



Оригинальная статья / Research article

## Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в анализе новой субстанции VMA-10-18

Е. С. Мищенко<sup>1\*</sup>, Д. С. Лазарян<sup>1</sup>, А. Д. Лазарян<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПМФИ, филиал ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России), 357532, Россия, г. Пятигорск-32, пр. Калинина, д. 11

\* Контактное лицо: Мищенко Екатерина Сергеевна. E-mail: [ekaterina-mischenko1809@mail.ru](mailto:ekaterina-mischenko1809@mail.ru)

ORCID: Е. С. Мищенко – <https://orcid.org/0000-0001-7778-8391>; Д. С. Лазарян – <https://orcid.org/0000-0002-9983-8393>; А. Д. Лазарян – <https://orcid.org/0000-0003-0364-0807>.

Статья поступила: 04.03.2021

Статья принята в печать: 07.04.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

### Резюме

**Введение.** Лекарственные препараты производных хиназолина обладают широким спектром фармакологических свойств, что делает эту группу достаточно уникальной среди остальных классов гетероциклических соединений. Субстанция VMA-10-18, обладающая церебровасодилатирующим, антидепрессивным, анксиолитическим и ноотропным свойствами, может стать новым перспективным лекарственным препаратом. В связи с этим актуальной задачей является разработка методик стандартизации данной субстанции.

**Цель.** Разработка и валидация методики количественного определения родственных примесей в новой биологически активной субстанции VMA-10-18 (Хиназофен) методом ВЭЖХ.

**Материалы и методы.** Для разработки условий хроматографического анализа использовали высокоочищенную субстанцию 3-[2-(4-метоксифениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она, а также ее родственные примеси: примесь I [исходный незамещенный хиназолин-4(3H)-он] и примесь II (4-метоксихлорацетанилид). В качестве растворителя использовали спирт этиловый 95%. Хроматограф Dionex UltiMate 3000 (Dionex, США) со спектрофотометрическим детектором. Система сбора и обработки данных Chromeleon v.7. Подвижная фаза – смесь ацетонитрила и ортофосфорной кислоты. Анализ выполняли в изократическом режиме.

**Результаты и обсуждение.** Разработаны оптимальные условия хроматографирования субстанции VMA-10-18 и ее примесей. Установлено, что для четкого разделения пиков субстанции и примесей между собой подвижная фаза должна содержать ацетонитрил и ортофосфорную кислоту в соотношении 80:20. Валидацию разработанной методики проводили с учетом требования ГФ XIV издания и рекомендациям ИСН. Подтверждена специфичность, линейность, правильность и прецизионность разработанной методики. Линейность и правильность методики определяли на 7 уровнях концентраций. Коэффициент корреляции превысил значение 0,99. Свободный член уравнения линейной зависимости ( $a$ ) для обеих примесей был меньше его доверительного интервала ( $\Delta a$ ), что доказывает отсутствие систематической погрешности методики. При определении показателя «Сходимость» рассчитанное относительное стандартное отклонение не превышало 2%. При определении внутрилабораторной прецизионности рассчитывали  $t$ -критерий Стьюдента и  $F$ -критерий Фишера. Оба показателя отвечали заявленным требованиям.

**Заключение.** Разработана и валидирована методика количественного определения примесей в субстанции VMA-10-18 методом ВЭЖХ.

**Ключевые слова:** хиназолин-4(3H)-он, субстанция VMA-10-18, Хиназофен, незамещенный хиназолин-4(3H)-он, ВЭЖХ, валидация

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

**Вклад авторов.** Е. С. Мищенко выполнила разработку методики, определение количественного содержания определяемых примесей в исследуемой субстанции, статистическую обработку полученных результатов анализа. Д. С. Лазарян разработал концепцию, провел статистическую обработку и интерпретацию результатов. А. Д. Лазарян сделала статистическую обработку результатов. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

**Для цитирования:** Мищенко Е. С., Лазарян Д. С., Лазарян А. Д. Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии в анализе новой субстанции VMA-10-18. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):76–81. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-76-81>

