

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-20-31](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-20-31)
УДК 615.074



Оригинальная статья / Research article

Разработка синтеза генистеина для использования в качестве стандартного образца

А. А. Жигалина*, В. Г. Дударев, В. В. Тихонова, О. Ю. Стрелова

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

* Контактное лицо: Жигалина Анна Анатольевна. E-mail: zhigalina.anna@spcru.ru

ORCID: А. А. Жигалина – <https://orcid.org/0000-0002-2881-8707>; В. Г. Дударев – <https://orcid.org/0000-0002-8003-3173>; В. В. Тихонова – <https://orcid.org/0000-0002-1184-6453>;
О. Ю. Стрелова – <https://orcid.org/0000-0001-6737-1023>.

Статья поступила: 20.10.2021

Статья принята в печать: 29.11.2021

Статья опубликована: 27.12.2021

Резюме

Введение. Применение стандартных образцов (СО) обеспечивает метрологическую сопоставимость и сходимость результатов, выполненных в разных лабораториях, разными аналитиками, в разное время. Генистеин является перспективным веществом, обладающим широким спектром фармакологического действия и широко используемым в БАВ. Разработка нормативной документации на СО генистеина позволит обеспечить качество лекарственных средств и БАВ.

Цель. совершенствования путей синтеза и определение спектральных характеристик генистеина для аттестации СО.

Материалы и методы. Использовали синтетический генистеин, (к. х. н. В. Ю. Ковтуном НПЦ «Фармзащита») (образец № 1) и образец № 2, синтезированный и изучаемый на кафедрах фармацевтической химии и химической технологии лекарственных веществ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (ХТЛВ СПХФУ). Инфракрасные спектры образцов генистеина записывали на Фурье-спектрометре инфракрасном ФСМ 1201 (ООО «Инфраспек», Россия) в диске с калия бромидом в области частот от 4000 до 500 см⁻¹. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C записаны на ЯМР-спектрометре BrukerAvance III (400 и 100 МГц) (Bruker, Германия) в растворителе ДМСО-d₆. Раман-спектры были записаны на аналитической системе комбинационного рассеяния света OPTEC-785TRS-2700, при мощности лазерного излучения равной 100 мВт (АО «ОПТЭК», Россия). Продолжительность воздействия лазерного излучения составляло: 5, 10, 20 и 60 сек. Обработка результатов осуществлялась с помощью ПО «BWSpec 4.10_4», США. ГХ-МС проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 7890A с автоинжектором 7693 и масс-селективным детектором 5975С фирмы «Hewlett Packard».

Результаты и обсуждение. Проведен синтез по методике разработчика с совершенствованием на стадии реакции «снятия алкильной защиты». Спектры промежуточного продукта синтеза генистеина (биочанина А) соответствует литературным данным. Образцы генистеина исследовались методами: ЯМР ¹³C и ¹H, было определено, структура исследуемого вещества подтверждена; Рамановская и ИК-спектроскопии показали, что спектры образцов не отличаются между собой, дополнительные сигналы в них отсутствуют.

Заключение. Получены спектральные характеристики образцов генистеина, методами ЯМР, ИК и рамановской спектроскопии, которые будут использованы в нормативной документации на СО генистеина, и позволять проводить контроль качества лекарственных средств на его основе и выявлять недоброкачественные БАД.

Ключевые слова: генистеин, стандартный образец, ЯМР, ИК, рамановская спектроскопия

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. А. Жигалина, О. Ю. Стрелова, В. Г. Дударев спланировали эксперимент, В. Г. Дударев синтезировал образцы. В. В. Тихонова провела исследования методом рамановской спектроскопии. А. А. Жигалина, О. Ю. Стрелова, В. Г. Дударев участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обработке данных и в обсуждении результатов.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Жигалина А. А., Дударев В. Г., Тихонова В. В., Стрелова О. Ю. Разработка синтеза генистеина для использования в качестве стандартного образца. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4-1):20-31. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-20-31](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-20-31)

Development of Genistein Synthesis for Use as a Certified Reference Material

Anna A. Zhigalina*, Vladimir G. Dudarev, Viktoria V. Tikhonova, Olga Yu. Strelova

Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

*Corresponding author: Anna A. Zhigalina. E-mail: zhigalina.anna@spcru.ru

ORCID: Anna A. Zhigalina – <https://orcid.org/0000-0002-2881-8707>; Vladimir G. Dudarev – <https://orcid.org/0000-0002-8003-3173>;

Viktoria V. Tikhonova – <https://orcid.org/0000-0002-1184-6453>; Olga Yu. Strelova – <https://orcid.org/0000-0001-6737-1023>.

Avez T. Sharipov – <https://orcid.org/0000-0003-1738-0145>; Stepan P. Gambaryan – <https://orcid.org/0000-0002-1470-0791>; Maria N. Povydysh – <https://orcid.org/0000-0002-7768-905>.

Received: 20.10.2021

Revised: 29.11.2021

Published: 27.12.2021

© Жигалина А. А., Дударев В. Г., Тихонова В. В., Стрелова О. Ю., 2021

© Zhigalina A. A., Dudarev V. G., Tikhonova V. V., Strelova O. Yu., 2021

Abstract

Introduction. The use of certified reference materials (CRMs) ensures metrological traceability and comparability of analysis results performed in different laboratories, by different analysts, at different times. Genistein is a promising substance with a wide spectrum of pharmacological action. Genistein is widely used in dietary supplements. Development of regulatory documents for CRM of genistein will ensure the quality of drugs and dietary supplements.

Aim. Aim of our study is to improve of the ways of synthesis and determination of spectrum characteristics of genistein for the certification of CRM.

Materials and methods. We used synthetic genistein, (Ph.D. V. Yu. Kovtun SPC "Pharmzashchita") (sample № 1) and genistein synthesized and studied at the departments of pharmaceutical chemistry and chemical technology of medicinal substances SPCPU (sample № 2). Infrared spectra of genistein samples were collected on an FSM 1201 infrared Fourier spectrometer (ООО Инфраспек, Russia) via KBr pellets technique. All the spectra were collected in the 4000–500 cm⁻¹ range. The NMR (¹H and ¹³C) measurements were performed with a BrukerAvance III NMR spectrometer (400 and 100 MHz) (Bruker, Germany) in DMSO-d₆ solvent. Raman spectra were recorded by an ORTES-785TRS-2700 analytical Raman scattering system at a laser power of 100 mW (OPTEC JSC, Russia). Laser interaction time was 5, 10, 20 and 60 seconds. The results were processed using the software "BWSpec 4.10_4", USA. GC-MS was performed on an Agilent Technologies 7890A gas chromatograph (Agilent Technologies, USA) with a 7693 autoinjector and a Hewlett Packard 5975C mass selective detector.

Results and discussion. The synthesis was carried out according to the developer's method. The stage "removal of the alkyl protection" has been improved. The spectra of the synthesis intermediate of genistein (biochanin A) correspond to the literature data. Samples of genistein were investigated by methods: MC and NMR ¹³C, ¹H. The structure of the investigated substance was confirmed; Raman and IR spectroscopy showed that the spectra of the samples do not differ from each other and there are no additional signals.

Conclusion. The spectrum characteristics of samples of genistein were obtained by NMR, IR and Raman spectroscopy, which will be used in the regulatory documentation for CRM of genistein. All of this will make it possible to control the quality of medicines based on it and to identify substandard dietary supplements.

Keywords: genistein, CRM, NMR, IR, Raman spectroscopy

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Anna A. Zhigalina, Olga Yu. Strelova, Vladimir G. Dudarev planned an experiment, Vladimir G. Dudarev synthesized samples. Viktoria V. Tikhonova conducted research by the method of Raman spectroscopy. Anna A. Zhigalina, Olga Yu. Strelova, Vladimir G. Dudarev participated in writing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

For citation: Zhigalina A. A., Dudarev V. G., Tikhonova V. V., Strelova O. Yu. Development of genistein synthesis for use as a certified reference material. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4–1):20–31. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-20-31](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-20-31)

ВВЕДЕНИЕ

Применение стандартных образцов (СО) обеспечивает метрологическую сопоставимость и сходимость результатов анализа, выполненных в разных лабораториях, разными аналитиками, в разное время [1, 2]. Однако разработка, регистрация и внедрение в практическую деятельность стандартных образцов сталкиваются с рядом проблем: отсутствие единого понимания термина «стандартный образец» в различных нормативных актах Российской Федерации, разноплановость классификации СО [3–6].

