

УДК 615.07 (075.8)

Олена ВЕЛЬЧИНСЬКА

доктор фармацевтичних наук, професор кафедри хімії ліків та лікарської токсикології, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, бульв. Тараса Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601 (elena_wvu@ukr.net)

ORCID: 0000-0001-7023-8493

Ірина НІЖЕНКОВСЬКА

доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри хімії ліків та лікарської токсикології, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, бульв. Тараса Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601 (iryna.nizhenkovska@gmail.com)

ORCID: 0000-0001-5065-3147

Руслан МЕЛЕШКО

кандидат біологічних наук, асистент кафедри хімії ліків та лікарської токсикології, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, бульв. Тараса Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601 (rata8376@ukr.net)

ORCID: 0009-0003-8340-8131

Бібліографічний опис статті: Вельчинська О., Ніженковська І., Мелешко Р. (2025). Імплементация методу ВЕРХ у фармацевтичний аналіз алкалоїду групи ізохіноліну. *Фітотерапія. Часопис*, 4, 198–207, doi: <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2025-4-198>

ІМПЛЕМЕНТАЦІЯ МЕТОДУ ВЕРХ У ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ АНАЛІЗ АЛКАЛОЇДУ ГРУПИ ІЗОХІНОЛІНУ

Актуальність. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів рослинного походження (ЛЗРП), характеризується відсутністю деяких важливих параметрів їх стандартизації. Відповідно до вимог GLP та GMP аналіз лікарських засобів рослинного походження повинен виконуватися за допомогою стандартизованих методів. Це необхідний інструментарій для визначення ідентичності, чистоти та якості лікарських засобів рослинного походження. Ізохінолін і його похідні широко використовуються в багатьох галузях, зокрема в розробленні ліків і виробництві пестицидів. Молекула ізохіноліну – це структурний фрагмент різних лікарських засобів, зокрема й алкалоїдів. Ядро ізохіноліну є скаффолдом – основним каркасом молекул відомих алкалоїдів ізохінолінового та фенантренизохінолінового ряду – морфін, кодеїн, папаверин. Алкалоїди ізохіноліну добувають із рослинної сировини дикорослих і культивованих рослин, як-от: трава мачку жовтого (*Glaucium flavum* Crantz), бульба Стефанії гладенької (*Stephania glabra* Miens), лист Унгернії Віктора (*Ungernia victoris* Vvedensky ex Artjush.) та Унгернії Северцова (*Ungernia sewerzovii* Vvedensky), олійний сорт маку снодійного (*Papaver somniferum* Linnaeus). Насіння маку снодійного використовують в харчовій промисловості, а сухі коробочки – на хіміко-фармацевтичних заводах для виділення алкалоїдів з медичними та фармацевтичними цілями. Серед похідних ізохіноліну привертає увагу Атракурій, або, за номенклатурою ІЮПАК, 2,2'-[1,5-пентадиль-біс-[окси(3-оксо-3,1-пропандиль)]]-біс-[1-[3,4-диметоксифеніл)метил]-1,2,3,4-тетрагідро-6,7-диметокси-2-метил] ізохінолінійа дибензенсульфонат. Атракурію безилат використовують в медичній і фармацевтичній практиках як лікарський засіб – міорелаксант периферійної дії. Державна фармакопея України (ДФУ) не регламентує аналіз субстанції атракурію. Стандартизовані методи аналізу атракурію безилату синтезують на основі тубокурарину, потім продукт реакції перетворюють на атракурію безилат реакцією з безилхлоридом. Споріднені речовини у складі субстанції атракурію безилату, за рекомендаціями Eur. Ph., аналізують методом рідинної хроматографії (РХ). Хімічна структура атракурію – це конденсована ароматична гетероциклічна система з гетероатомом Нітрогену, яка характеризується утворенням цис– і транс-ізомерів, що значно ускладнює аналіз субстанції. Під впливом хімічних або термічних чинників під час проведення процедур підготовки, обробки або очистки субстанції для хроматографування молекули атракурію можуть модифікуватися та підлягати деградації. Такі негативні впливи необхідно враховувати в розробленні хроматографічних умов. Імплементация у фармацевтичний аналіз субстанцій – похідних ізохіноліну на прикладі атракурію безилату високоселективного та високочутливого методу вискоэффективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) залишається актуальною, оскільки висока якість субстанції та лікарських засобів, які виготовлено на її основі, гарантує збереження здоров'я та життя хворих.

Мета дослідження – адаптація хроматографічних умов і методик дослідження методом ВЕРХ субстанції атракурію безилату для визначення її чистоти.

Матеріал і методи. Зразки субстанції атракурію безилату, фармакопейні стандартні зразки ДФУ атракурію безилату для ідентифікації піків (містить домішки А1, А2, В, С1, С2, D1, D2, Е, F, G, К); ВЕРХ, хроматограф "DIONEX Ultimate 3000" з УФ-детектуванням (280 нм), колонка "BDS Hypersil C18", 250 x 4,6 x 5; комп'ютерний аналіз за програмою "Chromeleon 7.2 SR 4".

Результати дослідження. Хроматографічне дослідження субстанції атракурію безилату проведено методом ВЕРХ, яке не описане в доступній сучасній літературі, а саме: адаптовано умови хроматографування субстанції атракурію – запро-

поновано використання буферного розчину (рухома фаза А (10,2 г калію дигідрофосфату R у 1 000 мл води R, значення рН $3,0 \pm 0,05$, за допомогою фосфорної кислоти R), модифіковано рухома фаза А (метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (5:20:75, V/V/V) і рухома фаза В (метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (30:20:50, V/V/V). Удосконалено й адаптовано базові методики дослідження, які регламентовано для методу РХ за Eur. Ph. з використанням фармакопейних стандартних зразківДФУ; запропоновано температуру колонки 25 °С, температуру зразка 10 °С. Виявлено 6-ть неідентифікованих домішок у складі випробовуваної субстанції атракурію безилату.

Висновок. За результатами експериментального дослідження, методом ВЕРХ субстанції атракурію безилату проведено аналіз її чистоти та знайдено 6-ть неідентифікованих домішок, вміст яких не регламентовано Eur. Ph. під час аналізу методом РХ, що вказує на доцільність імплементації методу ВЕРХ – високоселективного та високочутливого методу – у практику фармацевтичного аналізу ізохінолінів.

Ключові слова: ізохінолін, атракурію безилат, хроматографічний аналіз, високоєфективна рідинна хроматографія, неідентифіковані домішки.