## Use of High Performance Liquid Chromatography in the Analysis of a New Substance VMA-10-18

Ekaterina S. Mischenko<sup>1\*</sup>, John S. Lazaryan<sup>1</sup>, Anush Jh. Lazaryan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinina av., Pyatigorsk-32, 357532, Russia

\*Corresponding author: Ekaterina S. Mischenko. E-mail: [ekaterina-mischenko1809@mail.ru](mailto:ekaterina-mischenko1809@mail.ru)

ORCID: Ekaterina S. Mischenko – <https://orcid.org/0000-0001-7778-8391>; John S. Lazaryan – <https://orcid.org/0000-0002-9983-8393>; Anush Jh. Lazaryan – <https://orcid.org/0000-0003-0364-0807>.

Received: 04.03.2021

Revised: 07.04.2021

Published: 25.08.2021

### Abstract

**Introduction.** Quinazoline derivatives have a wide range of pharmacological properties, which makes this group quite unique among other classes of heterocyclic compounds. Substance VMA-10-18, which has cerebrovasodilating, antidepressant, anxiolytic and nootropic properties, may become a promising new drug. In this regard, an urgent task is to develop methods for standardizing this substance.

**Aim.** Development of a method for the quantitation of related impurities of a new biologically active substance VMA-10-18 (Quinazophene) by HPLC with subsequent statistical processing of the results.

© Мищенко Е. С., Лазарян Д. С., Лазарян А. Д., 2021

© Mischenko E. S., Lazaryan J. S., Lazaryan A. Jh., 2021

**Materials and methods.** To develop the conditions for chromatographic analysis, was used a highly purified substance 3-[2-(4-methoxyphenylamino)-2-oxoethyl]-quinazolin-4(3H)-one, as well as its related impurities: impurity I (unsubstituted quinazolin-4(3H)-one) and impurity II (4-methoxychloroacetanilide). Test solutions were prepared using volumetric glassware of accuracy class 1. Ethyl alcohol 95 % was used as a solvent. Chromatography was performed using a Dionex UltiMate 3000 system (Dionex, United States) with a spectrophotometric detector. The analysis was carried out at a wavelength of 231 nm. Data collection and processing was carried out using the Chromeleon v.7 system. A mixture of acetonitrile and orthophosphoric acid was used as a mobile phase. The analysis was performed in an isocratic mode. The validation of the developed method was carried out taking into account the requirements of the State Pharmacopeia of Russian Federation XIV edition and the recommendations of the ICH.

**Results and discussion.** The optimal conditions for chromatography of the VMA-10-18 substance and its impurities have been developed. It was found that for a clear separation of the peaks of the substance and impurities among themselves, the mobile phase should contain acetonitrile and orthophosphoric acid in a ratio of 80:20. The specificity of the method was determined by chromatography of ethyl alcohol in order to exclude its influence on the analysis results. The linearity and correctness of the method were determined at 7 levels of concentration of impurities of the substance. The correlation coefficient has exceeded 0.99. Also, the free term of the linear dependence equation ( $a$ ) for both impurities was less than its confidence interval ( $\Delta a$ ), which proves the absence of a systematic error of the method. When determining the "Convergence" indicator, the calculated relative standard deviation did not exceed 2 %. When determining the intralaboratory precision, Student's t-test and Fisher's F-test were calculated. Both indicators met the stated requirements.

**Conclusion.** A method for the quantitative determination of impurities in the VMA-10-18 substance by HPLC has been developed and validated.

**Keywords:** quinazolin-4(3H)-one, substance VMA-10-18, Quinazophene, unsubstituted quinazolin-4(3H)-one, HPLC, validation

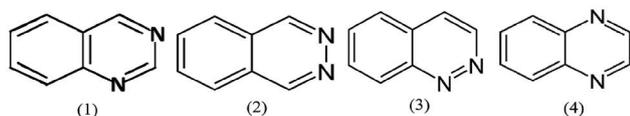
**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Ekaterina S. Mishchenko performed the development of a method, determination of the quantitative content of determined impurities in the substance under study, statistical processing of the obtained analysis results. John S. Lazaryan developed the concept development, statistical processing and interpretation of results. Ahush Jh. Lazaryan did the statistical processing of the results. All authors took part in the discussion of the results and writing the text of the article.

