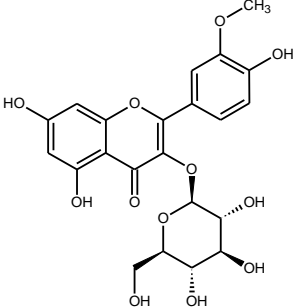
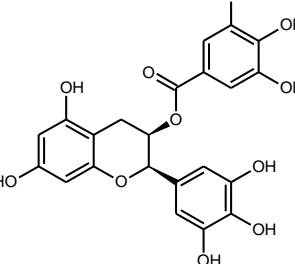
В качестве сорбатов использовали коммерческие стандарты флавоноидов (чистота > 98%), приобретенные у фирм «Sigma-Aldrich» (Германия), «abcг» (Германия) и «BLDpharm» (Китай). В таблице 2 приведены структурные формулы и некоторые физико-химические параметры исследуемых соединений. Расчёт молекулярных параметров сорбатов проводили

Таблица 2. Структурные формулы и некоторые физико-химические параметры исследуемых соединений

Table 2. Structural formulas and some physicochemical parameters of the studied compounds

	Dipole Moment Debye	Polarizability (α), a.u.	Van der Waals volume, \AA^3	Van der Waals surface, \AA^2
<p>1. (+)-катехин гидрат</p> 	6.89	207.32	251.12	284.13
<p>2. Лютеолин</p> 	6.78	270.26	237.02	265.72
<p>3. Кверцетин</p> 	6.30	286.14	243.89	271.26
<p>4. Рутин</p> 	6.47	484.63	499.75	547.40
<p>5. Цинарозид</p> 	13.72	376.15	369.42	416.33
<p>6. Гесперидин</p> 	11.82	415.26	520.54	579.41

Продолжение табл. 2

<p>7. Кверцитрин</p> 	11.56	369.71	371.26	416.74
<p>8. Изорамнетин-3-O-Glc</p> 	9.21	397.57	395.17	439.10
<p>9. (-)-EGCG ((-)-эпигалло- катехин галлат)</p> 	2.83	358.01	376.04	426.74

*Дальнейшая нумерация сорбатов соответствует нумерации в Таблице 2

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 самосогласованного реакционного поля SCRF (Self-Consistent Reaction Field).

По экспериментально полученным временам удерживания сорбатов были рассчитаны факторы удерживания (k) соединений в каждой хроматографической системе. Мертвое время определяли по времени выхода системного пика, возникающего как отклик на изменение давле-

ния при вводе пробы. Время удерживания определяли, как среднюю величину из 5 параллельных экспериментов. Ошибка, рассчитываемая как среднеквадратическое отклонение, в определении факторов удерживания не превышала 3%.

Полуэмпирические модели Снайдера-Сочевинского (1) и Сочевинского-Вахтмейстера (2) использовались для изучения влияния состава элюента на сорбцию исследуемых органических соединений.

Модель Снайдера-Сочевинского основана на представлениях о конкурентной сорбции на поверхности сорбента и изначально была разработана для нормально-фазового варианта хроматографии с локализованной сорбцией с образованием водородных связей. В настоящее время эта модель применяется и для описания

механизма удерживания в обращенно-фазовой ВЭЖХ. Модель Снайдера-Сочевинского описывается уравнением, отражающим зависимость логарифма фактора удерживания ($\log k$) от логарифма мольной доли органического модификатора подвижной фазы:

$$\log k = a - n \log X_m, \quad (1)$$

где a – константа, характеризующая компоненты растворителя; n – число молекул органического модификатора, вытесняемых при сорбции одной молекулой сорбата; X_m – мольная доля органического модификатора подвижной фазы [21-23].

Для описания удерживания в обращенно-фазовой ВЭЖХ используется уравнение Сочевинского-Вахтмейстера:

$$\log k = \log k_w - S\varphi, \quad (2)$$

где $\log k_w$ – логарифм фактора удерживания соединений при 100%-ом содержании воды в водно-органическом элюенте; S – угловой коэффициент, указывающий на интенсивность изменения фактора удерживания сорбатов от концентрации органического модификатора;

φ – объемная доля органического модификатора в элюенте [21, 23-26].

Обсуждение результатов

Удерживание флавоноидов в зависимости от их строения. Установлено, что порядок выхода исследуемых флавоноидов не меняется в зависимости от природы и структуры имидазолиевых ИЖ, содержащихся в водно-ацетонитрильном элюенте. На рис. 1 представлена сравнительная диаграмма по факторам удерживания использованных флавоноидов на октадецилсиликагеле в зависимости от их строения.

Установлено, что агликоны флавоноидов (лютеолин и кверцетин (сорбаты №№2 и 3 соответственно)) удерживаются на октадецилсиликагеле гораздо сильнее гликозидов флавоноидов (рутин, цинарозид, гесперидин, кверцитрин и изорамнетин-3-O-Glc (сорбаты №№ 4-8)). Вероятно, реализуется распределительный ме-

ханизм удерживания флавоноидов в исследуемой хроматографической системе. Происходит выталкивание менее полярных молекул флавоноидов на границу раздела из полярного водно-ацетонитрильного элюента (реализация гидрофобного эффекта полярного элюента) [27] и дальнейшее проникновение определенной части молекул в слой октадецилсиликагеля. Можно предположить, что флавоновый каркас молекул проникает во внутреннее пространство октадецилсиликагеля, а углеводный заместитель располагается над его поверхностью. Вероятно, сорбция неплоских и конформационно подвижных гликозидов флавоноидов протекает не только в слое сорбента, но и на поверхности за счет углеводного заместителя. Углеводный фрагмент молекулы способен к специфическим взаимодействиям с компонентами водно-ацетонитрильного элюента, за счет чего снижается степень проникновения агликоновой части молекулы в слой сорбента, и сорбция таких производных флавоноидов уменьшается, по сравнению с агликонами. Подобный механизм можно сопоставить с известным в литературе, так называемым «поплавочным» механизмом удерживания [28].

