

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 543.544

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12586

Влияние гидроксильных и метоксильных групп на удерживание некоторых фенольных соединений

Виктор Иванович Дейнека^{1✉}, Сергей Вадимович Симаков¹,
Иван Станиславович Пронин¹, Людмила Александровна Дейнека¹,
Ирина Петровна Блинова¹, Владимир Федорович Селеменев²,
Татьяна Викторовна Елисеева²

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия,
deineka@bsuedu.ru[✉]

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. В работе рассмотрено влияние введения двух (гидроксильной и метоксильной) важнейших для природных фенольных соединений функциональных групп на удерживание соединений в обращенно-фазовой ВЭЖХ. В предлагаемом подходе не рекомендуется использовать для расчетов или выводов удерживание веществ в случайно выбранной хроматографической системе, а следует использовать только асимптотическое удерживание веществ в элюентах с нулевым содержанием органического модификатора. Анализ результатов по удерживанию однотипных гликозидов шести основных природных антоцианидинов и набора часто встречающихся в природных объектах обычных замещенных коричневых кислот показал, что добавление ОН-групп в бензольное кольцо в одно или оба *мета*-положения (*para*-положение в этих соединениях занято ОН-группой) всегда приводит к росту гидрофильности молекул. При этом добавление метокси-групп в те же положения приводит к росту гидрофобности по удерживанию в подвижных фазах с нулевым содержанием органического модификатора, хотя порядок элюирования в случайно выбранных составах подвижных фаз может изменяться. Для двух редко встречающихся в природных объектах замещенных коричневых кислот – 4-метоксикоричной и 3,4-диметоксикоричной получены уникальные результаты. Так при добавлении к коричневой кислоте метокси-группы в положение 4 липофильность возрастает, но незначительно. А добавление второй метокси-группы в положение 3 вместо роста липофильности приводит к существенному уменьшению этого параметра. Для объяснения полученного результата привлечены расчеты по AM1 в программе HyperChem и по методу молекулярной механики ММ в программе Chen3D. Последний метод предсказывает расположение атомов метокси-группы (кроме атомов водорода) в плоскости молекулы, тогда как вторая метокси-группа, добавляемая в орто-положение к уже существующей метокси-группе, из-за стерических напряжений выводится из плоскости молекулы, что позволило объяснить неэквивалентность двух метокси-групп в орто-положении друг к другу.

Ключевые слова: обращенно-фазовая ВЭЖХ, функциональные группы, гидроксильные, метоксильные, влияние на удерживание.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект FZGU-2023-0009.

Для цитирования: Дейнека В.И., Симаков С.В., Пронин И.С., Дейнека Л.А., Блинова И.П., Селеменев В.Ф., Елисеева Т.В. Влияние гидроксильных и метоксильных групп на удерживание некоторых фенольных соединений // Сорбционные и хроматографические процессы. 2024. Т. 24, № 6. С. 994-1002. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12586>

Original article

The influence of hydroxyl and methoxyl groups on the retention of some phenolic compounds

Victor I. Deineka^{1✉}, Sergei V. Simakov¹, Ivan S. Pronin¹, Lyudmila A. Deineka¹,
Irina P. Blinova¹, Vladimir F. Selemenev², Tatiana V. Eliseeva²

¹Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation, deineka@bsuedu.ru✉

²Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

Abstract. The paper examines the effect of the introduction of two (hydroxy and methoxy) functional groups that are most important for natural phenolic compounds on the retention of compounds in reverse-phase HPLC. In the proposed approach, it is not recommended to use the retention of substances in a randomly selected chromatographic system for calculations or conclusions, but to use only the asymptotic retention of substances in eluents with zero organic modifier content.