Основной проблемой в РФ является отсутствие фармакопейных СО. Применение импортных СО имеет свои недостатки такие как, малые количества, высокая стоимость и длительность доставки [7–9]. Также много исследований направлено разработки методик без использования стандартных образцов из-за ситуации в РФ [9]. Таким образом, актуальной задачей является воссоздание отечественных фармакопейных СО для надлежащего функционирования системы контроля качества [2, 4, 5].

Одно из актуальных направлений развития современной медицины – поиск новых высокоэффективных лекарственных препаратов с широким спектром фармакологического действия и низкой токсичностью. Большой интерес представляют вещества природного происхождения, флавоноиды, которые обладают противоопухолевой и антитромбоцитарной активностью, и, в частности, генистеин [10–12]. Это природный изофлавоон, в значительном количестве представленный в растениях семейства *Бобовые (Fabaceae)*. В исследованиях показано, что генистеин оказывает положительный эффект при профилактике и терапии сердечно-сосудистых заболеваний и остеопороза у женщин в период менопаузы, проявляет гипохолестеринемическое и антидиабетическое действие, а также обладает радиозащитными свойствами [13–15]. Препараты на основе сои содержат в своем составе комплекс изофлавонов, и при маркировке некоторых БАД не указывают, какие изофлавоны включены, указывается только суммарное количество. Таким образом, проводить стандартизацию не представляется возможным.

Суммарное содержание флавоноидов в семенах сои колеблется от 0,5 до 0,7 %. На 100 г сухого продукта содержится изофлавонов: Генистин, 166,4 мг (0,16 %); Дайдзин, мг 58,1 (0,058 %); Глицитеин, 33,8 мг (0,034); Куместрол, мг 0,04 (0,0004 %); Изофлавоны в сои связаны гликозидной связью с сахарным остатком [14]. Генистеин получают методом экстрагирования из лекарственного растительного сырья. В связи с тем, что выход данного метода составляет около 40 %, необходимы значительные количества лекарственного растительного сырья [16]. Данный метод трудоемок в плане очистки и получении индивидуального вещества. Сырьевая база производства сои на территории Российской Федерации ограничена. Осложняется ситуация еще и тем, что выращенная соя используется в основном в пищевой промышленности и в качестве кормовой культуры в сельском хозяйстве.

Целью нашего исследования явилось совершенствование путей синтеза и определение спектральных характеристик образцов генистеина

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали синтетический генистеин, предоставленного к. х. н. В. Ю. Ковтуном (НПЦ «Фармзащита» ФМБА России г. Химки Московской обл.) (образец № 1) и образец № 2, генистеин, синтезированный и изучаемый на кафедрах фармацевтической химии и химической технологии лекарственных веществ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Инфракрасные спектры образцов генистеина записывали на Фурье-спектрометре инфракрасном ФСМ 1201 (ООО «Инфраспек», Россия) в диске с калия бромидом в области частот от 4000 до 500 см⁻¹.

Спектры ядерного магнитного резонанса ¹H и ¹³C образцов генистеина записаны на ЯМР-спектрометре BrukerAvance III (400 и 100 МГц) (Bruker, Германия) в растворителе DMSO-d₆.

Раман-спектры образцов генистеина были записаны на аналитической системе комбинационного рассеяния света OPTEC-785TRS-2700, при мощности лазерного излучения равной 100 мВт (АО «ОПТЭК», Россия). Продолжительность воздействия лазерного излучения составляло: 5, 10, 20 и 60 секунд. Обработка результатов осуществлялась с помощью ПО «BWSpec 4.10_4», США.

ГХ-МС проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 7890A с автоинжектором 7693 и масс-селективным детектором 5975C фирмы «Hewlett Packard».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенных ранее на кафедрах фармацевтической химии и фармакогнозии СПХФУ исследованиях, была дана сравнительная характеристика извлечения из жмыха семян сои культурной (*Glycine-max L. Merr.*) и образца генистеина, предоставленного к. х. н. В. Ю. Ковтуном (НПЦ «Фармзащита» ФМБА Рос-

сии г. Химки Московской обл.). В опубликованной работе [15] было показано, что для исследования методом ГХ-МС генистеина необходимо было получение его дериватов реакцией силилирования. Анализ методом ГХ-МС показал, что в природном образце присутствовали два пика со временами удерживания около 13,71 и около 13,76 мин, тогда как в синтетическом образце отмечался один пик со временем удерживания около 13,76 мин. При идентификации масс-спектров с помощью специализированной библиотеки «NIST08.L» с использованием программы AMDIS, было выявлено, что масс-спектр вещества со временем удерживания около 13,76 мин совпал со спектром 5,7,4'-три(триметилсилил)генистеина, в то время как масс-спектр вещества со временем удерживания около 13,71 мин совпал с ди(триметил)силилдайдзеина. Авторы сделали вывод, что в природном образце присутствует родственный изофлавоны – дайдзеин [15]. Таким образом, синтетический метод получения генистеина предпочтительней для разработки СО и его дальнейшей аттестации.

В ФМБА НПЦ «Фармзащита» (к. х. н. В. Ю. Ковтун) была разработана схема синтеза (рисунок 1), которая на наш взгляд позволит решить вопрос разработки СО генистеина для оценки качества лекарственных средств и БАД, содержащих данный изофлавоны. Выход составил 76 % с чистотой 98+ % по ВЭЖХ [17].

Для определения параметров качества и подтверждения структуры вещества были выбраны общеизвестные методы, такие как ЯМР и ИК-спектроскопия, а также рамановская спектроскопия [18].

Результаты спектрального анализа генистеина (образец № 1) методами ИК и ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии представлен на рисунках 2, 3 и 4

При проведении расшифровки ИК-спектра образца 1 (рисунок 2) генистеина особое внимание стоит уделить «зоне отпечатков пальцев» (от 1600 до 400 см⁻¹), так как здесь находятся основные полосы, необходимые для идентификации образца. Следует отметить полосы 1583 см⁻¹, 1614 см⁻¹, 810 см⁻¹, 819 см⁻¹, 841 см⁻¹, 852 см⁻¹, 1201 см⁻¹, 1423 см⁻¹, 1365 см⁻¹. Из другой области стоит выделить полосу поглощения 3412 см⁻¹, которая говорит о наличии внутримолекулярной водородной связи между ОН-группой в 5 и С=О группой в 4 положении.

Спектр ¹H ЯМР показал (рисунок 3), наличие пика с ppm 8,31, который соответствует протону в положении 2 кольца С, это показывает, что данный флавоноид относится в группе изофлавонов, также следует отметить дуплеты 6,81; 6,83 ppm, соответствующие протонам в положениях 3', 5' и 7,37; 7,39 ppm 2', 6' кольца В, 6,23 протона 6 положения и 6,38 протона 8 положения кольца А и 12,96 – ОН группы 5 положения и 10,89 – ОН 7 положения кольца А.

Расшифровка спектра представлена на рисунке 4 в соответствии с номером углерода, указанного на рисунке 5.

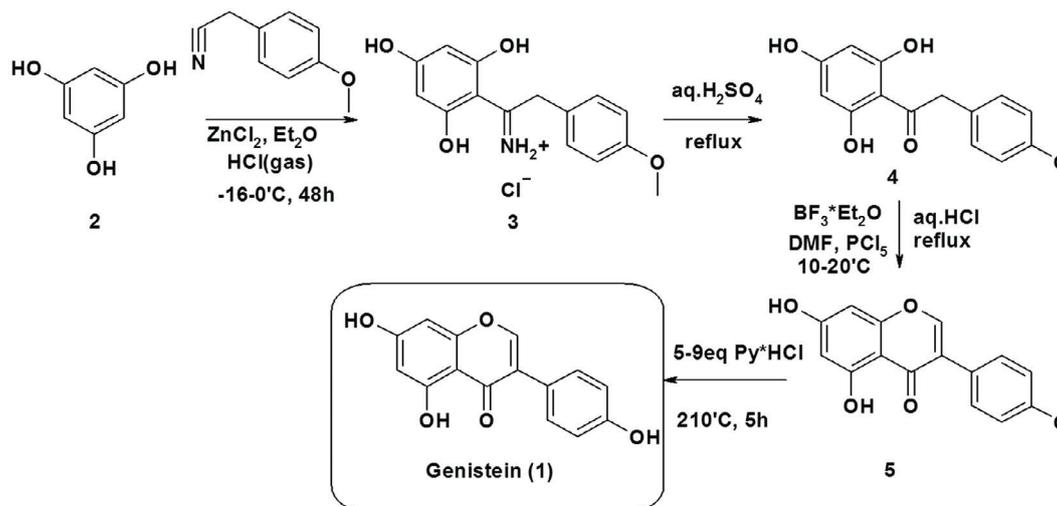


Рисунок 1. Схема синтеза генистеина (образец № 1)