Отмечено, что моногликозидные производные флавоноидов удерживаются в условиях ОФ ВЭЖХ сильнее дигликозидных производных (например, дигликозид рутин элюируется раньше моногликозидов кверцитрина и изорамнетин-3-O-Glc). Это можно объяснить тем, что более объемный гликозидный заместитель сильнее взаимодействует с компонентами водно-органического элюента и не позволяет более глубоко проникать в объем октадецилсиликагеля агликоновой части соответствующих молекул. Исключение составляет пара сорбатов №№ 5 и 6 (цинарозид/гесперидин). Обе молекулы имеют углеводные заместители в 7 положении и элюируются

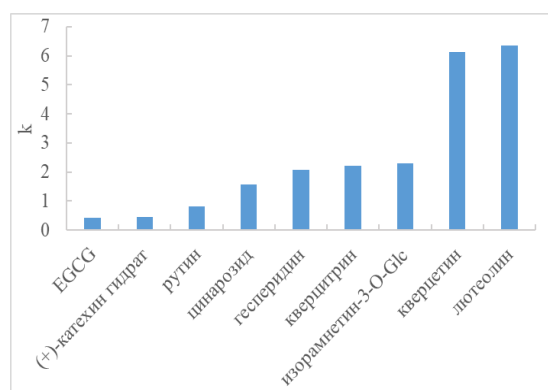


Рис 1. Порядок выхода флавоноидов на октадецилсиликагеле в зависимости от их строения (вода/ацетонитрил –75/25 об.%, 0,1% ТФУ, 35 °С).

Fig. 1. The order of flavonoids elution on octadecyl silica gel depending on their structure (water/acetonitrile –75/25 vol.%, 0.1% TFA, 35°C).

практически одновременно. По-видимому, это связано с различным строением агликоновой части этих соединений.

Реализуемый распределительный механизм удовлетворительно описывает удерживание в ряду родственных флавоноидов, относящихся к классу флавонов (лютеолин и цинарозид (сорбаты №№ 2, 5)) и флавонолов (кверцетин, рутин, кверцитрин, изорамнетин-3-O-Glc (сорбаты №№ 3, 4, 7, 8)). Установлено, что появление в структуре флавоноида более объемного полярного углеводного заместителя приводит к уменьшению удерживания соответствующих флавоноидов на октадецилсиликагеле: кверцетин > изорамнетин-3-O-Glc > кверцитрин > рутин. Кверцитрин (сорбат № 7) удерживается слабее изорамнетин-3-O-Glc (сорбат № 8), вследствие различий не только в гликозидном фрагменте, но и в флавоновом каркасе молекулы в 3'(5') положении (-ОН и -ОСН₃ группы).

При рассмотрении зависимости между фактором удерживания и дипольным моментом (рис. 2) наблюдается корреляция для большинства рассматриваемых соединений, включая флавоноиды различных классов (флавоны, флавонолы и флаваноны). Из корреляционной зависимости выбиваются производные катехинов

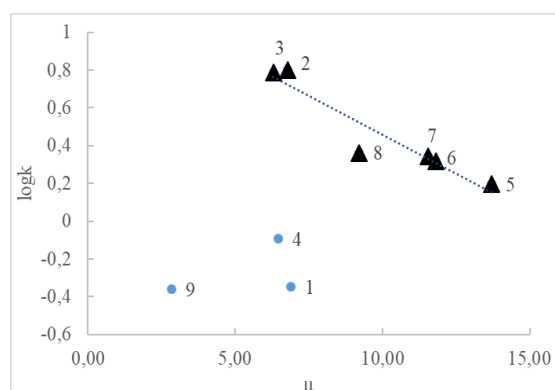


Рис 2. Зависимость факторов удерживания флавоноидов от их дипольных моментов в системах без добавок ИЖ.

Fig. 2. Dependence of flavonoid retention factors on their dipole moments in the systems without ILs additives.

(сорбаты №№ 1 и 9) и рутин (сорбат №4), относящийся к флавонолам. Рутин не входит в корреляционную зависимость за счет наличия объемного углеводного полярного заместителя, способного интенсивно взаимодействовать с компонентами полярного элюента. За счет этого, по-видимому, сорбция рутина на октадецилсиликагеле будет снижаться относительно других исследуемых флавонолов.

Молекулы (+)-катехин гидрата и кверцетина относятся к разным подклассам флавоноидов (катехинам и флавонолам соответственно), при этом обе молекулы не содержат в своей структуре гликозидных заместителей и имеют близкие величины молекулярного объема и дипольных моментов. Отмечается, что неплоская молекула (+)-катехин гидрата удерживается на октадецилсиликагеле значительно меньше молекулы кверцетина, являющейся плоской структурой [20]: их факторы удерживания отличаются в 13 раз при одинаковых условиях хроматографирования. Таким образом, удерживание флавоноидов на октадецилсиликагеле во многом зависит от строения агликоновой части молекулы.

Молекула EGCG (сорбат № 9) удерживается слабее всех исследуемых флавоноидов в изучаемых хроматогра-

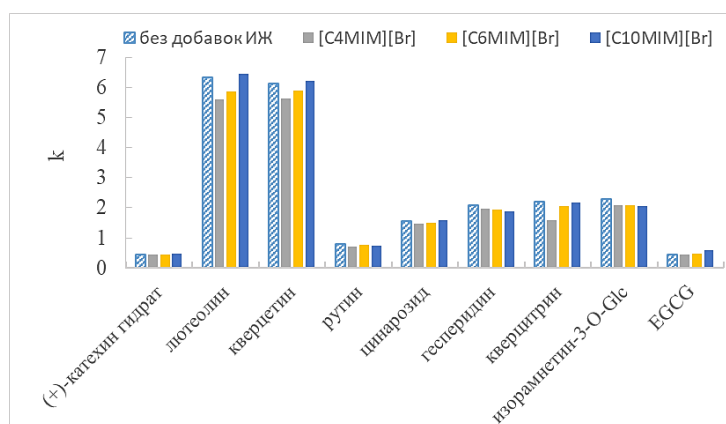


Рис. 3. Диаграмма по факторам удерживания флавоноидов на октадецилсиликагеле с бромидными ИЖ с различной гидрофобностью.

Fig. 3. Diagram of retention factors of flavonoids on octadecyl silica gel with bromide ILs with different hydrophobicity.

фических системах, но при этом характеризуется самым низким дипольным моментом и достаточно высоким объемом. Таким образом, можно предположить, что слабое удерживание EGCG также связано с непланарностью структуры и возможностью к усилению специфических взаимодействий ароматических гидроксильных групп в галлатном заместителе с подвижной фазой.

Влияние имидазолиевых ИЖ на удерживание сорбатов на октадецилсиликагеле из водно-ацетонитрильного элюента. Влияние природы и структуры имидазолиевых ИЖ на удерживание исследуемых флавоноидов рассматривается со следующих позиций:

- исходя из литературных данных наиболее часто упоминаемый механизм действия ИЖ – это блокировка остаточных силанольных групп модифицированного кремнезема, приводящая к увеличению гидрофобности сорбента [14, 29-31]. Однако, при высоком содержании воды в водно-органическом элюенте (более 50 об.%) привитые углеводородные октадецильные группы будут находиться не в щеточной, а в жидкостно-подобной конформации [32]. Эти неполярные группы будут сокращать свою поверхность (углеводородные заместители будут «переплетаться» между собой) под воздействием полярного компонента элюента (воды), и,

тем самым, будет происходить экранирование силанольных групп кремнезема. Таким образом, проникновение катиона имидазолия внутрь сорбента в данной конформации будет затруднено и настоящий механизм мало реализуем.