Olena WELCHINSKA

Doctor of Pharmacy, Professor at the Medicinal Chemistry and Toxicology Department, Bogomolets National Medical University, Tarasa Shevchenka Boulevard, 13, Kyiv, Ukraine, 01601 (elena_wwu@ukr.net)

ORCID: 0000-0001-7023-8493

Iryna NIZHENKOVSKA

Doctor of Medicine, Professor, Head at the Medicinal Chemistry and Toxicology Department, Bogomolets National Medical University, Tarasa Shevchenka Boulevard, 13, Kyiv, Ukraine, 01601 (iryna.nizhenkovska@gmail.com)

ORCID: 0000-0001-5065-3147

Ruslan MELESHKO

Candidate of Biological Sciences, Assistant at the Medicinal Chemistry and Toxicology Department, Bogomolets National Medical University, Tarasa Shevchenka Boulevard, 13, Kyiv, Ukraine, 01601 (rama8376@ukr.net)

ORCID: 0009-0003-8340-8131

To cite this article: Welchinska O., Nizhenkovska I., Meleshko R. (2025). Implementatsiya metodu VERKH u farmatsevychnyy analiz alkaloyidu hrupy izokhinolinu [Implementation of the HPLC method in the pharmaceutical analysis of isoquinoline alkaloid]. *Fitoterapiia. Chasopys – Phytotherapy. Journal*, 4, 198–207, doi: <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2025-4-198>

IMPLEMENTATION OF THE HPLC METHOD IN THE PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF ISOQUINOLINE ALKALOID

Actuality. Pharmaceutical analysis of herbal medicinal products (HMP) is characterized by the lack of some important parameters of their standardization. According to the requirements of GLP and GMP, HMP analysis must be performed using standardized methods. This is an essential tool for determining the identity, purity and quality of HMP. Isoquinoline and its derivatives are widely used in many areas, including drug development and pesticide production. The part of the isoquinoline molecule is a structural scaffold for preparing of various medications, alkaloids. The isoquinoline core is the scaffold of the molecules of the known isoquinoline and phenanthreneisoquinoline alkaloids – morphine, codeine, papaverine. Isoquinoline alkaloids are extracted from plant's raw materials of wild and cultivated plants: yellow cattail grass (*Glaucium flavum* Crantz), smooth *Stephania* tuber (*Stephania glabra* Miens), leaves (*Ungernia victoris* Vvedensky ex Artjush.), (*Ungernia sewerzovii* Vvedensky) and oil of sleeping poppy (*Papaver somniferum* Linnaeus). Seeds of the opium poppy are used in the food industry. Its dry capsules are used in chemical and pharmaceutical manufactures for the isolation of alkaloids for medical and pharmaceutical purposes. Among the isoquinoline derivatives, Atracurium, or according to the IUPAC nomenclature 2,2'-[1,5-pentadiyl-bis-[oxy(3-oxo-3,1-propanediyl)]]-bis-[1-[3,4-dimethoxyphenyl)methyl]-1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimethoxy-2-methyl] isoquinolinium dibenzenesulfonate, attracts attention. Atracurium besylate is used in medical and pharmaceutical practice as a drug – a peripheral muscle relaxant. The State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU) does not regulate the analysis of the substance of atracurium besylate. Standardized methods for the analysis of atracurium besylate of synthetic nature are described by the European Pharmacopoeia (Eur. Ph.). Eur. Ph. regulates the methods of analysis of the purity of the atracurium besylate substance, the content of related substances and impurities. According to Eur. Ph., the substance of atracurium besylate is identified by IR spectrophotometry (2.2.24) and liquid chromatography (2.2.29) (Eur. Ph., 2022, 2015–2018). Atracurium besylate is synthesized on the basis of tubocurarine. The reaction product is converted into atracurium besylate by reaction with benzyl chloride. Related substances in the composition of the atracurium besylate substance according to the recommendations of Eur. Ph. are analyzed using the method of liquid chromatography (LC). The chemical structure of atracurium besylate is a condensed aromatic heterocyclic system with a Nitrogen heteroatom, which is characterized by the formation of cis- and trans-isomers, which significantly complicates the analysis of the substance. The implementation of the highly selective and highly sensitive high-performance liquid chromatography (HPLC) method in the pharmaceutical analysis of substances – isoquinoline derivatives, using the example of atracurium besylate, remains relevant, since the high quality of the substance and medicines made on its basis guarantees the preservation of the health and life of patients.

The purpose – is adaptation of chromatographic conditions and HPLC research methods to confirm the purity of the atracurium besylate substance.

Material and methods. Samples of atracurium besylate substance, pharmacopoeial standard samples of the SPU of atracurium besylate for peak identification (contains impurities A1, A2, B, C1, C2, D1, D2, E, F, G, K); HPLC, DIONEX Ultimate 3000 chromatograph with UV detection (280 nm), BDS Hypersil C18 column, 250 x 4,6 x 5; computer analysis using the Chromeleon 7.2 SR 4 program.

Research results. Chromatographic study of the substance atracurium besylate was carried out by HPLC, which is not described in the modern literature, namely: the conditions for chromatography of the substance atracurium besylate were adapted – a buffer solution was proposed (mobile phase A (10,2 g of potassium dihydrogen phosphate R in 1 000 ml of water R, pH value 3,0±0,05 using phosphoric acid R), mobile phase A (methanol R – acetonitrile R – buffer solution (5:20:75, V/V/V) and mobile phase B (methanol R – acetonitrile R – buffer solution (30:20:50, V/V/V) were modified. The basic research methods regulated for the LC method according to Eur.Ph. using pharmacopoeial standard samples of the SPU were improved and adapted. The proposed column temperature is 25°C, the sample temperature is 10 °C. 6 unidentified impurities were detected in the composition of the test substance atracurium besylate.

Conclusion. According to the results of an experimental study of the atracurium besylate substance by HPLC, its purity was analyzed and 6 unidentified impurities were found, the content of which is not regulated by Eur. Ph. when analyzing by the LC method, which indicates the feasibility of implementing the HPLC method – a highly selective and highly sensitive method – in the practice of pharmaceutical analysis of isoquinolines.

Key words: isoquinoline, atracurium besylate, chromatographic analysis, high-performance liquid chromatography, unidentified impurities.

Вступ. Актуальність. Ізохінолінові алкалоїди утворюють одну з найбільших груп серед алкалоїдів. Вони класифікуються за хімічною структурою на бензилізохіноліни й апорфіни. Натепер відомо приблизно 2 500 ізохінолінових алкалоїдів, які в основному утворюються рослинами родин *Papaveraceae*, *Berberidaceae*, *Menispermaceae*, *Fumariaceae* та *Ranunculaceae*. Ізохіноліновий алкалоїд стилопін (тетрагідрокоптисин) протоберберинового типу міститься в *Argemone mexicana* Linnaeus. Сполука є проміжним продуктом у біосинтетичному шляху бензофенантридинових алкалоїдів – сангвінарин, коптисин, який міститься у кореневищі *Coptis* (Kentaro et al., 2016). Алкалоїди ізохіноліну добувають із рослинної сировини дикорослих і культивованих рослин, як-от: трава мачка жовтого (*Glaucium flavum* Crantz), бульба Стефанії гладенької (*Stephania glabra* Miers), олійний сорт маку снодійного (*Papaver somniferum* Linnaeus) тощо. Насіння маку снодійного використовують в харчовій промисловості. Сухі коробочки маку снодійного знайшли своє використання в хіміко-фармацевтичній практиці для ізолювання алкалоїдів з медичними та фармацевтичними цілями.