Figure 1. The scheme of synthesis of genisteine (sample № 1)

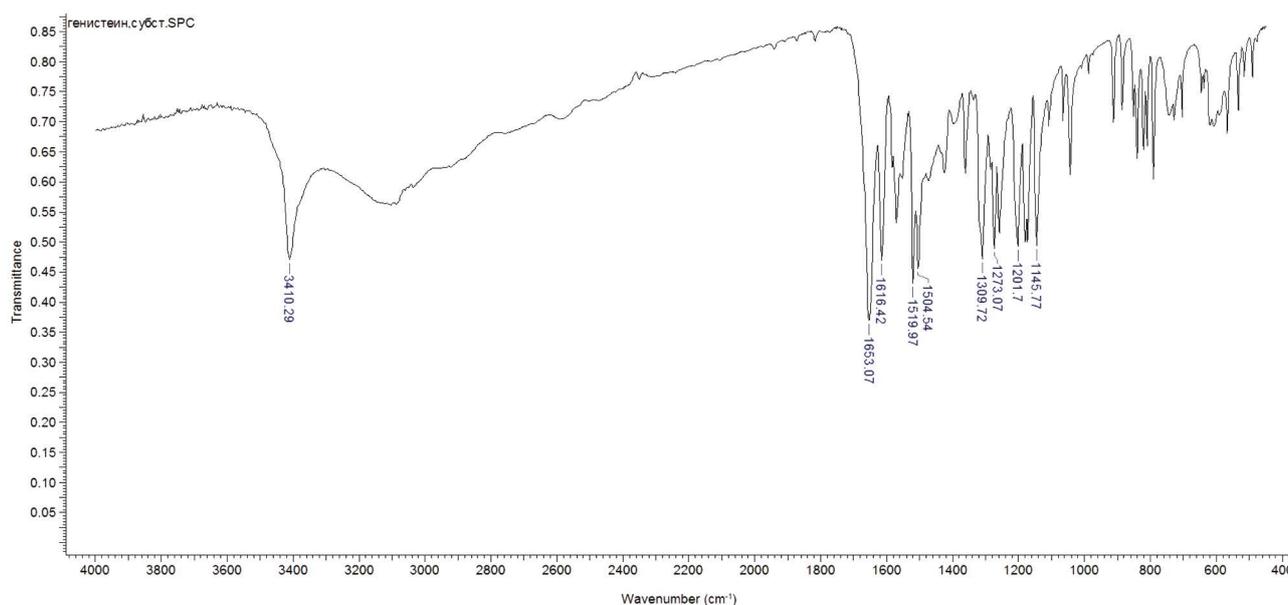


Рисунок 2. ИК-спектр генистеина № 1

Figure 2. IR-spectrum of genistein № 1

Таким образом, при анализе ЯМР-спектров ^{13}C и ^1H образца генистеина было определено, что все пики полностью соответствуют структуре исследуемого вещества.

Проведено исследование образца методом рамановской спектроскопии в зависимости от времени. Данный метод обладает рядом достоинств, экспертность, возможность проведения анализа через упаковку (бумагу, пластик и другие полимеры) при анализе готовых лекарственных средств и БАД, получение данных из дальней инфракрасной области, а также отсутствие необходимости подготовка образца пе-

ред анализом. Рамановская спектроскопия является неразрушающим аналитическим методом. Спектры представлены на рисунках 5–8.

В ходе проведенного исследования было выяснено, что спектры образца генистеина, полученные при разном времени экспозиции, не отличаются между собой, кроме того, в них отсутствуют дополнительные сигналы (рисунок 10). Таким образом, индивидуальная молекула образца генистеина № 1 подтверждена.

Исследование образца № 1 генистеина методом ГХ-МС с применением методики силилирования пока-

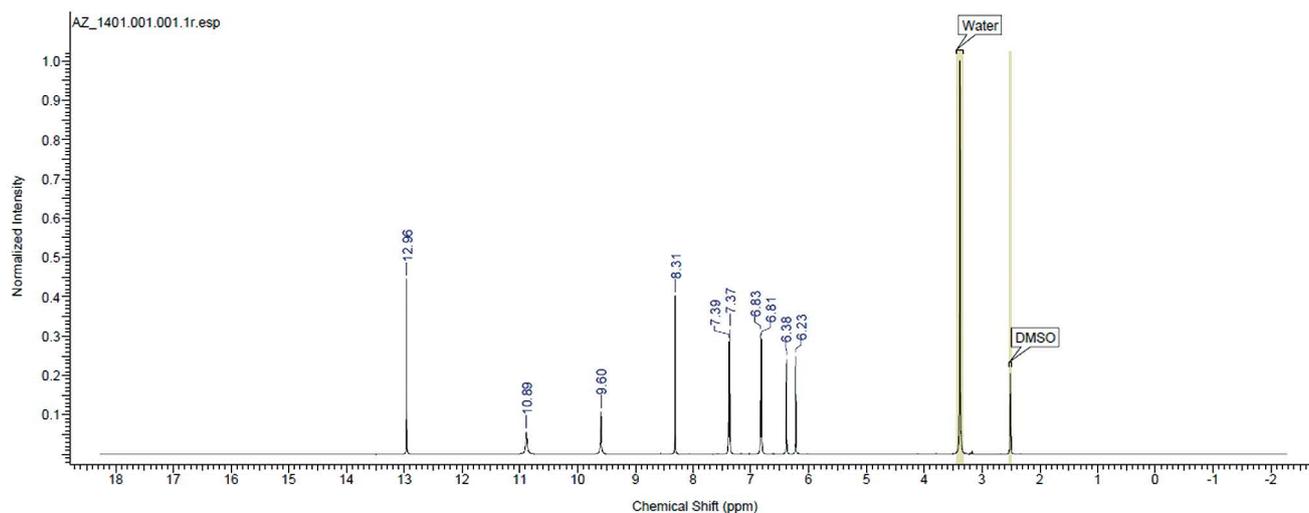


Рисунок 3. ¹H ЯМР-спектр генистеина № 1

Figure 3. ¹H NMR spectrum of genistein № 1

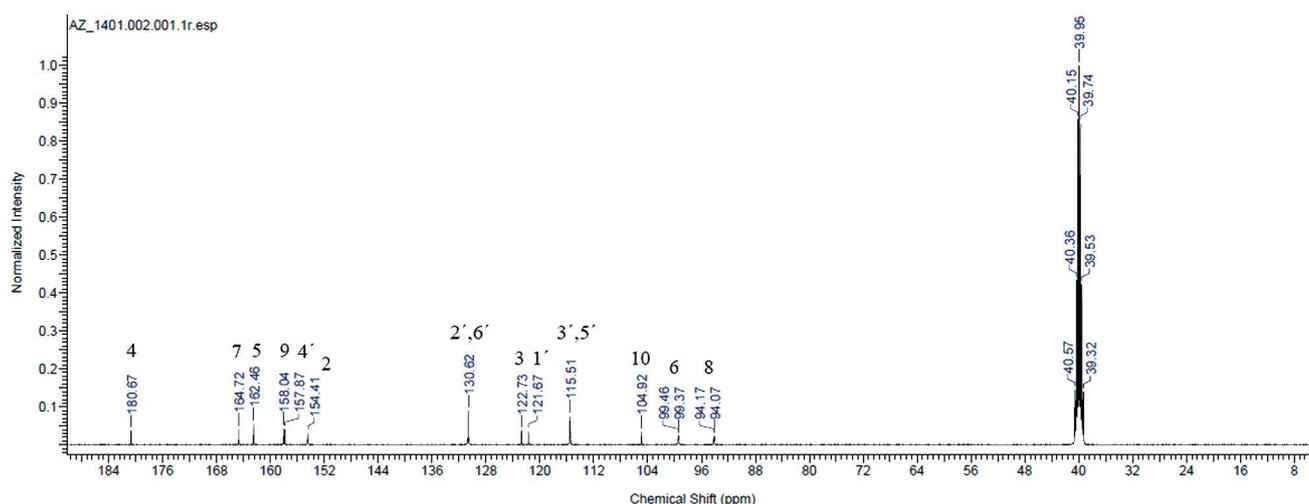


Рисунок 4. ¹³C ЯМР-спектр образца генистеина № 1

Figure 4. ¹³C NMR spectrum of genistein № 1

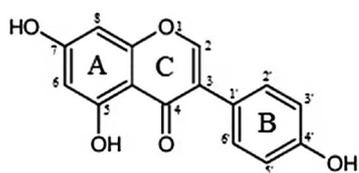


Рисунок 5. Структурная формула генистеина

Figure 5. The structural formula of genistein

зало результаты, сопоставимые с данными предыдущих исследований: один пик со временем удерживания около 13.76 мин и масс-спектром (пик молекулярного иона 471 и осколочные пика 73, 228 и 399) [15].