- возможность реализации ион-парного механизма удерживания за счет образования ионных пар между положительно заряженными имидазольными фрагментами ИЖ и отрицательными фрагментами молекул сорбатов. Удерживание в системах с ИЖ будет возрастать, по сравнению с системой без ИЖ. Такой эффект был исследован в статье [20]. Однако в исследованных системах водно-ацетонитрильные элюенты не модифицировались кислотами для понижения рН среды и флавоноиды были в диссоциированном виде, что могло способствовать реализации ион-парного механизма удерживания в ОФ ВЭЖХ. В данном исследовании молекулы флавоноидов находятся в молекулярном виде и этот механизм не реализуется;

- реализации конкурентной сорбции молекул ИЖ с сорбатами на границе раздела фаз [20];

- возможность изменения гидрофобного эффекта в системе, так как ИЖ являются солями и возможна специфическая и неспецифическая сольватации в фазе полярного водно-органического элюента.

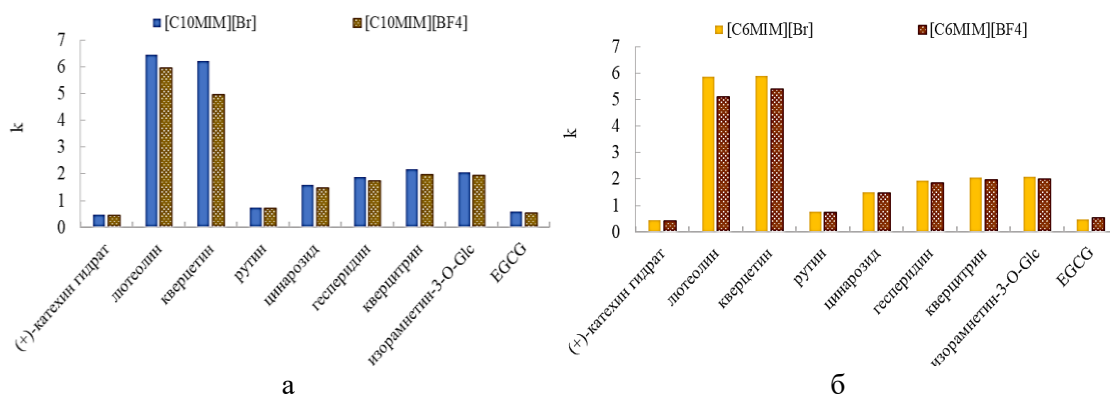


Рис. 4. Диаграмма по факторам удерживания флавоноидов на октадецилсиликагеле с ИЖ различной природы.

Fig. 4. Diagram of retention factors of flavonoids on octadecyl silica gel with ILs of different nature.

Эти процессы могут привести к дополнительной структурированности сетки водородных связей элюента и изменить интенсивность вытеснения сорбатов на границу раздела фаз.

На рис. 3 представлены сравнительные диаграммы по факторам удерживания флавоноидов на октадецилсиликагеле в системах с бромидными имидазолиевыми ИЖ различной степени гидрофобности.

Для большинства флавоноидов наблюдается тенденция к увеличению удерживания на октадецилсиликагеле в системах с бромидными ИЖ в следующем ряду: [C₄MIM][Br] - [C₆MIM][Br] - [C₁₀MIM][Br] (исключением является сорбат № 6 – гесперидин). Относительно системы без ИЖ факторы удерживания флавоноидов в системах с [C₄MIM][Br] и [C₆MIM][Br] ниже. В системе с [C₁₀MIM][Br] факторы удерживания флавоноидов сопоставимы с таковыми в системе без ИЖ, но также есть тенденция к незначительному уменьшению удерживания для большинства сорбатов.

Эти закономерности можно объяснить, во-первых, конкурентной сорбцией между молекулами сорбатов и молекулами ИЖ. Достаточно гидрофобные и объемные имидазолиевые ИЖ могут вытеснять молекулы сорбатов в объемную фазу элюента за счет конкуренции на границе раздела фаз. Удерживание в этом

случае будет снижаться, что и наблюдается в ходе настоящего эксперимента. Удерживание исследуемых флавоноидов не согласуется с вышеприведенными объяснениями, так как более гидрофобные молекулы ИЖ должны интенсивнее вытеснять молекулы флавоноидов с поверхности сорбента в объемную фазу. Таким образом, данный подход к описанию удерживания флавоноидов в системах с ИЖ не совсем правильный.

Во-вторых, в системах с ИЖ происходит изменение влияния гидрофобного эффекта на процесс вытеснения флавоноидов на границу раздела фаз. Вероятно, в системах с исследуемыми ИЖ происходит деструктурирование сетки водородных связей водно-ацетонитрильного раствора за счет сольватации анионов и катионов ионной жидкости. Это и приводит к изменению интенсивности влияния гидрофобного эффекта на процесс вытеснения молекул сорбатов в фазу сорбента, и, соответственно, к изменению факторов удерживания относительно системы без ИЖ. Автором [33] показано для большого массива различных по природе и структуре ИЖ, что чем объемнее катион ионной жидкости (в нашем случае катион имидазолия), тем выше его космотропный эффект в водной среде. Это связано с эффектом гидрофобной гидратации угледородного заместителя ИЖ молекулами воды. По-видимому, в водно-ацетонитрильном растворе этот эффект будет

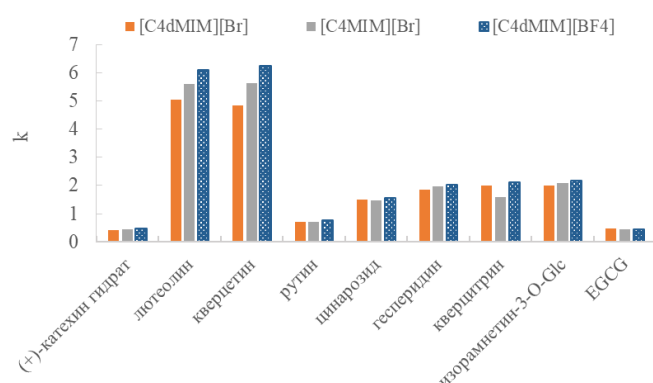


Рис. 5. Диаграмма по факторам удерживания флавоноидов на октадецилсиликагеле в системах с ИЖ – [C₄MIM][Br], [C₄dMIM][BF₄] и [C₄dMIM][Br].