Ізохінолінові алкалоїди мають різну фармакологічну активність. Так, алкалоїди опію виявляють знеболювальні, спазмолітичні, седативні, психотропні властивості (Asma et al., 2015, p. 407–420; Vadhel et al., 2023, p. 13220355).

Зважаючи на широкий спектр біологічної дії алкалоїдів та їхній вплив на організм людини, застосування похідних ізохіноліну як джерел даних біологічно активних речовин вважається перспективним у сучасній фармацевтичній практиці. Відомо, що фітопрепарати становлять величезну частину фармацевтичного ринку. Однак відсутність значної кількості параметрів стандартизації лікарських засобів

рослинного походження (далі – ЛЗРП) ускладнює їх використання у клінічній практиці та потрапляння на фармацевтичний ринок, що наголошує Всесвітня організація охорони здоров'я (далі – ВООЗ) (Sylvester S. Darvin et al., 2019, p. 19–20). Субстанція атракурію безилату, яка використовується у фармацевтичній практиці, має синтетичне походження, оскільки атракурій природного походження видобувається в мінімальних кількостях, які не забезпечують промислових масштабів виготовлення лікарських засобів.

Коли у виготовленні ЛЗРП використовують алкалоїди природного походження, стандартизація таких препаратів відкриває шлях до активізації їх фармацевтичного розроблення, еталонних показників і параметрів, які допомагають підтвердити цінність і якість лікарських засобів рослинного походження. Відсутність належної кількості стандартизованих методів аналізу ЛЗРП може призвести до появи на фармацевтичному ринку неякісних лікарських засобів із побічними ефектами. ЛЗРП потребують стандартизованого інструментарію для визначення ідентичності, чистоти та якості, який повинен бути технічно достатнім, ефективним і відповідати вимогам GMP (Зіменковський та ін., 2014, с. 25–50; Ніженковська та ін., 2020, с. 222–232; Syrotchuk et al., 2023, p. 151–157). Серед сучасних інструментальних методів, які активно впроваджуються у фармацевтичний аналіз ЛЗРП, є не часто використовувані методи та їх комбінації: вискоефективна рідинна хроматографія (далі – ВЕРХ), газова хроматографія – мас-спектрометрія (далі – ГХ-МС), атомно-абсорбційна спектрофотометрія (далі – ААС) та інші (Srivastava et al., 2024, p. e202405020).

Субстанція похідної ізохіноліну атракурій (2,2'-[1,5-пентадил-біс-[окси(3-оксо-3,1-про-

пандиіл]]-біс-[1-[3,4-диметоксифеніл)метил]-1,2,3,4-тетрагідро-6,7-диметокси-2-метил] ізохінолінія дибензенсульфонат) використовується у виробництві лікарських засобів – міорелаксантів периферійної дії. Атракурію безилат – це представник лікарських засобів – нейром’язових блокаторів недеполяризуючого типу. Атракурію безилат використовується для забезпечення розслаблення скелетних м’язів під час операції, під час штучної вентиляції легень, для сприяння ендотрахеальній інтубації (Kim et al., 1998, p. 872–878; Xiaorong et al., 2025, p. 234).

Державна фармакопея України (далі – ДФУ) не регламентує аналіз субстанції атракурію безилату. Eur. Ph. регламентує методи аналізу чистоти субстанції атракурію безилату, вміст споріднених речовин і домішок. Супровідні речовини у складі субстанції атракурію безилату, за рекомендаціями Eur. Ph., аналізують за допомогою методу РХ. УФ-детектування за 280 нм, методи 2.2.24/2.2.29) (Eur. Ph. монографія № 1970, 2022, 2015–2018).

Молекула атракурію здатна до хімічної деградації за реакцією Гофмана та підлягає гідролізу. Ці реакції є шляхами метаболізму атракурію (Ya-Jian Hu et al., 2020, p. 5910–5953; Yu et al., 2020, p. 2012–2027; Peng Peng et al., 2022, p. 3106–3114). Розроблено метод синтезу ізохінолінів у водному середовищі за використання металічних каталізаторів, органокаталітичних каталізаторів. Ізохіноліни отримують за допомогою каскадних реакцій (Di Mola et al., 2016, p. 60780–60786; Di Mola et al., 2019, p. 4820–4826; Thapa et al., 2019, p. 1025–1034; Yang et al., 2019, p. 2316–2324; Yoichi Hoshimoto et al., 2020, p. 182–186).

Субстанція атракурію безилату – це білий або жовтувато-білий гігроскопічний порошок, який розчинний у воді, ацетонітрилі, в етанолі (96%) та в метиленхлориді. За Eur. Ph., субстанцію атракурію безилату ідентифікують за допомогою методів ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24) та рідинної хроматографії (2.2.29) (Eur. Ph., 2022, p. 2015–2018) (рис. 1).

Активний фармацевтичний інгредієнт (далі – АФІ) – атракурій безилат є сумішшю 10-ти стереоізомерів. Молекула атракурію містить чотири стереоцентри, які можуть утворити 16 структур. Утворюється 6 мезоструктур – структур, які можуть накладатися одна на одну. Це зменшує кількість із шістнадцяти до десяти стереоізомерів: три цис-цис-ізомери (енантіомерна пара, мезоструктура), чотири цис-транс-ізомери (дві енантіомерні пари), три транс-транс-ізомери (енантіомерна пара, мезоструктура) зі співвідношенням: цис-цис, цис-транс

і транс-транс-ізомерів – 10,5:6,2:1 (Martins et al., 2024, p. 3226–3239).

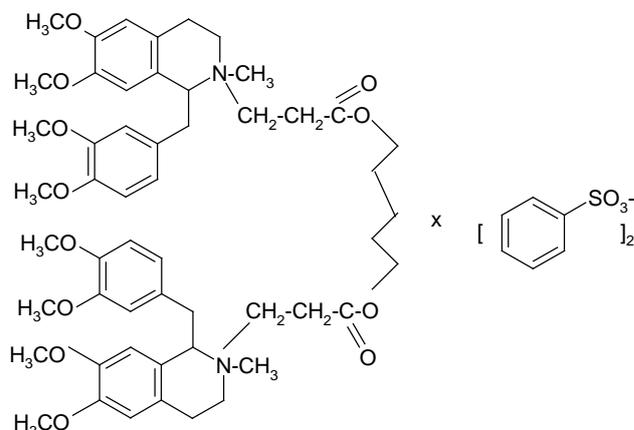


Рис. 1. Хімічна формула атракурію безилату

Субстанція атракурію безилат може містити не тільки оптичні ізомери, але й побічні продукти синтезу, споріднені речовини, домішки, продукти деградації молекул. Раніше нами були впроваджені в аналіз біологічно активних речовин високочутливі методи ядерного магнітного резонансу (далі – ЯМР), ВЕРХ і мас-спектрометрія, які недостатньо використовують у фармацевтичному аналізі (Welchinskaya et al., 2003, p. 20–25; Welchinska, 2016, p. 740–743; Вельчинська та ін., 2024, с. 168–174).

Тому використання у фармацевтичному аналізі атракурію як похідної ізохіноліну високоселективного та високочутливого методу ВЕРХ залишається актуальним. Субстанція атракурію безилату є складною хімічною сумішшю, що ускладнює її аналіз і підвищує вимоги до її якості.