На кафедре ХТЛВ, СПХФУ схема синтеза, представленная на рисунке 1 была усовершенствована (рисунки 11 и 12).

1 этап. Формилирование и циклизация «дезоксibenзоина», вначале образуется полупродукт с формильными остатками по 5 и 7 OH – группам. Далее происходит гидролиз сложноэфирных групп с выходом на данной стадии 96 %.

2 этап. Снятия алкильной защиты. В отчете по научной работе было указано, что бромисто-водородная кислота неэффективна в данном процессе из-за плохой растворимости субстрата [17]. Нами было установлено, что использование ледяной уксусной кислоты в качестве соразтворителя, позволило решить эту проблему, и гидролиз при 110 °С проходил за 3 ч.

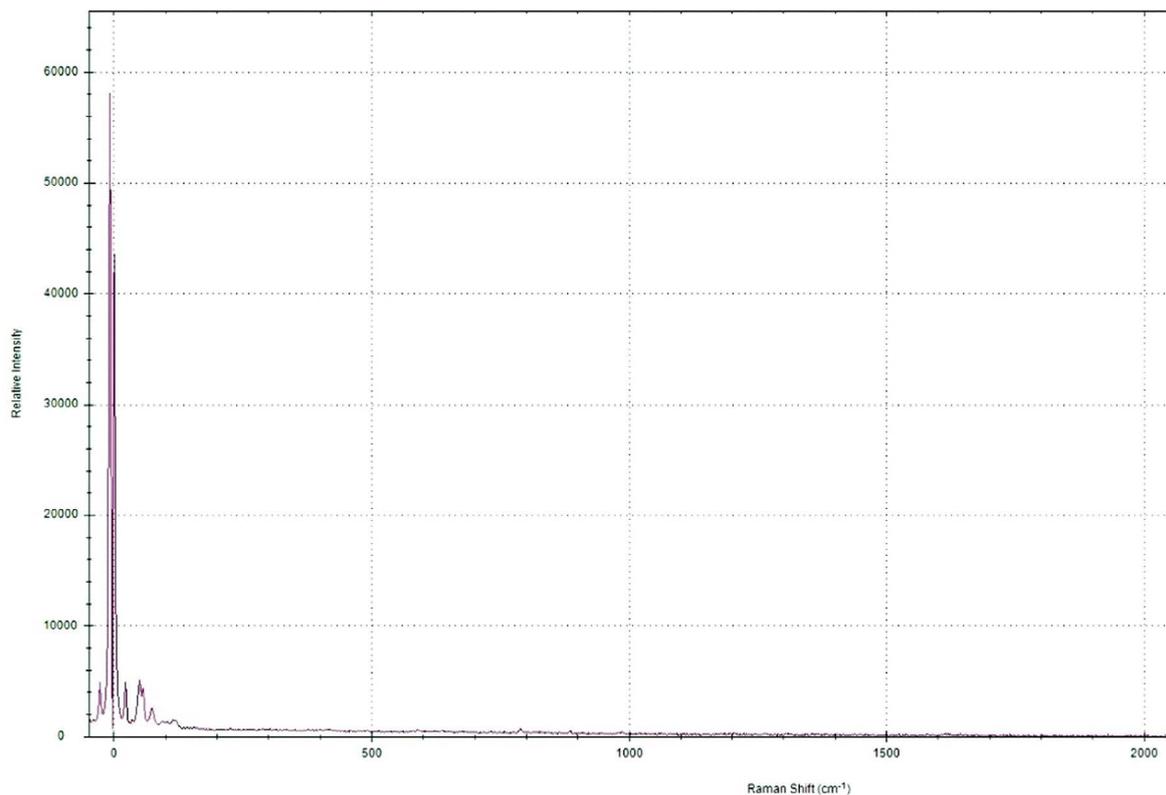


Рисунок 6. Раман-спектр генистеина № 1 (продолжительность записи 5 сек)

Figure 6. Raman-spectrum of genistein № 1 (laser interaction time was 5 sec)

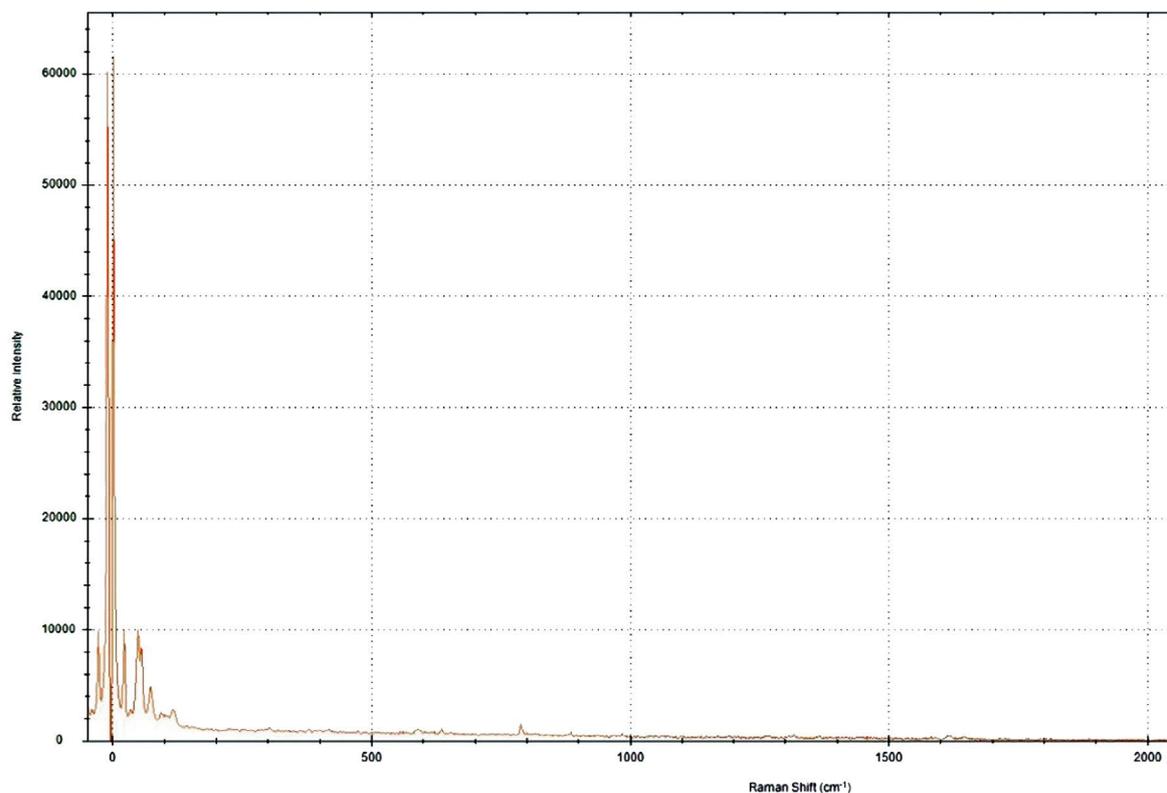


Рисунок 7. Раман-спектр генистеина № 1 (продолжительность записи 10 сек)

Figure 7. Raman-spectrum of genistein № 1 (laser interaction time was 10 sec)