Fig.5. Diagram of retention factors of flavonoids on octadecyl silica gel in systems with ILs – [C₄MIM][Br], [C₄dMIM][BF₄] and [C₄dMIM][Br].

несколько изменен за счет молекул ацетонитрила, также способных к сольватации углеводородного заместителя. В настоящем исследовании прослеживается тенденция, что чем больше ион имидазолия, тем больше его космотропное действие на водно-ацетонитрильный раствор. Это согласуется и с удерживанием сорбатов в соответствующих системах с ИЖ: факторы удерживания для большинства флавоноидов возрастают в системах в следующем порядке: [C₄MIM][Br] - [C₆MIM][Br] - [C₁₀MIM][Br].

На рис. 4 приведены сравнительные диаграммы факторов удерживания флавоноидов для систем с ИЖ с различными анионами: [C₁₀MIM][Br] - [C₁₀MIM][BF₄] и [C₆MIM][Br] - [C₆MIM][BF₄].

Показано, что для большинства флавоноидов удерживание в системах с бромидными ИЖ ([C₁₀MIM][Br] и [C₆MIM][Br]) выше, чем в системах с тетрафторборатными ИЖ ([C₁₀MIM][BF₄] и [C₆MIM][BF₄]). Это связано с тем, что бромид-ион характеризуется более выраженным космотропным эффектом, по сравнению с тетрафторборатным ионом [33]. Водно-ацетонитрильные системы с бромидными ИЖ ([C₁₀MIM][Br] и [C₆MIM][Br]) будут более структурированы и интенсивность выталкивания флавоноидов на границу раздела фаз будет выше, по сравнению с системами с тетрафторборатными ИЖ.

Наблюдаются специфические закономерности удерживания флавоноидов в системах с ИЖ, имеющими дополнительные алкильные заместители в имидазольном фрагменте – [C₄MIM][Br], [C₄dMIM][BF₄] и [C₄dMIM][Br] (рис. 5).

Для большинства флавоноидов прослеживается увеличение удерживания в системах с ИЖ в следующем ряду: [C₄dMIM][Br] - [C₄MIM][Br] - [C₄dMIM][BF₄]. Таким образом, можно предположить, что для бромидных имидазолиевых ИЖ катион [C₄dMIM]⁺ будет обладать более выраженным хаотропным эффектом для водно-ацетонитрильного элюента, чем [C₄MIM]⁺. Интересно, что в системе с [C₄dMIM][BF₄] флавоноиды удерживаются сильнее, чем в системах с бромидными ИЖ ([C₄dMIM][Br] и [C₄MIM][Br]). Таким образом, ионная жидкость [C₄dMIM][BF₄] проявляет большую способность к структурированию водно-ацетонитрильного раствора и усилению гидрофобного эффекта. Этот эффект требует дополнительного осмысления и проведения дополнительных экспериментов.

Полуэмпирические модели удерживания. При анализе концентрационных зависимостей факторов удерживания флавоноидов в изучаемых хроматографических системах были использованы полуэмпирические модели Снайдера-Сочевинского и Сочевинского-Вахтмейстера.

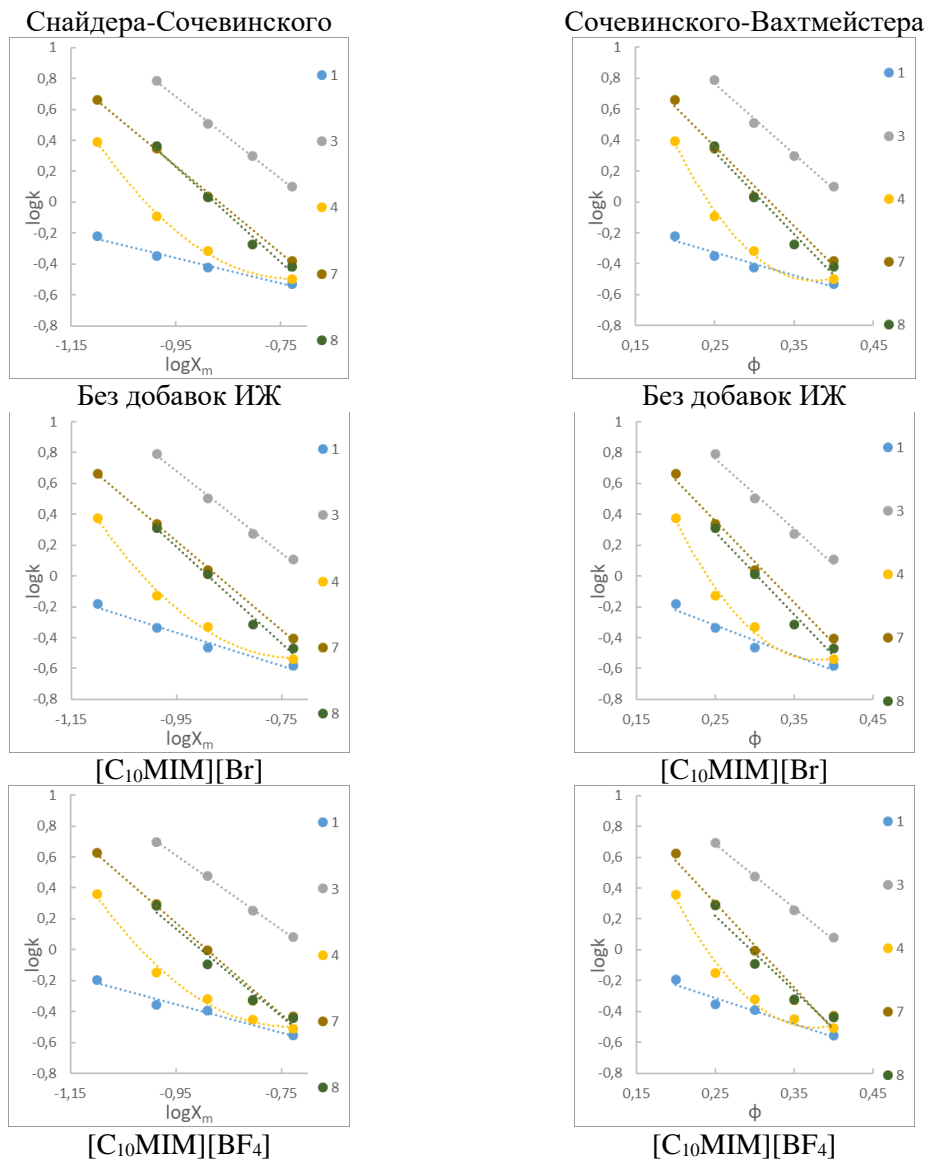


Рис. 6. Концентрационные зависимости факторов удерживания на основании полуэмпирических моделей Снайдера-Сочевинского и Сочевинского-Вахтмейстера для некоторых флавоноидов в системах с добавками различных имидазолиевых ионных жидкостей.