Мета дослідження – адаптація хроматографічних умов і методик дослідження методом ВЕРХ для підтвердження якості субстанції атракурію безилату.

Матеріали та методи дослідження. Випробовувані зразки субстанції атракурію безилату, фармакопейні стандартні зразки ДФУ атракурію безилату для ідентифікації піків (містить домішки А1, А2, В, С1, С2, D1, D2, Е, F, G, К); ВЕРХ, хроматограф “DIONEX Ultimate 3000” з УФ-детектуванням (280 нм) – за валідованою методикою (Eur. Ph., 2022, 2015–2018), колонка “BDS Hypersil C18”, 250 x 4,6 x 5; комп’ютерний аналіз за програмою “Chromeleon 7.2 SR 4”.

Результати дослідження та їх обговорення. За рекомендаціями Eur. Ph., чистота та вміст супровідних речовин субстанції атракурію у вигляді безилату синтетичного походження аналізують методом РХ (2.2.29) (Eur. Ph., 2022, 2015–2018).

Субстанція атракурію безилату розчинна у воді, ацетонітрилі. Випробовувану субстанцію рекомендовано розчиняти в рухомій фазі А: метанол R – ацетонітрил R – 10,2 г/л розчин калію дигідрофосфату R (5:20:75, V/V/V). Рухому фазу В готують так: ацетонітрил R – метанол R – 10,2 г/л розчин калію дигідрофосфату R (20:30:50, V/V/V). Значення рН 3.1 рухомої фази А та рухомої фази В досягається за допомогою фосфорної кислоти R. Стандартні розчини (а) та (б) готують так: стандартний розчин (а): розчиняють 50,0 мг субстанції в рухомій фазі А, доводять об'єм до 50,0 мл рухомою фазою А; стандартний розчин (б): розчиняють 0,100 г субстанції в рухомій фазі А, доводять об'єм до 10,0 мл рухомою фазою А.

Розчини порівняння (а), (б), (с), (d) та (е) готують так: розчин (а): розчиняють 50,0 мг атракурію безилату CRS у рухомій фазі А, доводять об'єм до 50,0 мл рухомою фазою А; розчин (б): розводять 1,0 мл розчину порівняння (а) до 100,0 мл рухомою фазою А; розчин (с): розчиняють 20,0 мг метилбензенсульфонату R в ацетонітрилі R і доводять об'єм до 100,0 мл рухомою фазою А тим самим розчинником, розводять 50 мкл розчину до 100,0 мл рухомою фазою А; розчин (d): розчиняють 2,0 мг атракурію для ідентифікації піків CRS (містить домішки А1, А2, В, С1, С2, D1, D2, Е, G та К) у 2,0 мл рухомої фази А; розчин (е): розчиняють 2,0 мг атракурію (для ідентифікації домішки F) CRS у 2,0 мл рухомої фази А (Eur. Ph., 2022, 2015).

Детектування виконують УФ-спектрофотометричним методом за 280 нм згідно з валідованою методикою (Eur. Ph., 2022, 2015–2018).

У складі субстанції атракурію безилату, за Eur. Ph., допускається присутність 10 специфікованих домішок з лімітованим вмістом: А, С, D, Е, F, G, H, I, J, K (Eur. Ph., 2022, 2015–2018).

Eur. Ph. установлено ліміти та корегувальні фактори на домішки:

- корегувальний фактор на домішку G: 0,5;
- ліміт для домішки Е – 1,5%;
- ліміт для домішок А, D – 1,5%;
- ліміт для домішки С – 1,0%;
- ліміт для домішок F, G – 1,0%;
- ліміт для домішок H, I, K – 1,0%.

Для неспецифікованих домішок встановлено ліміт 0,10%, разом – 3,5%.

Контроль специфікованих домішок виконують методом рідинної хроматографії (2.2.29) (Eur. Ph., 2022, 2015–2018).

З метою дослідження чистоти та виявлення супровідних речовин (специфікованих і неспецифікованих домішок) у випробовуваній субстанції

атракурію безилату нами проведено не описане в доступній релевантній літературі експериментальне дослідження методом ВЕРХ.

Комп'ютерний аналіз результатів дослідження виконували за допомогою програми “Chromeleon 7.2 SR 4”. Усі процедури виконували за стандартизованими та валідованими фармакопейними методиками, модифікації умов хроматографування та методик – у межах параметрів, на які Фармакопея надає певні права.

Умови хроматографування: температура колонки – 25 °С, температура зразка – 10 °С, потік – 1,0 мл/хв, об'єм інжекції – 20 мкл, час хроматографування – 55 хв. УФ детектування виконували за 280 нм.

Колонка – “BDS Hypersil C18”, 250 x 4,6 x 5.

На хроматограмах з різним видом детектування (CD-, УФ- та інші) можна побачити, наскільки селективно відбувається розділення аналітичних сигналів АФІ та присутніх домішок. УФ-детектування забезпечує більш ретельний аналіз випробовуваної субстанції атракурію безилату.

Запропоновано використання буферного розчину такого складу: рухома фаза А (10,2 г калію дигідрофосфату R у 1 000 мл води R, рН розчину 3,0±0,05 за допомогою фосфорної кислоти R). Модифіковано склад рухомих фаз А і В: рухома фаза А: метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (5:20:75, V/V/V), рухома фаза В: метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (30:20:50, V/V/V).

Час хроматографування – 55 хв.

Розведення рухомих фаз А і В, градієнти представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Градієнтний режим хроматографування

Час	Рухома фаза А (% V/V)	Рухома фаза В (% V/V)
0	80	20
5	80	20
15	40	60
25	40	60
30	0	100
45	0	100
46	80	20
55	80	20
75	100	0

Методика приготування випробовуваного розчину. 10 мг випробовуваної субстанції атракурію безилату розчиняли в 10 мл рухомої фази А (концентрація 1 мг/мл).

Приготування розчинів порівняння А, Б, В, Г, Д.

Розчин порівняння фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату (розчин порівняння А).

50 мг фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату розчиняли в 50 мл рухомої фази А.

Розчин порівняння випробовуваного розчину атракурію безилату (розчин порівняння Б). 1,0 мл випробовуваного розчину перемішували у 100 мл рухомої фази А.

Розчин порівняння фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату для ідентифікації піків (розчин порівняння В). 2,0 мг фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату для ідентифікації піків (з домішками А1, А2, В, С1, С2, D1, D2, Е, G, К) розчиняли у 2 мл рухомої фази А.

Розчин порівняння фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату для ідентифікації домішки F (розчин порівняння Г). 2,0 мг фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату для ідентифікації домішки F розчиняли у 2 мл рухомої фази А.

Розчин порівняння Д. 1,0 мл розчину порівняння Б розчиняли у 20 мл рухомої фази А.

Для визначення сторонніх домішок використовували реактиви (чистоти для ВЕРХ): метанол, ацетонітрил, калію дигідрофосфат, воду для хроматографування, фосфорну кислоту (чистоти АR).