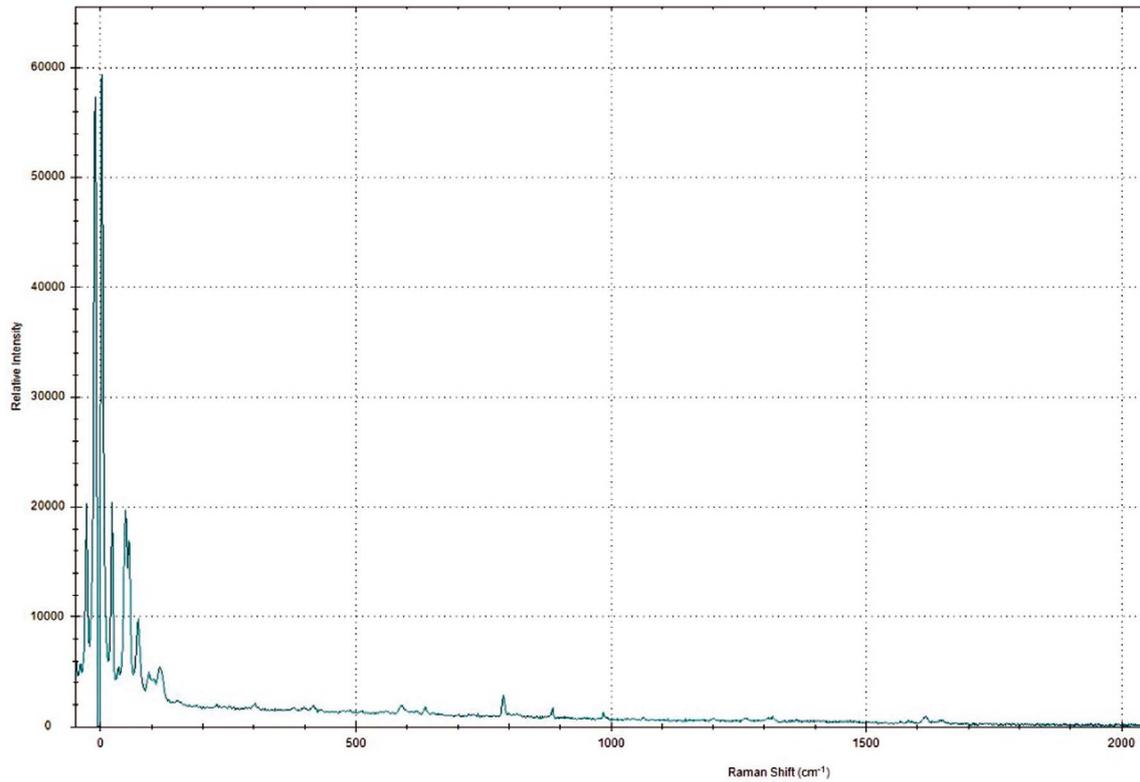


Рисунок 8. Раман-спектр генистеина № 1 (продолжительность записи 20 сек)

Figure 8. Raman spectrum of genistein № 1 (laser interaction time was 20 sec)

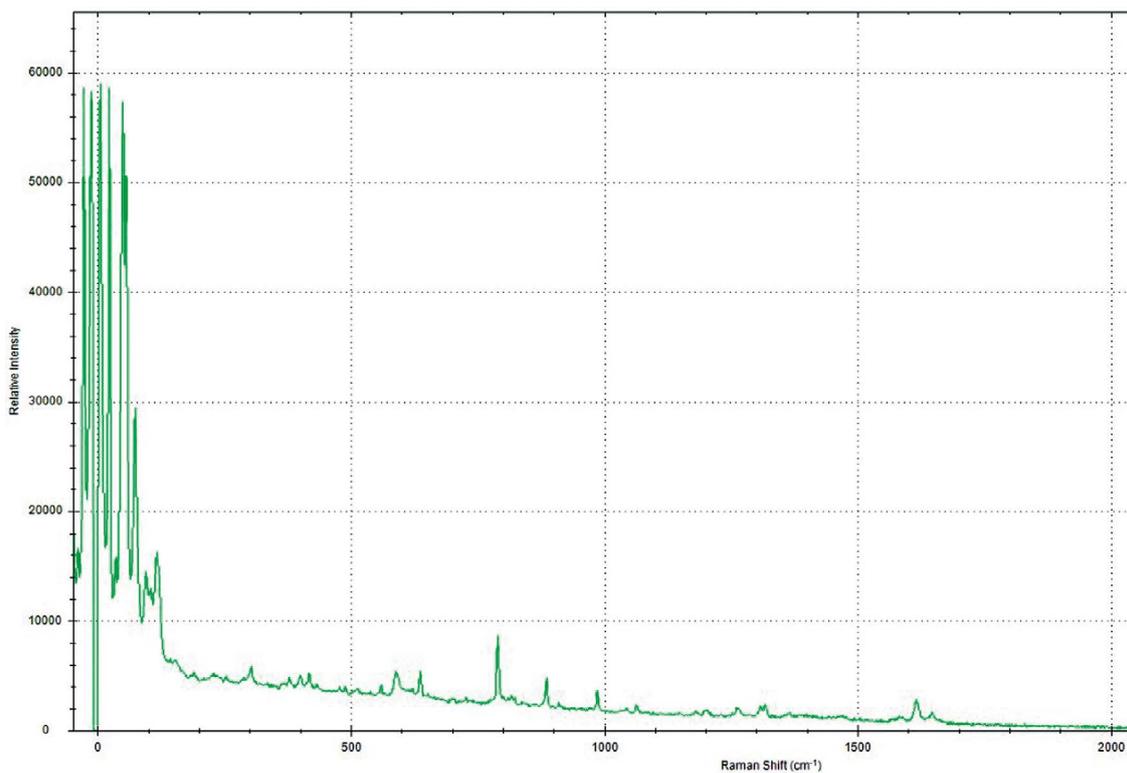


Рисунок 9. Раман-спектр генистеина № 1 (продолжительность записи 60 сек)

Figure 9. Raman spectrum of genistein № 1 (laser interaction time was 60 sec)

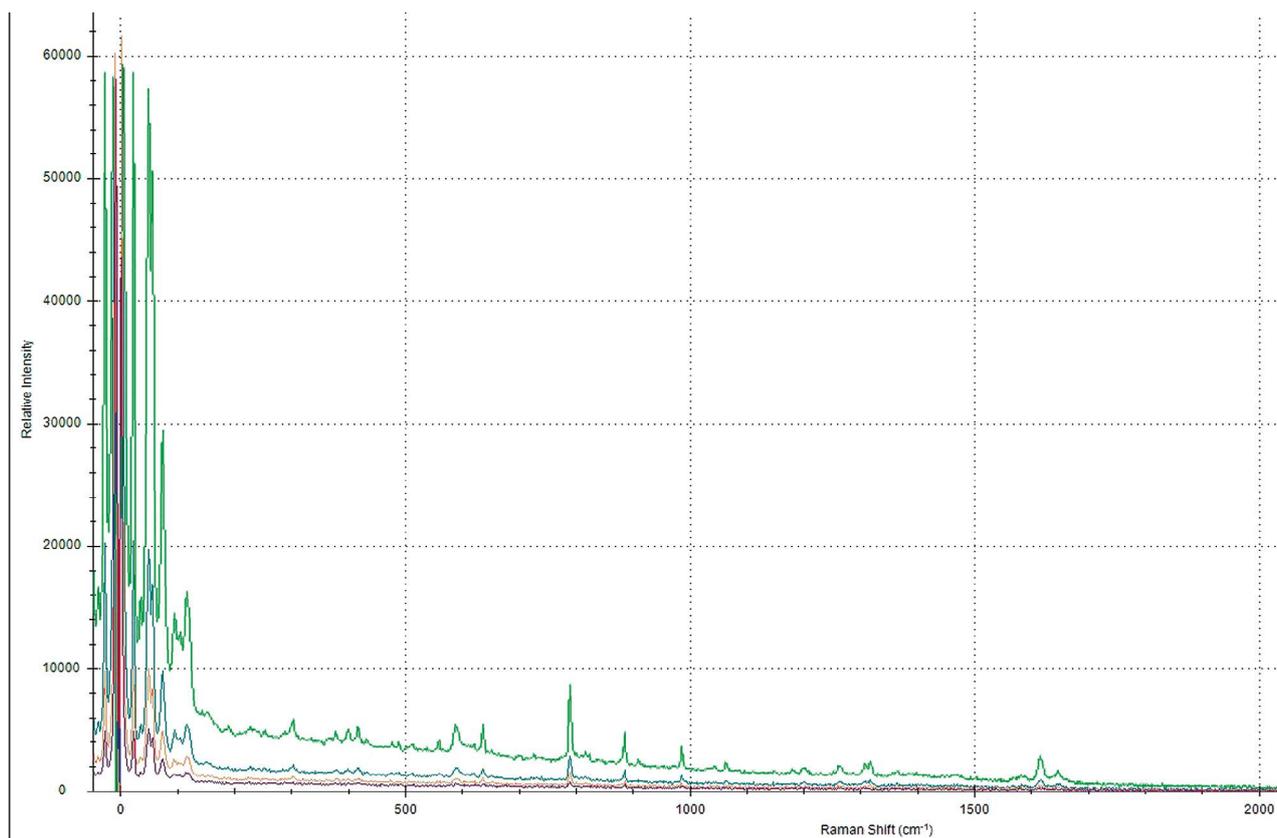


Рисунок 10. Раман-спектры генистеина № 1 (продолжительность 5, 10, 20, 60 с)