Fig. 6. Dependences in Snyder-Soczewinski and Soczewinski–Wachtmeister coordinates for some flavonoid systems with addition of different imidazolium ionic liquids.

Для большинства флавоноидов (кроме рутина (сорбат № 4)) были получены линейные зависимости с удовлетворительными коэффициентами детерминации (рис. 6).

Из анализа линейных зависимостей видно, что удерживание рутина не удовлетворительно описывается с помощью используемых полуэмпирических моделей. На основании линейных зависимо-

стей были получены уравнения и определены угловые коэффициенты соответствующих моделей (таблица 3).

Концентрационные зависимости для агликонов флавоноидов характеризуются более высокими коэффициентами детерминации, по сравнению с флавоноидами, содержащими углеводные заместители. Вероятно, углеводные заместители будут усиливать специфические взаимодействия с полярными компонентами водно-ацетонитрильного элюента, и за счет этого

Таблица 3. Уравнения, полученные в координатах полуэмпирических моделей Снайдера-Сочевинского и Сочевинского-Вахтмейстера (содержание ацетонитрила 20÷40 об.%)

Table 3. Equations obtained within the framework of semiempirical Snyder–Socze wiński and Socze wiński–Wachtmeister models (acetonitrile content 20÷40 vol.%)

№*	Снайдера-Сочевинского		Сочевинского-Вахтмейстера	
	Уравнение	R ²	Уравнение	R ²
Без добавок ИЖ				
1	$\log k = -0.82 \log X_m - 1.14$	0.98	$\log k = -1.49\varphi + 0.05$	0.95
2	$\log k = -2.74 \log X_m - 1.91$	0.99	$\log k = -4.70\varphi + 1.95$	0.99
3	$\log k = -2.65 \log X_m - 1.83$	0.99	$\log k = -4.55\varphi + 1.90$	0.99
4	$\log k = -2.32 \log X_m - 2.27$	0.90	$\log k = -4.14\varphi + 1.06$	0.85
5	$\log k = -2.56 \log X_m - 2.38$	0.95	$\log k = -4.65\varphi + 1.33$	0.92
6	$\log k = -3.03 \log X_m - 2.70$	0.99	$\log k = -5.53\varphi + 1.70$	0.97
7	$\log k = -2.82 \log X_m - 2.45$	0.99	$\log k = -5.17\varphi + 1.65$	0.99
8	$\log k = -3.10 \log X_m - 2.71$	0.99	$\log k = -5.30\varphi + 1.65$	0.97
9	–	–	–	–
[C ₄ dMIM][Br]				
1	$\log k = -0.63 \log X_m - 0.98$	0.98	$\log k = -1.14\varphi - 0.07$	0.95
2	$\log k = -2.64 \log X_m - 1.90$	0.99	$\log k = -4.53\varphi + 1.82$	0.99
3	$\log k = -2.43 \log X_m - 1.71$	0.99	$\log k = -4.18\varphi + 1.72$	0.99
4	$\log k = -2.10 \log X_m - 2.10$	0.87	$\log k = -3.74\varphi + 0.91$	0.81
5	$\log k = -2.49 \log X_m - 2.34$	0.94	$\log k = -4.52\varphi + 1.27$	0.91
6	$\log k = -2.85 \log X_m - 2.57$	0.96	$\log k = -5.18\varphi + 1.56$	0.93
7	$\log k = -2.67 \log X_m - 2.38$	0.98	$\log k = -4.87\varphi + 1.50$	0.96
8	$\log k = -2.70 \log X_m - 2.43$	0.94	$\log k = -4.58\varphi + 1.36$	0.91
9	$\log k = -0.84 \log X_m - 1.12$	0.97	$\log k = -1.54\varphi + 0.10$	0.93
[C ₄ MIM][Br]				
1	$\log k = -0.73 \log X_m - 1.05$	0.96	$\log k = -1.31\varphi - 0.01$	0.93
2	$\log k = -2.54 \log X_m - 1.77$	0.99	$\log k = -4.36\varphi + 1.82$	0.99
3	$\log k = -2.49 \log X_m - 1.71$	0.99	$\log k = -4.27\varphi + 1.80$	0.99
4	$\log k = -1.96 \log X_m - 1.94$	0.84	$\log k = -3.48\varphi + 0.87$	0.78
5	$\log k = -2.46 \log X_m - 2.30$	0.95	$\log k = -4.47\varphi + 1.26$	0.92
6	$\log k = -2.74 \log X_m - 2.40$	0.99	$\log k = -5.00\varphi + 1.57$	0.97
7	$\log k = -2.55 \log X_m - 2.26$	0.97	$\log k = -4.61\varphi + 1.42$	0.93
8	$\log k = -2.92 \log X_m - 2.63$	0.94	$\log k = -4.96\varphi + 1.47$	0.92
9	–	–	–	–
[C ₆ MIM][Br]				
1	$\log k = -0.92 \log X_m - 1.24$	0.99	$\log k = -1.71\varphi + 0.11$	0.99
2	$\log k = -2.70 \log X_m - 1.90$	0.99	$\log k = -4.64\varphi + 1.91$	0.99
3	$\log k = -2.54 \log X_m - 1.75$	0.99	$\log k = -4.37\varphi + 1.84$	0.99
4	$\log k = -2.16 \log X_m - 2.14$	0.89	$\log k = -3.86\varphi + 0.98$	0.83
5	$\log k = -2.54 \log X_m - 2.38$	0.96	$\log k = -4.62\varphi + 1.30$	0.93
6	$\log k = -2.92 \log X_m - 2.61$	0.98	$\log k = -5.33\varphi + 1.63$	0.96
7	$\log k = -2.75 \log X_m - 2.41$	0.99	$\log k = -5.05\varphi + 1.59$	0.98
8	$\log k = -2.95 \log X_m - 2.63$	0.98	$\log k = -5.03\varphi + 1.52$	0.96
9	–	–	–	–
[C ₁₀ MIM][Br]				
1	$\log k = -1.08 \log X_m - 1.39$	0.98	$\log k = -1.95\varphi + 0.17$	0.95
2	$\log k = -2.79 \log X_m - 1.97$	0.99	$\log k = -4.78\varphi + 1.96$	0.98
3	$\log k = -2.67 \log X_m - 1.85$	0.99	$\log k = -4.57\varphi + 1.91$	0.99
4	$\log k = -2.37 \log X_m - 2.35$	0.91	$\log k = -4.24\varphi + 1.06$	0.86



