

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ
(назва кафедри)**

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Розробка методики фармацевтичного аналізу методом ВЕРХ
супровідних домішок у субстанції ізохінолінію дибензенсульфонату»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи Б2А
напряму підготовки (спеціальності)
226 «Фармація, промислова фармація»
(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання
Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»
«Фармація»
(назва освітньої програми)

Дарієнко Олег Володимирович
(прізвище та ініціали)

Керівники ас. Бут І.О.,

д.х.н. ас. Левін М.Г.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: д.фарм.н., професор Вельчинська О.В.
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2023-2024 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	8
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ХІНОЛІНІВ.....	8
1.1. Особливості хімічної будови хінолінів.....	8
1.2. Біологічна активність хінолінів.....	9
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ АТРАКУРІЮ.....	14
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості атракурію.....	14
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	21
ВИСНОВКИ.....	36
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	37
SUMMARY.....	40
ДОДАТОК 1.....	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГМДС – гексаметилдисилоксан

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікрометр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – нанометр

РХ – рідинна хроматографія

см⁻¹ – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

ТМС – тетраметилсілан

ТГФ – тетрагідрофуран

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

BTZ - бортезоміб

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

Hal – галоген

Heterocycl– гетероциклічний фрагмент

J, Гц – значення константи спінової взаємодії, герци

Ph – феніл

i-Pr – ізопропіл

ВСТУП

Актуальність теми. Основу молекули хіноліну складає біциклічна конденсована ароматична система, яка містить кільце бензену та кільце піридину. Велика кількість похідних хіноліну зустрічається у природних джерелах – це хінолінові алкалоїди. До них відносяться евокарпін із групи простих хінолінів, фліндерсин із групи трициклічних терпеноїдів, диктамнін та фагарин із групи похідних фуранохіноліну, хінін та хінідин із групи хініну тощо[1-6].

Незважаючи на вражаючі результати синтетичної хімії, натуральні продукти або їх модифікації становлять майже половину лікарських засобів, що використовуються для лікування раку, малярія, онхоцеркозу, лімфатичного філяріатозу. Виділення та медичне використання хініну із кори дерев роду *Cinchona* стало проривом у лікуванні малярії. Використання синтетичних аналогів, таких як хлорохін, артеметер та артесунат покращило можливості лікування малярії [7, 8].

Хінолін був запропонований як привілейований молекулярний каркас у органічному синтезі та медичній хімії. Описано 8536 похідних хіноліну, розроблених з використанням протоколу CADMA-Chem. З них відібрано 25 похідних для дослідження кислотно-основних, антиоксидантних і нейропротекторних властивостей. Антиоксидантна активність спрогнозована на підставі потенціалу іонізації та енергії дисоціації зв'язку. Ці два механізми зазвичай беруть участь у процесах поглинання радикалів. Деякі з похідних хіноліну діють як інгібітори ферментів катехол-О-метилтрансферази (COMT), ацетилхолінестерази (AChE) і моноаміноксидази типу В (MAO-B). Деякі сполуки посилюють або зменшують нейропротекторну активність. Чотири похідних хіноліну можуть діяти як багатофункціональні антиоксиданти проти хвороб Альцгеймера (AD) та Паркінсона (PD) [9, 10].

За хімічною будовою Хінолін – це конденсована ароматична гетероциклічна структура з гетероатомом Нітроген. Їй притаманні реакції за участю гетероатома, електрофільного та нуклеофільного заміщення, окиснення, відновлення. Хімічна номенклатурна назва за ІЮПАК – хінолін, 1-бензазин, 1-азанафтален, бензо[b]піридин.

Поєднання складної бензеногетероциклічної хімічно активної структури та вираженої біологічної активності перетворюють хінолін та його похідні на складний об'єкт, який має специфіку у фармацевтичному аналізі цієї субстанції. Молекула Хініну містить циклічну систему, яка характеризується делокалізованою електронною густиною, основні властивості притаманні за рахунок неподіленої електронної пари атому Нітрогену.

Атракурій – це лікарський засіб, міорелаксант, похідне хіноліну. Його хімічна номенклатурна назва за ІЮПАК 2,2'-[1,5-пентадііл-біс-[окси(3-оксо-3,1-пропандііл)]]-біс-[1-[3,4-диметоксифеніл)метил]-1,2,3,4-тетрагідро-6,7-диметокси-2-метил]ізохінолінія дибензенсульфонат. Можна передбачати у складі фармацевтичних композицій атракурію процеси внутрішньомолекулярної конденсації та утворення водневих зв'язків, оскільки у молекулі присутні незахищені гідрокси-, кето- та аміногрупи. Під час синтезу Атракурію утворюються побічні продукти реакцій, неприпустимі домішки, присутність яких важлива при оцінці якості його субстанції. Використання при аналізі субстанції атракурію високочутливих методів інструментального аналізу дозволяють виявити та ідентифікувати супровідні речовини та неприпустимих домішок, яку не регламентовано Фармакопеями.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є розробка хроматографічних умов, методик виконання хроматографування методом ВЕРХ та приготування розчинів для дослідження супровідних домішок у складі атракурію субстанції.

Після того, як ми проаналізували результати досліджень атракурую субстанції методом рідинної хроматографії (РХ) щодо ідентифікації специфікованих або/і неспецифікованих домішок, нами заплановано до виконання наступні завдання дослідження:

- запропонувати, розробити та адаптувати умови хроматографування методом ВЕРХ атракурую субстанції з метою визначення супровідних речовин та домішок;
- розробити методику хроматографування методом ВЕРХ атракурую субстанції та методики приготування розчинів;
- виконати хроматографічне дослідження методом ВЕРХ зразків атракурую субстанції у порівнянні зі стандартними за розробленою методикою та інтерпретувати отримані результати.

Методи дослідження. Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі DIONEX Ultimate 3000 з УФ детектором, колонка – BDS Hypersil C18, 250x4,6x5; комп'ютерний аналіз за програмою Chromeleon 7.2 SR 4.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у імплементації методу ВЕРХ у фармацевтичний аналіз атракурую субстанції, що реалізує використання цього методу у фармацевтичному аналізі.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвяченій 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р.

Публікації: За матеріалами дослідження подані до публікації 1 тези доповіді.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 41, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 20.

ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ХІНОЛІНІВ

1.1. Особливості хімічної будови хінолінів

За хімічною будовою атракурій відноситься до класу гетероциклів, а основу хімічної структури молекули складає кільце хіноліну (рис. 1.1.1) (за систематичною номенклатурою IUPAC 2,2'-[1,5-пентаділ-біс-[окси(3-оксо-3,1-пропанділ)]]-біс-[1-[3,4-диметоксифеніл)метил]-1,2,3,4-тетрагідро-6,7-диметокси-2-метил]ізохінолінія дибензенсульфонат).

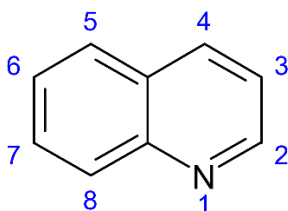


Рисунок 1.1.1. Хімічна формула хіноліну.

Хінолінове кільце є основним гетероциклічним компонентом молекули лікарського засобу атракурію (рис. 1.1.2).

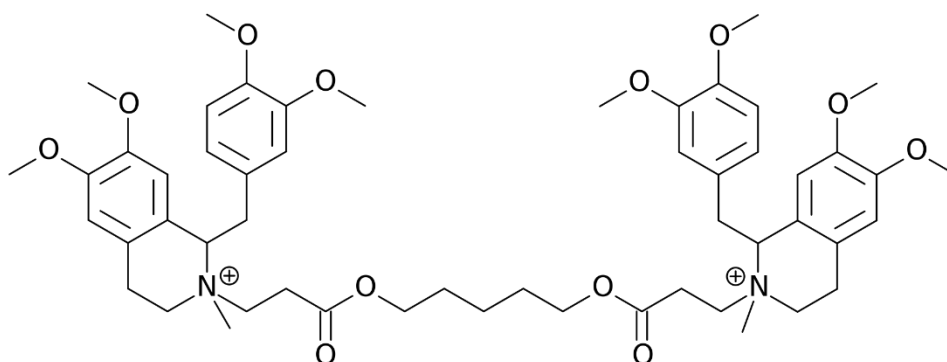


Рисунок 1.1.2. Хімічна формула атракурію.

Похідні хіноліну — основа багатьох лікарських засобів, які мають протимікробну дію. Це — похідні 8-гідроксихіноліну (нітроксолін), амінохінолінів (плазмохін, пентахін); похідні хінолону-2 (налідиксова

кислота, норфлуксацин, ципрофлуксацин) (рис. 1.1.3).

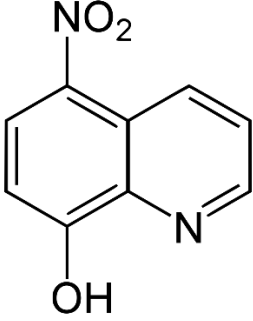
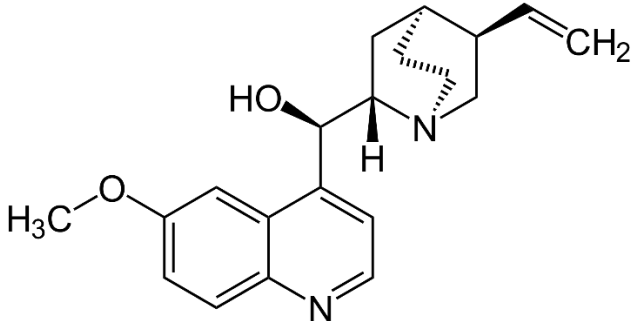
Нітроксолін 5-нітро-8-хінолінол	Хінін
	

Рисунок 1.1.3. Хімічні формули похідних хіноліну.

Хінін здійснює антиаритмічну дію, знижує збудливість та автоматизм серцевого м'язу, має слабкий атропіноподібний ефект. Відноситься до антиаритмічного засобу Ia класу.

Нітроксолін – протимікробний засіб, оксихінолін. Селективно пригнічує синтез бактеріальної ДНК, впливає на грам позитивні бактерії (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*), *Corynebacterium spp.*, *Bacillus subtilis*. Діє на грам негативні бактерії (*Escherichia coli*, *Proteusspp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*

Біологічно активні сполуки – похідні хіноліну містять різноманітні функціональні групи: метокси-, гідрокси-, нітро-, що розширює їх хімічні можливості та коло синтезу нових похідних на їх молекулярній основі.

1.2. Біологічна активність хінолінів

Синтезовано речовини з цитотоксичною дією, які виявляють протипухлинні властивості. Проведено реакції нуклеофільного заміщення 2,2-диметил-1,3-пропандіоксизаміщених циклотрифосфазенів з 2-

гідроксіантрахіноном у присутності карбонату цезію. Нові антрахінон-заміщені циклотрифосфазени були отримані.