Analysis of the results on the retention of similar glycosides of six main natural anthocyanidins and a set of common substituted cinnamic acids often found in natural objects showed that the addition of OH groups to the benzene ring in one or both meta positions (the para position in these compounds is occupied by the OH group) always leads to an increase in the hydrophilicity of molecules. In this case, the addition of methoxy groups to the same positions leads to an increase in hydrophobicity in terms of retention in mobile phases with zero organic modifier content, although the order of elution in randomly selected compositions of mobile phases may change. For two substituted cinnamic acids, 4-methoxycinnamic and 3,4-dimethoxycinnamic, which are rarely found in natural objects, unique results were obtained. Thus, when a methoxy group is added to cinnamic acid at position 4, the lipophilicity increases, but only slightly. And the addition of a second methoxy group to position 3, instead of increasing lipophilicity, leads to a significant decrease in this parameter. To explain the obtained result, calculations using AM1 in the HyperChem program and using the MM molecular mechanics method in the Chen3D program were used. The latter method predicts the location of the atoms of the methoxy group (except hydrogen atoms) in the plane of the molecule, while the second methoxy group, added in the *ortho* position to the already existing methoxy group, is moved out of the plane of the molecule due to steric effects, which made it possible to explain the nonequivalence two methoxy groups in *ortho* position to each other.

Keywords: reverse phase HPLC, functional groups, hydroxyl, methoxy, effect on retention.

Acknowledgments: the study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the state assignment to universities in the field of scientific activity for 2023-2025, project FZGU-2023-0009.

For citation: Deineka V.I., Simakov S.V., Pronin I.S., Deineka L.A., Blinova I.P., Selemenev V.F., Eliseeva T.V. The influence of hydroxyl and methoxyl groups on the retention of some phenolic compounds. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(6): 994-1002. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12586>

Введение

До конца XX-го века в хроматографии важным направлением был подход, по которому предполагалось, что изменение удерживания базового вещества А, в структуру которого добавлены некоторые функциональные группы, можно рассчитать, если известны вклады (инкременты) этих функциональных групп [1] в удерживание, по формуле:

$\lg k(A^*) = \lg k(A) + \sum_i n(i) \cdot \Delta(i)$, (1)
где $\lg k(A)$ и $\lg k(A^*)$ – логарифмы факторов удерживания базового соединения

(А) и его производного, полученного добавлением функциональных групп i , количество каждого вида которых равно $n(i)$, с инкрементами $\Delta(i)$ для каждой из функциональных групп. Разумеется, такой подход не применим к соединениям со стерическими затруднениями в доступе к функциональным группам. К сожалению, к настоящему времени вследствие ошибок в понимании и в способе использования от инкрементного подхода практически полностью отказались, перейдя к другим направлениям в рамках QSRR [2]. Однако, как было показано в

серии работ, выполненных в НИУ БелГУ [3-5], корректное использование инкрементного подхода на самом деле позволяет добиться превосходных результатов, например, в определении состава триацилглицеринов по удерживанию и в предсказании удерживания при изменении строения.

Из множества возможных функциональных групп две – гидроксильная и метоксильная, – имеют большое значение в химии многих типов фенольных соединений [6]. Один из основных методов их разделения и определения – высокоэффективная жидкостная хроматография [7]. В этом отношении не вызывает вопросов положение о том, что при добавлении гидроксильной группы в структуры некоторой основы гидрофильность соединения возрастает, а удерживание в обращенно-фазовой ВЭЖХ уменьшается, если не возникают внутримолекулярные водородные связи. Но относительно вклада метокси-группы на суммарное удерживание информация противоречивая – приводятся данные от небольшого падения удерживания для ряда производных бензола до роста для замещенных пиридинов и фуранов [1].

На примере антоцианов в НИУ БелГУ была исследована зависимость удерживания антоцианов от числа введенных в кольцо В ОН- и ОСН₃-групп в подвижных фазах с различными органическими модификаторами [8-10]. В итоге было установлено, что добавление ОН-групп в однотипные 3-гликозиды в положение 3', – переход от производных пеларгонидина, Pg3Gly, к производным цианидина, Cy3Gly, а затем и в 5', – к производным дельфинидина, Dp3Gly, приводит к последовательному уменьшению удерживания во всех составах подвижных фаз, включая результаты аппроксимации удерживания на нулевое содержание органического модификатора. При этом добавление ОСН₃-групп, наоборот, также всегда сказывается в росте удерживания, например, в ряду однотипных гликозидов