Продолжение табл. 3

5	$\log k = -2.80\log X_m - 2.63$	0.95	$\log k = -5.09\varphi + 1.43$	0.93
6	$\log k = -2.75\log X_m - 2.46$	0.99	$\log k = -5.04\varphi + 1.54$	0.98
7	$\log k = -2.88\log X_m - 2.51$	0.99	$\log k = -5.28\varphi + 1.68$	0.99
8	$\log k = -3.12\log X_m - 2.77$	0.99	$\log k = -5.34\varphi + 1.62$	0.98
9	–	–	–	–
[C ₄ dMIM][BF ₄]				
1	$\log k = -0.78\log X_m - 1.07$	0.99	$\log k = -1.43\varphi + 0.06$	0.99
2	$\log k = -2.65\log X_m - 1.85$	0.99	$\log k = -4.54\varphi + 1.89$	0.99
3	$\log k = -2.60\log X_m - 1.79$	0.99	$\log k = -4.45\varphi + 1.88$	0.98
4	$\log k = -2.18\log X_m - 2.15$	0.89	$\log k = -3.90\varphi + 1.00$	0.84
5	$\log k = -2.50\log X_m - 2.32$	0.95	$\log k = -4.55\varphi + 1.31$	0.92
6	$\log k = -2.87\log X_m - 2.55$	0.97	$\log k = -5.23\varphi + 1.62$	0.95
7	$\log k = -2.72\log X_m - 2.36$	0.99	$\log k = -4.98\varphi + 1.60$	0.98
8	$\log k = -3.00\log X_m - 2.65$	0.98	$\log k = -5.13\varphi + 1.58$	0.97
9	–	–	–	–
[C ₆ MIM][BF ₄]				
1	$\log k = -0.64\log X_m - 0.98$	0.95	$\log k = -1.15\varphi - 0.07$	0.91
2	$\log k = -2.66\log X_m - 1.92$	0.99	$\log k = -4.57\varphi + 1.83$	0.99
3	$\log k = -2.63\log X_m - 1.87$	0.99	$\log k = -4.52\varphi + 1.84$	0.99
4	$\log k = -2.05\log X_m - 2.03$	0.88	$\log k = -3.65\varphi + 0.92$	0.82
5	$\log k = -2.51\log X_m - 2.35$	0.93	$\log k = -4.55\varphi + 1.28$	0.90
6	$\log k = -2.75\log X_m - 2.47$	0.96	$\log k = -4.98\varphi + 1.51$	0.93
7	$\log k = -2.68\log X_m - 2.38$	0.98	$\log k = -4.89\varphi + 1.51$	0.96
8	$\log k = -2.72\log X_m - 2.45$	0.95	$\log k = -4.62\varphi + 1.37$	0.92
9	$\log k = -1.21\log X_m - 1.47$	0.93	$\log k = -2.27\varphi + 0.30$	0.95
[C ₁₀ MIM][BF ₄]				
1	$\log k = -0.93\log X_m - 1.23$	0.97	$\log k = -1.70\varphi + 0.11$	0.95
2	$\log k = -2.86\log X_m - 2.06$	0.99	$\log k = -4.90\varphi + 1.97$	0.99
3	$\log k = -2.40\log X_m - 1.67$	0.99	$\log k = -4.78\varphi + 1.96$	0.98
4	$\log k = -2.26\log X_m - 2.26$	0.90	$\log k = -4.09\varphi + 1.01$	0.85
5	$\log k = -2.59\log X_m - 2.44$	0.95	$\log k = -4.70\varphi + 1.31$	0.92
6	$\log k = -2.59\log X_m - 2.36$	0.97	$\log k = -4.72\varphi + 1.39$	0.94
7	$\log k = -2.96\log X_m - 2.64$	0.99	$\log k = -5.46\varphi + 1.67$	0.98
8	$\log k = -2.83\log X_m - 2.56$	0.97	$\log k = -4.82\varphi + 1.42$	0.94
9	$\log k = -1.01\log X_m - 1.28$	0.99	$\log k = -1.74\varphi + 0.15$	0.98

будут некоторые отклонения от линейности на фазах с содержанием ацетонитрила более 30 об.% (особенно это проявляется для рутина (сорбат № 4)). Однако, при сравнении угловых коэффициентов модели Снайдера-Сочевинского для агликонов и гликозидов флавоноидов (лютеолин, кверцетин, цинарозид, гесперидин, кверцитрин и изорамнетин-3-О-гликозид (сорбаты №№ 2, 3, 5, 6, 7, 8 соответственно)) видно, что их коэффициенты примерно одинаковы ($n \pm 0.3$). Однако разница в объемах, например, для

пары сорбатов №№ 3 и 6 (кверцетин/гесперидин), значительная. Это косвенно указывает на то, что в целом механизм удерживания этих сорбатов одинаковый. В основном сорбция связана с неспецифическими взаимодействиями с октадецилсиликагелем, а также влиянием гидрофобного эффекта полярного элюента. Можно предположить, что взаимодействия с сорбентом в основном будут осуществляться за счет флавонового каркаса молекул. Однако, наличие объемных углеводных заместителей у гликозидов