Структури сполук охарактеризовано за допомогою MALDI-TOF MS, ЯМР (^{31}P та ^1H) та FT-IR спектроскопії. Досліджено цитотоксичну активність 2,2-диметил-1,3-пропандіокси та антрахінонзаміщених циклотрифосфазенів. Для визначення цих сполук використовували аналіз МТТ.

Досліджена цитотоксична дія сполук в лініях ракових клітин (MCF-7 / DLD-1) та неракових клітинних лініях (MCF-12A/CCD-18Co). Усі клітини інкубували з (2,5–40 мкМ) концентраціями сполук. Сполуки виявилися високоефективними проти раку молочної залози та високоефективними проти раку товстої кишки (рис.1.2.1) [11-15].

2-Hydroxyanthraquinone Substituted Cyclotriphosphazenes:
Synthesis and cytotoxic activities in cancer cell lines.

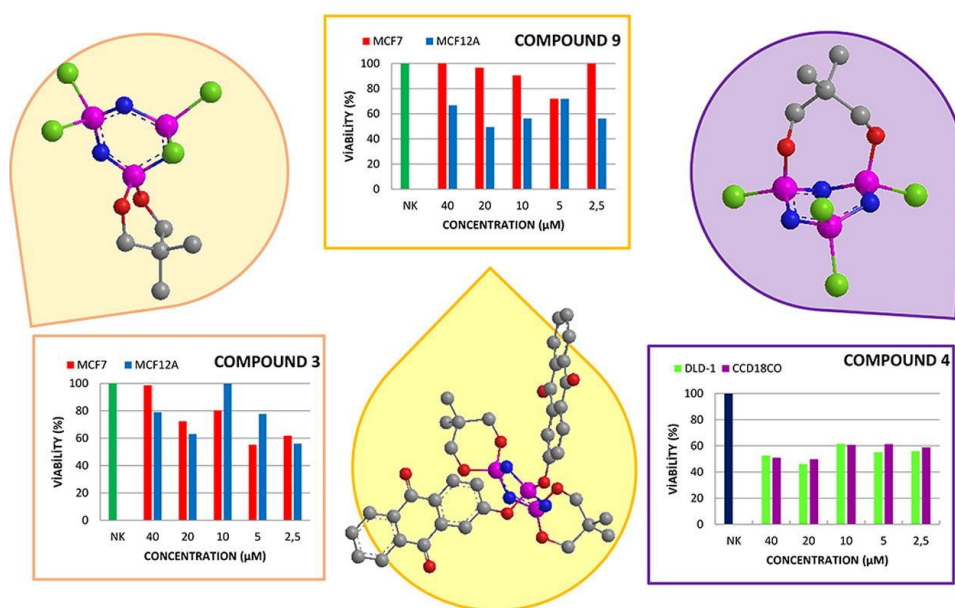


Рисунок 1.2.1. 2-Гідроксіантрахінони заміщені циклотрифосфазени.

Для лікування раку легенів доступний широкий вибір препаратів. Сильні побічні ефекти, вроджена або отримана резистентність пухлинних клітин до деяких агентів спонукають вчених до розробки альтернативних агентів.

Антрахінонові препарати (доксорубіцин, мітоксантрон, епірубіцин, ідарубіцин, валрубіцин) використовуються для лікування різних видів раку. Були синтезовані нові 2-аміноантрахінон-заміщені циклотрифосфазенові сполуки, будова яких підтверджена методами FT-IR, MALDI-TOF MS, ¹H- та ³¹P ЯМР-спектроскопії.

Антиканцерогенний потенціал синтезованих сполук досліджений на клітинних лініях недрібноклітинної карциноми легенів (NSCLC), на непухлинних мезотеліальних клітинах (MeT-5A). Порівняно з іншими знайдено ефективніші сполуки для зниження життєздатності ракових клітин і індукування апоптозу (рис. 1.2.2) [16-18].

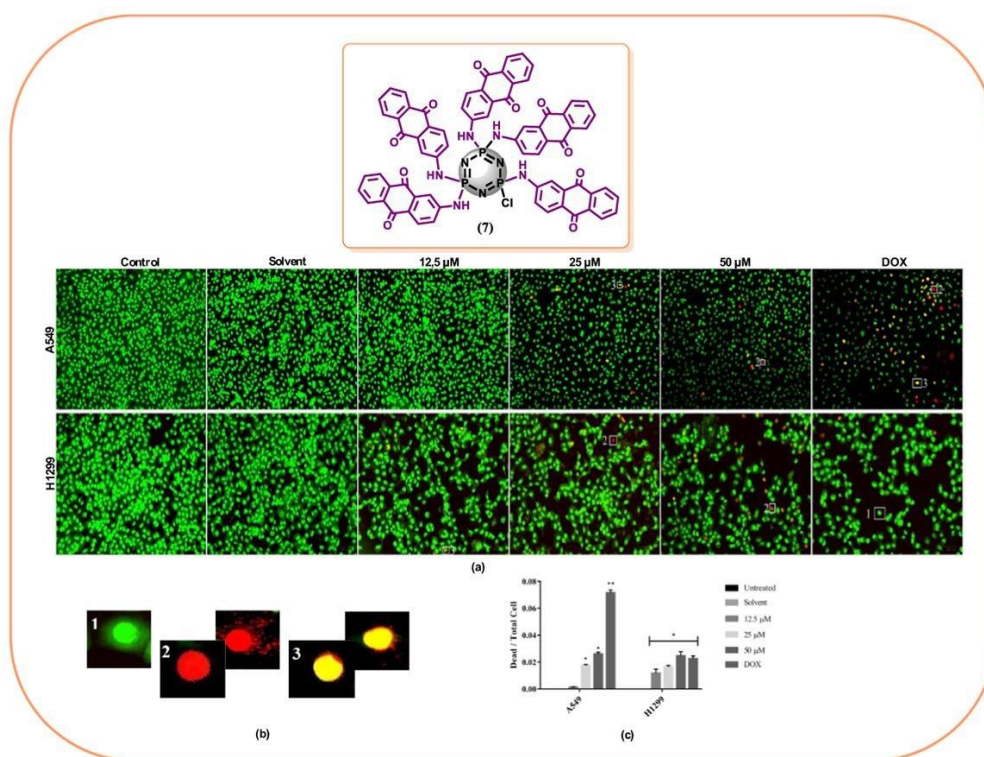


Рисунок 1.2.2. 2-аміноантрахінон-заміщені циклотрифосфазенові сполуки.

З метою розширення структурної різноманітності та підвищення протипухлинної ефективності синтезовано нові похідних нафтохінону фенацилімідазолію. Цитотоксичність цих сполук оцінювали *in vitro* на панелі клітинних ліній – лінії клітин карциноми молочної залози людини (MCF-7),

лінії клітин карциноми шийки матки людини (HeLa), лінії клітин карциноми легенів людини (A549).

Сполуки показали антипроліферативну активність із значеннями IC₅₀ від низьких до 50 нМ проти MCF-7. Підтверджена їх селективність (вище у 256 разів) порівняно з нормальними клітинними лініями L929. Сполуки індукували апоптоз.

Вони різко пригнічують експресію сурвівіну та активують проапоптотичний білок каспазу-3.

Результати показали, що модифікація 1,3-замісників нафтохінон імідазоліїв без замісника у положенні 2 є перспективною (рис. 1.2.3).

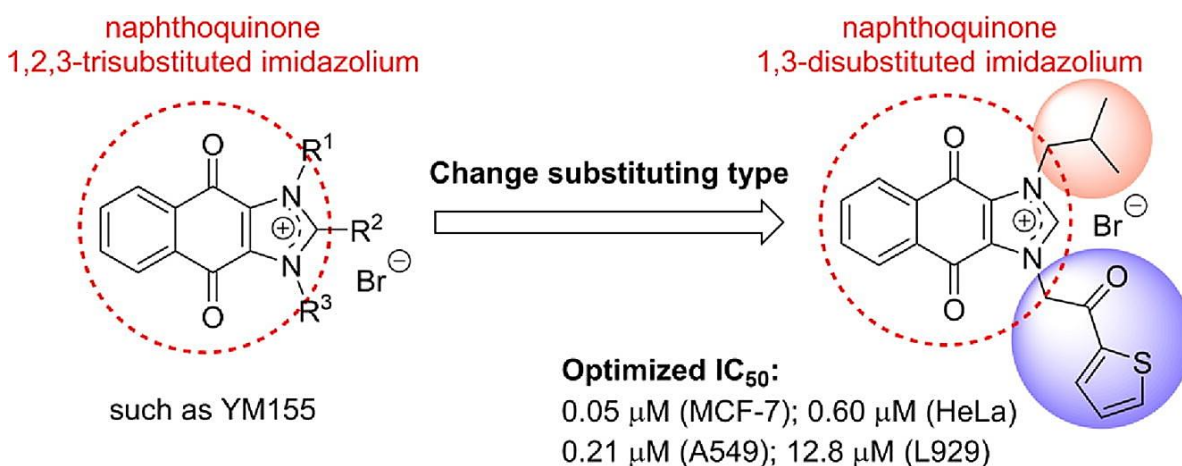


Рисунок 1.2.3. Схема синтезу із зміною заміщення у молекулі нафтохінону імідазолію.

На рисунку 1.2.4 показано хімічні формули похідних хіноліну – антиоксидантів: ципрофлоксацин, хлорохін, хінідин, недокромін, оксихінолін, пурівініум, кліохінол, імохімод.

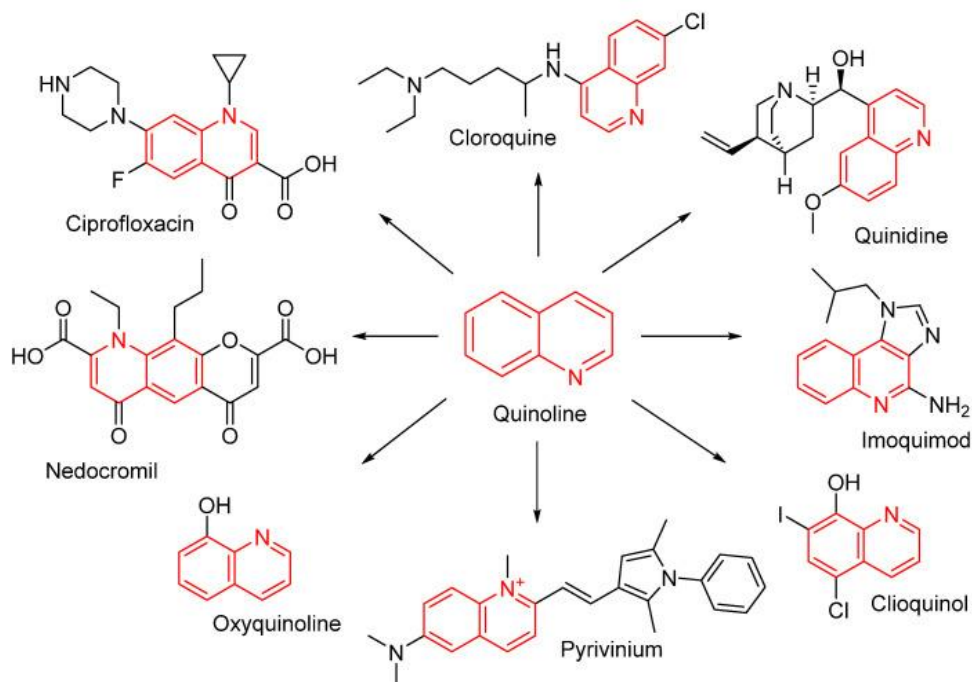


Рисунок 1.2.4. Антиоксиданти – похідні хіноліну.