У таблиці 2 наведено результати дослідження розчину фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату.

Середнє значення, $P \leq 0,05$; $M \pm m$: М – середнє арифметичне, m – стандартна похибка. $P \leq 0,05$ – рівень значущості (t-критерій Стьюдента). Визначено у Chromeleon 7.2 SR 4.

Метод розрахунку, середнє значення: метод – нормалізація площ ($\% = (\text{площа піку} / \text{сумарна площа}) \times 100$).

Розрахунок середнього значення (з рис. 2): $12,490 + 74,969 + 113,065 = 200,524$; середнє = $200,524 / 3 \approx 66,841$.

Хроматограма розчину фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату представлена на рисунку 2.

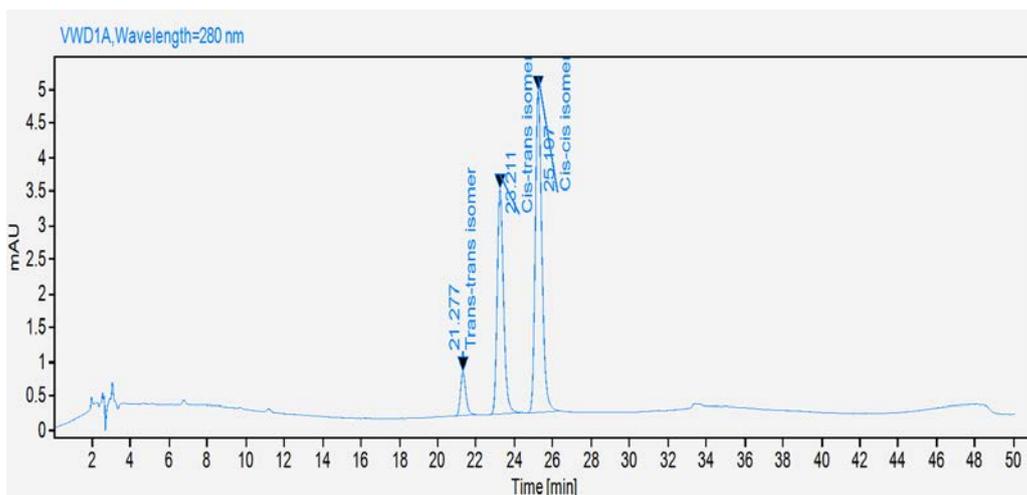


Рис. 2. Хроматограма розчину стандартного зразка ДФУ атракурію безилату, аналітичні сигнали: транс-транс-ізомер атракурію ($R_t = 21,277$ хв, площа піку 12,490), цис-транс-ізомер атракурію ($R_t = 23,211$ хв, площа піку 74,969), цис-цис-ізомер атракурію ($R_t = 25,197$ хв, площа піку 113,065)

Таблиця 2

Хроматографічні характеристики фармакопейного стандартного зразка ДФУ атракурію безилату (ВЕРХ)

	Транс-транс-ізомер атракурію		Цис-транс-ізомер атракурію			Цис-цис-ізомер атракурію		
	R_t	Площина піку	R_t	Площина піку	R ($\geq 1,5$)	R_t	Площина піку	R ($\geq 1,5$)
	21,370	12,545	23,331	75,357	3,5	25,197	113,065	3,3
	21,374	12,317	23,335	75,393	3,5	25,352	113,020	3,3
	21,385	12,256	23,349	75,437	3,5	25,353	113,014	3,3
Середнє значення	21,376	12,373	23,338	75,396	3,5	25,301	113,033	3,3

Середнє значення площини піку (S) на хроматограмі стандартного зразка становить 66,841.

У дослідженні випробовуваного зразка субстанції атракурію отримано такі результати: на хроматограмі спостерігаються аналітичні сигнали, окрім транс-транс-ізомеру атракурію (Rt = 21,153 хв, площа піку 12,417), цис-транс-ізомеру атракурію (Rt = 22,756 хв, площа піку 13,042), цис-цис-ізомеру атракурію (Rt = 24,611 хв, площа піку 79,514),

а також специфікованих домішок А, С, Е, G, D та 6-ти неідентифікованих домішок (табл. 3–6; рис. 3).

Сумарний вміст супутніх речовин у складі випробовуваної субстанції атракурію відповідає фармакопейним вимогам: не більше 3,5-кратної суми площин піків, 3,5%.

3,5% для сумарного вмісту: ліміт за Eur. Ph. – сумарно $\leq 3,5\%$ (специфіковані: А, D, E $\leq 1,5\%$; С, F, G, H, I, K $\leq 1,0\%$; неспецифіковані $\leq 0,10\%$). Розрахунок: сумарна площа домішок / площа АФІ $\times 100 \leq 3,5\%$.

Таблиця 3

Хроматографічні характеристики випробовуваного зразка атракурію (BEPX) – домішки Е, G, D

	Домішка Е		Домішка G		Цис-домішка D		Транс-домішка D		Σ ізомерів домішки D
	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку	Площина піку
	5,095	552,760	6,732	181,749	9,664	137,953	11,134	407,226	545,179
	5,099	553,039	6,732	182,036	9,659	138,437	11,129	407,170	545,607
	5,102	553,769	6,739	182,596	9,674	138,320	11,145	407,830	545,150
Середнє значення	5,099	553,189	6,734	182,127	9,666	138,237	11,136	407,409	545,645

Таблиця 4

Хроматографічні характеристики випробовуваного зразка атракурію (BEPX) – ізомери атракурію, домішки 1 та 2

	Домішка 1		Домішка 2		Транс-транс-ізомер атракурію		Цис-транс-ізомер атракурію		Цис-цис-ізомер атракурію	
	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку
	12,499	8,411	17,621	1,903	21,106	608,382	22,698	3 648,349	24,538	5 479,455
	12,492	8,425	17,614	1,896	21,089	608,259	22,677	3 646,452	24,512	5 477,171
	12,509	8,277	17,630	1,954	21,115	608,344	22,709	3 648,430	24,551	5 480,107
Середнє значення	12,500	8,371	17,622	1,918	21,103	608,362	22,695	3 647,744	24,534	5 478,911

Таблиця 5

Хроматографічні характеристики випробовуваного зразка атракурію (BEPX) – домішки А, С

	Домішка А (цис-цис-ізомер)		Домішка С (цис-ізомер)	
	Rt	Площина піку	Rt	Площина піку
	29,102	18,897	31,254	37,002
	29,069	18,576	31,232	37,043
	29,114	19,051	31,262	37,218
Середнє	29,095	18,841	31,249	37,088

Таблиця 6

Хроматографічні характеристики випробовуваного зразка атракурію (BEPX) – неідентифіковані домішки 3–6

	Домішка 3		Домішка 4		Домішка 5		Домішка 6	
	Rt	Площина піку						
	31,816	1,429	34,519	1,157	34,980	2,351	35,988	4,519
	31,787	1,393	34,490	1,127	34,955	2,331	35,960	4,557
	31,822	1,457	34,527	1,125	34,983	2,357	36,001	4,470
Середнє	31,808	1,426	34,512	1,136	34,973	2,346	35,983	4,515