**For citation:** Mischenko E. S., Lazaryan J. S., Lazaryan A. Jh. Use of high performance liquid chromatography in the analysis of a new substance VMA-10-18. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):76–81. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-76-81>

## ВВЕДЕНИЕ

Производные хиназолина являются представителями обширного класса азотсодержащих соединений, а именно бензодиазинов. По своему химическому строению бензодиазины представляют собой конденсированные соединения, содержащие бензольное и диазиновое кольцо [1]. Диазиновое ядро может существовать в 4 изомерных формах, а именно: хиназолина (1), фталазина (2), циннолина (3) и хиноксалина (4).

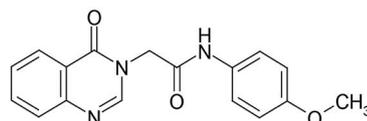


В отличие от других форм, которые обладают основными свойствами, только хиназолин имеет способность присоединять воду. Способность катиона хиназолония к реакциям нуклеофильного и электрофильного замещения говорит о высокой реакционной способности существующих и предполагаемых производных хиназолина [2].

Анализ литературных источников показал, что на данный момент синтезировано большое количество производных хиназолина, которые проявляют выраженную фармакологическую активность, а именно: антигипертензивную [3], противовоспалительную [4], противосудорожную [5], противоопухолевую [6–8], что свидетельствует о перспективности

применения данной группы соединений в медицинской практике.

Исследуемое нами соединение относится к производным хиназолин-4(3H)-она со структурной формулой:



Данное соединение синтезировано на кафедре фармацевтической и токсикологической химии Волгоградского государственного медицинского университета [9]. Лабораторный шифр: VMA-10-18. Химическая формула: 3-[2-(4-метоксифениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она [4–6].

В результате доклинических испытаний исследуемая субстанция проявила себя как церебровасодилатирующее, антидепрессивное, анксиолитическое и ноотропное средство. По своим фармакологическим эффектам субстанция выгодно отличается от известных, широко применяемых при хронической недостаточности мозгового кровообращения препаратов: винпоцетина, ницерголина, циннаризина, которые подобных эффектов не оказывают [10, 11].

Так как исследуемый объект является новым соединением, очень важно провести его стандартизацию с помощью физико-химических методов. В насто-

ящий момент передовым методом контроля является высокоэффективная жидкостная хроматография с использованием современного оборудования [12].

**Цель работы.** Разработка и валидация методики определения родственных примесей субстанции VMA-10-18 (Хиназофен) методом ВЭЖХ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Реактивы

В качестве исследуемого соединения мы использовали высокоочищенную субстанцию 3-[2-(4-метоксифениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она. Для разработки методики использовали родственные примеси субстанции, а именно: примесь I [исходный хиназолин-4(3H)-он] и примесь II (4-метоксифлор-ацетанилид). Для приготовления рабочих и стандартных растворов использовали спирт этиловый 95 %. Для разработки оптимального состава подвижной фазы использовали ацетонитрил ОСЧ 4 (ТУ-2634-002-80529938-2015) и кислоту ортофосфорную 85 % (ГОСТ 6552-58).

### Приборы и условия анализа

Для разработки методики хроматографического анализа нами было использовано следующее оборудование: хроматографическая система Dionex UltiMate 3000 (Dionex, США) со спектрофотометрическим детектором. Анализ проводили при длине волны 231 нм. Сбор и обработка данных проводились с использованием системы Chromeleon v.7.

Центрифугирование проб перед анализом проводилось на лабораторной центрифуге с принадлежностями SIGMA 2-16P (Sigma Laborzentrifugen GmbH, Германия) при 8000 мин<sup>-1</sup> в течение 3 мин, затем испытуемые растворы фильтровались через Nylon Membrane Syringe Filters диаметром 25 мм и размером пор 0,2 мм (Phenomenex, США).

Для приготовления рабочих растворов использовалась мерная посуда 1-го класса точности.

