

**РАЗДЕЛЕНИЕ ПОЛИМЕТОКСИЛИРОВАННЫХ ФЛАВОНОВ ИЗ ЭКСТРАКТОВ  
ФЛАВЕДО ПЛОДОВ ЦИТРУСОВЫХ В УСЛОВИЯХ «МОНОМЕРНОЙ»  
ОБРАЩЕННО-ФАЗОВОЙ ВЭЖХ**

**Е.Ю. Олейниц, В.И. Дейнека, И.С. Пронин, Л.А. Дейнека**

Елена Юрьевна Олейниц (ORCID 0000-0003-2065-6296)\*, Виктор Иванович Дейнека (ORCID 0000-0002-3971-2246), Иван Станиславович Пронин (ORCID 0009-00008-7779-7536), Людмила Александровна Дейнека (ORCID 0000-0002-4101-2468)

Кафедра общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, ул. Победы, 85, Белгород, Российская Федерация, 308015

E-mail: oleinits\_e@bsu.edu.ru\*, deineka@bsu.edu.ru, flop604@gmail.com, deyneka@bsu.edu.ru

*Впервые определены закономерности удерживания шести полиметоксилированных флавонов из кожуры апельсина в условиях обращенно-фазовой хроматографии на «мономерных» C18 стационарных фазах. На эти флавоноиды в последнее время обращается особое внимание как на соединения с уникальной биологической активностью, включая (предположительно) влияние на развитие не поддающихся лечению болезней Альцгеймера и Паркинсона. В экстракте флаведо апельсина обнаружены синенсетин (3',4',5,6,7-пентаметоксифлавоны), 3',4',3,5,6,7-гексаметоксифлавоны, нобилетин (3',4',5,6,7,8-гексаметоксифлавоны), 4',5,6,7-тетраметоксифлавоны, 3',4',3,5,6,7,8-гептаметоксифлавоны и тангеретин (4',5,6,7,8-пентаметоксифлавоны). Установлено, что в удобном для ВЭЖХ диапазоне удерживания (примерно с факторами удерживания от 2 до 20) порядок элюирования шести указанных выше флавонов остается неизменным для ряда различных марок стационарных фаз. Наибольшие, но не критические изменения в порядке удерживания обнаружены при использовании колонки с повышенной активностью остаточных силанольных групп. Это позволяет проводить отнесение пиков с учетом литературных данных. Обращено внимание на то, что добавление метокси-группы в структуру молекулы флавона в положения 3 и 8 приводит к росту удерживания, тогда как необычный рост удерживания наблюдается при удалении метокси-группы из положения 3' при наличии другой метокси-группы в положении 4'. При этом добавление метокси-групп как в положения 3 и 8, так и в 3' сопровождается bathochromным сдвигом максимума абсорбции полосы I несмотря на то, что электронный переход в этом случае локализован на кольцах В и С. Показано, что использование параметров липофильности, logP, расчет которых доступен по нескольким программам, дает результаты, использование которых для прогнозирования удерживания полиметоксилированных флавонов в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ можно проводить с осторожностью, поскольку не все экспериментальные зависимости коррелируют с расчетными logP.*

**Ключевые слова:** экстракт флаведо апельсина, полиметоксифлавоны, ОФ ВЭЖХ, хроматографическое удерживание, электронные спектры, эффект метокси-групп

**SEPARATION OF POLYMETOXYLATED FLAVONE FROM CITRUS FRUIT FLAVEDO  
EXTRACTS UNDER “MONOMERIC” REVERSE PHASE HPLC CONDITIONS**

**E.Yu. Oleinits, V.I. Deineka, I.S. Pronin, L.A. Deineka**

Elena Yu. Oleinits (ORCID 0000-0003-2065-6296)\*, Viktor I. Deineka (ORCID 0000-0002-3971-2246), Ivan S. Pronin (ORCID 0009-00008-7779-7536), Lyudmila A. Deineka (ORCID 0000-0002-4101-2468)

Department of General Chemistry, Belgorod State National Research University, Pobeda st., 85, Belgorod, 308015, Russia

E-mail: oleinits\_e@bsu.edu.ru\*, deineka@bsu.edu.ru, flop604@gmail.com, deyneka@bsu.edu.ru

*For the first time, the regularities of retention of six polymethoxylated flavones from orange peel were determined under reversed-phase chromatography on “monomeric” C18 stationary phases. These flavonoids have received recent attention as compounds with unique biological activities, including (supposedly) effects on the development of intractable Alzheimer's and Parkinson's diseases. Sinensetin (3',4',5,6,7-pentamethoxyflavone), 3',4',3,5,6,7-hexamethoxyflavone, nobiletin (3',4',5,6,7,8-hexamethoxyflavone), 4',5,6,7-tetramethoxyflavone, 3',4',3,5,6,7,8-heptamethoxyflavone and tangeretin (4',5,6,7,8-pentamethoxyflavone) were found in orange flavedo extract. In the HPLC-friendly retention range (approximately retention factors from 2 to 20), the elution order of the six flavones mentioned above was found to remain unchanged for a number of different trademarks of stationary phases. The largest, but not critical, changes in retention order were found when using a column with increased activity of residual silanol groups. This allows for peak assignments taking into account literature data. Attention was drawn to the fact that the addition of a methoxy group to the structure of the flavone molecule at positions 3 and 8 leads to an increase in retention, while an unusual increase in retention is observed when a methoxy group is removed from position 3' in the presence of another methoxy group at position 4'. In this case, the addition of methoxy groups both to positions 3 and 8, and to 3' is accompanied by a bathochromic shift in the absorption maximum of band I, despite the fact that the electron transition in this case is localized on rings B and C. It has been shown that the use of lipophilicity parameters, logP, which can be calculated using several programs, provides results that can be used with caution when predicting the retention of polymethoxyflavones under reversed-phase HPLC conditions, since not all experimental relationships correlate with the calculated logP.*