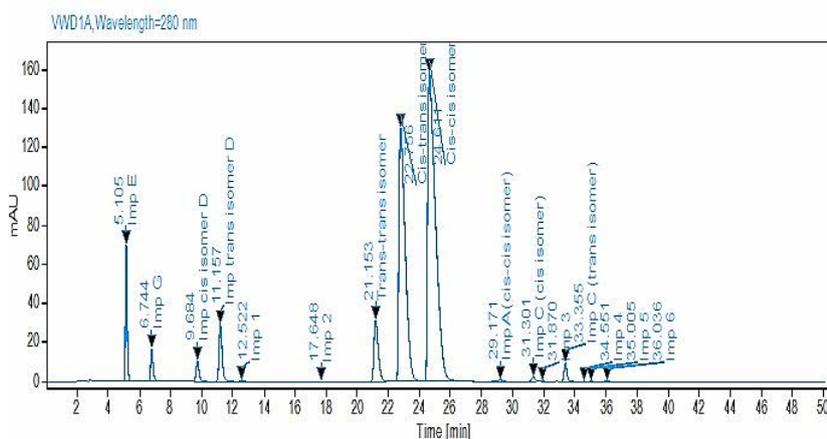


Рис. 3. Хроматограма розчину випробовуваного зразка субстанції атракурію, аналітичні сигнали: транс-транс-ізомер атракурію ($R_t = 21,153$ хв), цис-транс-ізомер атракурію ($R_t = 22,756$ хв), цис-цис-ізомер атракурію ($R_t = 24,611$ хв), специфіковані домішки А, С, Е, G, D; 6 неідентифікованих домішок

Європейська фармакопея (метод РХ). Субстанція атракурію безилату	Дослідження методом ВЕРХ. Субстанція атракурію
Склад рухомих фаз А і В: рухома фаза А: метанол R – ацетонітрил R – 10,2 г/л розчин калію дигідрофосфату R (5:20:75, V/V/V); рухома фаза В: ацетонітрил R – метанол R – 10,2 г/л розчин калію дигідрофосфату R (20:30:50, V/V/V).	Склад рухомих фаз А і В: рухома фаза А: метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (5:20:75, V/V/V); рухома фаза В: метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (30:20:50, V/V/V).
Не використовують буферний розчин.	Склад буферного розчину – рухома фаза А (10,2 г калію дигідрофосфату R у 1 000 мл води R, рН розчину $3,0 \pm 0,05$ досягається за допомогою фосфорної кислоти R).
Значення рН 3.1 рухомої фази А та рухомої фази В.	Значення рН $3,0 \pm 0,05$ рухомої фази А та рухомої фази В.

Площини піків неідентифікованих домішок мають не перевищувати суму площини піків ізомерів атракурію (cis-cis, cis-trans, trans-trans) з розчину порівняння 01%. Методом розрахунку кількостей неідентифікованих домішок був метод нормалізації площ.

Отже, у процесі адаптації фармакопейних методик і умов хроматографування для аналізу атракурію безилату методом РХ для дослідження субстанції атракурію методом ВЕРХ нами були запропоновані такі модифікації:

Додаткові валідаційні дослідження не потрібні, оскільки дозволені зміни вже враховані в межах робастності методики, протестованої під час початкової валідації (Розділ 5.3.N.2 ДФУ).

За наведених умов хроматографування, з відповідними модифікаціями методик дослідження, метод ВЕРХ став доступним для аналізу субстанції атра-

курію, а виявлення 6-ох неідентифікованих домішок у складі випробовуваної субстанції атракурію, які є не регламентованими Eur. Ph., підтверджує доцільність використання цього методу для її поглибленого фармацевтичного аналізу.

Висновки. Високотехнологічний метод аналізу з високою ідентифікаційною здатністю ВЕРХ за УФ-детектування для селективного розділення аналітичних сигналів АФІ і присутніх домішок може бути використаний у дослідженні чистоти субстанції синтетичного походження атракурію безилату.

1. Запропоновано модифікації методик дослідження субстанції атракурію безилату, а саме: склад буферного розчину – рухома фаза А (10,2 г калію дигідрофосфату R у 1 000 мл води R, рН розчину $3,0 \pm 0,05$ досягається за допомогою фосфорної кислоти R), які ґрунтуються на відповідних базових валідованих фармакопейних методиках. Розроблено склад рухомих фаз А і В: рухома фаза А: метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (5:20:75, V/V/V), рухома фаза В: метанол R – ацетонітрил R – буферний розчин (30:20:50, V/V/V).

2. Метод ВЕРХ, як найбільш ефективний, дозволяє виявити у складі випробовуваних зразків субстанції атракурію безилату, окрім регламентованих Eur. Ph стереоізомерів атракурію та специфікованих домішок, 6-ть неідентифікованих домішок, які не регламентовані Eur. Ph. та визначення яких не було реалізоване методом РХ.

3. Метод ВЕРХ порівняно з методом РХ дозволяє ідентифікувати неприпустимі домішки, навіть в низьких концентраціях (сумарно, не більше 3,5%). Це вказує на доцільність його імплементації як високоселективного та високотехнологічного методу у практику фармацевтичного аналізу похідних ізохіноліну.