### Условия хроматографического анализа

В качестве подвижной фазы нами была использована смесь ацетонитрила и ортофосфорной кислоты в соотношении 80:20. Анализ выполняли в изократическом режиме с использованием колонки Luna размером 150 × 4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм. Детектирование проводили при 231 нм. Время анализа 20 минут. Температура колонки 25 °С, температура образца 25 °С. Объем пробы 20 мкл. Скорость потока 0,8 мл/мин.

### Приготовление исследуемых растворов стандартных образцов

Для выбора оптимальной системы хроматографирования готовили растворы стандартного образца субстанции VMA-10-18 с концентрацией 0,5 мг/мл,

раствор примеси I и примеси II с концентраций 0,5 мкг/мл соответственно, а также их модельные смеси.

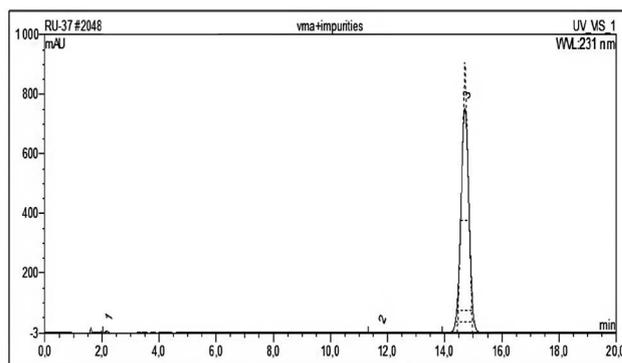
Оценку методики по показателям «Линейность» и «Правильность» проводили с помощью модельных растворов. Концентрация для каждой примеси составила 0,05; 0,25; 0,5; 0,75; 0,1; 1,25 и 1,5 мкг/мл соответственно.

Определение сходимости и внутрилабораторной прецизионности проводили с использованием модельной смеси с содержанием каждой примеси 0,5 мкг/мл.

Валидацию разработанных методик проводили согласно требованиям ГФ XIV издания и рекомендациям ICH [13, 14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для подтверждения пригодности методики нами были исследованы модельные смеси исследуемой субстанции и ее предполагаемых примесей. Полученная хроматограмма представлена на рисунке 1.



**Рисунок 1.** Хроматограмма модельной смеси субстанции VMA-10-18 и ее родственных примесей

**Figure 1.** Chromatogram of a model mixture of VMA-10-18 and its related impurities

**Специфичность.** В первую очередь нами было проведено хроматографирование спирта этилового 95 % с целью определения системных пиков. На хроматограмме растворителя отсутствовали пики, мешающие определению анализируемых соединений. Стрессовые исследования показали, что при воздействии на рабочий раствор субстанции повышенной температурой (60 °С в течение 3 часов), УФ-светом (400 нм в течение суток), а также концентрированными растворами кислот и щелочей (кислота хлористоводородная и гидроксид натрия соответственно) возможные продукты деградации не влияли на результаты исследования. Пики примесных соединений хорошо разделялись между собой, а также с исследуемой субстанцией VMA-10-18. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что методика обладает достаточной специфичностью.

Выбор оптимальных условий для хроматографического анализа проводили исходя из следующих требований: время удерживания ( $t_{уд.}$ ); коэффициент разделения ( $R_s$ ); коэффициент асимметрии ( $A_s$ ); количество теоретических тарелок ( $N$ ), а также относительное стандартное отклонение площадей пиков (RSD, %). Результаты определения пригодности хроматографической системы представлены в таблице 1. Полученные данные свидетельствуют о том, что хроматографическая система является пригодной для анализа, так как все определяемые параметры соответствуют предъявляемым требованиям

**Линейность.** Линейность методики исследована на 7 уровнях концентрации. Полученные данные представлены на рисунке 2. В таблице 2 представлены метрологические характеристики полученных линейных зависимостей.

Исходя из данных таблицы 2 и рисунка 2, можно сделать вывод о том, что разработанная методика обладает линейной зависимостью во всей аналитической области, так как коэффициенты корреляции отвечают заявленным требованиям ( $r \geq 0,99$ ) и зависимости визуально линейные. Для обеих примесей выполняется неравенство: абсолютное значение свободного члена уравнения линейной зависимости ( $a$ ) меньше его доверительного интервала ( $\Delta a$ ). Это доказывает отсутствие систематической погрешности методики. Таким образом, методика обладает необходимой линейностью и правильностью.