пеларгонидина – пеонидина, Pn3Gly, – мальвидина, Mv3Gly. Но исключение возникает при хроматографировании последней пары в элюентах на основе этанола при его высокой концентрации – для 3-гликозидов, ацилированных *пара*-кумаровой кислотой [10]. Это связано с тем, что в общем случае сопоставление удерживания веществ в некотором (обычно случайном) составе подвижных фаз с их строением не корректно. Удерживание веществ зависит от концентрации органического модификатора (ОМ) подвижной фазы тем сильнее, чем выше их липофильность, поэтому асимптотический порядок элюирования (в чисто водных подвижных фазах) может измениться при повышении концентрации ОМ. Т.е. относительная липофильность сорбатов может быть корректно оценена только по удерживанию в подвижных фазах, не содержащих ОМ. В таком случае введение ОН-групп увеличивает гидрофильность сорбатов, а введение ОСН₃-групп в положение 3' или в положения 3' и 5' приводит к росту липофильности на примере антоцианов.

Цель настоящей работы – определить влияние метокси-групп на удерживание некоторых фенольных соединений с использованием разработанного ранее подхода по анализу карт разделения [11].

Экспериментальная часть

В работе использовали коричную, *n*-кумаровую, кофейную, феруловую и синаповую (все Alta Aestar) и 3,4-диметоксикоричную (Acros) кислоты. 4-метоксикоричная была синтезирована в НИУ БелГУ. Образцы кислот для исключения артефактов растворяли в подвижной фазе.

Разделение осуществляли на оборудовании Agilent 1200 Infinity с диодно-матричным детектором. Хроматограммы записывали при 300 нм. В работе использовали хроматографическую колонку

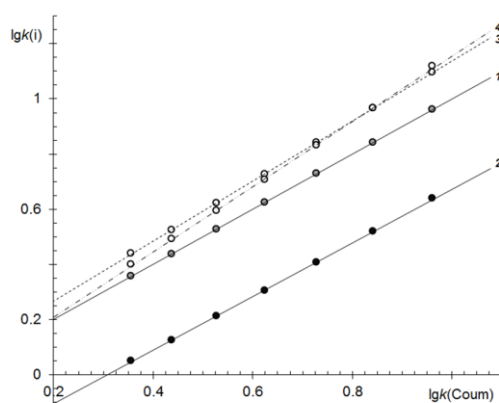


Рис. 1. Карта разделения замещенных коричных кислот: 1 – *n*-кумаровая, 2 – кофейная; 3 – феруловая; 4 – синаповая кислоты. Стационарная фаза Kromasil 100-5C18; подвижные фазы системы «ацетонитрил – 0.2 об. % H_3PO_4 – вода», 30°C.

Fig. 1. Substituted cinnamic acids separation map: 1 – *p*-coumaric acid, 2 – caffeic acid; 3 – ferulic acid; 4: sinapic acid. Kromasil 100-5C18 stationary phase; mobile phases of the “acetonitrile/0.2 vol% H_3PO_4 /water” system, 30°C.

100×4.6 мм Kromasil 100-5-C18. Элюирование в изократических режимах осуществляли со скоростью подачи подвижной фазы 0.8 см³/мин при температуре 30°C. Хроматограммы регистрировали и обрабатывали программой ChemStation, необходимые расчеты выполняли в MS Excel. Метчик мертвого времени – щавелевая кислота.

Расчет параметров липофильности (как logP) осуществляли в программах ChemSketch и Chem3D, и интерактивно – на сайтах vclab.org и molinspiration.com. Квантово-химические расчеты выполняли в программном пакете HyperChem 8.0. Оптимизацию геометрии проводили полуэмпирическим методом AM1 в вакууме.

Обсуждение результатов

Производные коричной кислоты. К числу наиболее часто встречающихся в природных растительных объектах соединений относится ряд производных коричной кислоты с гидроксильными и метоксильными группами: *пара*-кумаровая (II), кофейная (III), феруловая (IV) и синаповая (V), схема 1.