Figure 10. Raman-spectra of genistein № 1 (laser interaction time was 5, 10, 20, 60 sec)

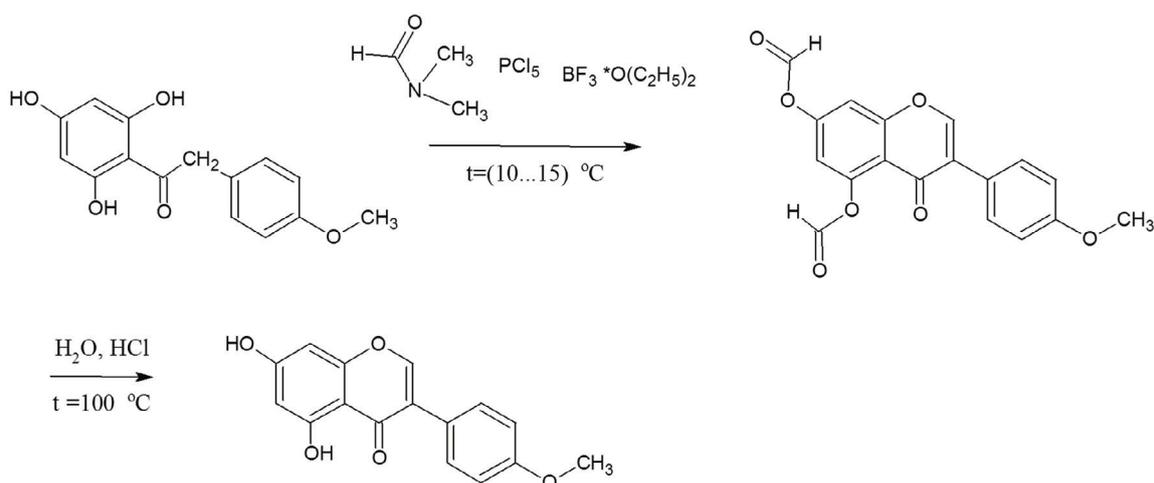


Рисунок 11. Схема реакций формилирования и циклизации в биочанин А

Figure 11. The scheme of reactions of formylation and cyclization to biochanin A

Установлено, что при проведении реакции «снятии алкильной защиты» бромистоводородной кислотой образуется побочный продукт, нерастворимый в ацетоне, представляющий собой продукт поликонденсации с раскрытием кольца С. Данная побочная реакция уменьшает выход генистеина до 40 %. Био-

чанин А представляет собой светло-бежевый порошок, генистеин – кирпично-красный мелкокристаллический порошок.

В процессе синтеза проводили исследование методами ТСХ полупродуктов (биочанина А) и полученного генистеина (образец № 2) (рисунок 13) Оно

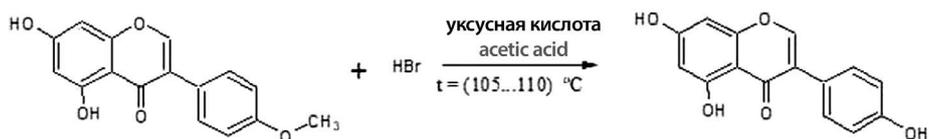


Рисунок 12. Схема снятия алкильной защиты

Figure 12. The scheme of the stage "removal of the alkyl protection"

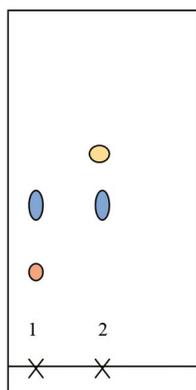


Рисунок 13. ТСХ исследование продуктов синтеза по схеме СПХФУ.

1 – Генистеин тех. (образец № 2); 2 – Биочанин А

Figure 13. TLC study of synthesis products according to SPCPU scheme.

1 – Genistein of those. (sample No. 2); 2 – Biochanin A

показало в генистеине тех. № 2 (оранжевое пятно) присутствует примесь биочанина А (голубые пятна), в Биочанине А присутствует продукт синтеза с формильными остатками по 5 и 7 ОН-группам (желтое пятно).

На рисунках 14 и 15 представлены спектры ЯМР ^1H . Из спектров, сравнении данных литературы [19, 20] и полученных в эксперименте (таблице 1), видно, что спектры биочанина А и генистеина соответствуют литературным данным. По данным ^1H ЯМР образцы полученных веществ содержат не более 2–3 % примесей: пики квартета 3.47, 3.44, 3.46, 3.42, 2.56; 1.92; триплет 1.08, 1.06, 1.04. Так же виден пик 3.79, что свидетельствует о примеси полупродукта синтеза биочанина А.

Таблица 1. Отнесение сигналов спектров ЯМР ^1H

Table 1. Assignment of ^1H NMR signals

Протоны Protons	Положение сигнала, ppm Signal position, ppm			
	Биочанин А Biochanin A		Генистеин (без перекристаллизации) Genistein (no recrystallization)	
	Литература [19] Literature [19]	Эксперимент Experiment	Литература [20] Literature [20]	Эксперимент Experiment
$-\text{OCH}_3$	3,79	3,79	-	-
8	6,23	6,23	6,22 (s, 1 H, Ar-H)	6,22
6	6,39	6,39	6,38 (s, 1 H, Ar-H)	6,38
3', 5'	7,00	6,99	6,80 (d, J = 7.6 Hz, 2 H, Ph-H)	6,82
2', 6'	7,50	7,49	7,36(d, J = 7.6 Hz, 2 H, Ph-H)	7,37
2	8,37	8,34	8,33 (s, 1 H, olefinic CH)	8,30
4'-ОН	-	-	9,61 (s, 1 H, Ar-OH)	9,59
7-ОН	10,91	10,90	10,90 (s, 1 H, Ar-OH)	10,87
5-ОН	12,93	12,93	12,96(s, 1 H, Ar-OH)	13,03

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при изучении образца генистеина методами ЯМР, ИК, рамановской спектроскопии (таблица 2), были определены спектральные характеристики, которые планируются ввести в норматив-

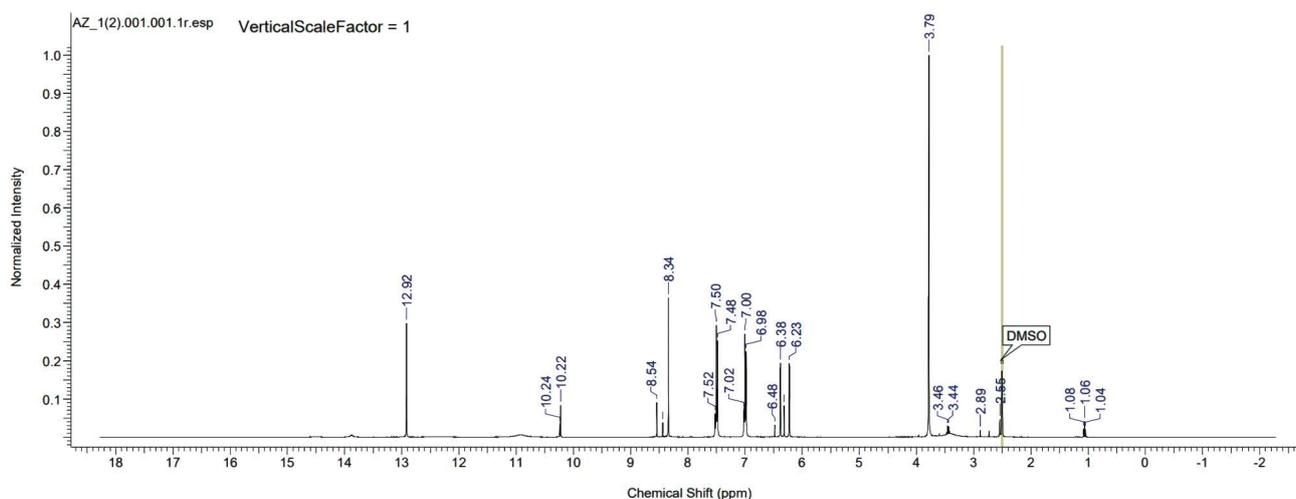


Рисунок 14. Спектр ЯМР ^1H биочанина А (промежуточного продукта синтеза генистеина)