Крім того, хіноліну –хінони мають антибактеріальну активність, протигрибкову активність, є антималярійними та протипухлинними агентами (рис. 1.2.5).

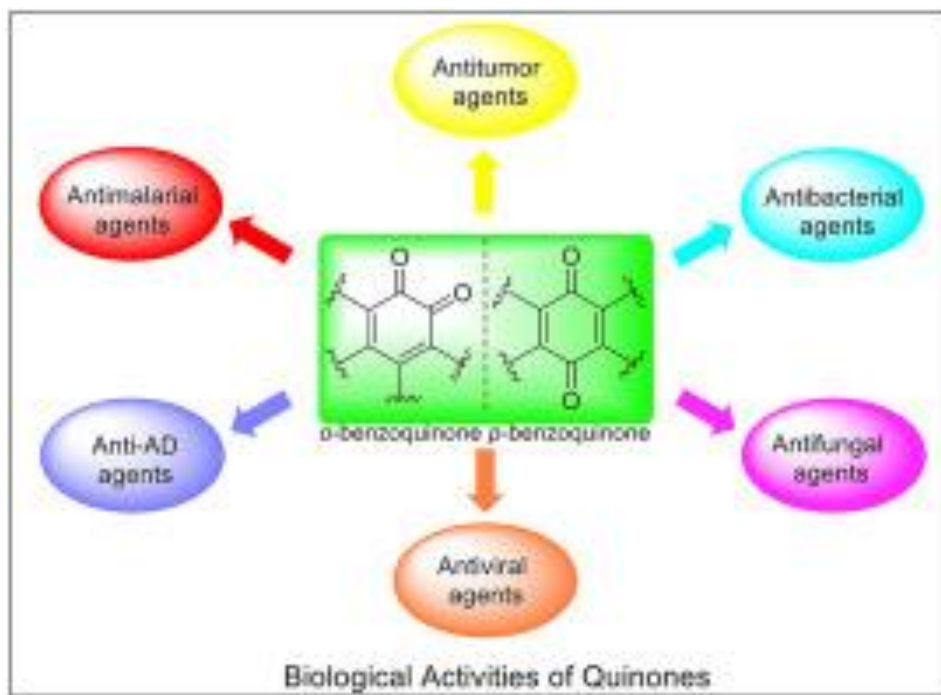


Рисунок 1.2.5. Види біологічної активності – похідні хіноліну.

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ АТРАКУРІЮ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості атракурію

Хінін та його похідні синтезують класичними та сучасними методами.

До класичних методів синтезу хініну відноситься синтез Скраупа. Реакція конденсації відбувається між анінобенzenом та гліцерином у присутності каталізаторів (рис. 2.1.1).

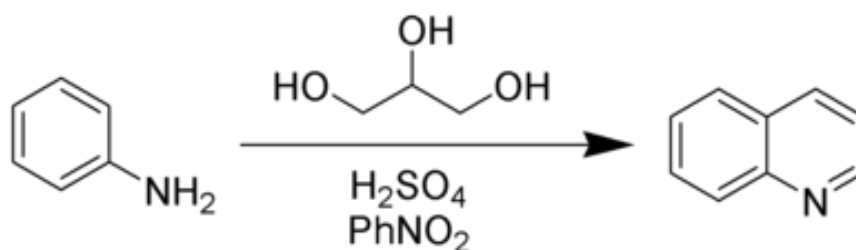


Рисунок 2.1.1. Синтез хіноліну (метод Скраупа).

Якщо розглянути цей метод постадійно, то на першій стадії відбувається дегідратація гліцерину при каталі сульфатної кислоти, утворений дієн гідрогенізується та реагує з аніліном, потім відбувається циклізація з утворенням другого циклу у молекулі, дегідратація з ароматизацією циклів. Дегідрування молекули з використанням нітробензену призводить до утворення молекули хіноліну (рис. 2.1.2).

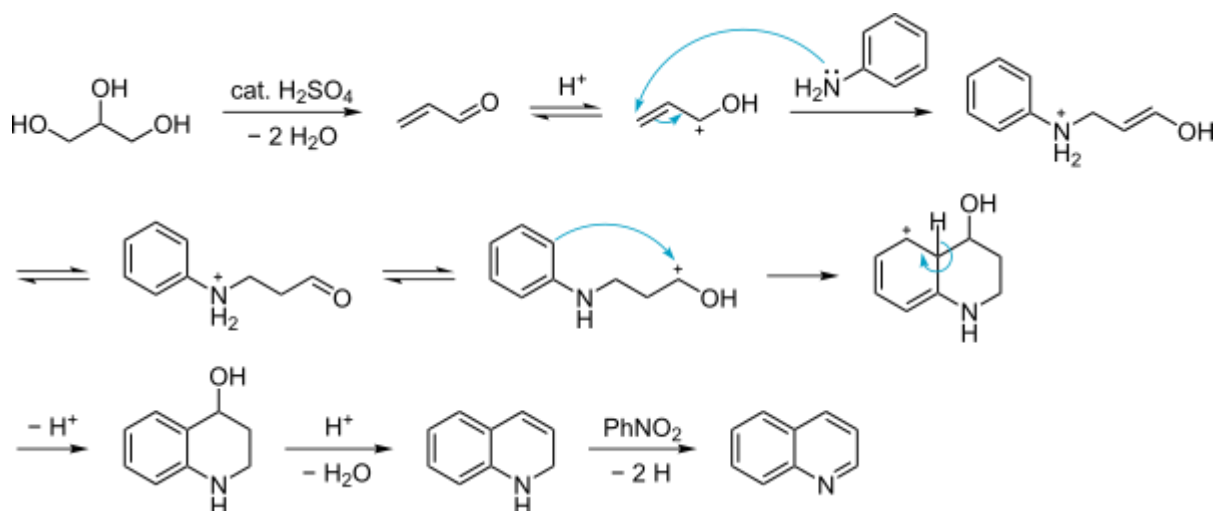


Рисунок 2.1.2. Синтез хіноліну постадійний (метод Скраупа).

На рисунку 2.1.3 показана схема синтезу за методом Кнорра. В цьому методі використовують реакцію циклізації молекули дикарбонільного похідного аніліну.

За рахунок дегідратації під дією сульфатної кислоти концентрованої відбувається конденсація карбонільного фрагменту з циклом, а потім замикання другого циклу.

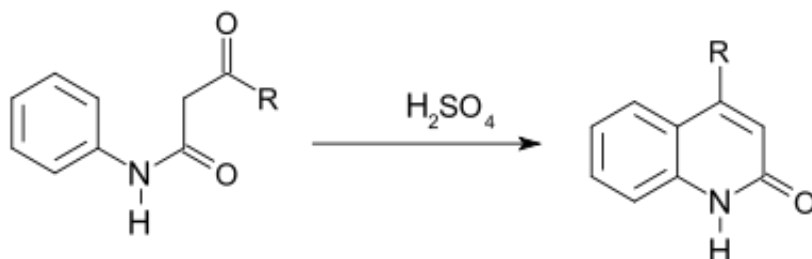


Рисунок 2.1.3. Синтез хіноліну (метод Кнорра).

Із хімічних властивостей хінолінів практично всі можливі хімічні реакції притаманні цим молекулам: окислення, відновлення, заміщення.

Реакції відновлення хіноліну проходять із воднем у метанолі, літійалюмінійгідридом, літію у амонії. У якості каталізатору часто використовують платину (рис. 2.1.4).

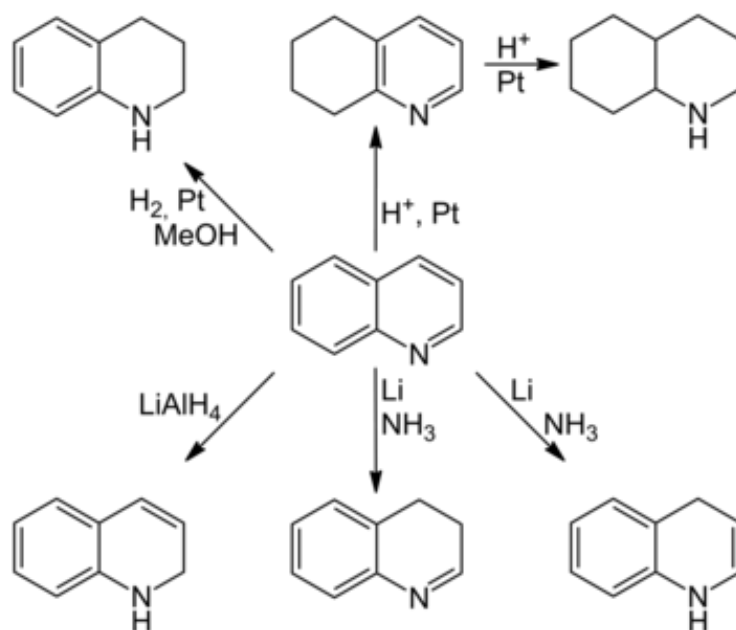


Рисунок 2.1.4. Відновлення хіноліну.

Реакції окислення хіноліну проходять озonom, ацетатною кислотою, калію перманганатом. Утворюються N-окис хіноліну, хінолінові кислоти, карбонільні похідні (рис.2.1.5).