Таблица 2. Показатели линейной регрессии

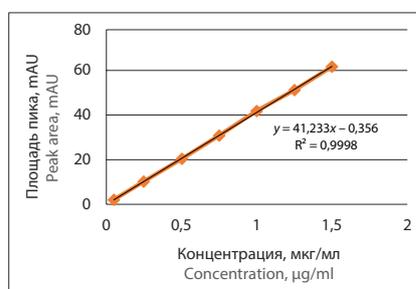
Table 2. Indicators of linear regression

Примесь I Impurity I		Примесь II Impurity II	
Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml	Площадь пика, mAU Peak area, mAU	Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml	Площадь пика, mAU Peak area, mAU
0,0497	9,357	0,0495	2,065
0,2479	53,474	0,2478	10,174
0,4989	99,102	0,5013	20,374
0,7496	143,489	0,7495	30,751
0,9989	198,921	0,9978	41,767
1,2501	248,437	1,2493	51,236
1,5002	304,879	1,4991	61,682
<i>Метрологические характеристики</i> <i>Metrological characteristics</i>			
$a = -0,767$ ; $S_a = 3,67$ $b = 207,7$ ; $S_b = 4,07$ $\Delta a = 9,43$ ; $\Delta b = 10,46$ $r = 0,9994$		$a = -0,035$ ; $S_a = 0,32$ $b = 41,23$ ; $S_b = 0,36$ $\Delta a = 0,83$ ; $\Delta b = 0,93$ $r = 0,9998$	

**Аналитическая область методики.** Следует отметить, что выбранный диапазон концентраций примесей, в котором подтверждена линейность методики, можно определить как аналитическую область методики (ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик»).



Примесь I (А)  
Impurity I (A)



Примесь II (Б)  
Impurity II (B)

Рисунок 2. График линейной зависимости площади пика от концентрации примеси I (А) и примеси II (Б)

Figure 2. Graph of the linear dependence of the peak area on the concentration of impurity I (A) and impurity II (B)

Таблица 1. Оценка пригодности хроматографической системы

Table 1. Evaluation of the suitability of the chromatographic system

№ п/п No.	Объект исследования Object of research	$t_{уд.}$ , мин RT	ТТ N	$A_s$	$R_s$	RSD, %
1	Хиназолин-4(3H)-он Quinazolin-4(3H)-one	2,2	2144	1,16	30,02	1,56
2	4-метоксихлорацетанилид 4-methoxychloroacetanilide	11,7	13383	0,92	6,4	1,74
3	VMA-10-18	14,7	12741	0,99	–	1,01
Требования пригодности хроматографической системы Chromatographic system suitability requirements		–	>1500	От 0,8 до 1,5 From 0.8 to 1.5	>2,0	≤2,0

### Прецизионность методики

Оценку методики по показателю «Сходимость» («Повторяемость») проводили по результатам хроматографирования 9 растворов примесей в диапазоне концентраций 0,05; 0,1 и 0,15 % от содержания VMA-10-18 (таблица 3).

**Таблица 3.** Результаты определения сходимости методики для примеси I и примеси II

**Table 3.** The results of determining the repeatability of the method for impurity I and impurity II

Концентрация, мкг/мл Concentration, mcg/ml	Примесь I Impurity I		Примесь II Impurity II	
	Площадь пика, mAU Peak area, mAU	Найдено, % Found, %	Площадь пика, mAU Peak area, mAU	Найдено, % Found, %
0,25	53,489	99,92	10,338	100,12
	53,423	99,08	10,495	101,64
	53,512	99,24	10,577	101,44
0,50	99,050	99,72	20,250	99,06
	98,997	99,08	20,179	99,72
	99,123	99,20	20,383	99,70
0,75	144,406	100,59	30,956	99,93
	145,789	101,55	31,021	100,15
	144,573	100,71	30,973	99,99
<i>Метрологические характеристики Metrological characteristics</i>				
	$\bar{X} = 99,9$ $SD = 0,88$ $RSD = 0,881$ $S_x = 0,292$ $\Delta\bar{x} = 0,68; \Delta x = 2,03$ $\bar{\epsilon} = 0,68\%; \epsilon = 2,03\%$ $\delta =  \bar{R} - 100  = 0,1$		$\bar{X} = 100,2$ $SD = 0,83$ $RSD = 0,828$ $S_x = 0,277$ $\Delta\bar{x} = 0,64; \Delta x = 1,92\%$ $\bar{\epsilon} = 0,64\%; \epsilon = 1,92\%$ $\delta =  \bar{R} - 100  = 0,8$	