**Keywords:** orange flavedo extract, polymethoxyflavones, RP HPLC, chromatographic retention, electron spectra, effect of methoxy groups

**Для цитирования:**

Олейниц Е.Ю., Дейнека В.И., Пронин И.С., Дейнека Л.А. Разделение полиметоксилированных флавонов из экстрактов флаведо плодов цитрусовых в условиях «мономерной» обращенно-фазовой ВЭЖХ. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2024. Т. 67. Вып. 12. С. 25–32. DOI: 10.6060/ivkkt.20246712.7057.

**For citation:**

Oleinits E.Yu., Deineka V.I., Pronin I.S., Deineka L.A. Separation of polymethoxylated flavone from citrus fruit flavedo extracts under “monomeric” reverse phase HPLC conditions. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2024. V. 67. N 12. P. 25–32. DOI: 10.6060/ivkkt.20246712.7057.

## ВВЕДЕНИЕ

Плоды растений семейства цитрусовые являются не только вкусными и ароматными, но и богатыми флавоноидами с высокой биологической активностью [1]. Съедобная часть этих плодов содержит гликозиды главным образом двух флаванонов – нарингенина и гесперитина [1, 2]. Именно этим гликозидам приписывается свойство предотвращения сосудистых заболеваний и противодействие развитию онкологических заболеваний [3]. Но при промышленной переработке на сок и даже при непосредственном употреблении в пищу самих фруктов образуется огромное количество отходов – кожуры плодов. В год в мире производится более 100 млн. т цитрусовых, среди которых преобладают апельсины (45 млн. т) [4]. Из них на производство соков используется примерно 34%, при этом остается примерно половина от массы фрук-

тов кожуры плодов отходов. Отходы обычно высушивают и отправляют на корм скоту. Но многочисленные исследования показывают, что верхняя часть кожуры (флаведо) мандаринов [5], апельсинов [6] и лимонов [4] содержит, кроме гликозидов флаванонов, уникальные полиметоксилированные флавоны, ПМФ (в число которых включают также и перметоксилированные 3-метилфлавонолы). ПМФ обладают уникальной биологической активностью. Так, например, нобилетин (3',4',5,6,7,8-гексаметоксифлавонон) обладает не только антиканцерогенной, противовоспалительной, антиатерогенной и антидиабетической активностью, противодействуют ожирению, но и рассматривается как соединение, эффективное в противодействии болезням Альцгеймера и Паркинсона [7, 8]. Поэтому существует потребность препаративного выделения нобилетина в больших количествах [9].

Несмотря на то, что число опубликованных работ по использованию ВЭЖХ при определении ПМФ велико, нам не удалось обнаружить работ по установлению закономерностей удерживания ПМФ от их строения при изменении условий элюирования, необходимых для оптимизации условий разделения ПМФ для эффективного определения и для целей препаративного выделения. Так, в работах [10, 11] пять обычных для кожуры апельсина ПМФ - 3',4',5,6,7-пентаметоксифлавоны (синенсетин, I, схема), 3',4',5,6,7,8-гексаметоксифлавоны (нобилетин, II), 4',5,6,7-тетраметоксифлавоны (IV), 3',4',3,5,6,7,8-гептаметоксифлавоны (V) и 4',5,6,7,8-пентаметоксифлавоны (тангеретин, VI), разделяли на С8 колонке в элюентах, содержащих тетрагидрофуран, ацетонитрил и воду в специально подобранных условиях. В этой работе утверждается, что элюентные системы «метанол-вода» и «ацетонитрил-вода» не позволяют надежно разделить пару соединений – III и V. Но в работе [12] на октадецилсилилизованной колонке в элюенте ацетонитрил – вода (40 : 60 об. %) все пять соединений успешно разделились, причем изменился порядок элюирования соединений IV и V. В работе [13] в условиях микроколоночной хроматографии на ODS-колонке при градиентном элюировании с использованием смесей воды, ацетонитрила и тетрагидрофурана были разделены ПМФ кожуры апельсина, среди которых (в порядке элюирования): I – II (3',4',3,5,6,7-гексаметоксифлавоны) – III – IV – V – VI, строение которых представлено на схеме:

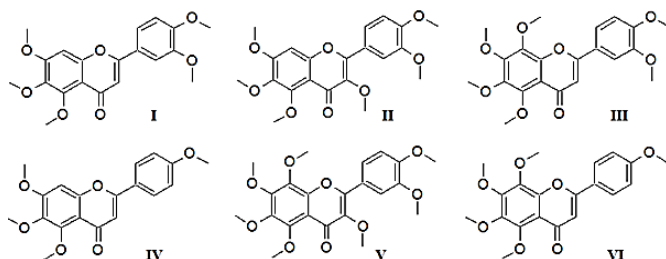


Схема. Структуры шести полиметоксилированных флавонов  
Scheme. Structures of six polymethoxylated flavones

Исследование влияния заместителей на удерживание 21 различных синтетических замещенных флавонов в рамках количественной взаимосвязи между структурой и удерживанием сорбатов было выполнено в работе [14] в нескольких составах элюентов систем «вода – ацетонитрил» и «вода – метанол». При этом были определены парциальные вклады функциональных групп (ОН и ОСН<sub>3</sub>) в суммарное удерживание по простой аддитивной схеме, которая в ряде случаев давала удо-

влетворительное соответствие между расчетными и экспериментальными логарифмами факторов удерживания для некоторых веществ, но ПМФ в использованный список не вошли. Работа выполнена в рамках обнаружения биологически активных веществ в растительных источниках, как важного направления в современной науке [15-18].

Цель настоящей работы – исследование закономерностей удерживания ПМФ в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ для оптимизации разделения шести основных компонентов экстрактов флаведо некоторых плодов цитрусовых.

#### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Срезали флаведо с плодов апельсинов и высушивали вне доступа прямого солнечного света в комнатных условиях. Экстракцию флавоноидов осуществляли 80% раствором (по объему) ацетонитрила в воде (экстрагент Э1) настаиванием при встряхивании в течение 0,5 ч. После отделения экстракта от растительного материала фильтрованием через бумажный фильтр экстракт разбавляли в 4 раза дистиллированной водой. Полученный раствор пропускали через активированный (пропусканием 3 мл ацетона) и кондиционированный (пропусканием 6 мл 20% раствора ацетонитрила в воде) концентрирующий патрон ДИАПАК С18 (БиоХимМак СТ, Моква). Затем сорбированные ПМФ десорбировали с патрона экстрагентом Э1 и разбавляли вдвое водой для последующего хроматографирования после дополнительной очистки пропусканием экстракта через нейлоновый мембранный фильтр с диаметром пор 0,41 мкм.

Разделение антоцианов осуществляли на оборудовании Agilent 1200 Infinity с диодно-матричным детектором. При этом использовали хроматографические колонки: а) 100×4,6 мм Kromasil 100-5C18; б) 150×4,6 мм InertSustain C18, 5 мкм; в) 150×4,6 мм Eclipse XDB-C18, 5 мкм; г) 150×4,6 мм Symmetry C18, 3,5 мкм; д) 100×4,6 мм ReproSil-Pur C18-AQ, 3 мкм; е) 250×4 мм Nucleosil C18, 5 мкм.

Разделение ПМФ исследовали в элюентах «35-50 об.% ацетонитрила и 0,2 % Н<sub>3</sub>Р<sub>4</sub> в воде» или «35-50 об.% ацетонитрила и 1 об. % НСООН в воде» при 30 °С. Различные стационарные фазы сравнивали, используя элюент 40 об.% ацетонитрила и 0,2 мл Н<sub>3</sub>Р<sub>4</sub> в воде, а при определении энталпии сорбции содержание ацетонитрила в подвижной фазе было повышено до 50 об. %. Расчет производили без поправок на различие во входном давлении. Для определения мертвого времени использовали щавелевую кислоту с детектированием при 230 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хроматограмма экстракта полиметоксилированных флавонов из экстракта флаведо апельсина представлена на рис. 1.

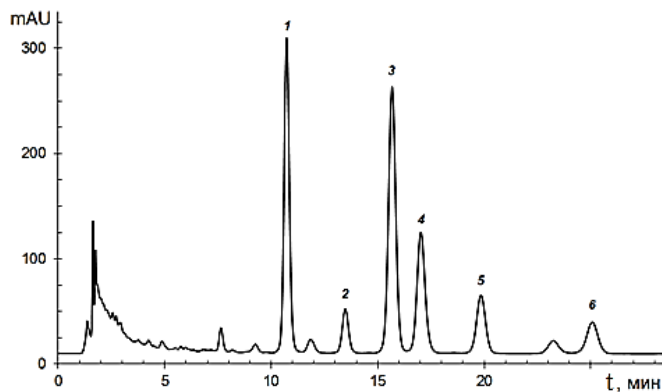


Рис. 1. Разделение полиметоксилированных флавонов экстракта флаведо апельсина. Колонка: 100×4,6 мм Kromasil 100-5C18; подвижная фаза 38 об.% ацетонитрила и 1 об.% муравьиной кислоты в воде, 0,8 мл/мин; 30 °С. Длина волны 334 нм. Нумерация веществ как на схеме

Fig. 1. Separation of polymethoxylated flavones from orange flavedo extract. Column: 100×4.6 mm Kromasil 100-5C18; mobile phase 38 vol.% acetonitrile and 1 vol.% formic acid in water, 0.8 ml/min; 30 °C. Wavelength 334 nm. The numbering of substances is as in Scheme

Для отнесения пиков использовали сравнение параметров литературных данных об электронных спектрах поглощения с экспериментальными параметрами спектров, записанных в ячейке диодно-матричного детектора, рис. 2.