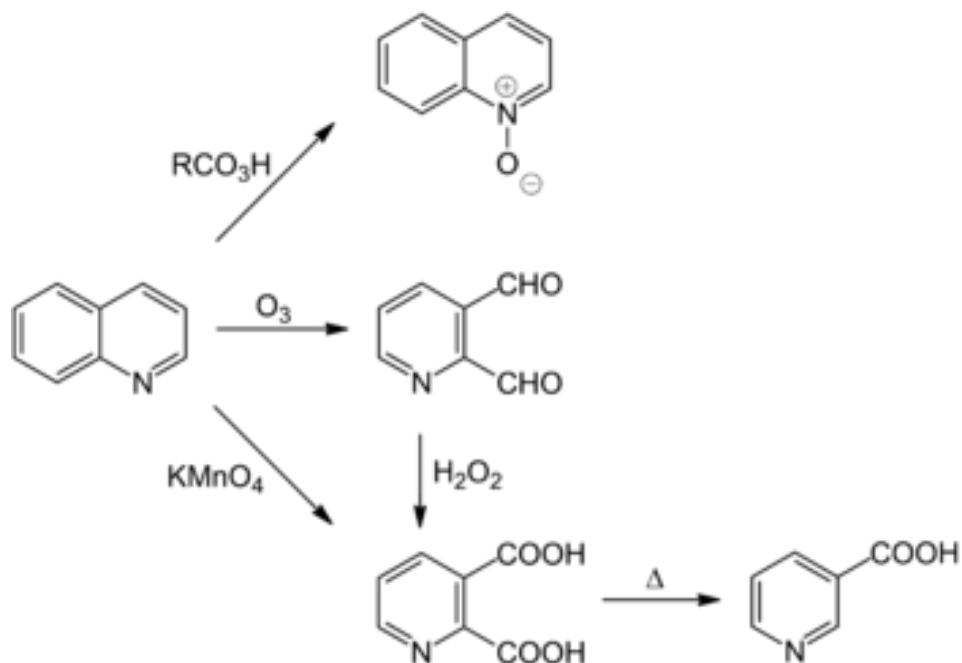


Рисунок 2.1.5. Окиснення хіноліну.

Реакції амінування призводять до утворення сумішей продуктів: 4-аміно- та 2-амінохіноліни (рис. 2.1.6).

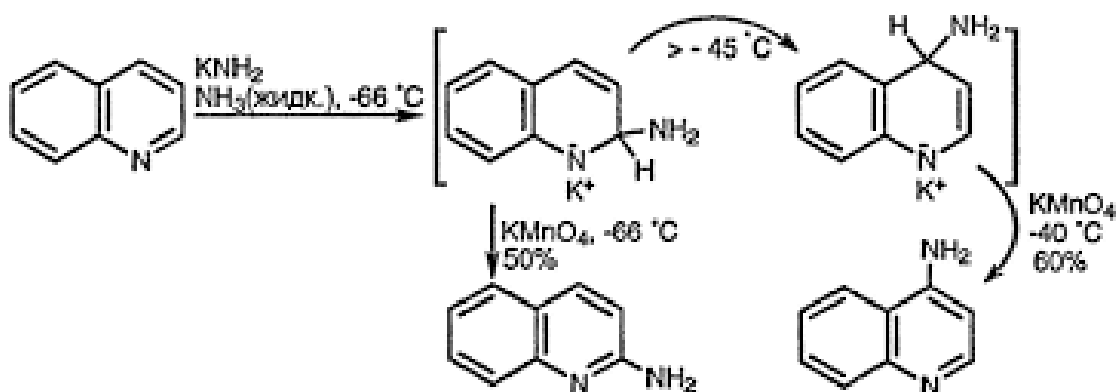


Рисунок 2.1.6. Амінування хіноліну.

Для хінолінів можливі реакції електрофільного або нуклеофільного заміщення (рис. 2.1.7).

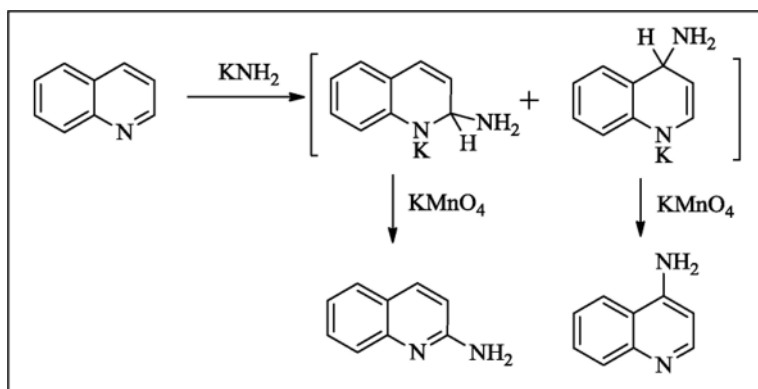


Рисунок 2.1.7. Нуклеофільне заміщення хіноліну KNH_2 .

Атракурій – 2,2'-[1,5-пентандиіл-біс[окси(3-оксо-3,1-пропандііл)]]-біс-[1-[(3,4-диметоксифеніл)метил]-1,2,3,4-тетрагідро-6,7-диметокси-2-метилізохінолінію] дибензолсульфонат. Сполуку синтезують реакцією біс-акрилового ефіру 1,5-пентандиола, який отримують із хлорангідриду акрилової кислоти та 1,5-пентандиола. Дві молекули вторинного аміну, тетрагідропапаверину, приєднуються до напів-продукту в реакції Міхаеля, утворюючи сполуку. Потім обидва атоми азоту метилуються метилбензолсульфонатом, утворюючи атракурій (рис.2.1.8) [19].

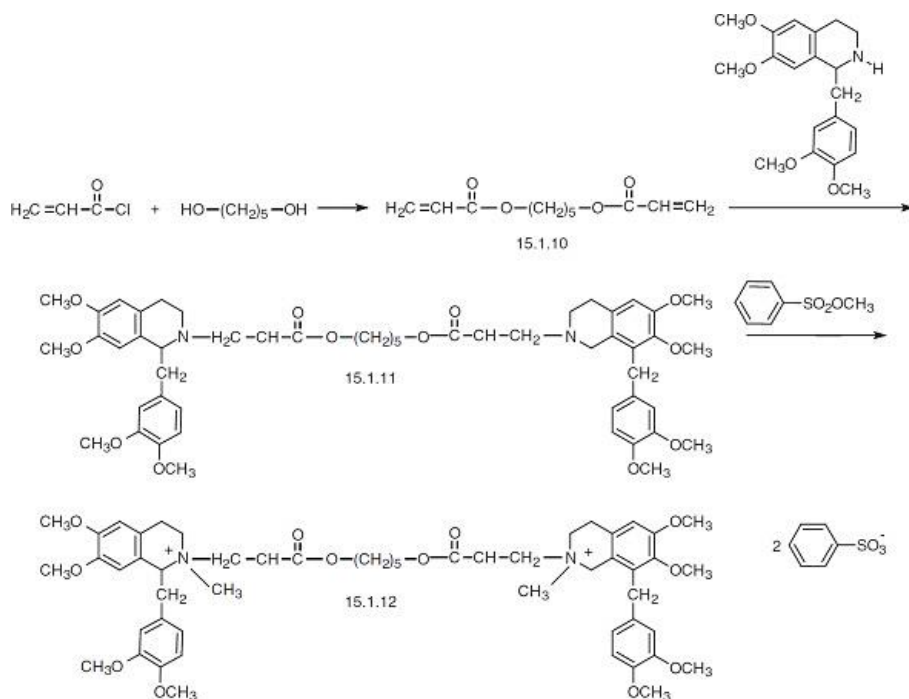
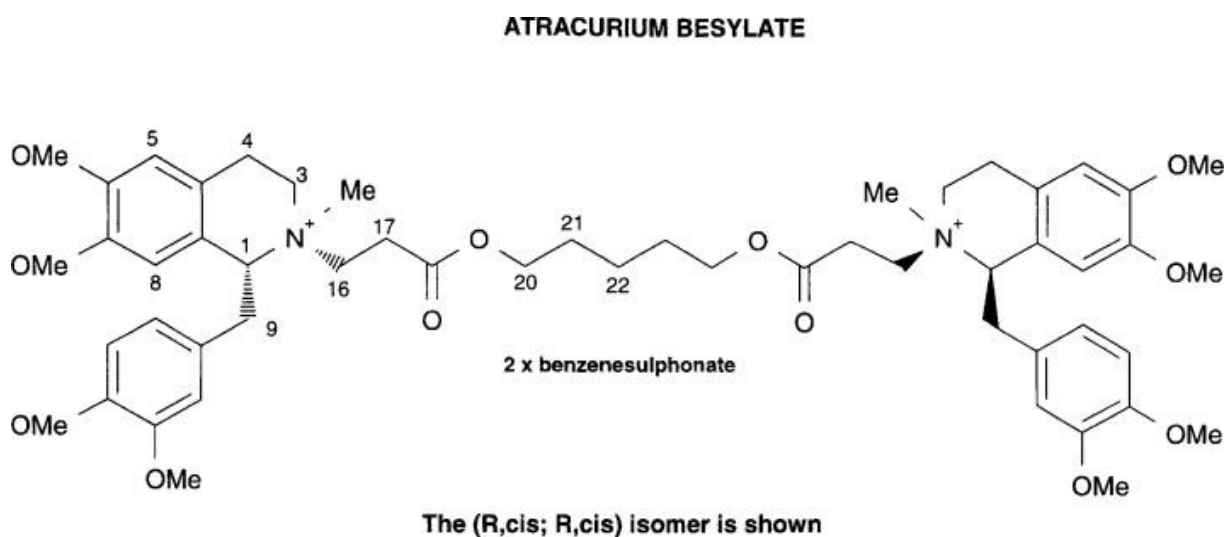


Рисунок 2.1.8. Схема синтезу атракуріуму.

На рисунку 2.1.9 зображена хімічна формула ще одного лікарського засобу – атракурію безилату, який містить цис- і транс-ізомери у складі субстанції.



Racemates		Meso
R,cis; R,cis	S,cis; S,cis	R,cis; S,cis
R,trans; R,trans	S,trans; S,trans	R,trans; S,trans
R,cis; R,trans	S,cis; S,trans	
R,cis; S,trans	R,trans; S,cis	

Рисунок 2.1.9. Хімічна формула атракуріуму безилату.

Якщо розглядати Атракуріум безилат як лікарську речовину – субстанцію для проведення фармацевтичного аналізу, то це – білий з жовтуватим відтінком гігроскопічний порошок, який розчиняється у полярних розчинниках (вода, етанол 96%). Він добре розчинний у ацетонітрилі, метиленхлориді.

Субстанція представляє собою суміш цис-цис, цис-транс, транс-транс ізомерів.

За Європейською Фармакопеею ідентифікацію виконують методом ІЧ-абсорбційною спектрофотометрією (2.2.24) у порівнянні із атракурію безилатом CRS, хроматографічним методом [20].

Після порівняльного хроматографування атракурію субстанції із цисатракурію субстанції можна побачити пік атракурію з часом утримування при 13,87 хв та 14,20 хв. На хроматограмі спостерігаються сигнали лауданозіну, одноквартинної кислоти (рис. 2.1.10).