Сходимость методики характеризуется удовлетворительной прецизионностью – относительное стандартное отклонение не превышает 2,0 %.

Проверку внутрилабораторной прецизионности исследовали в течение двух рабочих дней. Проводили 6 измерений модельного раствора субстанции VMA-10-18 (концентрация 0,5 мг/мл) с добавлением примесей в количестве 0,5 мкг/мл. Результаты представлены в таблице 4.

Проводили расчет F-критерия Фишера. Табличное значение, найденное для двух выборок с доверительным интервалом  $P = 95\%$ , составляет 5,05. В соответствии с данными таблицы 4 расчетное значение F-критерия Фишера для примеси I составляет 1,26, а для примеси II – 0,26. Это меньше табличной величины. Следовательно, различие дисперсий незначимо и данные, полученные в первый и во второй день, имеют одинаковую прецизионность. Исходя из данных таблицы 4, рассчитали значения t-критерия

Стьюдента. Они не превышают табличного значения  $t(95\%, 10) = 2,23$ . Поэтому можно сделать вывод о незначимости различий средних результатов определения примесей I и II в первый и во второй день.

**Таблица 4.** Внутрилабораторная прецизионность методики количественного определения примесей субстанции VMA-10-18

**Table 4.** Intra-laboratory precision of the method for the quantitative determination of impurities of the VMA-10-18

Примесь I Impurity I		Примесь II Impurity II	
1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day	1-й день 1 <sup>st</sup> day	2-й день 2 <sup>nd</sup> day
Найдено, % Found, %	Найдено, % Found, %	Найдено, % Found, %	Найдено, % Found, %
100,08	99,19	100,17	100,55
99,96	99,16	99,43	98,51
99,18	99,99	99,18	98,73
101,21	100,62	99,26	98,64
100,45	100,32	99,57	98,88
100,04	99,88	98,96	99,92
$\bar{X}_1 = 100,15$ $S_1^2 = 0,442$ $S_1 = 0,664$	$\bar{X}_2 = 99,86$ $S_2^2 = 0,35$ $S_2 = 0,591$	$\bar{X}_1 = 99,43$ $S_1^2 = 0,18$ $S_1 = 0,419$	$\bar{X}_2 = 99,21$ $S_2^2 = 0,69$ $S_2 = 0,831$
$t = 0,80$		$t = 0,58$	
$t(95\%, 10) = 2,23$		$t(95\%, 10) = 2,23$	

**Пределы обнаружения и количественного определения.** Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) рассчитывали, используя параметры линейной регрессии (таблица 2).

Для примеси I ПО составил 0,06 мкг/мл, а ПКО – 0,183 мкг/мл. Для примеси II ПО – 0,025 мкг/мл, ПКО – 0,077 мкг/мл.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика определения посторонних примесей в субстанции VMA-10-18 с помощью метода ВЭЖХ. Выбраны оптимальные условия анализа, которые позволяют полностью разделить между собой пики субстанции и ее родственных примесей. Доказана «Специфичность», «Линейность», «Правильность», «Сходимость» и «Внутрилабораторная прецизионность» методики определения примесей в субстанции VMA-10-18 (Хиназофен).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бартон Д., Оллис У. Д. Общая органическая химия. М.: Химия; 1985. Т. 8. 752 с.
2. Armarego W. L. F. Chemistry of Heterocyclic Compounds: Fused Pyrimidines. Part I. Quinazolines. Volume 24. New York: John Wiley & Sons; 1967. 539 p.
3. Chern J.-W., Tao P.-L., Wang K.-C., Gutcait A., Liu S.-W., Yen M.-H., Chien S.-L., Rong J.-K. Studies on quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides. 8.1,2-synthesis and pharmacological evaluation of tricyclic fused quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides as potential  $\alpha$ 1-adrenoceptor antago-