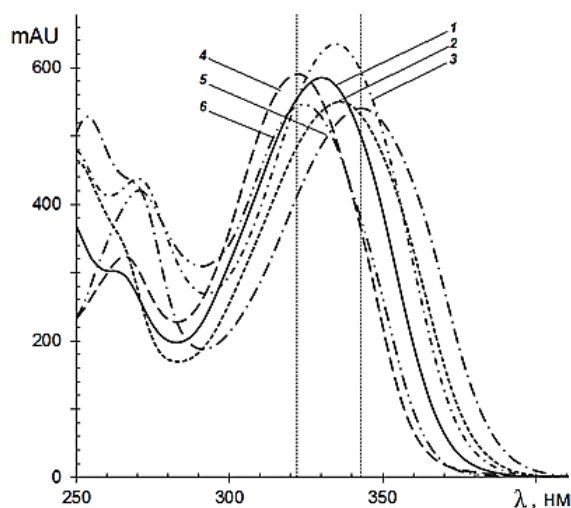


Рис. 2. Электронные спектры поглощения шести флавонов экстракта флаведо апельсина. Спектры записаны в кювете детектора в условиях рис. 1. Нумерация веществ как на схеме

Fig. 2. Electron absorption spectra of six flavones of orange flavedo extract. The spectra were recorded in a detector cuvette under the conditions of Fig. 1. Numbering of substances as in diagram

По представленным на рис. 1 данным в изократическом режиме в элюенте, содержащем 40 об.% ацетонитрила в воде с добавлением 1 об.% НСООН, все шесть компонентов полностью разделены ( $R_s > 1$ ) и порядок их элюирования совпадает с найденным в работах [13, 19]. При этом порядок элюирования этих соединений не зависит от содержания ацетонитрила в подвижной фазе и от кислоты, использованной для подкисления подвижной фазы (муравьиной или ортофосфорной), что следует из анализа карты разделения второго рода (рис. 3, построенной относительно синенсетина, I) [20]. Это следует из-за отсутствия на этой карте пересечений линий относительного удерживания флавонов по уравнению (1) в использованном диапазоне содержания ацетонитрила (от 35 до 50 об.%) с подкислением ортофосфорной кислотой.

$$\lg k(i) = a_0 + a_1 \cdot \lg k(I) \quad (1)$$

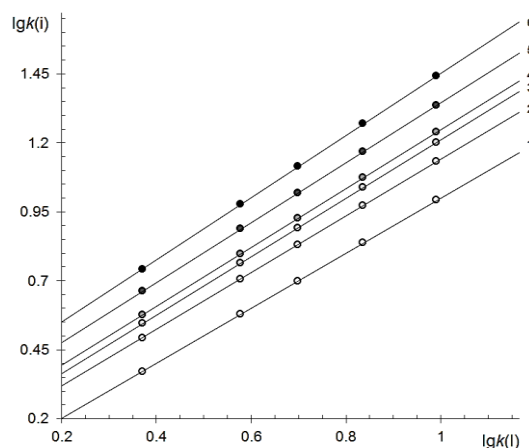


Рис. 3. Карта разделения шести полиметоксилированных флавонов. Колонка: 100×4,6 мм Kromasil 100-5C18; подвижные фазы 35-50 об.% ацетонитрила и 0,2 об.% ортофосфорной кислоты в воде, 0,8 мл/мин; 30 °С. Длина волны 334 нм.

Нумерация веществ как на схеме  
Fig. 3. Separation map of six polymethoxylated flavones. Column: 100×4.6 mm Kromasil 100-5C18; mobile phases 35-50 vol.% acetonitrile and 0.2 vol.% orthophosphoric acid in water, 0.8 ml/min; 30 °C. Wavelength 334 nm. The numbering of substances is as in diagram

Более того, порядок элюирования также остается постоянным для исследованных в работе различных марок октадецильных стационарных фаз, рис. 4. И только для фазы Nucleosil C18, отличающейся высокой активностью остаточных силанольных групп [21], изменяется порядок элюирования за счет резкого относительного уменьшения удерживания полиметоксилированного 3-метилфлавонола (V), рис. 5. Отметим, что при этом существенно уменьшилось и удерживание другого полиметоксилированного 3-метилфлавонола (II).