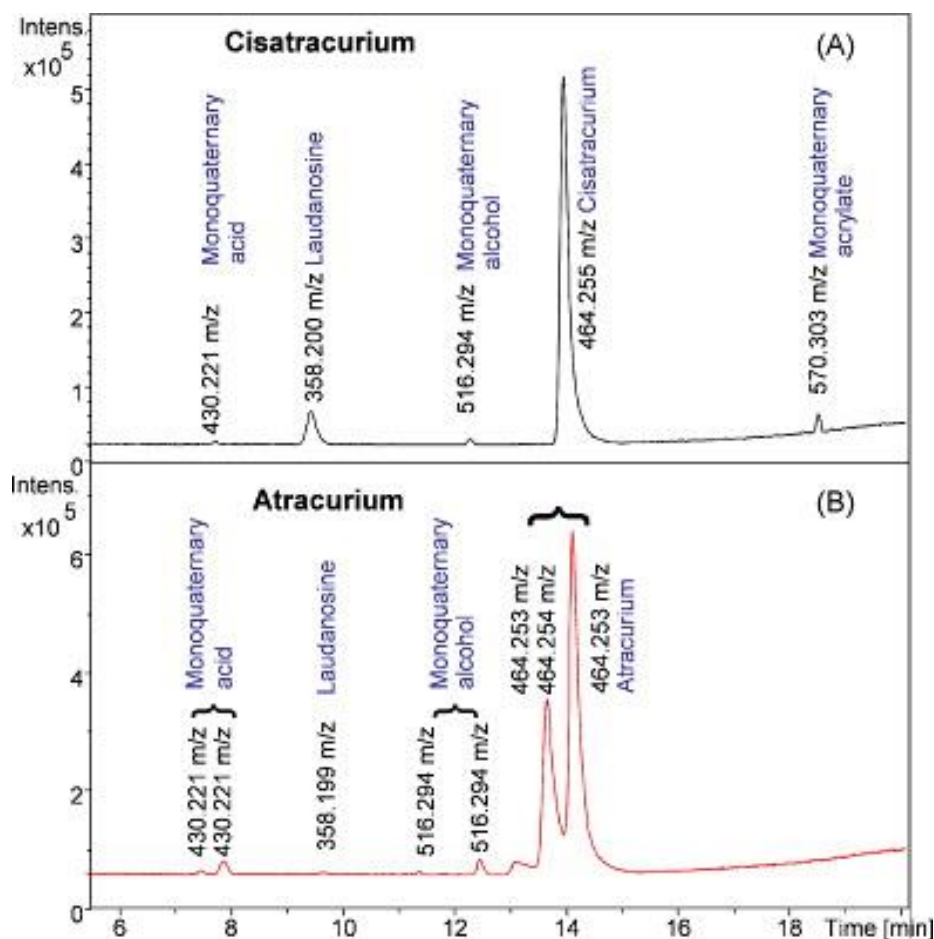


Рисунок 2.1.10. Порівняльна хроматограма цисатракурію та атракурію.

На хроматограмах з різним видом детектування (CD-, UV-) можна побачити, наскільки селективно відбувається розділення сигналів активної речовини атракрію та присутніх домішок (рис.2.1.11).

УФ-детектування дає більш ретельний аналіз досліджуваної субстанції атракурію.

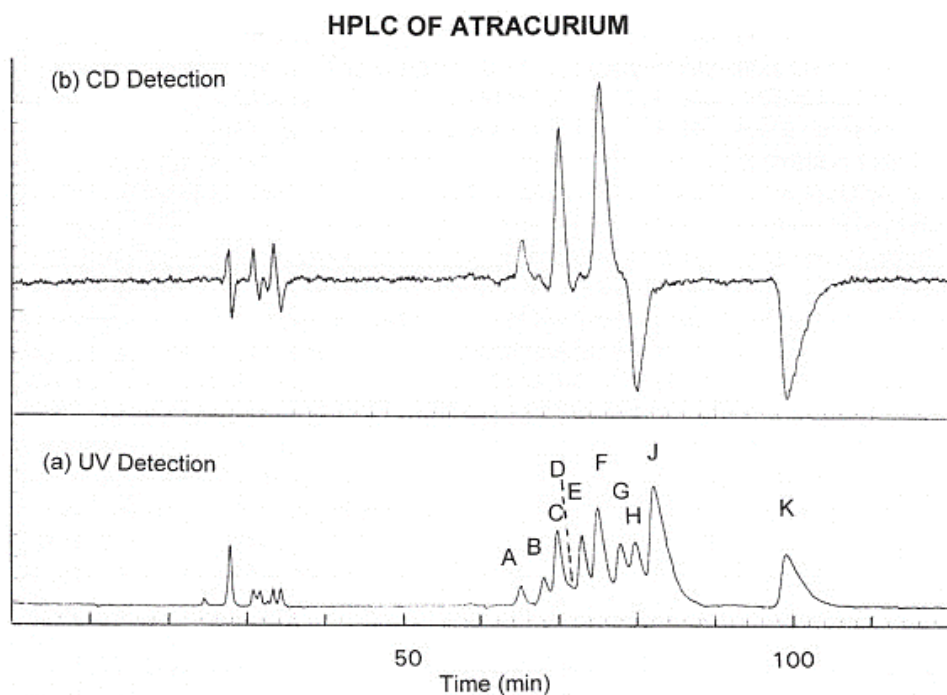


Рисунок 2.1.11. Хроматографування атракурію при різному детектуванні.

ІЧ-спектр атракурію. ІЧ-спектр атракурію (субстанції) містить нехарактеристичні помірні смуги деформаційних коливань δ_{NH} при 1600 cm^{-1} , інтенсивні характеристичні смуги валентних коливань $\nu_{\text{C=O}}$ при 1715 cm^{-1} .

Подвійні -C=C- зв'язки у циклічних системах підтверджуються характеристичними смугами $\nu_{\text{C=C}}$ при $3000\text{-}3100 \text{ cm}^{-1}$, а їх деформаційні коливання $\delta_{\text{C=C}}$ при $650\text{-}750 \text{ cm}^{-1}$ для цис-ізомерів атракурію, при $960\text{-}970 \text{ cm}^{-1}$ для транс-ізомерів атракурію.

Валентні коливання C-C- зв'язків ароматичного ядра утворюють смуги при $1585\text{-}1600 \text{ cm}^{-1}$ та $1400\text{-}1500 \text{ cm}^{-1}$. Ця область спектру містить сигнали від коливань різних функціональних груп, тому сигнали -C-C зв'язків ароматичного ядра в цій області ідентифікувати складно. Коливання ν_{CH} ароматичних сполук знаходяться в області при $3020\text{-}3100 \text{ cm}^{-1}$. В ІЧ-спектрі спостерігаються інтенсивні смуги непласких деформаційних коливань C-H в області $650\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$. У разі відсутності сильних смуг у цій області можна зробити висновок про відсутність ароматичної системи.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Державна Фармакопея України не регламентує [29] аналіз атракурію безилату, однак, стандартизовані методи аналізу цієї речовини описано у Європейській Фармакопеї [20].

Eur.Ph. регламентує методи аналізу чистоти субстанції атракурію та вміст споріднених речовин і домішок. Субстанція атракурію має природу синтетичного походження.

Субстанція атракурію безилату – речовина білого або жовтуватого кольору, порошок, який має різну розчинність: розчинна у воді; добре розчинна у ацетонітрилі, етанолі (96%), метиленхлориді.

Молекулярна маса 1243 г/моль. Температура плавлення субстанції 177-181°C.

Відноситься до класу недеполяризуючих нейром'язових блокаторів

Чистота. 96-102% (підтвердження методом ВЕРХ), структура (підтвердження методом ПМР).

Атракурію безилат синтезується шляхом хімічних реакцій із сполуки тубокурарину. Отриману сполуку потім перетворюють на атракурію безилат реакцією з безилхлоридом.

Ідентифікація проводиться за методом ІЧ-абсорбційної спектрофотометрії, хроматографічним методом. Порівняння проводиться із стандартом атракурію безилатом CRS.

Для дослідження субстанцію розчиняють у воді R.

Споріднені сполуки досліджуються методом рідинної хроматографії (РХ), (2.2.29). Субстанцію розчиняють у мобільній фазі А.

Детектування виконується УФ-спектрофотометрично при 280 нм.

Мобільна фаза А готується наступним чином: 5 об'ємів метанолу R, 20 об'ємів ацетонітрилу R, 75 об'ємів 10,2 г/л розчину калію дигідрофосфату R.

Значення рН доводять до 3.1 за допомогою фосфорної кислоти R.

Мобільна фаза В готується наступним чином: 20 об'ємів ацетонітрилу R,

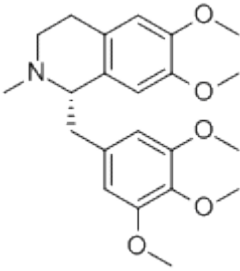
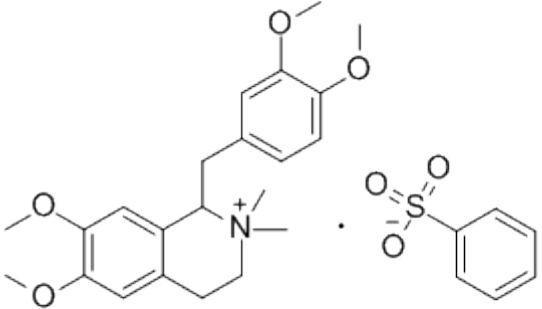
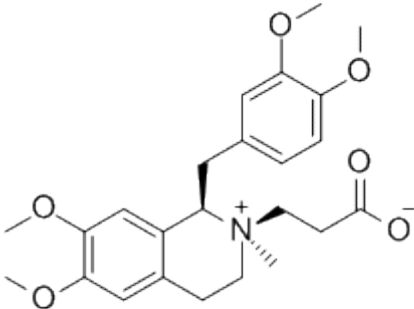
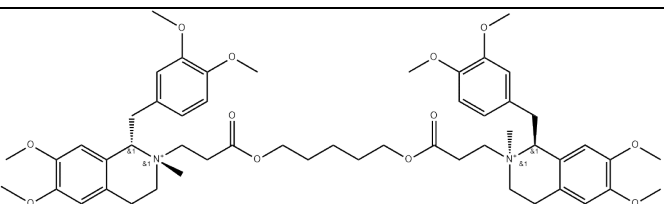
30 об'ємів метанолу *R*, 50 об'ємів 10,2 г/л розчину калію дигідрофосфату *R*.