- nists. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998;41(17):3128–3141. DOI: 10.1021/jm970159v.
- El-Hashash M. A. E.-A., Azab M. E., Faty R. A. E.-A., Amr A. E.-G. E. Synthesis, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Some New Benzoxazinone and Quinazolinone Candidates. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2016;64(3):263–271. DOI: 10.1248/cpb.c15-00904.
  - Das N., Garabadu D., Banerjee A. G., Krishnamurthy S., Shrivastava S. K. Synthesis and pharmacological evaluation of some N3-aryl/heteroaryl-substituted 2-(2-chlorostyryl)-6,7-dimethoxyquinazolin-4(3H)-ones as potential anticonvulsant agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(9):4167–4176. DOI: 10.1007/s00044-014-0990-4.
  - Alafeefy A. M., Ashour A. E., Prasad O., Sinha L., Pathak S., Alasmari F. A., Rishi A. K., Abdel-Aziz H. A. Development of certain novel N-(2-(2-(2-oxoindolin-3-ylidene)hydrazinecarbonyl)phenyl)-benzamides and 3-(2-oxoindolin-3-ylideneamino)-2-substituted quinazolin-4(3H)-ones as CFM-1 analogs: design, synthesis, QSAR analysis and anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;92:191–201. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.12.048.
  - Mahdavi M., Pedrood K., Safavi M., Saeedi M., Pordeli M., Ardestani S. K., Emami S., Adib M., Foroumadi A., Shafiee A. Synthesis and anticancer activity of N-substituted 2-arylquinazolinones bearing trans-stilbene scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;95:492–499. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.03.057.
  - Yin S., Zhou L., Lin J., Xue L., Zhang C. Design, synthesis and biological activities of novel oxazolo[4,5-g]quinazolin-2(1H)-one derivatives as EGFR inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;101:462–475. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.008.
  - Петров В. И., Тюренков И. Н., Озеров А. А. Производные хиназолина, обладающие антидепрессивной, анксиолитической и ноотропной активностью. Патент РФ № 2507199. 20.02.2014. Бюл. № 5. 15 с. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2507199C1/ru>. Ссылка активна на 20.02.2014.
  - Тюренков И. Н., Озеров А. А., Солодунова Е. А., Арчакова Ю. В., Глухова Е. Г., Шматова Е. Н. Аномалия в ряду фармакологических свойств производных хиназолин-4(3H)-она, имеющих фрагменты ацетанилида в качестве заместителей. *Вестник ВолгГМУ*. 2012;2(42):66–68.
  - Арчакова Ю. В. Синтез и психотропные свойства новых амидов хиназолинового ряда. Инновации в современной фармакологии. Тез. докл. 4 съезда фармакологов России. 18–21 сентября 2012. Казань; 2012. 14 с.
  - Шатц В. Д., Сахартова О. В. Высокоэффективная жидкостная хроматография: Основы теории. Методология применения в лекарственной химии. Рига: Зинатне; 1988. 390 с.
  - Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. Т. I. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018. 1814 с. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 20.02.2014.
  - Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/q2\\_r1\\_guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/q2_r1_guideline.pdf). Accessed: 10.12.2020.
  - and *Pharmaceutical Bulletin*. 2016;64(3):263–271. DOI: 10.1248/cpb.c15-00904.
  - Das N., Garabadu D., Banerjee A. G., Krishnamurthy S., Shrivastava S. K. Synthesis and pharmacological evaluation of some N3-aryl/heteroaryl-substituted 2-(2-chlorostyryl)-6,7-dimethoxyquinazolin-4(3H)-ones as potential anticonvulsant agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(9):4167–4176. DOI: 10.1007/s00044-014-0990-4.