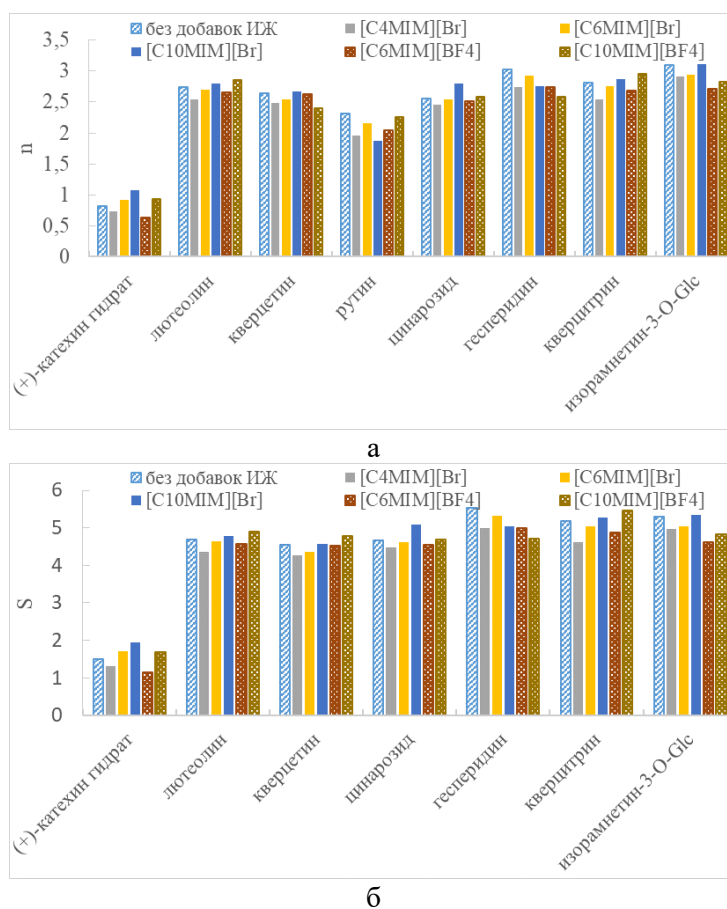


Рис. 7. Угловые коэффициенты для флавоноидов, полученные по моделям а – Снай-дера-Сочевинского и б – Сочевинского-Вахтмейстера, для систем с различным имидазолиевыми ИЖ.

Fig. 7. Angular coefficients for flavonoids obtained from the a – Snyder-Soczewiński and b – Soczewiński-Wachtmeister models for systems with addition of different imidazolium ILs.

флавоноидов будет приводить к некоторым специфическим пространственным ориентациям их относительно сорбента. Наименьшими значениями угловых коэффициентов характеризуются катехин и EGCG. Эти молекулы не планарные и, вероятно, их ориентация на границе раздела будет сильно отличаться от ориентации планарных молекул кверцетина и лютеолина.

На рис. 7 представлены сравнительные диаграммы по угловым коэффициентам в некоторых исследуемых системах.

Установлено, что значения угловых коэффициентов соответствующих полумпирических моделей значительно различаются в системах с разными ИЖ и в системе без ИЖ. Для флавоноидов про-

слеживается тенденция к увеличению угловых коэффициентов в системах с ИЖ в следующем ряду: $[C_4MIM][Br]$ - $[C_6MIM][Br]$ - $[C_{10}MIM][Br]$. В системах с $[C_{10}MIM][BF_4]$ большинство флавоноидов имеют большие значения угловых коэффициентов, по сравнению с системой $[C_6MIM][BF_4]$. Таким образом, можно сделать вывод о том, что структура ИЖ очень сильно влияет на их сорбцию на октадецилсиликагеле из водно-ацетонитрильного элюента. Добавление ИЖ к водно-ацетонитрильному элюенту позволяет либо ослаблять сорбцию, либо ее усиливать на октадецилсиликагеле относительно системы без ИЖ. При этом механизм удерживания остается прежним и связан в основном с конкурентной сорб-



цией и гидрофобным эффектом подвижной фазы. Таким образом, с помощью имидазолиевых ионных жидкостей можно изменять элюирующую силу водно-ацетонитрильных элюентов, а на основании полученных уравнений можно прогнозировать удержание исследуемых флавоноидов на октадецилсиликагеле.

Заключение

В работе изучено хроматографическое поведение девяти флавоноидов различной структуры, а также рассмотрено влияние добавок имидазолиевых ионных жидкостей (ИЖ) различной природы в водно-ацетонитрильный элюент на удержание исследуемых соединений.

Установлено, что планарные молекулы флавоноидов удерживаются на октадецилсиликагеле сильнее, чем более объемные и конформационно подвижные структуры. Гликозиды флавоноидов характеризуются меньшими временами выхода, чем соответствующие агликоны. Для большей выборки соединений наблюдается корреляция между удерживанием и дипольным моментом молекул.

Были рассмотрены и предложены механизмы действия имидазолиевых ИЖ на удержание флавоноидов на октадецилсиликагеле.

Показано, что времена выхода соединений уменьшается при добавлении имидазолиевых ИЖ в водно-ацетонитрильный элюент. При этом с ростом углеводородного заместителя в катионе имидазолия бромидных ИЖ наблюдается тенденция к увеличению удерживания практически всех флавоноидов (за исключением

гесперидина) ($[C_4MIM][Br] < [C_6MIM][Br] < [C_{10}MIM][Br]$).

Удержание флавоноидов в системах с тетрафторборатными ИЖ ниже, чем в системах с соответствующими бромидными ИЖ. Это связано с тем, что тетрафторборатный анион характеризуется более выраженным хаотропным эффектом, деструктурирующим водно-ацетонитрильный элюент, по сравнению с бромидным анионом.

Обратная картина наблюдается при использовании ИЖ, содержащих дополнительную метильную группу во 2 положении имидазольного кольца: удержание флавоноидов выше в системах с тетрафторборатными ИЖ ($[C_4dMIM][Br] < [C_4dMIM][BF_4]$). Вероятно, это связано с более хаотропным эффектом катиона $[C_4dMIM]^+$, превалирующим над вкладом анионов в эти эффекты.

Для всех сорбатов (кроме рутина) установлена удовлетворительная выполнимость полуэмпирических моделей удерживания Снайдера-Сочевинского и Сочевинского-Вахтмейстера в диапазоне концентраций содержания ацетонитрила 20÷40 об.%. Уравнения, полученные в рамках рассматриваемых моделей, характеризуются высокими коэффициентами детерминации.

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.

Список литературы/References

1. Tungmunnithum D., Thongboonyou A., Pholboon A., Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview, *Medicines*. 2018; 5(3): 93. <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>
2. Mutha R.E., Tatiya A.U., Surana S.J. Flavonoids as natural phenolic compounds and

their role in therapeutics: An overview, *Future journal of pharmaceutical sciences*. 2021; 7: 1-13. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00161-8>

3. Mizzi L., Chatzitzika C., Gatt R., Val-dramidis V. HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids with overlapping peaks, *Food technology and biotechnology*. 2020; 58(1): 12-19. <https://doi.org/10.17113/ftb.58.01.20.6395>

4. Deineka V.I., Oleinits E.Y., Blinova I.P., Deineka, L.A. Selectivity Control of the



Separation of Anthocyanins: Replacing Acetonitrile for Methanol in the Mobile Phase, *J. Anal. Chem.* 2021; 76: 939-945. <https://doi.org/10.1134/S1061934821060022>

5. Li S., Tian M., Row K. H. Effect of mobile phase additives on the resolution of four bioactive compounds by RP-HPLC, *Int. J. Mol. Sci.* 2010; 11(5): 2229-2240. <https://doi.org/10.3390/ijms11052229>

6. Qiu H., Mallik A.K., Takafuji M., Jiang S., Ihara H. Ionic liquids in liquid chromatography. *Handbook of ionic liquids: properties, applications and hazards.* 2012. 325-350.