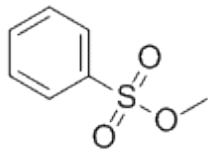
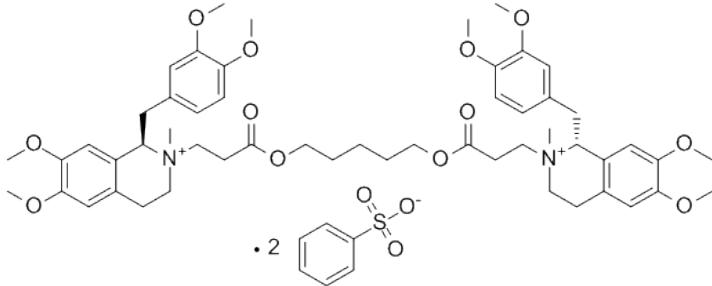
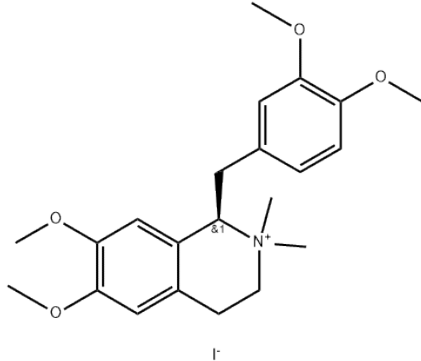
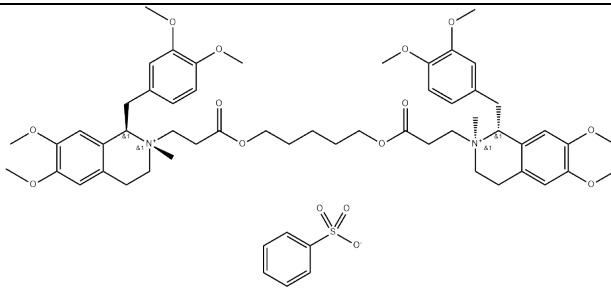
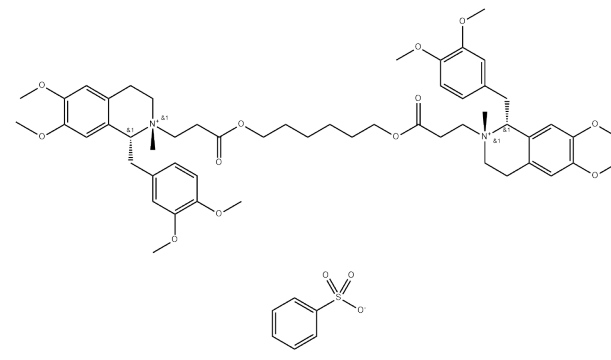
Значення рН доводять до 3.1 за допомогою фосфорної кислоти *R*.

Серед специфікованих та неспецифікованих домішок атракурію безилату є велика кількість сполук.

Деякі із домішок атракурію безилату представлено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. Домішки атракурію безилату.

	Атракурію домішка 5
 <p>N-Methyl-Laudanosine benzene sulfonate CAS: 155913-37-4</p>	Метил-лауданозин бензен сульфонат
 <p>Cis-Quaternary Acid CAS: 1075727-04-6</p>	Цис-четвертинна кислота
	Ди-іл-біс-(окси)-біс-(оксопропан-діл)-біс(диметоксибензил)-диметокси-меіл-

	тетрагідроізохінолін-2-іум)
	Метилбензенесульфонат
 Cisatracurium besylate CAS: 96946-42-8	Цис-атракурію безилат
 I ⁻	Атракуріум домішка 1
	(R, cis)-7-метил атракурію дібезилат
	Цисатракурію-20-метил Дибененсульфонат

Європейська Фармакопея регламентує присутність у складі субстанції

атракурію безилату 10 специфікованих домішок: А, С, D, E, F, G, H, I, J, K.

Європейською Фармакоресєю встановлюються ліміти та корегуючі фактори на домішки:

- корегуючий фактор на домішку G: 0.5
- ліміт для домішки E – 1.5%
- ліміт для домішок A, D – 1.5%
- ліміт для домішки C- 1.0%
- ліміт для домішок F, G – 1.0%

ліміт для домішок H, I, K – 1.0%.

Для неспецифікованих домішок ліміт 0.10%, разом – 3.5%.

Контроль специфікованих домішок виконується методом РХ.

Нами проведено хроматографічне дослідження за допомогою методу ВЕРХ субстанції атракурію щодо виявлення специфікованих та неспецифікованих домішок, а також, неприпустимих речовин.

Матеріали та методи.

Для проведення досліджень використовували хроматограф DIONEX Ultimate 3000 з УФ детектором.

Умови хроматографування:

- колонка – BDS Hypersil C18, 250x4,6x5;
- температура колонки – 25°C;
- потік – 1,0 мл/хв;
- детектування – УФ при 280 нм;
- об'єм інжекції – 20 мкл;
- температура зразка – 10°C;

Буферний розчин:

(рухома фаза А (10,2 г калію дигідрофосфату розчиняли у 1000 мл води та доводять рН розчину до $3,0 \pm 0,05$ за допомогою фосфорної кислоти.

Рухома фаза А: метанол-ацетонітрил-буферний розчин у співвідношенні 5:20:75.

Рухома фаза В: метанол-ацетонітрил-буферний розчин у співвідношенні 30:20:50.

Час хроматографування – 55 хв.

Градiєнти та їх розведення (табл.3.2).

Таблиця 3.2. Градiєнти для дослідження.

Час	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0	80	20
5	80	20
15	40	60
25	40	60
30	0	100
45	0	100
46	80	20
55	80	20

Методика приготування випробувального розчину. 10 мг препарату розчиняють у 10 мл рухомої фази А (концентрація 1 мг/мл).

У якості стандартного зразку (розчин порівняння А) використовували фармакопейний стандартний зразок Державної Фармакопеї України атракурію безилату.

Методика приготування стандартного розчину (розчин порівняння А).

Наважку 50 мг атракурію бесилату розчиняли в 50 мл рухомої фази А

Методика приготування розчину порівняння Б.

1,0 мл випробувального розчину розчиняли у 100 мл рухомої фази А.

Методика приготування розчину порівняння В.

2,0 мг фармакопейного стандартного зразку Державної Фармакопеї України атракурію для ідентифікації піків (містить домішки А1, А2, В, С1, С2, D1, D2, Е, G, К) розчиняли в 2 мл рухомої фази А.

Методика приготування розчину порівняння Г.

2,0 мг фармакопейного стандартного зразку Державної фармакопеї України атракурію для ідентифікації домішки F розчиняють в 2 мл рухомої фази А.

Методика приготування розчину порівняння Д.

1,0 мл розчину порівняння Б розчиняють в 20 мл рухомої фази А.

При проведенні комп'ютерного аналізу використовували програму Chromeleon 7.2 SR 4.

Для визначення сторонніх домішок методом ВЕРХ використовували реактиви:

- фосфорну кислоту (чистоти AR),
- метанол (чистоти для ВЕРХ),
- воду (чистоти для ВЕРХ),
- калію дигідрофосфат (чистоти для ВЕРХ).

Отримані результати.

При дослідженні стандартних зразків ДФУ атракурію (цис-цис, цис-транс, транс-транс ізомери) отримано наступні результати (табл. 3.3).

Стандартні зразки (розчини):

Атракурій, стандартний розчин №1

Транс-транс ізомер

- значення R_t знаходиться в інтервалі 21,370-21,385 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 21,276 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 12,257-12,545;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 12,373;

Цис-транс ізомер

- $R (>1,5) = 3,5$;
- значення R_t знаходиться в інтервалі 23,331-23,349 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 23,338 хв;

- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 75,357-75,437;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 75,396;

Цис-цис ізомер

- $R (>1,5) = 3,3$;
- значення R_t знаходиться в інтервалі 25,197-25,353 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 25,301 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 113,014-113,065;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 113,033;

Сумарно, середнє значення, ізомери: 200,802

Атракурій, стандартний розчин №2

Транс-транс ізомер

- значення R_t знаходиться в інтервалі 21,372-21,380 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 21,376 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 12,407-12,431;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 12,419;

Цис-транс ізомер

- $R (>1,5) = 3,5$;
- значення R_t знаходиться в інтервалі 23,334-23,345 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 23,340 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 75,383-75,702;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 75,543;

Цис-цис ізомер

- $R (>1,5) = 3,3$;
- значення R_t знаходиться в інтервалі 25,371-25,354 хв;

- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 25,363 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 112,684-112,191;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 112,438;

Сумарно, середнє значення, ізомери: 200,399

Таблиця 3.3. Хроматографічні характеристики стандартних розчинів Атракурію (ВЕРХ) - значення, середні значення Rt, площини піку, RSD.

Стандартний розчин №1									
	<i>Trans-trans isomer of atracurium</i>		<i>Цис-транс ізомер атракуріуму</i>			<i>Цис-цис ізомер атракуріуму</i>			Сума
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>R</i> (≥ 1.5)	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>R</i> (≥ 1.5)	
	21,370	12,545	23,331	75,357	3,5	25,197	113,065	3,3	200,967
	21,374	12,317	23,335	75,393	3,5	25,352	113,020	3,3	200,730
	21,385	12,257	23,349	75,437	3,5	25,353	113,014	3,3	200,708
Середнє	21,376	12,373	23,338	75,396	3,5	25,301	113,033	3,3	200,802

Стандартний розчин №2									
	<i>Trans-trans isomer of atracurium</i>		<i>Цис-транс ізомер атракуріуму</i>			<i>Цис-цис ізомер атракуріуму</i>			Сума
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>R</i> (≥ 1.5)	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>R</i> (≥ 1.5)	
	21,372	12,407	23,334	75,383	3,5	25,371	112,684	3,3	200,474
	21,380	12,431	23,345	75,702	3,5	25,354	112,191	3,3	200,324
Середнє	21,376	12,419	23,340	75,543	3,5	25,363	112,438	3,3	200,399

Випробувальні зразки (розчини) (табл. 3.4):

Атракурій, зразок №1

Транс-транс ізомер Атракурію

- значення Rt знаходиться при 21,103 хв;
- площа піка на хроматограмі при 698,362;

Цис-транс ізомер Атракурію

- значення R_t знаходиться при 226,955 хв;
- площа піка на хроматограмі 3647,744;

Цис-цис ізомер Атракурію

- значення R_t знаходиться при 245,34 хв;
- площа піка на хроматограмі 5478,911;

Σ Ізомери Атракурію, площа: 9126,655

Домішки:

Домішка А (цис-цис ізомер):

- значення R_t знаходиться при 29,095 хв;
- площа піка на хроматограмі 18,841;

Домішка D (цис-ізомер):

- значення R_t знаходиться при 9,666 хв;
- площа піка на хроматограмі 138,237;

Домішка D (транс ізомер):

- значення R_t знаходиться при 11,136 хв;
- площа піка на хроматограмі 407,409;

Σ Ізомери Домішка D, площа: 544,645

Домішка E :

- значення R_t знаходиться при 5,099 хв;
- площа піка на хроматограмі 553,189;

Домішка G :

- значення R_t знаходиться при 6,734 хв;
- площа піка на хроматограмі 182,127;

Домішка C (цис-транс-ізомер) :

- значення R_t знаходиться при 31,262 хв;
- площа піка на хроматограмі 37,218;

Домішка C (транс-ізомер) :

- значення R_t знаходиться при 33,326 хв;

- площа піка на хроматограмі 123,416;

Σ Ізмери Домішка С, площа: 160,634

Не виявлено специфіковані домішки: В, F, I, H, К.