ЛІТЕРАТУРА

- Asma Y. Khan, Gopinatha S. Kumar. Natural isoquinoline alkaloids: binding aspects to functional proteins, serum albumins, hemoglobin, and lysozyme. *Biophysical Reviews*. 2015. Vol. 7 (4). P. 407–420. DOI: 10.1007/s12551-015-0183-5.
- Вельчинська О., Ніженковська І., Мелешко Р. Сучасні підходи до фармацевтичного аналізу методом ВЕРХ алкалоїду паклітакселу. *Фітотерапія. Часопис*. 2024. № 3. С. 168–174. DOI: 10.32782/2522-9680-2024-3-168.
- Di Mola A., Macchia A., Tedesco C., Pierrri G., Palombi L., Filosa R., Massa, A. Synthetic Strategies and Cascade Reactions of 2-Cyanobenzophenones for the Access to Diverse 3,3-Disubstituted Isoindolinones and 3-Aryl-3-Hydroxyisoindolinones. *Chemistry Select*. 2019. Vol. 4. P. 4820–4826. DOI: 10.1002/slct.201901045.
- Di Mola A., Scorzelli F., Monaco G., Palombi L., Massa A. Highly diastereo- and enantioselective organocatalytic synthesis of new heterocyclic hybrids isoindolinone-imidate and isoindolinone-phthalide. *RSC Adv*. 2016. Vol. 6. P. 60780–60786.
- European Pharmacopoeia. 11-th ed. Council of Europe, Strasbourg : EDQM. 2022. Vol. 2. P. 2015–2018.
- Guilherme M. Martins, Felipe C. Braga, Pedro, P. de Castro, Timothy, J. Brocksom & Kleber, T. de Oliveira. Continuous flow reactions in the preparation of active pharmaceutical ingredients and fine chemicals. *Chemical Communications*. 2024. Vol. 60 (24). P. 3226–3239. DOI: 10.1039/D4CC00418C.
- Hu, Ya-Jian Li, Li-Xuan, Han, Jing-Chun, Min, Long, Li, Chuang-Chuang. Recent Advances in the Total Synthesis of Natural Products Containing Eight-Membered Carbocycles (2009–2019). *Chemical Reviews*. 2020. Vol. 120 (13). P. 5910-5953. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00045.
- Kentaro Hori, Shunsuke Okano, Fumihiko Sato. Efficient microbial production of stylopine using a *Pichia pastoris* expression system. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6(1). P. e22201. DOI: 10.1038/srep22201.
- Kim K.S., Chun Y.S., Chon S.U., Suh J.K. Neuromuscular interaction between cisatracurium and mivacurium, atracurium, vecuronium or rocuronium administered in combination. *Anaesthesia*. 1998. Vol. 53(9). P. 872–878. DOI: 10.1046/j.1365-2044.1998.00492.x.
- Ніженковська І.В., Вельчинська О.В., Кучер М.М. Токсикологічна хімія: підручник. К.: ВСВ «Медицина». 2020. 3-є вид. переробл. та доп. С. 222-232.
- Peng Peng, Zhibo Zheng, Jun Yu, Xuezhi Gao, Jiangtao Yang, Chuanmeng Zhao, Fuli Zhang. Practical Process for synthesizing R-Tetrahydropapaverine – A Key Intermediate of Cisatracurium Besylate (Nimbex). *Organic Process Research & Development*. 2022, Vol. 26 (11). P. 3106–3114. DOI: 10.1021/acs.oprd.2c00243.
- Sylvester S. Darvin, Pandikumar P., Ignacimuthu S. Standardization of Natural Products and Drugs. *Acta Scientiific Pharmaceutical Sciences*. 2019. Vol. 3 (2). P. 19–20.
- Syrotchuk O. A., Musiienko I., Didukh I. R., Nizhenkovska I. V., Glushachenko O. O. Eco-friendly HPLC method for caffeine in dietary supplement determination using ethanol-water mobile phase and PFP-column. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*. 2023. Vol. 13 (8). P. 151–157. DOI: 10.7324/JAPS.2023.49358.
- Thapa P., Corral E., Sardar S., Pierce B. S., Foss F. W. Jr. Isoindolinone Synthesis: Selective Dioxane-Mediated Aerobic Oxidation of Isoindolines. *J. Org. Chem*. 2019. Vol. 84. P. 1025–1034. DOI: 10.1021/acs.joc.8b01920.
- Vadhel A., Bashir S., Mir A. H., Girdhar M., Kumar D., Kumar A., Mohan A., Malik T., Mohan A. Opium alkaloids, biosynthesis, pharmacology and association with cancer occurrence. *Open Biol*. 2023. P. 13220355. DOI: 10.1098/rsob.220355.
- Vishal Srivastava, Praveen P. Singh, Surabhi Sinha, Pravin K. Singh, Deepak Kumar. Continuous-Flow Photochemistry: The Synthesis of Marketed Pharmaceutical Compounds. *Chemistry Select*. 2024. Vol. 9 (47). P. e202405020. DOI: 10.1002/slct.202405020.
- Welchinska E., Vilchynska V. New compound N1,N1'-(2"-bromo-2"-chloroethenyl)-bis-(5-fluorouracil) as the active antitumor agent for sarcoma 180. *CBU International conference proceedings 2016: Innovations in Science and Education*. 2016. Vol. 4. P. 740–743. DOI: 10.12955/cbup.v4.842.
- Welchinskaya H., Piecuzak B., Kovalenko E., Sharykina N., Getman K., Podgorsky V. Biological activity of bacterial lectins and their molecular complexes with heterocyclic bis-adducts. *Mikrobiolohichnyy zhurnal – Journal of Microbiology (Kyiv, Ukraine: 1993)*. 2003. Vol. 65 (5). P. 20–25.
- Xiaorong Y., Tong B., Yuchao M., Xiaoyan Y., Zile G., Jing W., Xueyan L., Janar J., Hongwei H., Xiaolou M., Xiaofei S. An updated review of isoquinoline alkaloids: Biological activity and mode of action, structural modifications, and agricultural applications. *Industrial Crops and Products*. 2025. P. 234. DOI: 10.1016/j.indcrop.2025.121591.
- Yang Y., Li Y., Cheng C., Yang G., Wan S., Zhang J., Mao Y., Zhao Y., Zhang L., Li C., Tang Lei. Reductant-Free Aerobic Hydroxylation of Isoquinoline-1,3(2H,4H)-dione Derivatives. *J. Org. Chem*. 2019. Vol. 84. P. 2316–2324. DOI: 10.1021/acs.joc.8b02977.
- Yoichi Hoshimoto, Chika Nishimura, Yukari Sasaoka, Ravindra Kumar, Sensuke Ogoshi. Catalytic Synthesis of Isoquinolines via Intramolecular Migration of N-Aryl Sulfonyl Groups on 1,5-Yne-Imines, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 2020. Vol. 93(2). P. 182–186. DOI: 10.1246/bcsj.20190301.
- Yu Y., Guan M., Zhao Y.-H., Wenlin Xie. Efficient Synthesis of Isoquinoline and Its Derivatives: From Metal Catalysts to Catalyst-free Processes in Water. *J. Gen. Chem*. 2020. Vol. 90 (10). P. 2012–2027. DOI: 10.1134/S1070363220100266.
- Xiaorong Y., Tong B., Yuchao M., Xiaoyan Y., Zile G., Jing W., Xueyan L., Janar J., Hongwei H., Xiaolou M., Xiaofei S. An updated review of isoquinoline alkaloids: Biological activity and mode of action, structural modifications, and agricultural applications. *Industrial Crops and Products*. 2025. 234. DOI: 10.1016/j.indcrop.2025.121591.
- Біологічна і біоорганічна хімія: підручник / Б. Зіменковський та ін. ; за ред. Б. Зіменковського, І. Ніженковської. Київ : Медицина, 2014. Т. 1. С. 25–150.

REFERENCES

- Asma, Y. Khan, & Gopinatha, S. Kumar. (2015). Natural isoquinoline alkaloids: binding aspects to functional proteins, serum albumins, hemoglobin, and lysozyme. *Biophysical Reviews*, 7 (4), 407–420. <https://doi.org/10.1007/s12551-015-0183-5>.
- Welchinska, O., Nizhenkovska, I., & Meleshko, R. (2024). Suchasni pidkhody do farmatsevtichnoho analizu metodom VERKH alkaloyidu paklitakselu [Modern approaches to the pharmaceutical analysis by HPLC of paclitaxel alkaloid]. *Fitoterapiia. Chasopys – Phytotherapy. Journal*, 3, 168–174. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-3-168>. [in Ukrainian].