7. Ho T.D., Zhang C., Hantao L.W., Anderson J.L. Ionic liquids in analytical chemistry: fundamentals, advances, and perspectives, *Anal. Chem.* 2014; 86(1): 262-285. <https://doi.org/10.1021/ac4035554>

8. David V., Moldoveanu S.C. Ionic Liquids in Liquid Chromatography, *In Analytical Liquid Chromatography-New Perspectives.* 2022; 1-16. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.104122>

9. Fan Z., Yu H. Determination of piperidinium cations by hydrophilic interaction chromatography with imidazolium ionic liquids as mobile phase additives, *J. Anal. Chem.* 2019; 74: 126-133. <https://doi.org/10.1134/S1061934819020059>

10. He L., Zhang W., Zhao L., Liu X., Jiang S. Effect of 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the eluent on the separation of ephedrine by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.* 2003; 1007(1-2): 39-45. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00987-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00987-7)

11. 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>

12. Petruczynik A. Effect of ionic liquid additives to mobile phase on separation and system efficiency for HPLC of selected alkaloids on different stationary phases, *Journal of chromatographic science.* 2012; 50(4): 287-293. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms004>

13. Yashin Y.I., Yashin A.Y. Sorbents for HPLC. Current state and new directions of development (Overview), *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protsessy.* 2021; 21(2): 235-245.

<https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2021.21/3357> (In Russ.)

14. Carda-Broch S., García-Alvarez-Coque M.C., Ruiz-Angel M.J. Extent of the influence of phosphate buffer and ionic liquids on the reduction of the silanol effect in a C18 stationary phase, *J. Chromatogr. A.* 2018; 1559: 112-117. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.061>

15. Trujillo-Rodríguez M.J., Nan H., Varrona M., Emaus M.N., Souza I.D., Anderson J.L. Advances of ionic liquids in analytical chemistry, *Anal. Chem.* 2018; 91(1): 505-531. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04710>

16. Somova V.D., Bessonova E.A., Kartsova L.A. A new version of hydrophilic interaction liquid chromatography with the use of ionic liquids based on imidazole for the determination of highly polar drugs in body fluids, *Analitika i kontrol' [Analytics and Control].* 2017; 21(3): 241-250. <http://dx.doi.org/10.15826/analitika.2017.21.3.004> (In Russ.)

17. Peris-García E., Burgos-Gil R., García-Alvarez-Coque M.C., Ruiz-Angel M.J. Hydrophilic liquid chromatography versus reversed-phase liquid chromatography in the absence and the presence of 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride for the analysis of basic compounds, *Separations.* 2020; 7(2): 30. <https://doi.org/10.3390/separations7020030>

18. Zhang Y.N., Yu H., Ma Y.J., Cui G. Imidazolium ionic liquids as mobile phase additives in reversed phase liquid chromatography for the determination of iodide and iodate, *Anal. Bioanal. Chem.* 2018; 410: 7347-7355. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1347-5>

19. Zhang Y.N., Yu H. Imidazolium ionic liquids as mobile phase additives in reversed phase liquid chromatography for the analysis of anions, *Chromatographia,* 2017; 80: 1615-1622. <https://doi.org/10.1007/s10337-017-3409-9>

20. 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. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11568> (In Russ.)

21. Komsta Ł. A new general equation for retention modeling from the organic modifier content of the mobile phase, *Acta Chromatographica.* 2010; 22(2): 267-279. <https://doi.org/10.1556/achrom.22.2010.2.9>



22. Soczewinski E. Solvent composition effects in thin-layer chromatography systems of the type silica gel-electron donor solvent, *Anal. Chem.* 1969; 41(1): 179-182. <https://doi.org/10.1021/ac60270a035>
23. Soczewinski E. Mechanistic molecular model of liquid-solid chromatography: Retention-eluent composition relationships, *J. Chromatogr. A.* 2002; 965(1-2): 109-116. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01278-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01278-X)
24. Pitucha M., Matysiak J., Senczyna B. Synthesis and RP HPLC studies of biologically active semicarbazides and their cyclic analogues 1, 2, 4-triazol-3-ones, *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly.* 2012. 143: 657-667. <https://doi.org/10.1007/s00706-011-0715-z>
25. Soczewinski E., Wachtmeister C.A. The relation between the composition of certain ternary two-phase solvent systems and RM values, *J. Chromatogr. A.* 1962. 7: 311-320. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)86422-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)86422-0)
26. Snyder L.R., Dolan J.W., Gant J.R. Gradient elution in high-performance liquid chromatography: I. Theoretical basis for reversed-phase systems, *J. Chromatogr. A.* 1979. 165(1): 3-30. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)85726-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)85726-X)
27. Civadze A.Ju. Cтруктурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз. Москва, LKI, 2008, 544 p
28. Deineka V.I., Deineka L.A., Saenko I.I., Chulkov A.N. A float mechanism of retention in reversed-phase chromatography, *Russian Journal of Physical Chemistry A.* 2015. 89: 1300-1304. <https://doi.org/10.1134/S0036024415070079>
29. 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>
30. Buszewska-Forajta M., Markuszewski M.J., Kaliszan R. Free silanols and ionic liquids as their suppressors in liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.* 2015; 1559: 17-43. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.002>
31. Marszał M.P., Bączek T., Kaliszan R. Reduction of silanophilic interactions in liquid chromatography with the use of ionic liquids, *Anal. Chim. Acta.* 2005; 547(2): 172-178. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.05.045>
32. Lisichkin G.V. Khimija Privitykh Poverhnostnykh Soedinenij. M., Fizmatlit, 2003, 592 p.
33. Zhao H. Are ionic liquids kosmotropic or chaotropic? An evaluation of available thermodynamic parameters for quantifying the ion kosmotropicity of ionic liquids. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology* 2006; 81(6): 877-891. <https://doi.org/10.1002/jctb.1449>

Информация об авторах / Information about the authors

В.М. Разницына – аспирант кафедры физической химии и хроматографии, Самарский университет, Самара, 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, Самара, 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, Samara, 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, Samara, Russia, e-mail: shafiro@mail.ru

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

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

Статья поступила в редакцию 06.05.2024; одобрена после рецензирования 03.09.2024; принята к публикации 04.09.2024.

The article was submitted 06.05.2024; approved after reviewing 03.09.2024; accepted for publication 04.09.2024.