Виявлено неспецифіковані домішки:

Імп.1

- значення Rt знаходиться при 12,500 хв;
- площа піка на хроматограмі 8,371;

Імп.2

- значення Rt знаходиться при 17,622 хв;
- площа піка на хроматограмі 1,918;

Імп.3

- значення Rt знаходиться при 31,822 хв;
- площа піка на хроматограмі 1,457;

Імп.4

- значення Rt знаходиться при 34,527 хв;
- площа піка на хроматограмі 1,125;

Імп.5

- значення Rt знаходиться при 34,983 хв;
- площа піка на хроматограмі 2,357;

Імп.6

- значення Rt знаходиться при 36,001 хв;
- площа піка на хроматограмі 4,470;

Таким чином, виявлено 6 неспецифікованих та не ідентифікованих домішок, серед яких присутній неприпустима домішка Ронгаліт.

Таблиця 3.4. Хроматографічні характеристики випробувальних розчинів Атракурію (ВЕРХ) - значення, середні значення R_t , площини піку, RSD.

Зразок 1														
	Imp E		Imp F		Imp G		Cis Imp D		Trans Imp D		Σ ізомерів imp D	Imp I		Imp 2
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	Area	RT	Area	RT
	5,095	552,760	не виявлено		6,732	181,749	9,664	137,953	11,134	407,226	545,179	12,499	8,411	17,621
	5,099	553,039			6,732	182,036	9,659	138,437	11,129	407,170	545,607	12,492	8,425	17,614
	5,102	553,769			6,739	182,596	9,674	138,320	11,145	407,830	546,150	12,509	8,277	17,630
Середнє	5,099	553,189	-	-	6,734	182,127	9,666	138,237	11,136	407,409	545,645	12,500	8,371	17,622

Зразок 1 (продовження)															
	Trans-trans isomer of atracurium		Cis-trans isomer of atracurium		Cis-cis isomer of atracurium		Σ ізомерів atracurium	Imp A (cis-cis isomer)		Imp I		Imp H		Imp K	
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	
	21,106	608,382	22,698	3648,349	24,538	5479,455	9127,804	29,102	18,897	не виявлено		не виявлено		не виявлено	
	21,089	608,259	22,677	3646,452	24,512	5477,171	9123,623	29,069	18,576						
	21,115	608,446	22,709	3648,430	24,551	5480,107	9128,537	29,114	19,051						
Середнє	21,103	608,362	22,695	3647,744	24,534	5478,911	9126,655	29,095	18,841	-	-	-	-	-	

Зразок 1 (продовження)														
	Imp B		Cis isomer of Imp C		Imp 3		Trans isomer of Imp C		Σ ізомерів imp C	Imp 4		Imp 5		Imp 6
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	Area	RT	Area	RT	Area	RT
	не виявлено		31,254	37,002	31,816	1,429	33,320	122,656	159,658	34,519	1,157	34,980	2,351	35,988
			31,232	37,043	31,787	1,393	33,300	122,890	159,933	34,490	1,127	34,955	2,331	35,960
			31,262	37,218	31,822	1,457	33,326	123,416	160,634	34,527	1,125	34,983	2,357	36,001
Середнє	-	-	31,249	37,088	31,808	1,426	33,315	122,987	160,075	34,512	1,136	34,973	2,346	35,983

Хроматограми представлено на рисунках 3.1, 3.2.

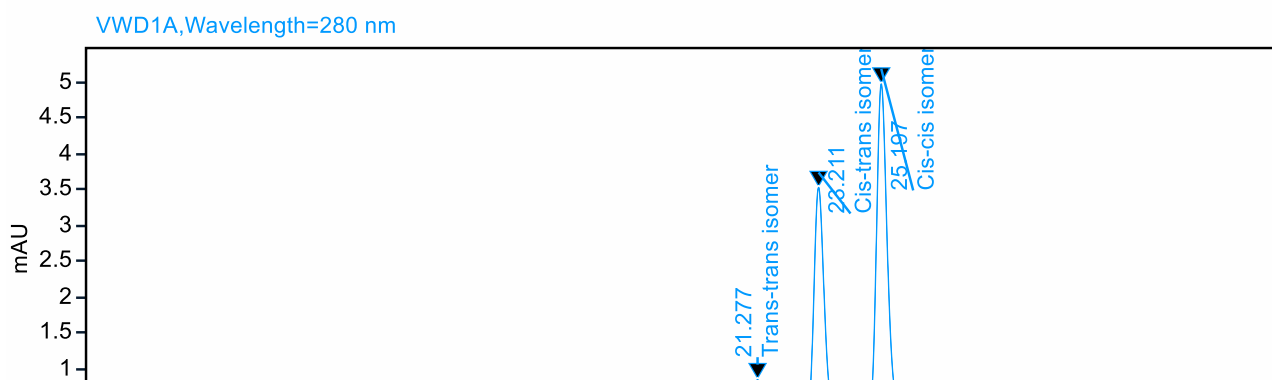


Рисунок 3.1. Хроматограма стандартного розчину атракурію, піки транс-транс-ізомеру ($R_t=21,277$ хв), цис-транс-ізомеру ($R_t=23,211$ хв), цис-цис-ізомеру ($R_t=25,197$ хв).

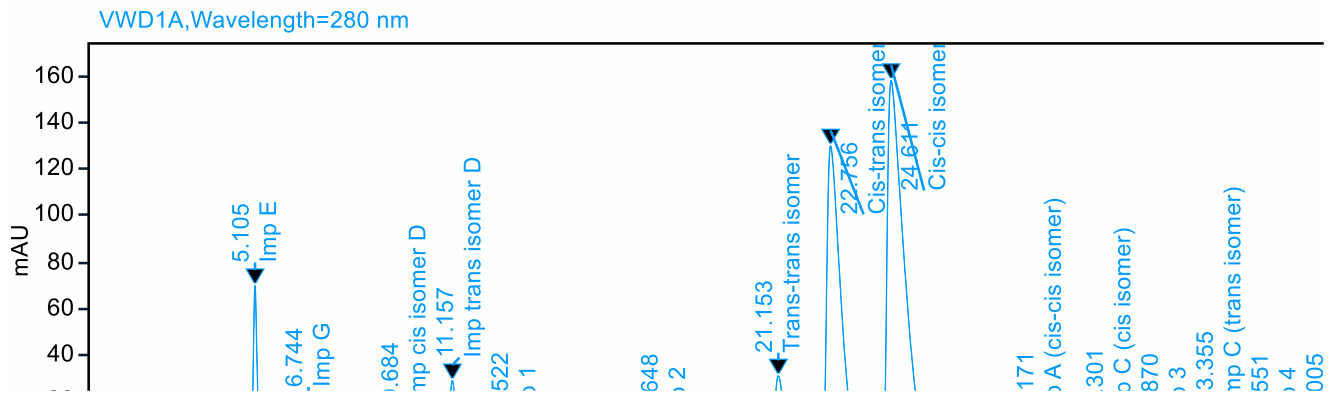


Рисунок 3.2. Хроматограма випробувального розчину атракурію (піки транс-транс-ізомеру ($R_t=21,153$ хв), цис-транс-ізомеру ($R_t=22,756$ хв), цис-цис-ізомеру ($R_t=24,611$ хв); піки специфікованих домішок А, С, Е, G, D; 6-ти неспецифікованих та неідентифікованих домішок.

Атракурій (зміни, що відбулися у хроматографічній картині):

Стандартні зразки, Атракурій (р-н №2)	Випробуваний зразок, Атракурій
<p><i>Транс-транс ізомер</i></p> <p>значення R_t знаходиться в інтервалі 21,372-21,380 хв;</p> <p>середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 21,376 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 12,407-12,431;</p> <p>середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 12,419;</p> <p><i>Цис-транс ізомер</i></p>	<p><i>Транс-транс ізомер Атракурію</i></p> <p>значення R_t знаходиться при 21,103 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі при 698,362;</p> <p><i>Цис-транс ізомер Атракурію</i></p>

<p>значення R_t знаходиться в інтервалі 23,334-23,345 хв;</p> <p>середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 23,340 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 75,383-75,702;</p> <p>середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 75,543;</p> <p><i>Цис-цис ізомер</i></p> <p>значення R_t знаходиться в інтервалі 25,371-25,354 хв;</p> <p>середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 25,363 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 112,684-112,191;</p> <p>середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 112,438;</p> <p><i>Сумарно, середнє значення, ізомери: 200,399</i></p>	<p>значення R_t знаходиться при 226,955 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі 3647,744;</p> <p><i>Цис-цис ізомер Атракурію</i></p> <p>значення R_t знаходиться при 245,34 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі 5478,911;</p> <p>Σ Ізомери Атракурію, площина: 9126,655</p>
---	--

Сумарний вміст супутніх домішок не повинен перевищувати 2%. Ідентифікації підлягають супутні домішки, якщо концентрація домішок перевищує 0,1%.

Контроль виконують за розділом «супутні домішки» із зазначенням структурних та молекулярних формул і мас.

Монографія має тест «Конкретно зазначувані домішки», за яким контролюють високотоксичні домішки, якщо такі присутні, наприклад, Ронгаліт.

Супровідні домішки досліджують хроматографічними методами та спектральними методами.

Концентрацію розчинів, кількість речовини при дослідженні зазначають у монографії на лікарську субстанцію. Результат випробування на домішки оцінюють у порівнянні з еталонними розчинами, згідно до вимог ДФУ.

При виконанні нашого дослідження були виявлені неспецифіковані та неідентифіковані домішки, що вплинуло на розташування піків на хроматограмах.