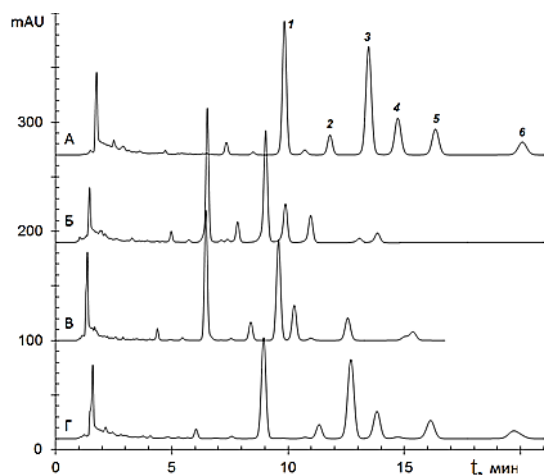


Рис. 4. Разделение шести метоксифлавонов на C18-фазах различных марок. Подвижная фаза 40 об.%  $\text{CH}_3\text{CN}$  и 0,2 об.%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  в воде, 0,8 мл/мин; 30 °С, длина волны 334 нм. Колонки: А - 100×4,6 мм ReproSil-Pur C18-AQ, 3 мкм; Б - 150×4,6 мм Symmetry C18, 3,5 мкм; В - 150×4,6 мм Eclipse XDB-C18, 5 мкм; Г - 150×4,6 мм InertSustain C18, 5 мкм

Fig. 4. Separation of six methoxyflavones into C18 phases of various grades. Mobile phase 40 vol. %  $\text{CH}_3\text{CN}$  and 0.2 vol. %  $\text{H}_3\text{PO}_4$  in water, 0.8 ml/min; 30 °C, wavelength 334 nm. Columns: A - 100×4.6 mm ReproSil-Pur C18-AQ, 3  $\mu\text{m}$ ; B - 150×4.6 mm Symmetry C18, 3.5  $\mu\text{m}$ ; В - 150×4.6 mm Eclipse XDB-C18, 5  $\mu\text{m}$ ; D - 150×4.6 mm InertSustain C18, 5  $\mu\text{m}$

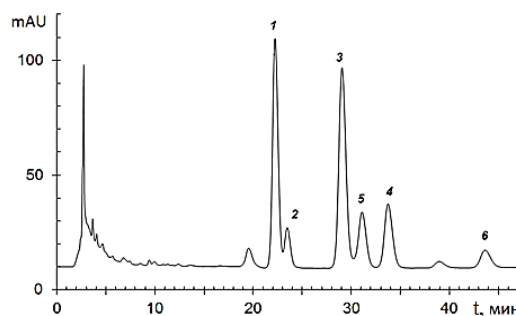


Рис. 5. Разделение шести метоксифлавонов на стационарной фазе Nucleosil C18. Подвижная фаза 40 об.%  $\text{CH}_3\text{CN}$  и 0,2 об.%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  в воде, 0,8 мл/мин; 30 °С, длина волны 334 нм. Колонка 250×4,0 мм Nucleosil C18, 5 мкм

Fig. 5. Separation of six methoxyflavones on stationary phase Nucleosil C18. Mobile phase 40 vol. %  $\text{CH}_3\text{CN}$  and 0.2 vol. %  $\text{H}_3\text{PO}_4$  in water, 0.8 ml/min; 30 °C, wavelength 334 nm. Column 250×4.0 mm Nucleosil C18, 5  $\mu\text{m}$

В соответствии со свойством карт разделения первого типа [19], аппроксимация логарифма фактора удерживания по квадратичному уравнению относительно объемной доли ацетонитрила ( $\phi$ ) в подвижной фазе на нулевое содержание ацетонитрила по уравнению (2) приводит к предельным результатам только с двумя инверсиями удерживания, см. табл. 1.

$$\lg k(i) = b_0 - b_1 \cdot \phi + b_2 \cdot \phi^2. \quad (2)$$

Таблица 1

Параметры удерживания ПМФ на колонке C18 марки Kromasil в подвижных фазах системы «ацетонитрил–вода–0,2 об.%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ » при температуре 30 °С

Table 1. Retention parameters for PMF on a Kromasil C18 column in the mobile phases of the “acetonitrile–water–0.2 vol.%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ” system at a temperature of 30 °C

<sup>1</sup> №	Строение флавона	<sup>2</sup> $\lg k(i)$	Коэффициенты уравнений (1) и (2)			<sup>3</sup> $\Delta H^\circ$ , кДж/моль
			$b_0$	$a_0$	$a_1$	
I	3',4',5,6,7-пентаметоксифлавонон	0,979	4,29	0	1	-4,27
II	3',4',3,5,6,7-гексаметоксифлавонон	1,085	4,15	0,100	1,010	-3,54
III	3',4',5,6,7,8-гексаметоксифлавонон	1,163	4,33	0,147	1,042	-4,43
IV	4',5,6,7-тетраметоксифлавонон	1,202	4,32	0,182	1,046	-6,04
V	3',4',3,5,6,7,8-гептаметоксифлавонон	1,278	4,47	0,239	1,066	-3,39
VI	4',5,6,7,8-пентаметоксифлавонон	1,391	4,64	0,316	1,102	-6,21

Примечания: 1 – нумерация как в схеме; 2 – в элюенте, содержащем 35 об.% ацетонитрила; 3 – в элюенте, содержащем 50 об.% ацетонитрила

Notes: 1 – numbering as in the scheme; 2 – in an eluent containing 35 vol.% acetonitrile; 3 – in an eluent containing 50 vol.% acetonitrile

Электронные спектры поглощения сыграли большую роль в определении строения флавоноидов [22], хотя развитие более сложных инструментальных методов, включающих ЯМР-спектроскопию и масс-спектроскопию отодвинуло метод на второй план. Впрочем, все-таки УФ-спектроскопия используется до настоящего времени при определении флавоноидов [23]. Поэтому информация об электронных спектрах поглощения остается важным показателем, зависящим от строения молекул.