- Di Mola, A., Macchia, A., Tedesco, C., Pierri, G., Palombi, L., Filosa, R. & Massa, A. (2019). Synthetic Strategies and Cascade Reactions of 2-Cyanobenzophenones for the Access to Diverse 3,3-Disubstituted Isoindolinones and 3-Aryl-3-Hydroxyisoindolinones. *Chemistry Select*, 4, 4820–4826. <https://doi.org/10.1002/slct.201901045>.
- Di Mola, A., Scorzelli, F., Monaco, G., Palombi, L. & Massa, A. (2016). Highly diastereo- and enantioselective organocatalytic synthesis of new heterocyclic hybrids isoindolinone-imidate and isoindolinone-phthalide. *RSC Adv.*, 6, 60780–60786. *European Pharmacopoeia*. 2022. (11-th ed.). Council of Europe, Strasbourg: EDQM, II, 2015–2018.
- Martins, G.M., Braga, F.C., de Castro, P., Brocksom, T.J., & de Oliveira, K.T. (2024). Continuous flow reactions in the preparation of active pharmaceutical ingredients and fine chemicals. *Chemical Communications*, 60 (24), 3226–3239. <https://doi.org/10.1039/D4CC00418C>.
- Hu, Ya-Jian, Li, Li-Xuan, Han, Jing-Chun, Min, Long, & Li, Chuang-Chuang (2020). Recent Advances in the Total Synthesis of Natural Products Containing Eight-Membered Carbocycles (2009–2019). *Chemical Reviews*, 120 (13), 5910–5953. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00045>.
- Kentaro, Hori, Shunsuke, Okano, & Fumihiko, Sato (2016). Efficient microbial production of stylophine using a *Pichia pastoris* expression system. *Scientific Report*, 6 (1), e22201. <https://doi.org/10.1038/srep22201>.
- Kim, K.S., Chun, Y.S., Chon, S.U., & Suh, J.K. (1998). Neuromuscular interaction between cisatracurium and mivacurium, atracurium, vecuronium or rocuronium administered in combination. *Anaesthesia*, 53 (9), 872–878. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2044.1998.00492.x>.
- Nizhenkovska, I.V., Welchinska, O.V., & Kucher, M.M. (2020). Toksykologichna khimiya : pidruchnyk. 3-d ed. Kyiv: Medytsyna, 222–223 [in Ukrainian].
- Peng, Peng, Zhibo, Zheng, Jun, Yu, Xuezi, Gao, Jiangtao, Yang, Chuanmeng, Zhao, & Fuli, Zhang (2022). Practical Process for synthesizing R-Tetrahydropapaverine – A Key Intermediate of Cisatracurium Besylate (Nimbex). *Organic Process Research & Development*, 26 (11), 3106–3114. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.2c00243>.
- Sylvester S. Darwin, Pandikumar, P., Ignacimuthu, S. (2019). Standardization of Natural Products and Drugs. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*, 3 (2), 19 Sylvester S. Darwin 20.
- Syrotchuk, O.A., Musienko, I., Didukh, I.R., Nizhenkovska, I.V., & Glushachenko, O.O. (2023). Eco-friendly HPLC method for caffeine in dietary supplement determination using ethanol-water mobile phase and PFP-column. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 13 (8), 151–157. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.49358>.
- Thapa, P., Corral, E., Sardar, S., Pierce, B.S., & Foss, F.W. Jr. (2019). Isoindolinone Synthesis: Selective Dioxane-Mediated Aerobic Oxidation of Isoindolines. *J. Org. Chem.*, 84, 1025–1034. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b01920>.
- Vadhel, A., Bashir, S., Mir, A.H., Girdhar, M., Kumar, D., Kumar, A., Mohan, A., Malik, T. & Mohan, A. (2023). Opium alkaloids, biosynthesis, pharmacology and association with cancer occurrence. *Open Biol.*, 13220355. <https://doi.org/10.1098/rsob.220355>.
- Vishal, Srivastava, Praveen, P. Singh, Surabhi, Sinha, Pravin, K. Singh, & Deepak, Kumar. (2024). Continuous-Flow Photochemistry: The Synthesis of Marketed Pharmaceutical Compounds. *Chemistry Select*, 9 (47), e202405020. <https://doi.org/10.1002/slct.202405020>.
- Welchinska, E., & Vilchynska, V. (2016). New compound N1,N1'-(2"-bromo-2"-chloroethenyl)-bis-(5-fluorouracil) as the active antitumor agent for sarcoma 180. *CBU International conference proceedings 2016: Innovations in Science and Education*, 4, 740–743. <https://doi.org/10.12955/cbup.v4.842>.
- Welchinskaya, H.V., Piecuszak, B., Kovalenko, E.A., Sharykina, N.I., Getman, K.I., & Podgorsky, V.S. (2003). Biological activity of bacterial lectins and their molecular complexes with heterocyclic bis-adducts. *Mikrobiologichnyy zhurnal – Journal of Microbiology (Kyiv, Ukraine: 1993)*, 65 (5), 20–25.
- Yang, Y., Li, Y., Cheng, C., Yang, G., Wan, S., Zhang, J., Mao, Y., Zhao, Y., Zhang, L., Li, C., & Tang, Lei. (2019). Reductant-Free Aerobic Hydroxylation of Isoquinoline-1,3(2H,4H)-dione Derivatives. *J. Org. Chem.*, 84, 2316–2324. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b02977>.
- Yoichi, Hoshimoto, Chika, Nishimura, Yukari, Sasaoka, Ravindra, Kumar, & Sensuke, Ogoshi. (2020). Catalytic Synthesis of Isoquinolines via Intramolecular Migration of N-Aryl Sulfonyl Groups on 1,5-Yne-Imines, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 93 (2), 182–186. <https://doi.org/10.1246/bcsj.20190301>.
- Yu, Y., Guan, M., Zhao, Y.-H., & Wenlin, Xie. (2020). Efficient Synthesis of Isoquinoline and Its Derivatives: From Metal Catalysts to Catalyst-free Processes in Water. *J. Gen. Chem.*, 90 (10), 2012–2027. <https://doi.org/10.1134/S1070363220100266>.
- Xiaorong, Y., Tong, B., Yuchao, M., Xiaoyan, Y., Zile, G., Jing, W., Xueyan, L., Janar, J., Hongwei, H., Xiaolou, M., & Xiaofei, S. (2025). An updated review of isoquinoline alkaloids: Biological activity and mode of action, structural modifications, and agricultural applications. *Industrial Crops and Products*, 234. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121591>.
- Zimenkovsky, B.S., Muzychenko, V.A., Nizhenkovska, I.V., & Syrova, G.O. (2014). Biologichna i bioorganichna khimiya [*Biological and bioorganic chemistry*]. Kyiv: Medytsyna, 3-d ed., 1, 25–150 [in Ukrainian].

Стаття надійшла до редакції 03.06.2025

Стаття прийнята до друку 14.11.2025

Опублікована 29.12.2025

Конфлікт інтересів: відсутній.

Внесок авторів:

Вельчинська О.В. – ідея, дизайн, дослідження, збір і аналіз літератури, участь у написанні статті;

Ніженковська І.В. – анотації, висновки, участь у написанні статті, корекція статті;

Мелешко Р.А. – експериментальні дослідження.

Електронна адреса для листування з авторами:

elena_www@ukr.net