Так, на хроматограмах стандартних розчинів Атракурую, для його ізомерів, спостерігалися наступні зміни у хроматографічних характеристиках піків у порівнянні із розташуванням та хроматографічними характеристиками піків ізомерів випробувального розчину Атракурую, а саме:

Транс-транс ізомер

значення R_t змінювалося з 21,372-21,380 хв до 21,103 хв;

середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 21,376 хв;

площина піка на хроматограмі стандарту змінювалася від 12,407-12,431 до 698,362;

середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 12,419;

Цис-транс ізомер

значення R_t змінювалося з 23,334-23,345 хв до 226,955 хв;

середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 23,340 хв;

площина піка на хроматограмі стандарту змінювалася з 75,383-75,702 на 3647,744;

середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 75,543;

Цис-цис ізомер Атракурію

значення Rt змінювалося з 25,371-25,354 хв на 245,34 хв;

середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 25,363 хв;

площина піка на хроматограмі стандарту змінювалася з 112,684-112,191 на 5478,911;

середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 112,438;

Сумарно, середнє значення, ізомери (стандартний зразок): 200,399

Σ Ізомери Атракурію, площа (випробувальний зразок): 9126,655

ВИСНОВКИ

1. Розроблено та адаптовано умови хроматографічного дослідження методом ВЕРХ досліджуваного стандартного зразку та випробуваного зразку атракурію субстанції з метою визначення супровідних речовин та домішок.
2. Розроблено методики для виконання хроматографування методом ВЕРХ, методики приготування випробувальних розчинів субстанції атракурію, підібрано умови виконання, а саме: *Буферний розчин*: (рухома фаза А (10,2 г калію дигідрофосфату розчиняли у 1000 мл води та доводять рН розчину до $3,0 \pm 0,05$ за допомогою фосфорної кислоти; *Рухома фаза А*: метанол-ацетонітрил-буферний розчин у співвідношенні 5:20:75; *Рухома фаза В*: метанол-ацетонітрил-буферний розчин у співвідношенні 30:20:50.
3. Проведене хроматографічне дослідження методом ВЕРХ субстанції атракурію показало, що досліджувана речовина містить 6-ть неспецифікованих та неідентифікованих домішок, серед яких присутня неприпустима домішка Ронгаліт: *Imp.1* ($R_t = 12,500$ хв), *Imp.2* ($R_t = 17,622$ хв), *Imp.3* ($R_t = 31,822$ хв), *Imp.4* ($R_t = 34,527$ хв), *Imp.5* ($R_t = 34,983$ хв), *Imp.6* ($R_t = 36,001$ хв), вміст яких негативно впливає на якість субстанції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Soren Brogger Christensen. Natural Products That Changed Society. *Biomedicines*/ 2021, 9(5):472. doi: 10.3390/biomedicines9050472.
2. Evaluation of the cytotoxic, anti-proliferative, anti-metastatic and pro-apoptotic effect of aqueous leaf extract of *Annona muricata* on oral tongue squamous cell carcinoma cellline (SCC-15): An *in vitro* study. Mary SJ, Veeravarmal V, Thankappan P, Angelin D, Franklin R, Girish KL. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2023 Jul-Sep;27(3):469-475. doi: 10.4103/jomfp.jomfp_299_23. Epub 2023 Sep 12. PMID: 38033979.
3. Bioactive profiling and evaluation of anti-proliferative and anti-cancerous properties of Shivagutika, an Indian polyherbal formulation synchronizing *in vitro* and *in silico* approaches. V H P, Kuruburu MG, M K J, N AS, Taha Babakr A, Sreenivasan R, Ramu R, Madhunapantula SV. *Front Chem*. 2023 May 17;11:1195209. doi: 10.3389/fchem.023.1195209. eCollection 2023. PMID: 37265589.
4. An Overview of Potential Natural Photosensitizers in Cancer Photodynamic Therapy. Aziz B, Aziz I, Khurshid A, Raoufi E, Esfahani FN, Jalilian Z, Mozafari MR, Taghavi E, Ikram M. *Biomedicines*. 2023 Jan 16;11(1):224. doi: 10.3390/biomedicines11010224. PMID: 36672732.
5. Robust Antiviral Activity of Santonica Flower Extract (*Artemisia cina*) against Avian and Human Influenza A Viruses: *In Vitro* and Chemoinformatic Studies. Hegazy A, Mostafa I, Elshaier YAMM, Mahmoud SH, Abo Shama NM, Shehata M, Yahya G, Nasr NF, El-Halawany AM, Ali MA, Ali MA, Mraheil MA, El-Shazly AM, Mostafa A. *ACS Omega*. 2022 Nov 2;7(45):41212-41223. doi: 10.1021/acsomga.2c04867. eCollection 2022 Nov 15. PMID: 36406485.

6. Sugiarto SR, Baird JK, Singh B, Elyazar I, Davis TME. *Malar J.* 2022 Nov 14;21(1):327. doi: 10.1186/s12936-022-04366-5. PMID: 36372877.
7. Synthesis, Photophysical Properties and Antioxidant Activity of Novel Quinoline Derivatives. Martiryan AI, Shahinyan GA, Aleksanyan IL, Hambardzumyan LP. *J Fluoresc.* 2023 Nov 28. doi: 10.1007/s10895-023-03519-2. Online ahead of print. PMID: 38015297.
8. Sies H. Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants.* 2020;9:852. doi: 10.3390/antiox9090852.
9. Hajam Y.A., Rani R., Ganie S.Y., Sheikh T.A., Javaid D., Qadri S.S., Pramodh S., Alsulimani A., Alkhanani M.F., Harakeh S., et al. Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells.* 2022;11:552. doi: 10.3390/cells11030552.
10. Vona R., Pallotta L., Cappelletti M., Severi C., Matarrese P. The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. *Antioxidants.* 2021;10:201. doi: 10.3390/antiox10020201.
11. Gönül Yenilmez Çiftçi, Gizem Demir, Elif Şenkuytu, Esra Tanrıverdi Eçik, Masuk Aksahin, Tuba Yıldırım. 2-Hydroxyanthraquinone substituted cyclotriphosphazenes: Synthesis and cytotoxic activities in cancer cell lines. *Inorganica Chimica Acta.* 2021. 514, 120005.
12. Gönül Yenilmez Çiftçi, Gizem Demir Demirel, Gulseren Turhal, Busra Demirkan, Asuman Demiroglu-Zergeroglu. 2-Aminoanthraquinone substituted cyclotriphosphazene derivatives and their effect on non-small cell lung cancer cell lines. *Inorganica Chimica Acta.* 2023. 558, 121744.
13. Maria Jose Abad Martínez, Paulina Bermejo Benito. Biological Activity of Quinones. *Studies in Natural Products Chemistry.* 2005, 30, 303-366.
14. Meena Devi, Parvin Kumar, Rahul Singh, Laxmi Narayan, Ashwani Kumar, Jayant Sindhu, Sohan Lal, Khalid Hussain, Devender Singh. A comprehensive review on synthesis, biological profile and photophysical

- studies of heterocyclic compounds derived from 2,3-diamino-1,4-naphthoquinone. *Journal of Molecular Structure*. 2022, 1269 (5), 133786.
15. Jing Yuan, Zhanxiong Liu, Zhenfeng Zhang, et al. Synthesis and biological evaluation of naphthoquinone phenacylimidazolium derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2021, 41, 127977.
16. Dariimaa Ganbat, Bat-Erdene Jugder, Lkhamaa Ganbat, Miki Tomoeda, Erdenetsogt Dungubat, Ambaga Miyegombo, Gantsetseg Garmaa, et al. Use of the Naphthoquinone YM155 (Sepantronium Bromide) in the Treatment of Cancer: A Systematic Review and Meta-Synthesis. *Oncologie* 2022, 24(2), 195-225. <https://doi.org/10.32604/oncologie.2022.022299>
17. Yuan, J., Liu, Z., Zhang, Z., Yan, D., & Zhang, W. (2021). Synthesis and biological evaluation of naphthoquinone phenacylimidazolium derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 41, 127977.
18. Ourhzif, E. M., Decombat, C., Abrunhosa-Thomas, I., Delort, L., & Khouili, M. (2020). Synthesis and biological evaluation of new naphthoquinones derivatives. *Current Organic Synthesis*, 17(3), 224-229.
19. Atracurium. Keith Hillier, in *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 2007.
20. European Pharmacopoeia. Council of Europe, Strasbourg, 10-th ed., 2019. V.1: 1894-1897.

SUMMARY

Darienko Oleg
DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR PHARMACEUTICAL ANALYSIS BY HPLC OF ACCOMPANUNG IMPURITIES IN THE ISOQUINOLINUM DIBENZENESULFONATE SUBSTANCE.

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: as. But I.O.;
doctor of chemical sciences, as. Levin M.G.

Keywords: atracurium, quinoline, HPLC, pharmaceutical analysis.

Introduction. Atracurium is a medicine, a muscle relaxant, a quinoline derivative. It is possible to predict the processes of intramolecular condensation and formation of hydrogen bonds in the composition of pharmaceutical compositions of atracurium, since unprotected hydroxy, keto, and amino groups are present in the molecule. During the synthesis of Atracurium, side products of reactions, unacceptable impurities are formed, the presence of which is important in assessing the quality of its substance. The use of highly sensitive methods of instrumental analysis in the analysis of the atracurium substance allows detection and identification of accompanying substances and unacceptable impurities, which are not regulated by the Pharmacopoeia.

Materials and methods. Research object is atracurium substance, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of quinolones. Methods: HPLC (DIONEX Ultimate 3000 chromatograph with UV detector), column BDS Hypersil C18, 250x4,6x5; computer analysis using the Chromeleon 7.2 SR 4. program.

Results. Techniques for performing HPLC chromatography, methods for preparing test solutions of the atracurium substance were developed, performance conditions were selected, namely: Buffer solution: (mobile phase A (10.2 g of potassium dihydrogen phosphate was dissolved in 1000 ml of water and the pH of the solution was adjusted to 3, 0 ± 0.05 with phosphoric acid Mobile phase A: methanol-acetonitrile buffer solution in the ratio 5:20:75 Mobile phase B: methanol-acetonitrile buffer solution in the ratio 30:20:50.

Conclusions. The conducted chromatographic study using the HPLC method of the atracurium substance showed that the substance under study contains 6 unspecified and unidentified impurities, among which the unacceptable impurity Rongalit is present: Imp.1 ($R_t = 12.500$ min), Imp.2 ($R_t = 17.622$ min), Imp.3 ($R_t = 31.822$ min), Imp.4 ($R_t = 34.527$ min), Imp.5 ($R_t = 34.983$ min), Imp.6 ($R_t = 36.001$ min), the content of which negatively affects the quality of the substance.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

1. Welchinska O., Kuksa V., Darienko O. METHODS OF PREDICTING THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW URACILS USING THE SWISS TARGET PROGRAM. Тези доповіді на конференцію «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р., стор. 376.



2. FIP Symposium, Digital Event «Real-time release for dissolution testing of an oral solid dosage form – case study from industry (part I) and regulatory expectations (part II)» 30.11.2023, The Netherland (Online educational activity). Certificate.