Карта разделения второго типа (по классификации [11]) этих кислот в элюентной системе «ацетонитрил –

0.2 об. % H_3PO_4 – вода» (в диапазоне концентраций ацетонитрила от 13 до 26 об. %) представлена на рис. 1.

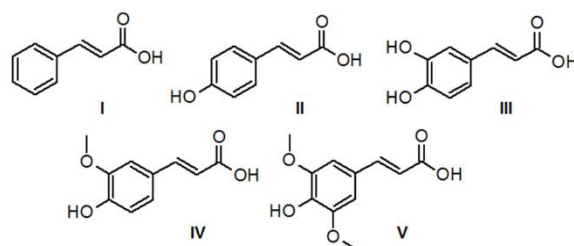


Схема 1. Строение наиболее часто встречающихся в растительных объектах замещенных коричных кислот: I – коричной; II – *n*-кумаровой; III – кофейной; IV – феруловой; V – синаповой.

Из данных на рис. 1 следует, что при изменении концентрации ацетонитрила в подвижной фазе изменяется порядок элюирования двух кислот: феруловой и синаповой. Это подчеркивает тот факт, что по порядку элюирования в любом случайно взятом составе подвижной фазы сопоставлять липофильности соединений не корректно. Корректный параметр получают при аппроксимировании удерживания на нулевую концентрацию органического модификатора по картам разделения первого типа [11]:

$$\lg k(i) = a_0 + a_1 \cdot \phi + a_2 \cdot \phi^2, \quad (2)$$

где ϕ – объемная доля ацетонитрила в подвижной фазе.

Таблица 1. Результаты расчета липофильности четырех наиболее распространенных замещенных кумаровых кислот по четырем программам расчета CLOGP

Table 1. Results of lipophilicity calculation of 4 most common substituted coumaric acids using 4 CLOGP calculation programmes

Кислоты	CLOGP ¹	ALOGP ²	miLogP ³	CLOGP ⁴	a_0^5
Кофейная	1.42 ± 0.36	1.67	0.84	0.975	1.82
<i>n</i> -Кумаровая	1.88 ± 0.34	1.75	1.43	1.572	2.12
Феруловая	1.64 ± 0.32	1.58	1.25	1.421	2.38
Синаповая	1.29 ± 0.37	1.63	1.26	1.204	2.59

Примечания: Значения получены при расчете: 1 – по программе ChemSketch; 2 – на сайте <https://vclab.org/lab/alogs/>; 3 – на сайте <https://www.molinspiration.com/>; 4 – по программе Chem3D; 5 – по уравнению (2).

Таким образом, в рассматриваемом случае липофильность возрастает в ряду:

$$a_0(\text{III}) < a_0(\text{II}) < a_0(\text{IV}) < a_0(\text{V}).$$

При добавлении метокси-группы липофильность замещенных коричных кислот возрастает. Наклон линии тренда для синаповой кислоты больше, чем у феруловой, поэтому, например, в элюентах, содержащих более 14.5 об.% ацетонитрила синаповая кислота элюируется перед феруловой, а при содержании ацетонитрила более 30 об.% она будет элюироваться даже перед *n*-кумаровой кислотой.

Тем не менее, корректный вывод из полученных данных – рост липофильности при добавлении метокси-групп и падение при добавлении гидроксильных групп. Если рассчитать вклады метокси-групп для рассмотренных кислот как разность логарифмов факторов удерживания кислот, $\lg k(i)^*$, при нулевой концентрации органического модификатора, табл. 1, составят:

$$\Delta_{\text{CH}_2\text{O}}(i \rightarrow j) = \lg k(j)^* - \lg k(i)^* = a_0(j) - a_0(i); \quad (3)$$

для двух пар соединений из табл. 1 получаем довольно близкие результаты:

$$\Delta_{\text{CH}_2\text{O}}(\text{II} \rightarrow \text{IV}) = 0.26;$$

$$\Delta_{\text{CH}_2\text{O}}(\text{IV} \rightarrow \text{V}) = 0.21.$$

Вывод об увеличении липофильности при добавлении в структуру замещенных коричных структур метокси-групп аналогичен полученному при исследовании удерживания однотипных антоцианов.