Спектры всех шести найденных в работе ПМФ заметно различаются, поэтому идентификация соединений не вызывает вопросов.

Сопоставляя электронные спектры поглощения соединений I–VI, можно отметить следующие закономерности, подтверждающие правильность отнесения пиков:

1. Добавление метокси-группы в положение 8 (т.е. в кольцо А), а среди ПМФ имеется три такие пары, приводит к батохромному сдвигу: а) на

4-5 нм для двух пар I → III и IV → VI, и на 7 нм для пары II → V. Это различие не удивительно, поскольку только первая и вторая пары строго относятся к флавонам, а третья пара является метоксилированными 3-метилированными флавонолами.

2. Добавка метокси-группы в положение 3' (т.е. в кольцо В) также приводит к батохромному сдвигу – на 8-9 нм для пар IV → I и VI → III.

Следовательно, добавка метокси-группы в указанные выше положения сопровождается батохромным сдвигом; при этом большее изменение длины волны для добавок в кольцо В, чем в кольцо А, связано с тем, что длинноволновую полосу поглощения ассоциируют с переходом, локализованным на кольце В, что полностью согласуется с выполненным в работе отнесением.

Еще одно подтверждение правильности отнесения можно привести, сопоставляя влияние добавок функциональных групп к существующей основе – как разность соответствующих логарифмов факторов удерживания. Они также могут быть рассчитаны для результатов, представленных в табл. 1. В данной таблице можно найти три пары соединений, различающихся добавлением метокси-группы в положение 8 агликона. При справедливости аддитивной схемы влияния заместителей на удерживание для переходов между соединениями I → III, II → V и IV → VI разности между логарифмами их факторов удерживания должны быть близкими или должны иметь одинаковые значения, например:

$$\Delta(I \rightarrow III) = \lg k(III) - \lg k(I);$$

Для указанных выше пар получаем не одинаковые, но близкие экспериментальные значения, например, для добавления ОСН<sub>3</sub>-группы в положение 8:

$$\Delta(+^8\text{ОСН}_3) = 0,184; 0,192; 0,189;$$

$$\Delta(+^8\text{ОСН}_3)_{\text{средн.}} = 0,188 \pm 0,004.$$

Две пары флавонов различаются добавлением метокси-группы в положение 3: I → II, III → V. Для этих пар вклад метокси-группы в суммарное удерживание заметно меньше:

$$\Delta(+^3\text{ОСН}_3) = 0,106; 0,114;$$

$$\Delta(+^3\text{ОСН}_3)_{\text{средн.}} = 0,110 \pm 0,004.$$

Еще две пары различаются удалением метокси-группы из положения 3': I → IV, III → VI. Однако в этом случае росту удерживания способствует не прибавление, а удаление этой группы:

$$\Delta(-^3\text{ОСН}_3) = 0,223; 0,228;$$

$$\Delta(-^3\text{ОСН}_3)_{\text{средн.}} = 0,225 \pm 0,003.$$

Последние из полученных результатов необычны. Дело в том, что метоксилированные производные флавонов (и 3-метилфлавонолов) удерживаются существенно сильнее по сравнению с гидроксильными соединениями. Т.е. метокси-группа в целом увеличивает удерживание флавоноидов, но прибавление этой группы в положение 3' (при наличии в этом кольце метокси-группы в положении 4'), наоборот, резко снижает удерживание. Этот эффект требует специального исследования, которое мы предполагаем выполнить в последующих работах, но энтальпия сорбции ПМФ при удалении метокси-группы резко возрастает по модулю, как показано в табл. 1, что указывает на благоприятные условия для сорбции при таком изменении структуры.

Популярные в настоящее время параметры липофильности, выражаемые как десятичный логарифм константы распределения веществ между октанолом-1 и водой, logP, используют как для предсказания изменения удерживания веществ в ОФ ВЭЖХ [24], так и, наоборот, по удерживанию оценивают параметр липофильности [25]. Но в целом применять параметры липофильности для прогнозирования порядка удерживания следует использовать с осторожностью.

Так для программ AlogP и ChemSketch 12.0 logP (табл. 2) для пар I → IV и III → VI правильно предсказывается рост удерживания. При этом для пар I → III, II → V и IV → VI вместо роста удерживания обе программы предполагают его падение, хотя вторая из указанных программ допускает существование больших погрешностей в расчетах.