  - Alafeefy A. M., Ashour A. E., Prasad O., Sinha L., Pathak S., Alasmari F. A., Rishi A. K., Abdel-Aziz H. A. Development of certain novel N-(2-(2-(2-oxoindolin-3-ylidene)hydrazinecarbonyl)phenyl)-benzamides and 3-(2-oxoindolin-3-ylideneamino)-2-substituted quinazolin-4(3H)-ones as CFM-1 analogs: design, synthesis, QSAR analysis and anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;92:191–201. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.12.048.
  - Mahdavi M., Pedrood K., Safavi M., Saeedi M., Pordeli M., Ardestani S. K., Emami S., Adib M., Foroumadi A., Shafiee A. Synthesis and anticancer activity of N-substituted 2-arylquinazolinones bearing trans-stilbene scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;95:492–499. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.03.057.
  - Yin S., Zhou L., Lin J., Xue L., Zhang C. Design, synthesis and biological activities of novel oxazolo[4,5-g]quinazolin-2(1H)-one derivatives as EGFR inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;101:462–475. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.008.
  - Petrov V. I., Tyurenkov I. N., Ozerov A. A. *Proizvodnye khinazolina, obladayushchie antidepressivnoy, anksioliticheskoy i nootropnoy aktivnost'yu* [Quinazoline derivatives, possessing antidepressant, anxiolytic and nootropic activity]. Патент RUS № 2507199. 20.02.2014. Бюл. № 5. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2507199C1/ru>. Accessed: 20.02.2014. (In Russ.)
  - Tyurenkov I. N., Ozerov A. A., Solodunova E. A., Archakova Yu. V., Glukhova E. G., Shmatova E. N. Anomaly among pharmacological properties of quinazolin-4(3H)-one derivatives with acetanilide fragments as substituents. *Vestnik VolgSMU = Journal of VolgSMU*. 2012;2(42):66–68. (In Russ.)
  - Archakova Yu. V. *Sintez i psihotropnye svoystva novykh amidov hinazolinovogo ryada. Innovacii v sovremennoj farmakologii* [Synthesis and psychotropic properties of new amides of the quinazoline series. Innovations in modern pharmacology]. Abstracts. report 4 congresses of pharmacologists of Russia. 18–21 September 2012. Kazan; 2012. 14 p. (In Russ.)
  - Shatc V. D., Sahartova O. V. *Vysokoeffektivnaya zhidkostnaya hromatografiya: Osnovy teorii. Metodologiya primeneniya v lekarstvennoj himii* [High Performance Liquid Chromatography: Fundamentals of Theory. Methodology of application in medicinal chemistry]. Riga: Zinatne; 1988. 390 p. (In Russ.)
  - Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii* [State Pharmacopeia of Russian Federation]. XIV edition. V. I. Moscow: Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii; 2018. 1814 p. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 20.02.2014. (In Russ.)
  - Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Available at: [https://database.ich.org/sites/default/files/q2\\_r1\\_guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/q2_r1_guideline.pdf). Accessed: 10.12.2020.

## REFERENCES

- Barton D., Ollis W. D. *Obshchaya organicheskaya khimiya* [Comprehensive organic chemistry]. Moscow: Khimiya; 1985. V. 8. 752 p. (In Russ.)
- Armarego W. L. F. *Chemistry of Heterocyclic Compounds: Fused Pyrimidines. Part I. Quinazolines. Volume 24*. New York: John Wiley & Sons; 1967. 539 p.
- Chern J.-W., Tao P.-L., Wang K.-C., Gutcait A., Liu S.-W., Yen M.-H., Chien S.-L., Rong J.-K. Studies on quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides. 8.1,2-synthesis and pharmacological evaluation of tricyclic fused quinazolines and 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides as potential  $\alpha$ 1-adrenoceptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998;41(17):3128–3141. DOI: 10.1021/jm970159v.
- El-Hashash M. A. E.-A., Azab M. E., Faty R. A. E.-A., Amr A. E.-G. E. Synthesis, Antimicrobial and Anti-inflammatory Activity of Some New Benzoxazinone and Quinazolinone Candidates. *Chemical*