Однако анализ литературных данных указывает на уникальность метокси-

групп, как заместителей при их нахождении в *орто*-положении друг к другу [12-17]. Для исследования этого явления нами было сопоставлено хроматографическое поведение незамещенной, 4-метокси (VI) и 3,4-диметокси- (VII) коричных кислот, схема 2.

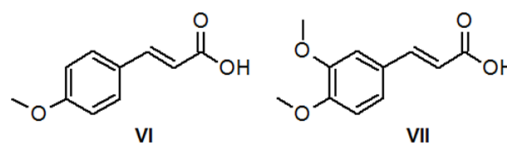


Схема 2. Строение 4-метокси- и 3,4-диметокси- коричных кислот

Карта разделения первого типа для указанных кислот представлена на рис. 2.

По представленным данным добавка метокси-группы в положение 4 (*транс*-положение) приводит лишь к небольшому росту липофильности, поэтому разделение VI и I возможно при содержании ацетонитрила менее 30 об.% с большим удерживанием I, а при росте концентрации органического модификатора подвижной фазы порядок элюирования обращается, но эти кислоты могут быть дифференцированы по электронным спектрам поглощения, рис. 3.

Добавка второй метокси-группы в *орто*-положение относительно первой приводит к неожиданному резкому снижению удерживания, что не характерно для обычных заместителей, если при этом не образуются внутримолекулярные водородные связи:

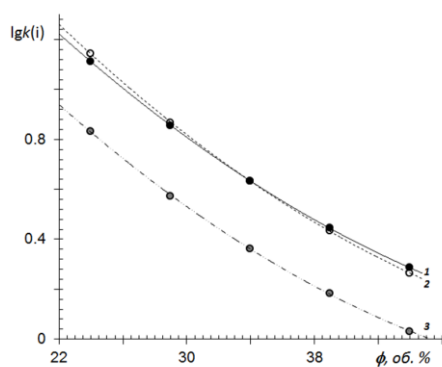


Рис. 2. Карта разделения 1 – незамещенной коричной; 2 – 4-метокси-, 3 – 3,4-диметокси коричных кислот. Стационарная фаза Kromasil 100-5C18; подвижные фазы системы «ацетонитрил – 0.2 об. % H_3PO_4 – вода», 30°C.

Fig. 2. Separation map of unsubstituted cinnamic acid: 2: 4-methoxy-, 3: 3,4-dimethoxycinnamic acids. Kromasil 100-5C18 stationary phase; mobile phases of the “acetonitrile/0.2 vol% H_3PO_4 /water” system, 30°C

$$\Delta_{\text{CH}_2\text{O}}(\text{I} \rightarrow \text{VI}) = 0.14;$$

$$\Delta_{\text{CH}_2\text{O}}(\text{VI} \rightarrow \text{VII}) = -0.41,$$

т.е. вторая метокси-группа ведет себя как совершенно иная группа.

Рассмотрим результаты расчета липофильности (как ClogP) трех соединений (I, VI и VII) по нескольким различным программам в сопоставлении, с логарифмом фактора удерживания, полученным при экстраполяции удерживания на нулевое содержание ацетонитрила в подвижной фазе, представлены в табл. 2.

Только по программе miLogP получены результаты, удовлетворительно коррелирующие с экспериментальными данными по удерживанию этих соединений в условиях ВЭЖХ, аппроксимированных на нулевое содержание органического модификатора.