Таблица 2

Параметры липофильности и предельное удерживание ПМФ на колонке C18 марки Kromasil в подвижных фазах системы «ацетонитрил–вода–0,2 об.% Н<sub>3</sub>РО<sub>4</sub>» при температуре 30 °С

Table 2. Lipophilicity parameters and maximum retention of PMF on a Kromasil C18 column in the mobile phases of the “acetonitrile–water–0.2 vol.% Н<sub>3</sub>РО<sub>4</sub>” system at a temperature 30 °С

<sup>1</sup> №	Строение флавона	b <sub>0</sub>	ChemSketch 12.0, logP	miLogP	AlogP
I	3',4',5,6,7-пентаметоксифлаво	4,29	3,08 ± 1,38	3,19	2,73
II	3',4',3,5,6,7-гексаметоксифлаво	4,15	2,18 ± 1,45	3,17	2,89
III	3',4',5,6,7,8-гексаметоксифлаво	4,33	2,48 ± 1,38	3,37	2,61
IV	4',5,6,7-тетраметоксифлаво	4,32	3,26 ± 1,19	3,60	2,90
V	3',4',3,5,6,7,8-гептаметоксифлаво	4,47	1,59 ± 1,50	3,35	2,55
VI	4',5,6,7,8-пентаметоксифлаво	4,64	2,66 ± 1,28	3,78	2,71

В то же время, рассчитанные в программе miLogP изменения липофильности для всех пяти пар коррелируют с экспериментальными данными. Но во всех программах общий «предельный» порядок элюирования (в элюентах без добавок органического модификатора) не согласуется с параметрами липофильности. Т.е. правильность выбора «тренировочных рядов» соединений с различной структурой при расчете параметра липофильности в рассмотренных программах не гарантирована.

### ВЫВОДЫ

Установлено, что порядок элюирования шести полиметоксилированных флавонов кожуры апельсина в условиях ОФ ВЭЖХ не зависит от марки используемой C18 стационарной фазы, что позволяет использовать выполненные с использованием набора стандартных веществ литературные данные. Показано, что отнесение может быть подтверждено изменением положения максимумов абсорбции полос в электронных спектрах поглощения. Установлена зависимость удерживания от положения добавления метокси-группы в структуру молекулы.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.*

*The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.*

### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

- Liu W., Zheng W., Cheng L., Li M., Huang J., Bao S., Xu Q., Ma Z. Citrus fruits are rich in flavonoids for immunoregulation and potential targeting ACE2. *Nat. Prod. Bioprospect.* 2022. V. 12. 4. DOI: 10.1007/s13659-022-00325-4.
- Peterson J.J., Dwyer J.T., Beecher G.R., Bhagwat S.A., Gebhardt S.E., Haytowitz D.B., Holden J.M. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *J. Food Comp. Anal.* 2006. V. 19. P. S66–S73. DOI: 10.1016/j.jfca.2005.12.006.
- Khan M.K., Zill-E-Huma, Dangles O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *J. Food Comp. Anal.* 2014. V. 33. P. 85–104. DOI: 10.1016/j.jfca.2013.11.004.
- Guccione C., Bergonzi M.C., Piazzini V., Bilia A.R. A Simple and Rapid HPLC PDA MS Method for the Profiling of Citrus Peels and Traditional Italian Liqueurs. *Planta Med.* 2016. V. 82. P. 1039–1045. DOI: 10.1055/s-0042-108735.
- Liu E.-H., Zhao P., Duan L., Zheng G.-D., Guo L., Yang H., Li P. Simultaneous determination of six bioactive flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium by rapid resolution liquid chromatography coupled with triple quadrupole electrospray tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2013. V. 141. P. 3977–3983. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.06.077.
- Affi S.M., Gök R., Eikenberg I., Krygier D., Rottmann E., Stübler A.-S., Aganovic K., Hillebrand S., Esatbeyoglu T. Comparative flavonoid profile of orange (*Citrus sinensis*) flavedo and albedo extracted by conventional and emerging techniques using UPLC-IMS-MS, chemometrics and antioxidant effects. *Front. Nutr.* 2023. V. 10. P. 1158473. DOI: 10.3389/fnut.2023.1158473.
- Nakajima A., Ohizumi Y. Potential Benefits of Nobiletin, A Citrus Flavonoid, against Alzheimer’s Disease and Parkinson’s Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 3380. DOI: 10.3390/ijms20143380.
- Yamada S., Shirai M., Ono K., Teruya T., Yamano A., Woo J.T. Beneficial effects of a nobiletin-rich formulated supplement of Sikwasa (*C. depressa*) peel on cognitive function in elderly Japanese subjects; A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Food Sci. Nutr.* 2021. V. 9. P. 6844–6853. DOI: 10.1002/fsn3.2640.
- Li S., Yu H., Ho C.-T. Nobiletin: efficient and large quantity isolation from orange peel extract. *Biomed. Chromatogr.* 2006. V. 20. P. 133–138. DOI: 10.1002/bmc.540.
- Rouseff R.L., Ting S.V. Quantitation of polymethoxylated flavones in orange juice by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1979. V. 176. P. 75–87. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)92088-0.
- 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. V. 44. P. 69–71. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1979.tb10006.x.
- Heimhuber B., Galensa R., Herrmann K. High-performance liquid chromatographic determination of polymethoxylated flavones in orange juice after solid-phase extraction. *J. Chromatogr.* 1988. V. 439. P. 481–483. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)83865-6.
- 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. V. 26. P. 443 – 48. DOI: 10.1093/chromsci/26.9.443.
- Stefova M.R., Stafilov T., Kulevanova S., Stefkov G., Bankova V.S. QSRR of Flavones: Evaluation of Substituent Contributions to RP HPLC Retention. *J. Liq. Chromatogr. R. T.* 2007. V. 30. P. 1035–1049. DOI: 10.1080/10826070601128402.
- Еремеева Н.Б., Макарова Н.В., Игнатова Д.Ф., Бахареv В.В. Исследование потенциальных антиканцерогенных и антиоксидантных эффектов экстрактов из растительного сырья. *Изв. вузов. Приклад. химия и биотехнология.* 2020. Т. 10. № 4. С. 613–626. Еремеева Н.Б., Макарова Н.В., Игнатова Д.Ф., Бахареv В.В. Investigation of potential anticarcinogenic and antioxidant effects of extracts from plant raw materials. *Izv. vuzov. Priklad. Khimiya Biotekhnol.* 2020. V. 10. N 4. P. 613–626 (in Russian). DOI: 10.2128/5/2227-2925-2020-10-4-613-626.
- Саласина Я.Ю., Калинин Д.А., Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Некоторые закономерности экстракции антоцианов из растительных источников. *Изв. вузов. Приклад. химия и биотехнология.* 2020. Т. 10. № 4. С. 691–699. Salasina Ya.Yu., Kalinkin D.A., Deineka V.I., Deineka L.A. Some patterns of anthocyanin extraction from plant sources. *Izv. vuzov. Priklad. Khim. Biotekhnol.* 2020. V. 10. N 4. P. 691–699 (in Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-4-691-699.