Figure 14. ^1H NMR spectrum of biochanin A (the synthesis intermediate of genistein)

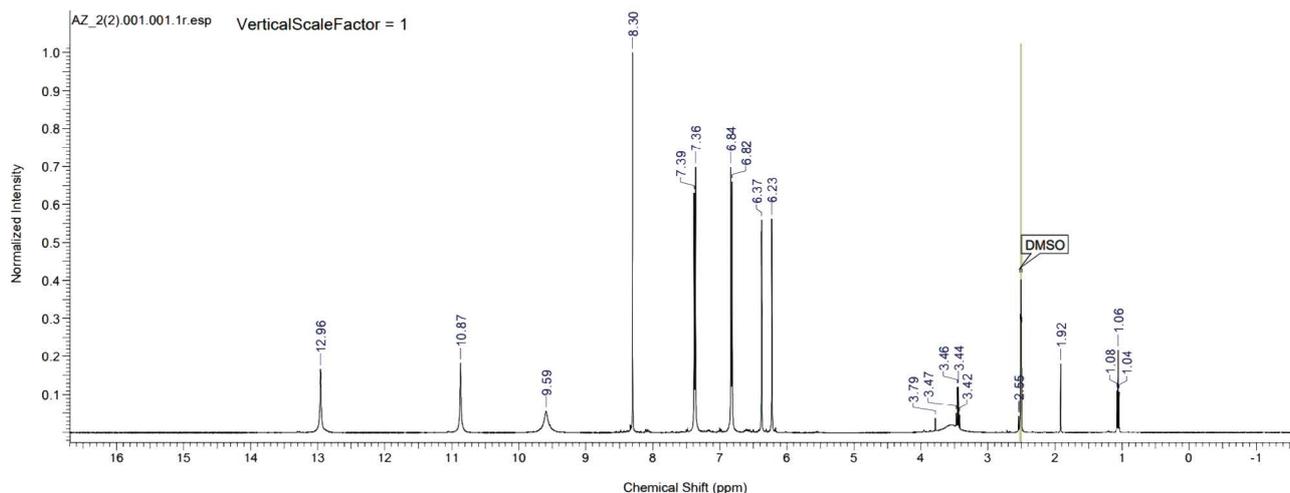


Рисунок 15. Спектр ЯМР ^1H генистеина «технического», синтезированный на кафедре ХТЛВ СПХФУ (образец № 2)

Figure 15. ^1H NMR spectrum of genistein synthesized at the departments of chemical technology of medicinal substances, SPCPU (sample № 2)

ную документацию на стандартный образец генистеина, что в дальнейшем позволит проводить контроль качества лекарственных средств на его основе и выявлять недоброкачественные БАД.

ЛИТЕРАТУРА

- Wise S. A. What is novel about certified reference materials? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018;410:2045–2049. DOI: 10.1007/s00216-018-0916-y.
- Абрамова Е. Г., Лобовикова О. А., Шульгина И. В., Комиссаров А. В., Савицкая Л. В., Генералов С. В., Галкина М. В., Гаврилова Ю. К., Кочкин А. В., Никифоров А. К. Разработка стандартного образца предприятия (СОП) специфической активности иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;4(21):160–164.
- Шведова Е. В., Устинникова О. Б., Рунова О. Б., Волкова Р. А., Бондарев В. П., Смоллов М. А., Шукуров Р. Р., Вишневский А. Ю. Разработка порядка аттестации стандартного образца рекомбинантного активированного фактора свертывания крови VII для подтверждения подлинности методом пептидного картирования, включающего масс-спектрометрическое исследование первичной структуры. *Гематология и трансфузиология*. 2018;63(4):334–342. DOI: 10.25837/HAT.2019.68.74.002.
- Меркулов В. А., Саканян Е. И., Климов В. И., Шемерянкина Т. Б., Яшкир В. А., Бармин А. В. Современные подходы к разработке стандартных образцов для оценки качества фармацевтических субстанций. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(11):54–56. DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-11-54-56.
- Громова А. В. Проблемы перевода фармацевтической терминологии. Понимание и рефлексия в коммуникации, культуре и образовании. Сборник статей Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, профессора, доктора филологических наук Георгия Исаевича Богина; 2018 12–23 октября; Тверь, Россия. Тверь: ТвГУ; 2019. С. 100–105.
- ISO GUIDE 35:2017 Reference materials – Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability – 4th ed. – 01.08.2017. Available at: <https://www.iso.org/ru/standard/60281.html>. Available at: 02.09.2021.

Таблица 2. Спектральные характеристики генистеина для нормативной документации

Table 2. The spectrum characteristics of genistein for regulatory documents

Вид спектра Spectrum type	Основные характеристики Main characteristics	Группы Groups
ЯМР ^1H NMR ^1H	8,31 дуплеты doublets 6,81; 6,83	протон в положении 2 кольца C proton in position 2 of ring C протоны в положениях 3', 5' и 7,37 protons in positions 3', 5' and 7.37
	7,39	2', 6' кольца B 2', 6' B rings
	6,23	протона б положения A proton б position A
	6,38	протона 8 положения кольца A proton 8 position of ring A
	12,96	–OH группы 5 положения A –OH group 5 position A
	10,89	–OH 7 положения кольца A –OH 7 position of ring A

Вид спектра Spectrum type	Основные характеристики Main characteristics	Группы Groups
ЯМР ¹³ C NMR ¹³ C	154,46 + 154,40 122,74 180,68 104,92 162,46 99,37 + 99,47 164,73 94,07 + 94,18 158,05 121,67 130,63 115,52 157,87	СН-группа в положении 2 CH group at position 2 С в положении 3 C in position 3 С в положении 4 C in position 4 С в положении 10 C in position 10 С в положении 5 C in position 5 СН-группа в положении 6 CH group at position 6 С в положении 7 C in position 7 СН-группа в положении 8 CH group at position 8 С в положении 9 C in position 9 С в положении 1' C in position 1' СН-группы в положениях 2', 6' CH groups in positions 2', 6' СН-группы в положениях 3', 5' CH groups in positions 3', 5' С в положении 4' C in position 4'
ИК-спектроскопия IR spectroscopy	3412 см ⁻¹ «зона отпечатков пальцев» (от 1600 до 400 нм ⁻¹): 1583 см ⁻¹ , 1614 см ⁻¹ , 810 см ⁻¹ , 819 см ⁻¹ , 841 см ⁻¹ , 852 см ⁻¹ , 1201 см ⁻¹ , 1423 см ⁻¹ , 1365 см ⁻¹ 3412 см ⁻¹ "Fingerprint zone" (1600 to 400 нм ⁻¹): 1583 см ⁻¹ , 1614 см ⁻¹ , 810 см ⁻¹ , 819 см ⁻¹ , 841 см ⁻¹ , 852 см ⁻¹ , 1201 см ⁻¹ , 1423 см ⁻¹ , 1365 см ⁻¹	наличии внутримолекулярной водородной связи между ОН-группой в 5 и С=О группой в 4 положении the presence of an intramolecular hydrogen bond between the OH group in the 5 and C=O group in the 4 position
Рамановская спектроскопия Raman spectroscopy	74,6 см ⁻¹ , 95,9 см ⁻¹ , 105,6 см ⁻¹ , 117,1 см ⁻¹ , 304,4 см ⁻¹ , 378,1 см ⁻¹ , 401,8 см ⁻¹ , 416,4 см ⁻¹ , 789,9 см ⁻¹ , 886,2 см ⁻¹ , 986,9 см ⁻¹ , 1615,6 см ⁻¹ 74.6 cm ⁻¹ , 95.9 cm ⁻¹ , 105.6 cm ⁻¹ , 117.1 cm ⁻¹ , 304.4 cm ⁻¹ , 378.1 cm ⁻¹ , 401.8 cm ⁻¹ , 416.4 cm ⁻¹ , 789.9 cm ⁻¹ , 886.2 cm ⁻¹ , 986.9 cm ⁻¹ , 1615.6 cm ⁻¹	Полосы, отвечающие за подтверждение индивидуальной молекулы Bands responsible for confirmation of an individual molecule