Для объяснения полученных результатов учтем, что в случае 4-метокси коричной кислоты (рис. 4а) ориентация sp^3 -гибридного атома углерода этой группы в одной плоскости с остальным sp^2 -гибридными атомами углерода и атомами кислорода указывает на возмож-

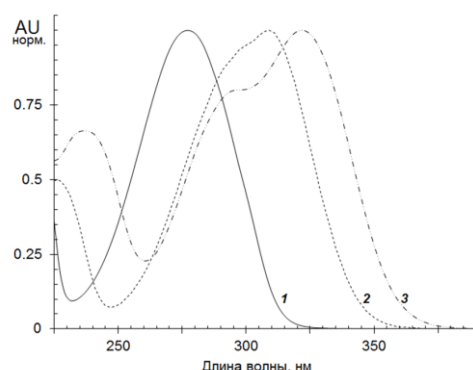


Рис. 3. Электронные спектры поглощения коричной (1), 4-метокси коричной (2) и 3,4-диметокси коричной (3) кислот, записанные в кювете детектора в подвижной фазе 25 об. % ацетонитрила и 0.2 об. % H_3PO_4 в воде при 30°C

Fig. 3. Electronic absorption spectra of cinnamic (1), 4-methoxycinnamic (2), and 3,4-dimethoxycinnamic (3) acids recorded in the detector cuvette in mobile phase of 25 vol.% acetonitrile and 0.2 vol.% H_3PO_4 in water at 30°C

ность гиперконъюгации [18, 19]. И действительно, с учетом C_{3v} -симметрии метильной группы одна из двукратно вырожденных фрагментарных орбиталей метильной группы имеет строение, позволяющее вступить в сопряжении с p_z -орбиталями остальных атомов. Это подтверждается анализом МО, полученных в программе HyperChem 6.0, рис. 4 и рис. 5а.

Для 3,4-диметокси коричной кислоты программа HyperChem предлагает также плоскую структуру с противоположно направленными (в плоскости молекулы) метильными группами метокси-фрагментов. Но метод молекулярной механики (в программе Chem3D) для второй метокси-группы в *орто*-положении к первой предлагает вывод метильной группы из плоскости сопряжения (рис. 5б), т.е. показывает неэквивалентность этих двух метоксигрупп, что согласуется с экспериментальными данными. Полученное различие результатов применения двух методов может быть связано с тем, что в методах молекулярной механики недооцени

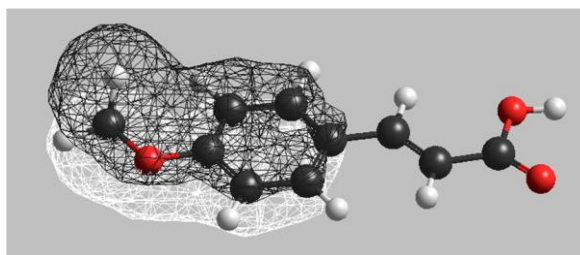


Рис. 4. Одна из связывающих молекулярных орбиталей в молекуле 4-метоксикоричной кислоты, показывающая наличие гиперконъюгации с участием метоксильной группы при расчете молекулы по программе HyperChem 6.0 по методу AM1

Fig. 4. One of the binding molecular orbitals in the molecule of 4-methoxycinnamic acid, indicating the hyperconjugation involving the methoxy group during the molecule calculation in the HyperChem 6.0 using the AM1 method.

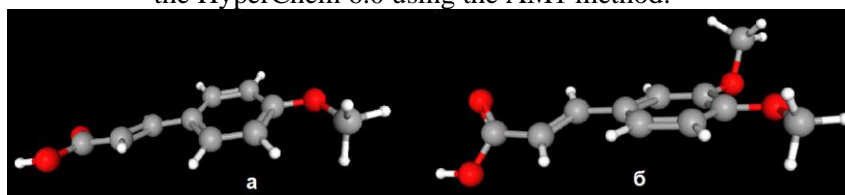


Рис. 5. Строение молекул 4-метоксикоричной (а) и 3,4-диметоксикоричной (б) кислот, найденные по методу молекулярной механики в программе Chem3D

Fig. 5. Structure of the molecules of 4-methoxycinnamic acid (a) and 3,4-dimethoxycinnamic acid (b) determined by the molecular mechanics method using the Chem3D software

Таблица 2. Результаты расчета липофильности трех кислот по четырем программам расчета CLOGP

Table 2. Results of lipophilicity calculation of three acids using four CLOGP calculation programmes

Кислоты	CLOGP ¹	ALOGP ²	miLogP ³	CLOGP ⁴	a_0^5
Коричная	2.41±0.32	2.39	1.91	2.239	2.79
4-Метоксикоричная	2.36±0.34	2.37	1.97	1.987	2.93
3,4-Диметоксикоричная	2.24±0.32	2.50	1.56	1.897	2.52

Примечания: Значения получены при расчете: 1 – по программе ChemSketch; 2 – на сайте <https://vclab.org/lab/alogps/>; 3 – на сайте <https://www.molinspiration.com/>; 4 – по программе Chem3D; 5 – по уравнению (2).