17. **Коцупий О.В., Загурская Ю.В., Уфимцев В.И.** Определение фенольных соединений в водно-этанольных экстрактах листьев *Populus tremula* L. методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Изв. вузов. Приклад. химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 3. С. 470–478.  
**Kotsupiy O.V., Zagurskaya Yu.V., Ufimtsev V.I.** Determination of phenolic compounds in waterethanol extracts of *Populus tremula* L. leaves using high-performance liquid chromatography. *Izv. Vuzov. Priklad. Khim. Biotekhnol.* 2020. V. 10. N 3. P. 470–478 (in Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-3-470-478.
18. **Костикова В.А., Бобокалонов К.А., Кузнецов А.А.** Фенольные соединения листьев и соцветий *Spiraea baldschuanica* B. Fedtsch. *Изв. вузов. Приклад. химия и биотехнология*. 2021. Т. 11. № 1. С. 53–60. 18. **Kostikova V.A., Bobokalonov K.A., Kuznetsov A.A.** Phenolic compounds of leaves and inflorescences of *Spiraea baldschuanica* B. Fedtsch. *Izv. vuzov. Priklad. Khim. Biotekhnol.* 2021. V. 11. N 1. P. 53–60 (in Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-1-53-60.
19. **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. V. 96. P. 1768–1772. DOI: 10.1134/S0036024422080076.
20. **Zhang J., Zhang L., Lai C., Liang Y., Gao L., Kaliaperumal K., Jiang Y.** Nutraceutical potential of navel orange peel in diabetes management: The chemical profile, antioxidant,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and antiglycation effects of its flavonoids. *Food Biosci.* 2022. V. 49. P. 101943. DOI: 10.1016/j.fbio.2022.101943.
21. **Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Blinova I.P., Deineka L.A.** Selectivity of the Separation of Isomeric Chlorogenic Acids under the Conditions of Reversed-Phase HPLC. *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. P. 778–783. DOI: 10.1134/S1061934819080057.
22. *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. Eds. by O.M. Andersen, K.R. Markham. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis. 1197 p. DOI: 10.1201/9781420039443.
23. **Петрова С.Н., Кантан А.Д., Яргунова Ю.В.** Получение и свойства густых экстрактов листьев красной смородины. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2017. Т. 60. Вып. 7. С. 66–71. **Petrova S.N., Kantan A.D., Yargunova Yu.V.** Preparation and properties of red currant leaves extracts. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2017. V. 60. N 7. P. 66–71 (in Russian). DOI: 10.6060/tcct.2017607.5444.
24. **Kaliszan R.** QSRR: Quantitative Structure-(Chromatographic) Retention Relationships. *Chem. Rev.* 2007. V. 107. P. 3212–3246. DOI: 10.1021/cr068412z.
25. **Coutinho A.L., Cristofolletti R., Wu F., Al Shoyaib A. Dressman J., Polli J.E.** A robust, viable, and resource sparing HPLC-based logP method applied to common drugs. *Int. J. Pharm.* 2023. V. 644. P. 123325. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123325.

Поступила в редакцию 25.01.2024

Принята к опубликованию 13.06.2024

Received 25.01.2024

Accepted 13.06.2024