- Леонтьев Д. А., Подпружников Ю. В., Воловик Н. В. Роль стандартных образцов в обеспечении качества лекарственных средств: регуляторные и метрологические аспекты. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;3(16):180–187.
- Щепочкина О. Ю., Гегечкори В. И., Прокофьева В. И., Чепило Д. А., Левко А. А., Чадова Н. Н., Шестаков В. Н. Современные подходы к разработке стандартных образцов лекарственных средств. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(7):49–54. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-7-49-54.
- Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Крылов В. И., Яшкир В. А., Меркулов В. А. Разработка методики подтверждения подлинности фармацевтической субстанции «бусерелина ацетат» методом ЯМР спектроскопии без использования фармакопейного стандартного образца. *Антибиотики и химиотерапия*. 2017;62(9–10):40–46.
- Зверев Я. Ф. Противоопухолевая активность флавоноидов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(2):181–194. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-181-194.
- Зверев Я. Ф. Антитромбоцитарная активность флавоноидов. *Вопросы питания*. 2017;86(6):6–20.
- Thangavel P, Puga-Olguín A., Rodríguez-Landa J. F., Zepeda R. C. Genistein as potential therapeutic candidate for menopausal symptoms and other related diseases. *Molecules*. 2019;24(21):3892. DOI: 10.3390/molecules24213892.
- Jaiswal N., Akhtar J., Singh S. P., Badruddeen, Ahsan F. An overview on genistein and its various formulations. *Drug Research*. 2019;69(06):305–313. DOI: 10.1055/a-0797-3657.
- Петибская В. С., Лукомец В. М., ред. СОЯ: Химический состав и использование. Майкоп: ОАО Полиграф-ЮГ; 2012. 432 с.
- Стрелова О. Ю., Волкова К. В., Гребенюк А. Н., Теслов Л. С. Оценка показателей качества перспективной фармацевтической субстанции на основе синтетического генистеина. *Бутлеровские сообщения*. 2016;48(12):94–101.
- Брайан Б. А., Оллред М. К. Способы получения экстракта, обогащенного изофлавоновыми агликонами, из растительного материала (варианты), способ извлечения материала с высоким содержанием генистеина или дайдзеина из обогащенного изофлавоновыми агликонами материала. Патент РФ на изобретение № RU 2152434 C1. 10.07.2000. Доступно по: <https://patenton.ru/patent/RU2152434C1>. Ссылка активна на 02.11.2021.

17. Чикунов И. Е. Отчет о научно-исследовательской работе по теме Генистеин. Химки: ФМБА НПЦ «ФАРМЗАЩИТА»; 2012. 22 с.
18. Игнатъева Е. В., Ярцева И. В., Шпрах З. С., Будько А. П., Эктова Л. В., Козин Д. А., Решетняк В. Ю., Нестерова О. В., Панкратова Е. А. Стандартизация фармацевтической субстанции препарата ЛХС-1208. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):88–94. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-3-88-94.
19. Mrug G. P., Bondarenko S. P., Khilya V. P., Frasinuk M. S. Synthesis and aminomethylation of 7-hydroxy-5-methoxyisoflavones. *Chemistry of Natural Compounds*. 2013;49(2):235–241. DOI: 10.1007/s10600-013-0570-8.
20. Jeffrey D. St. D., Gordon J. S., Carroll V. M., Priefer R. Novel synthesis of the isoflavone genistein. *Synthesis*. 2010;10:1590–1592. DOI: 10.1055/s-0029-1219757.
10. Zverev Y. F. Antitumor activity of flavonoids. *Bjulleten' sibirskoj mediciny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2019;18(2):181–194. (In Russ.) DOI: 10.20538/1682-0363-2019-2-181-194.
11. Zverev Ya. F. Antiplatelet activity of flavonoids. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 2017;86(6):6–20. (In Russ.)
12. Thangavel P., Puga-Olguín A., Rodríguez-Landa J. F., Zepeda R. C. Genistein as potential therapeutic candidate for menopausal symptoms and other related diseases. *Molecules*. 2019;24(21):3892. DOI: 10.3390/molecules24213892.
13. Jaiswal N., Akhtar J., Singh S. P., Badruddeen, Ahsan F. An overview on genistein and its various formulations. *Drug Research*. 2019;69(06):305–313. DOI: 10.1055/a-0797-3657.
14. Petibskaja V. S., Lukomec V. M., editors. *SOJA: Himicheskij sostav i ispol'zovanie [SOY: Chemical Composition and Uses]*. Majkop: Poligraf-JuG; 2012. 432 p. (In Russ.)
15. Strelova O. Yu., Volkova K. V., Teslov L. S., Grebenyuk A. N. Evaluation of the quality indicators of promising pharmaceutical substance based on synthetic genistein. *Butlerovskie soobshheniya = Butlerov Communications*. 2016;48(12):94–101. (In Russ.)
16. Brajan B. A., Ollred M. K. *Sposoby polucheniya ekstrakta, obogashchennogo izoflavonovymi aglikonami, iz rastitel'nogo materiala (varianty), sposob izvlecheniya materiala s vysokim sodержaniem genisteina ili daydzeina iz obogashchennogo izoflavonovymi aglikonami materiala [Protein teknolodzhiz internehshn], Ink., assignee. Method of preparing extract enriched with isoflavone aglycons from plant material (variants), method of extraction of material with high content of genistein or daidzein from material enriched with isoflavone aglycons]. Patent RUS № 2152434 C1. 10.07.2000. Accessed: <https://patenton.ru/patent/RU2152434C1>. Available at: 02.11.2021. (In Russ.)*

REFERENCE

1. Wise S. A. What is novel about certified reference materials? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018;410:2045–2049. DOI: 10.1007/s00216-018-0916-y.
2. Abramova E. G., Lobovikova O. A., Shul'gina I. V., Komissarov A. V., Savitskaya L. V., Generalov S. V., Galkina M. V., Gavrilo-va Yu. K., Kochkin A. V., Nikiforov A. K. Development of quality control sample to assess specific activity of anti-rabies immunoglobulin obtained from equine blood serum. *Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2017;4(4):160–164. (In Russ.)
3. Shvedova E. V., Ustinnikova O. B., Rounova O. B., Volkova R. A., Bondarev V. P., Smolov M. A., Shukurov R. R., Vishnevskiy A. Yu. The development of industry standard sample qualification procedure of recombinant activated blood clotting factor VII for the proving of identity by peptide mapping method, including mass-spectrometric determination of the primary structure. *Gematologiya i Transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*. 2018;63(4):334–342. (In Russ.) DOI: 10.25837/HAT.2019.68.74.002.
4. Merkulov V. A., Sakanyan E. I., Klimov V. I., Shemeryankina T. B., Yashkir V. A., Barmin A. V. Modern approaches to development of reference substances for evaluation of the quality of pharmaceuticals. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(11):54–56. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-11-54-56.
5. Gromova A. V. *Problemy perevoda farmaceuticheskoy terminologii. Ponimanie i refleksiya v kommunikacii, kul'ture i obrazovanii. Sbornik statej Vserossijskoj (s mezhdunarodnym uchastiem) nauchno-prakticheskoy konferencii, posvjashhjonnoj pamjati zaslužhennogo dejatelja nauki, professora, doktora filologicheskikh nauk Georgija Isaevicha Bogina [Problems of translation of pharmaceutical terminology. Understanding and reflection in communication, culture and education. Collection of articles of the All-Russian (with international participation) scientific and practical conference dedicated to the memory of Honored Scientist, Professor, Doctor of Philology Georgy Isayevich Bogin]; 2018 Oct. 12–23. Tver': TvGU; 2019. P. 100–105.*
6. ISO GUIDE 35:2017 Reference materials – Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability – 4th ed. – 01.08.2017. Available at: <https://www.iso.org/ru/standard/60281.html>. Available at: 02.09.2021.
7. Leontiev D. A., Podpruzhnikov Y. V., Volovik N. V. The role of reference standards in quality assurance for medicines: regulatory and metrological aspects. *Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2016;3(16):180–187. (In Russ.)
8. Shchepochkina O. Y., Gegechkori V. I., Prokof'eva V. I., Chepilo D. A., Levko A. A., Chadova N. N., Shestakov V. N. Modern approaches to the development of standard samples of drugs. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;54(7):761–765. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-7-49-54.
9. Kuzmina N. E., Moiseev S. V., Krylov V. I., Yashkir V. A., Merkulov V. A. Development of a procedure for identification of pharmaceutical substance «Buserelin Acetate» by NMR Spectroscopy without using pharmacopeia reference standart. *Antibiotiki i himioterapija*. 2017;62(9–10):40–46. (In Russ.)