вается π -связывание. А поскольку предложенный методом ММ вариант строения 3,4-диметоксикоричной кислоты согласуется с экспериментальными данными, то можно считать, что квантово-химический метод AM1 переоценивает гиперконъюгацию по сравнению со стерическими напряжениями в молекуле. Отметим также, что именно такой вариант структуры 3,4-диметоксикоричной кислоты представлен на сайте <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Закключение

Таким образом, добавление метокси-группы может как повышать, так и понижать липофильность молекул, что, наиболее вероятно, связано с различной ориентацией группы относительно исходной структуры. Плоская структура с гиперконъюгацией, которой способствует больший вклад эффектов сопряжения, может быть заменена на неплоскую структуру с выводом метильной группы из плоскости сопряжения, как следствие



(по всей вероятности) преваляирования эффектов, связанных со стерическими напряжениями.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет из-

Список литературы/References

1. Smith R.M. Functional group contributions to the retention of analytes in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*. 1993; 656: 381-415. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80811-L](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80811-L)

2. Kaliszan R. QSRR: Quantitative Structure-(Chromatographic) Retention Relationships. *Chem. Rev.* 2007; 107: 3212-3246. <https://doi.org/10.1021/cr068412z>

3. Deineka V.I., Staroverov V.M., Fofanov G.M., Balyatinskaya L.N. An increment approach to the HPLC analysis of triglycerides. *Pharm. Chem. J.* 2002; 36: 392-395. <https://doi.org/10.1023/A:1021004516406>

4. Nguyen A.V., Deineka V., Deineka L., Ngoc A.V.T. Comparison of Separation of Seed Oil Triglycerides Containing Isomeric Conjugated Octadecatrienoic Acid Moieties by Reversed-Phase HPLC. *Separations*. 2017; 4: 37. <https://doi.org/10.3390/separations4040037>

5. Deineka V.I., Nguyen Anh Van, Deineka L.A. Quantitative relationship between structure and retention in reversed-phase HPLC: an extended incremental approach to predict triacylglycerines retention. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2019; 19: 280-288. (in Russ). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2019.19/745>

6. Lattanzio V. Phenolic compounds: Introduction / In book "Natural compounds". Ed. Rmawat K.G., Merliot J.M. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2013: 1543-1580. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57

7. Khoddami Ali, Wilkes M.A., Roberts T.H. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*. 2013; 18:

вестных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

2328-2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>.

8. Deineka V.I., Deineka L.A., Saenko I.I. Regularities of Anthocyanins Retention in RP HPLC for "Water-Acetonitrile-Phosphoric acid" Mobile Phase. *J. Anal. Meth. Chem.* 2015; 2015: ID 732918. <https://doi.org/10.1155/2015/732918>

9. Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Kulchenko Y.Yu., Blinova I.P., Deineka L.A. Chromatographic Separation and Determination of Anthocyanins under Conditions of Reversed Phase Chromatography, When Used As Mobile Phases of Acetonitrile-Formic Acid/Phosphoric Acid-Water Systems. *Russ. J. Phys. Chem. A*. 2021; 95: 1729-1734. <https://doi.org/10.1134/S0036024421080094>

10. Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Blinova I.P., Deineka L.A. Replacement of Acetonitrile with Ethanol in the Determination of Anthocyanins by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *J. Anal. Chem.* 2023; 78: 63-67. <https://doi.org/10.1134/S1061934822110053>

11. Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Blinova I.P., Deineka L.A. Comparing Two Versions of a Separation Map in Reversed Phase Liquid Chromatography. *Russ. J. Phys. Chem. A*. 2022; 96: 1768-1772. <https://doi.org/10.1134/S0036024422080076>

12. Andrade P.B., Leitão R., Seabra R.M., Oliveira M.B., Ferreira M.A. 3,4-Dimethoxycinnamic acid levels as a tool for differentiation of *Coffea canephora* var. *robusta* and *Coffea arabica*. *Food Chem.* 1998; 61: 511-514. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00067-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00067-8)

13. Li P., Yao X., Zhou Q., Meng X., Zhou T., Gu Q. Citrus Peel Flavonoid Extracts: Health-Beneficial Bioactivities and Regulation of Intestinal Microecology in vitro. *Frontiers in Nutrition*. 2022; 9:

888745. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.888745>

14. Rouseff R.L., Ting S.V. Quantitation of polymethoxylated flavones in orange juice by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1979; 176: 75-87. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)92088-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)92088-0)

15. Ting S.V., Rouseff R.L., Dougherty M.H., Attaway J.A. Determination of some methoxylated flavones in citrus juices by high performance liquid chromatography. *J. Food Sci.* 1979; 44: 69-71. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb10006.x>

16. Heimhuber B., Galensa R., Herrmann K. High-performance liquid chromatographic determination of polymethoxylated flavones in orange juice after solid-phase extraction. *J. Chromatogr.* 1988; 439: 481-483. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)83865-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)83865-6)

17. Sendra J.M., Navarro J.L., Izquierdo L. C18 Solid-Phase Isolation and High-Performance Liquid Chromatography/Ultraviolet Diode Array Determination of Fully Methoxylated Flavones in Citrus Juices. *J. Chromatogr. Sci.* 1988; 26: 443-48. <https://doi.org/10.1093/chromsci/26.9.443>

18. Ferreira V.A.V., do Nascimento V.G., de Amorim M.B. Conjugation and Hyperconjugation Effects: Comparative Studies Through Localized Molecular Orbitals Energy Decomposition Analysis (LMO-EDA) and Natural Bond Orbitals (NBO). *Revista Processos Químicos.* 2015; 63: 234-239. <https://doi.org/10.19142/rpq.v9i18.308>

19. de la Mare P.B.D. Hyperconjugation: Intermediates and transition states in replacement and elimination. *Pure Appl. Chem.* 1984; 56: 755-1766. <https://doi.org/10.1351/pac198456121755>

Информация об авторах / Information about the authors

Д.И. Дейнека – профессор кафедры общей химии, доктор химических наук, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

С.В. Симаков – доцент кафедры общей химии, кандидат химических наук, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

И.С. Пронин – аспирант института фармации, химии и биологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

Л.А. Дейнека – доцент кафедры общей химии, кандидат химических наук, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

И.П. Блинова – доцент кафедры общей химии, кандидат химических наук, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

В.Ф. Селемев – д.х.н., проф. каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Т.В. Елисеева – к.х.н., зав. кафедрой аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

V.I. Deineka – Professor of General Chemistry Department. Dr. Sci.(Chemistry), Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation, e-mail: deineka@bsuedu.ru

S.V. Simakov – Docent of General Chemistry Department. Ph.D. (Chemistry), Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation, e-mail: simakov@bsuedu.ru

I.S. Pronin – postgraduate student of Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology, Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation, z-mail: 1244380@bsuedu.ru

L.A. Deineka – Docent of General Chemistry Department.. Ph.D. (Chemistry), Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation, e-mail: deyneka@bsuedu.ru

I.P. Blinova – Docent of General Chemistry Department. Ph.D. (Chemistry), Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation, e-mail: blinova@bsuedu.ru

V.F. Selemenev – DSci in chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: com-mon@chem.vsu.ru

T.V. Eliseeva – Head of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russia, e-mail: tatyanaeliseeva@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 17.06.2024; одобрена после рецензирования 26.08.2024; принята к публикации 04.09.2024.

The article was submitted 17.06.2024; approved after reviewing 26.08.2024; accepted for publication 04.09.2024.